



AUS DEM HYGIENISCHEN INSTITUT ZU FREIBURG i. B.

BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

ÜBER

PUTRIDE INTOXICATION.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDICINISCHEN DOCTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

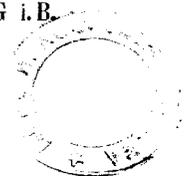
DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG I. B.

VON

WILHELM LIERMANN,

APPROB. ARZT AUS FRANKFURT AM MAIN.



Gedruckt auf Antrag der medicinischen Fakultät.

Der Dekan: Prof. Dr. KRASKA.

Der Referent: Prof. Dr. SCHOTTELIUS.



LEIPZIG,

DRUCK VON J. B. HIRSCHFELD.

1890.

Sonderabdruck

aus dem Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharnakologie
Band XXVII.

MEINEM VATER

IN LIEBE UND DANKBARKEIT

GEWIDMET.



Die vorliegende Arbeit verdankt ihre Entstehung bacteriologischen Untersuchungen, die ich im August und September vorigen Jahres im Auftrage des Herrn Prof. Schottelius behufs Anfertigung einer Dissertation im Anschluss an einen interessanten Fall von Tetanus anstellte.

Die Thatsache, dass damals der sichere Beweis noch nicht erbracht worden war, dass der sogenannte Nikolaier'sche Bacillus der alleinige Erreger des Wundstarrkrampfs sei, und dass weiterhin auch die Art und Weise der Wirkung des tetanischen Virus noch nicht festgestellt war, hatte mich veranlasst, über die Wirkungen der in dem tetanischen Material enthaltenen Bacterien auf den thierischen Körper von Neuem bacteriologische Untersuchungen anzustellen.

Als diese Versuchsreihen eben abgeschlossen werden sollten, erschien eine Veröffentlichung von S. Kitasato¹⁾, wonach die Reinzüchtung des Nikolaier'schen Bacillus, der sich als ein anaërobes Bacterium herausstellte, gelungen war.

Gewisse, nicht unmittelbar mit dem Tetanus im Zusammenhang stehende Beobachtungen aber, welche sich im Verlauf meiner oben erwähnten Untersuchungen ergeben hatten, bewogen mich, denselben noch weiter nachzugehen und führten zu Ergebnissen, die allgemeineres Interesse beanspruchen dürften.

Da das mir von Prof. Schottelius zur bacteriologischen Untersuchung übergebene tetanische Material nicht nur die Grundlage für die vorliegenden Versuche gebildet hat, sondern auch der Fall von Wundstarrkrampf, dem das Versuchsmaterial entnommen ist, für die Tetanusfrage von besonderem Interesse ist, so sei es zunächst

1) Ueber den Tetanusbacillus. Zeitschr. f. Hygiene 1889. VII. Bd. Heft 2.

gestattet, diesen Fall von Wundstarrkrampf, der im Februar 1887 an der hiesigen chirurgischen Universitätsklinik zur Beobachtung kam, sowie die im Anschluss daran angestellten Versuche vorzuschicken.

Johann St., 36 Jahre alt, Fabrikarbeiter, aus tuberculöser Familie stammend, wurde am 2. December 1886 wegen tuberculöser Erkrankung der Hand- und Fusswurzelknochen in die Klinik aufgenommen. Am 3. December 1886 wurde der linke 5. Metatarsalknochen wegen ausgedehnter Caries fast vollständig entfernt. Da die conservirende Behandlung der erkrankten Metacarpalknochen der rechten Hand sich erfolglos erwies, und auch unterdessen wieder ein Recidiv am linken Fuss eingetreten war, wurde am 1. Februar 1887 die Amputation des rechten Vorderarms ungefähr in der Mitte desselben vorgenommen. Am 3. und 4. Februar traten Temperatursteigerungen ein. Der Amputationsstumpf zeigte geringe entzündliche Reaction, die jedoch in den nächsten Tagen, ebenso wie die Temperatursteigerung wieder schwand. Am 8. Februar Abends klagte der Patient über Schmerzen im Nacken; am 9. Februar früh trat Kieferklemme ein, sowie Krampf der Schlund- und Nackenmuskulatur. Die Krämpfe bestanden anfallsweise den ganzen Tag über fort. Patient vermochte nicht zu schlucken; das Sensorium war jedoch völlig frei. In der Nacht auf den 10. Februar wurden krampfartige Zusammenziehungen der Armmuskulatur rechts beobachtet. Am 10. Februar früh steigerten sich die Krämpfe der Schlund- und Nackenmuskulatur. Alle 2—3 Minuten wurde ein neuer Anfall ausgelöst. Kurz vor 9 Uhr Morgens trat unter Temperatursteigerung auf 40,5° der Exitus letalis ein, nachdem nur in der letzten Viertelstunde das Sensorium etwas benommen war.

Bei der Autopsie, die 2 Stunden nach dem Tode vorgenommen wurde, konnte eine tuberculöse Erkrankung des Gehirns, des Rückenmarks und ihrer Häute durchaus ausgeschlossen werden. In Lungen, Leber und Nieren zeigten sich miliare Tuberkel.

In Anbetracht des nicht ganz gewöhnlichen Verlaufs dieses Falles von Wundstarrkrampf handelte es sich darum, post mortem festzustellen, dass man es hier wirklich mit einem typischen Fall von Tetanus zu thun hatte. Diese Frage liess sich sehr bald in positiver Weise durch angestellte Experimente lösen.

Eine grosse Reihe von Thieren, wie Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen, welche theils mit dem Wundsecret, theils mit ausgeschnittenen Muskel- und sonstigen Gewebsstücken aus der Nähe der am rechten Vorderarm befindlichen Amputationswunde geimpft wurden, gingen nach kurzer Zeit unter den charakteristischen Erscheinungen des Starrkrampfs zu Grunde; und zwar im Ganzen so, dass bei Einbringen einer gleich grossen Menge Infectionsmaterials die kleineren Thiere proportional ihrem Körpergewicht eher, als grössere Thiere verendeten, dass man aber andererseits durch Ein-

führung grösserer Mengen des Infectionsstoffes auch bei starken Kaninchen schon nach 36 Stunden den Tod unter den Erscheinungen des Tetanus herbeiführen konnte.

Die bacteriologische Untersuchung des Infectionsmaterials sowohl, als auch des Secrets aus der Impfstelle der verendeten Thiere ergab ein Gemisch von Spaltpilzen, in dem ausser den gewöhnlichen eiterbildenden Bacterien ein Stäbchen sich zeigte, welches der Form nach wohl das von Nikolaier beschriebene sein konnte. Versuche, die einzelnen Arten dieser Spaltpilze zu isoliren, gelangen nur in so weit, als es sich um bereits bekannte in ähnlichem Material vorkommende Bacterien handelte. Eine Thatsache aber, welche schon damals das Interesse erregte, war die, dass die Infectionskraft des zu allen diesen Experimenten benutzten Vorderarmstückes nicht nachliess, obgleich mehrere Wochen verflossen, und das Gewebstück bald im geheizten Zimmer, bald tageweise des starken Fäulnissgeruches wegen bei Frosttemperatur im Freien sich befand.

Gerade dieser Umstand, dass trotz ganz extremer Aenderungen in der Temperatur und trotzdem sich auf dem faulenden Gewebe nach und nach durch Verunreinigungen die verschiedensten Bacterienarten ansammelten, die Kraft, Tetanus zu erzeugen, ungeschwächt erhalten blieb, gab die Veranlassung zu untersuchen, wie lange überhaupt unter den gewöhnlich eintretenden äusseren Bedingungen das tetanische Gift sich erhalten könne. Es lag ja sowohl die Möglichkeit vor, dass nach Beerdigung solcher Gewebstheile der Infectionsstoff zerstört würde, oder aber, dass er sich sehr lange erhalten könne. Zu dem Zwecke wurde der grössere Theil des bei der Section behufs weiterer Untersuchungen abgetrennten Vorderarmstückes Mitte März des Jahres 1887 in einen gewöhnlichen Blumentopf, der mit Erde aus dem Garten des hygienischen Instituts gefüllt wurde, verbracht. Dieser Blumentopf wurde zusammen mit einem zweiten, der nur mit Gartenerde angefüllt war, in dem freien Gartenland eingegraben.

Ein kleiner Theil des Vorderarmstückes wurde an der atmosphärischen Luft noch längere Zeit aufbewahrt und erwies sich noch nach mehreren Monaten infectionstüchtig. Schliesslich wurde dieser Theil des Infectionsmaterials durch innere Zersetzung und Verdunstung auf ein Minimum des an der Porzellanschale fest angetrockneten Materials reducirt, welches, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, zahlreiche Sporen enthielt, äusserer Umstände wegen aber experimentell und bacteriologisch nicht weiter behandelt werden konnte.

Ende Sommersemester 1887 fanden die letzten Erhebungen über

die Infectionstüchtigkeit des Materials statt. Anfang August 1889, nachdem also zwei weitere Jahre verstrichen waren und unterdessen das in der Erde vergrabene tetanische Material, ebenso wie die Erde des freien Gartens den verschiedenartigsten Witterungseinflüssen, der Kälte, der Hitze, der Nässe und der Trockenheit ausgesetzt gewesen waren, wurden die Untersuchungen über die Haltbarkeit des tetanischen Giftes von mir wieder aufgenommen.

Am 10. August wurden mit der in dem Blumentopf, der die Gewebstücke in sich barg, enthaltenen Erde 6 weisse Mäuse geimpft, und zwar wurden 3 von dieser Erde direct kleine Partikel unter eine an der Schwanzwurzel gebildete Hauttasche geschoben, während 3 mittelst Pravaz'scher Spritze mit Erde, die mit steriler Bouillon so verdünnt war, dass der Aufguss eben noch für die Spritze durchgängig war, geimpft wurden. Am 13. August fanden sich die 3 mittelst Pravaz'scher Spritze geimpften Mäuse todt vor, während 2 von den an der Schwanzwurzel geimpften ausgesprochen tetanische Erscheinungen boten, unter denen sie am 13. August Abends verendeten.

Bei den 3 mittelst Pravaz'scher Spritze geimpften Mäusen waren die hinteren Extremitäten tetanisch nach hinten gestreckt, und zwar die geimpfte rechte Extremität in höherem Grade, als die linke. Die Fusssohle sah nach oben und die Zehen waren gespreizt. Die Schwanzspitze war nach oben und nach der geimpften Seite zu gerichtet. Dasselbe Bild boten auch die beiden am 13. August Abends verendeten Mäuse, nur dass in der tetanischen Streckung der hinteren Extremitäten kein Unterschied zu erkennen war. Die vorderen Extremitäten zeigten keine ausgesprochene tetanische Streckung, ein Beweis, dass das tetanische Gift schneller seine tödtliche Wirkung entfalten konnte, als bis sich die Krampferscheinungen auf den ganzen Körper hätten ausdehnen können. Bei den beiden letzteren Mäusen, deren tetanische Erscheinungen ich während des Lebens beobachten konnte, liessen sich jederzeit auf äussere Reize hin die typischen Krampferscheinungen hervorrufen. Während eines solchen Krampfaufalls vermochte man an den hinteren Extremitäten und an der Schwanzwurzel die auffallende Härte der Musculatur zu fühlen. Die Thiere bewegten sich nur auf den vorderen Extremitäten und schleiften die tetanisch nach oben gestreckten hinteren Extremitäten hinter sich her.

Dass es sich hier um typischen Tetanus handelte, war klar, um so mehr, als sowohl diese, als auch noch mehrere später angestellte Impfversuche dasselbe positive Resultat ergaben.

Die Sectionen der mit diesen Erdproben geimpften Mäuse ergaben den von fast allen bisherigen Forschern geschilderten Befund: keine besonderen wahrnehmbaren Veränderungen in den inneren Organen. — Die stark gefüllte Harnblase, auf die aufmerksam gemacht worden ist, konnte in den meisten Fällen constatirt werden. — In dem spärlichen Secret der Impfstelle fand sich in einem Gemisch von Kokken und Bacillen eine geringe Menge schlanker Stäbchen. In Milz, Blut, Nerven- und Rückenmarksscheide konnte dieses Stäbchen nicht, ja überhaupt gar keine Bacterien constatirt werden.

Da es sich bei den vorliegenden Untersuchungen zunächst darum handelte, festzustellen, dass in der Erde des Blumentopfs, der die Gewebsstücke enthielt, das tetanische Gift noch vorhanden sei, so wurden weitere bacteriologische Untersuchungen der Mikroorganismen der Impfstelle nicht angestellt.

Es ergibt sich mithin aus diesen Beobachtungen, dass das tetanische Gift sehr lange Zeit, im vorstehenden Falle 2½ Jahre in voller Virulenz im Erdboden erhalten bleiben kann.

Controlversuche, welche mit der Erde aus verschiedenen Theilen des Institutsgartens, sowie mit der Erde des vergrabenen Controltopfs angestellt wurden, fielen negativ aus.

Nachdem zur Zeit, als diese Erhebungen gemacht wurden, durch die Kitasato'sche Entdeckung ein weiteres Suchen nach dem Tetanusbacillus, sowie Versuche seiner Reinzüchtung hinfällig geworden waren, lag es um so mehr nahe, Beobachtungen weiter zu verfolgen, welche sich während der bacteriologischen Untersuchung des oben genannten tetanischen Materials ergeben hatten.

Von der Anschauung ausgehend, dass es sich beim Tetanus um eine Art von specifischer putrider Intoxication handele, welche wohl durch ein bestimmtes Bacteriengemisch hervorgebracht werde, wurden Versuche derart angestellt, dass zunächst die in dem Material enthaltenen, am leichtesten wachsenden Fäulnissbacterien im Gemische auf ihre toxische Kraft hin geprüft wurden.

Um mir diese Bacterien vor die Augen zu führen, bediente ich mich des Plattenverfahrens, und zwar sowohl der Gelatine-, als auch der Agar-Agarplatten.

Es gelang auf diese Weise 9 verschiedene Bacterienarten zu isoliren, und zwar:

Micrococcus cereus albus; *Staphylococcus pyogenes aureus*; *Bacillus fluorescens putidus*; *Bacillus fluorescens liquefaciens*; *Bacterium luteum*; *Proteus vulgaris*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus saprogenes* II; *Perlschnurbacillus*.

Da die beiden an vorletzter und letzter Stelle angeführten Bacterienarten in den zugänglichen literarischen Hilfsmitteln noch nicht in vollständiger Weise beschrieben worden sind, so lasse ich in ge-

Name	Form, Anordnung	Beweglichkeit	Wachstum	
			auf Platten	in Sticheulturen
Bacillus saprogens No. II. ¹⁾	Stäbchen im Mittel 2,1 μ lang u. 0,7 μ breit, sich öfters zu zweien und zu längeren Ketten aneinanderlagernd.	Sehr beweglich.	Gelatine: Langs. Wachstum. a) in der Tiefe: kleine gelbe, kugelige, feingekörnte Colonien mit scharfem Contur. Nach einigen Tagen erscheint eine doppelte Randzone. b) an der Oberfläche: gelbliche, sich etwas über die Oberfläche erhebende, an den Rändern stark ausgebuchete körnige Colonien. Bei schwacher Vergrößerung erkennt man 3 Zonen, von denen die mittelste am dunkelsten erscheint.	Gelatine: Wächst langsam in Form einer Nagelcultur. Am Eingang des Stielkanals schmutzig-weiße, gezackte Auflagerung. Längs des Kanals langsames, körn. Wachstum. Agar-Agar: Sehr charakteristisch im Strich. Nach 12 Stund. erscheint die ganze Fläche wie mit feinsten Tropfen besprengt. Die Cultur überzieht dann die Fläche gleichmässig und nimmt an Dicke zu. Ursprünglich wasserhell, wird sie allmählich etwas opaker, weisslich-grau, von zäh-schleimiger Consistenz.
Perlschnurbacillus. ²⁾	Die kurzen meist eingeschnürten Stäbchen mit abgerundeten Enden kommen einzeln oder als Doppelstäbchen vor.	Bewegung nicht constatirt.	Gelatine: Die Colonien erscheinen bei schwacher Vergrößerung als runde, dunkle, körnige Scheiben mit leicht rauher Oberfläche. Später bilden sich porzellanweiße Köpfchen, welche sich oberflächlich ausbreiten u. stark gewölbt sind.	Gelatine: Das Tiefenwachstum ist üppig, der ganze Stielkanal ist bald von einer Reihe weisser, perlschnurartiger Kugeln ausgebuchet und hat eine knopfartige Endanschwellung.

Ueberblicken wir die aus der Erde rein gezüchteten 9 Bacterienarten, so tritt auf den ersten Blick das Vorherrschen der Bacillen gegenüber den Kokken hervor. Es ist dies derselbe Befund, wie er sich stets bei Untersuchungen der Mikroorganismen des Bodens bietet: das Ueberwiegen der Bacillen gegenüber den Kokken. Letztere finden sich ja nachgewiesenermaassen gar nicht in den tieferen Erdschichten.

Um nunmehr jedes einzelne der 9 genannten Bacterien auf seine eventuellen pathogenen Eigenschaften hin zu untersuchen, legte ich des geeigneteren Impfmateri als wegen von allen diesen Spaltpilzen Bouillonculturen an. Mit jeder dieser Reineulturen wurden 4 Mäuse geimpft. Das Resultat der Impfung war in allen Fällen ein negatives.

1) Rosenbach, Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen.

2) Maschek, XXI. Jahresber. d. Communaloberrealschule zu Leitmeritz.

bräuchlicher Form die diesbezüglichen biologischen Notizen nachstehend folgen:

Wachstum		Temperaturverhältnisse	Schnelligkeit des Wachstums	Sporenbildung	Farbproduction	Die Gelatine verflüssigt oder nicht
auf Kartoffeln	in Blutserum					
Sehr langs. Wachstum. Dicke, unregelmässige, fleischfarbene, sehr zähe Auflagerung.	Wächst schnell unter Verbreitung eines intensiven fötiden Geruchs nach Schweissfüssen, den auch die Gelatine-, Agar-Agar- und Kartoffelculturen verbreiten.	Wächst sehr langsam bei Zimmertemperatur. Bei Bruttemperatur (42° C.) schon nach 6 Stunden üppiges Wachstum.	Wächst schnell bei höherer Temperatur.			In den Gelatinestichculturen tritt nach mehreren Wochen Verflüssigung ein.
Wächst in Form eines weisslich-gelben rahmartig zerfliessenden und von Gasbläschen durchsetzten Belags.		Gedeiht schlecht bei höherer Temperatur.	Wächst schnell.		Bildet schmutzig weisslich-gelben Farbstoff.	Nicht verflüssigend.

Die Mäuse blieben am Leben und zeigten auch bei genauester Beobachtung nichts Abnormes.

Nachdem sich bei diesen Impfversuchen herausgestellt hatte, dass die genannten auf künstlichen Nährböden rein gezüchteten Bacterien für Mäuse keine pathogene Eigenschaften besaßen, so wurden, da man daran denken konnte, dass vielleicht der Erdboden als solcher auf die Virulenz der Spaltpilze von Einfluss sein könne, nunmehr diese Impfversuche mit den 9 Erdreinculturen der betreffenden Bacterien angestellt.

Das Verfahren war dabei folgendes: Gewöhnliche Gartenerde wurde in Reagensgläsern gefüllt, dieselben mit einem Wattepfropfen verschlossen und in dem Autoclaven einem Druck von 3 Atmosphären ausgesetzt. Dass die Erde nun wirklich steril war, wurde dadurch erwiesen, dass kleine Partikel der sterilisirten Erde in der

Nährgelatine der Rollplatten durchaus keine Veränderungen hervorriefen.

In solche mit steriler Erde gefüllten Reagenscylinder wurde so viel von den einzelnen Bouillonreinculturen gebracht, dass die Erde, die durch den Sterilisirungsprocess von ihrer Feuchtigkeit verloren hatte, ihre normale Feuchtigkeit wieder erhielt. Um das Wachstum der einzelnen Erdreinculturen mehr zu fördern, wurden dieselben in den Thermostaten von 30° C. gesetzt. Nach 72 Stunden zeigten sich alle diese Erdreinculturen gut entwickelt.

Allein auch die Impfversuche mit diesen Culturen hatten sämmtlich ein negatives Resultat.

Nunmehr konnte man die Erledigung der eigentlichen aufgestellten Frage gehen: ob und welches Gemisch dieser Bacterien pathogene Eigenschaften zeige?

Da es aber praktisch durchaus unausführbar erscheint, alle Combinationen dieser Versuchsreihen experimentell durchzuarbeiten — beträgt doch die Zahl der Mischungen, wenn man die Bacterien zu gleichen Theilen mischt, schon 517 —, so wurde zunächst nur der Versuch gemacht, ob das Gemisch aller 9 Bacterien zusammen, sei es im Bouillon oder in steriler Erde gezüchtet, für Thiere pathogen sei. Quantitative Mischungsverhältnisse der Bacterien mussten natürlich noch viel eher unberücksichtigt bleiben.

Zuerst wurde der Versuch mit den in Bouillon gezüchteten neun Reinculturen angestellt, und zwar wurde die Mischung sowohl in der Weise hergestellt, dass von jeder der 9 Bouillonreinculturen 1 ccm genommen und diese 9 ccm untereinander gemischt wurden. Eine zweite Mischung wurde derart vorgenommen, dass in 9 ccm steriler Bouillon je eine Platinöse voll der 9 einzelnen Gelatine-stiehculturen gebracht wurde. Beide Gemische wurden 12 Stunden in den Thermostaten von 30° C. gebracht. Das mikroskopische Präparat zeigte in beiden Gemischen, dass alle 9 Formen der Bacterien sich gut entwickelt hatten.

Mit jedem dieser Gemische wurden 4 Mäuse geimpft. Auch diese 8 Mäuse blieben am Leben. Derselbe Versuch mit dem in steriler Erde gezüchteten Bacteriengemisch fiel gleichfalls negativ aus.

Wenn sich somit ergeben hatte, dass die genannten Spaltpilzarten weder direct noch indirect durch Zersetzungsproducte der bis dahin angewandten Nährböden krank machend wirken konnten, so war damit nicht ausgeschlossen, dass sie durch Zersetzung anderer Nährsubstrate dennoch toxische Stoffe zu erzeugen im Stande seien.

Die Vermuthung, dass gerade das Eiweiss der thierischen Ge-

webe, vielleicht speciell der Muskeln für derartige Zersetzungen einen besonders günstigen Grundstoff bilde, wurde dadurch einigermaassen nahe gelegt, dass ja gerade dann, wenn Bacteriengemische auf zerfallendem Gewebe am Körper wachsen, die Erscheinungen putrider Intoxication wahrgenommen werden.

Auf Grund dieser Ueberlegung verschafften wir uns einen entsprechenden Nährboden in der Weise, dass wir in sorgfältig sterilisirte Reagensgläser unter grösstmöglicher Vorsicht Muskelfleischstückchen frisch geschlachteter Thiere einbrachten. Durch mehrtägiges Aufbewahren dieser Präparate bei Zimmertemperatur und im Brutkasten konnten die sterilen von einem gewissen Procentsatz verunreinigter Stücke ausgesondert werden.

Derartige sterile Muskelfleischstückchen wurden nun mit den neun in den Bereich der Untersuchung gezogenen Spaltpilzarten in der Art beschickt, dass auf jedem der einzelnen Fleischstücke eine Platinöse voll der 9 verschiedenen Gelatinestiehculturen verstrichen wurde. Sowohl die geimpften, wie die ungeimpften Fleischstücke blieben mit einer Glasglocke überdeckt bei Zimmertemperatur in einer Glasschale stehen, deren Boden mit Wasser angefüllt war, um so ein zu schnelles Eintrocknen der Fleischstücke zu verhüten. Nachdem die geimpften Fleischstücke mehrere Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten, trat bei den meisten Culturen ein mehr oder minder intensiver Fäulnissgeruch auf. Dass die Bacterien ihre zersetzende Wirkung zu entfalten begannen, zeigte überdies auch der Belag, mit dem sich die Fleischstücke überzogen. Dieser Belag war, je nach der Fähigkeit der betreffenden Spaltpilzart, die Gelatine zu verflüssigen oder nicht, mehr oder weniger stark. So hatte z. B. *Proteus vulgaris* die Fleischstücke bis zum Flüssigwerden verdaut. Die Culturen von *Bacillus fluorescens putidus* und *fluorescens liquefaciens* zeigten, ebenso wie die Gelatineculturen, die grünlich fluorescirende Farbe.

Es kam nun zunächst die Frage in Betracht, ob jede der neun auf Fleisch gezüchteten Bacterienarten bereits für sich allein im Stande sei, bei Impfungen auf Thiere pathogen zu wirken. Zu diesem Zwecke wurden je 2 Mäuse mit den einzelnen Fleisheulturen in der Weise geimpft, dass mit sterilen Instrumenten von jedem der durch die neun Bacterien zersetzten Fleischstücke kleine Partikel abgeschnitten und der Maus in eine an der Schwanzwurzel gebildete Hauttasche geschoben wurden. Das Resultat auch dieser Impfversuche war ein negatives.

Um nun die Impfversuche mit dem Gemisch aller 9 auf Fleisch gezüchteten Bacterien anzustellen, wurden von allen 9 Fleischrein-

culturen kleine Stücke abgeschnitten und diese in sterile Bouillon verbracht. Der Geruch, der schon nach 24 Stunden von diesem Gemisch verbreitet wurde, war ein äusserst intensiver und beinah erstickender. Am 2. Tage wurden mit diesem Gemisch 2 Mäuse geimpft. Am gleichen Tage wurde ein Theil dieses Gemisches in sterile Erde verbracht und diese Erdcultur 24 Stunden in den Thermostaten von 30° C. gesetzt.

Beide Mäuse verendeten und zwar die eine, die die grössere Dosis erhalten hatte, schon nach 14 Stunden, die zweite nach 24 Stunden.

Dass jedoch auch bei Uebertragungen von Thier zu Thier das in dem Gemisch enthaltene infectiöse Agens seine pathogene Kraft beizubehalten vermochte, zeigten folgende Impfversuche: Aus der Impfstelle einer verendeten Maus wurden zwei kleine schmutzig verfärbte Muskelstücke ausgeschnitten und je eine Maus an der Schwanzwurzel damit geimpft. Diese Mäuse verendeten nach 5 Tagen.

Ausser Mäusen zeigten sich sowohl Meerschweinchen, wie Kaninchen im höchsten Grade empfänglich für die Wirkungen dieses Gemisches. In demselben Maasse wirkte auch das in steriler Erde gezüchtete Fleischculturengemisch jederzeit pathogen.

Nachdem die pathogene Wirkung aller 9 Bakterien im Gemisch nunmehr sicher erwiesen war, musste jetzt weiterhin festgestellt werden, wie wenig von allen diesen Spaltpilzarten dazu gehörten, um dieselben Wirkungen hervorzubringen oder ob erst bei einer bestimmten Anzahl der in einem Gemisch vertretenen Bakterienarten pathogene Wirkungen sich äusserten.

Impfversuche mit willkürlich herausgegriffenen Mischungen von 8, 6, 4 und 2 Bakterienarten ergaben, ebenso wie das Gemisch aller neun Spaltpilze, stets dasselbe positive Resultat. Die Thiere verendeten nach 24—36 Stunden.

Da sich also auch Gemische, in denen zwei Bakterien vertreten waren, als pathogen erwiesen, wurden nunmehr, um in der einmal beschriebenen Versuchsrichtung zu einem Abschluss zu kommen, trotz der grossen Zahl der Versuchsvarianten die gesammten 36 Versuchsmöglichkeiten durchgeführt, die sich ergeben, wenn man die neun genannten Bakterien zu je zweien zusammenmischt.

Je 2 Mäuse wurden mit jedem der 36 Gemische geimpft, und zwar wurden der einen etwa 0,4 ccm und der anderen etwa 0,2 ccm injicirt.

Ueber die bei diesen Impfungen gewonnenen Resultate giebt die nachfolgende Tabelle Aufschluss.

Mischungsform	+ = ver- endet; Dosis = 0,4 ccm	- = nicht verendet; Dosis = 0,2 ccm	Mischungsform	+ = ver- endet; Dosis = 0,4 ccm	- = nicht verendet; Dosis = 0,4 ccm
1 { Micrococc. cer. alb. . .	+	+	19 { Bac. fluoresc. put. . .	+	-
1 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	19 { Bac. subtilis	+	-
2 { Micrococc. cer. alb. . .	+	-	20 { Bac. fluoresc. put. . .	-	-
2 { Bac. fluores. put. . . .	+	-	20 { Bac. saprog. II	-	-
3 { Micrococc. cer. alb. . .	+	+	21 { Bac. fluoresc. put. . .	+	+
3 { Bac. fluoresc. liquef. .	+	+	21 { Perlschnurbacillus . .	+	+
4 { Micrococc. cer. alb. . .	+	+	22 { Bac. fluoresc. liqucf. .	+	+
4 { Bact. luteum	+	+	22 { Bact. luteum	+	+
5 { Micrococc. cer. alb. . .	+	+	23 { Bac. fluoresc. liquef. .	+	+
5 { Prot. vulgaris	+	+	23 { Prot. vulgaris	+	+
6 { Micrococc. cer. alb. . .	+	+	24 { Bac. fluoresc. liquef. .	+	+
6 { Bac. subtilis	+	+	24 { Bac. subtilis	+	+
7 { Micrococc. cer. alb. . .	-	-	25 { Bac. fluoresc. liquef. .	-	-
7 { Bac. saprog. II	-	-	25 { Bac. saprog. II	-	-
8 { Micrococc. cer. alb. . .	+	-	26 { Bac. fluoresc. liquef. .	+	+
8 { Perlschnurbacillus . . .	+	-	26 { Perlschnurbacillus . .	+	+
9 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	27 { Bact. luteum	+	+
9 { Bac. fluoresc. put. . . .	+	+	27 { Prot. vulgaris	+	+
10 { Staphyl. pyog. aur. . .	-	-	28 { Bact. luteum	+	+
10 { Bac. fluoresc. liquef. .	-	-	28 { Bacillus subtilis	+	+
11 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	29 { Bact. luteum	-	-
11 { Bact. luteum	+	+	29 { Bac. saprog. II	-	-
12 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	30 { Bact. luteum	-	-
12 { Prot. vulg.	+	+	30 { Perlschnurbacillus . .	-	-
13 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	31 { Proteus vulgaris	+	-
13 { Bac. subtilis	+	+	31 { Bacillus subtil.	+	-
14 { Staphyl. pyog. aur. . .	+	+	32 { Proteus vulgaris	+	-
14 { Bac. saprog. II	+	+	32 { Bac. saprog. II	+	-
15 { Staphyl. pyog. aur. . .	-	-	33 { Proteus vulgaris	+	+
15 { Perlschnurbacillus . . .	-	-	33 { Perlschnurbacillus . . .	+	+
16 { Bac. fluoresc. put. . . .	+	+	34 { Bacillus subtilis	+	+
16 { Bac. fluoresc. liquef. .	+	+	34 { Bac. saprog. II	+	+
17 { Bac. fluoresc. put. . . .	+	+	35 { Bac. subtilis	+	+
17 { Bact. luteum	+	+	35 { Perlschnurbacillus . . .	+	+
18 { Bac. fluoresc. put. . . .	+	+	36 { Bac. saprog. II	-	-
18 { Proteus vulgaris	+	+	36 { Perlschnurbacillus . . .	-	-

Aus den Versuchen, wie sie in der vorstehenden Tabelle vorliegen, ist zwar, da es sich bei jedem dieser Versuche nur um 2 Thiere handelt, kein abschliessendes Urtheil zu fällen. Will man sich indessen aus den Resultaten der Versuchsreihen eine Meinung bilden, so ergiebt sich, dass im Allgemeinen ein Gemisch von nur zweien der gewöhnlich vorkommenden Spaltpilze, wenn sie auf frischem Muskelfleisch gewachsen sind, für Mäuse pathogene Wirkungen hat. Dass aber dennoch, wie es scheint, einige dieser Zweiergemische eine intensive, andere eine weniger intensive, einige sogar gar keine toxische Wirkung ausüben, das geht daraus hervor, dass in den meisten Fällen alle beiden Versuchsthiere, in einigen Fällen nur eins derselben, dann aber dasjenige, welches die grössere Quantität des

Impfstoffes bekommen hatte, und in einigen anderen Fällen keins der beiden geimpften Thiere verendete.

Da die Sectionen aller mit diesen Fleischculturgemischen geimpften Thiere fast durchweg dieselben Resultate ergaben, so soll nunmehr erst am Schlusse aller dieser Impfversuche des Näheren auf die Ursache, die den Tod der geimpften Thiere herbeigeführt hat, eingegangen werden.

Diese Todesursache ist hier sicherlich in einer putriden Intoxication zu suchen. Denn, wenn man den nach unseren heutigen Auffassungen wohl nicht immer scharf anzugebenden Unterschied zwischen putrider Intoxication und Septicämie dahin präcisirt, dass als Septicämie ein Zustand bezeichnet wird, bei welchem von der Wunde, resp. Impfstelle aus Mikroorganismen in das lebende Gewebe aufgenommen werden und hier ihre tödtlich wirkende Infectionskraft äussern, und wobei ferner diese aufgenommenen Organismen bei Uebertragungen dauernd ihre Virulenz zeigen, während als putride Intoxication ein Zustand zu bezeichnen ist, bei welchem von einer inficirten Wunde aus Stoffe in den Körper aufgenommen werden, welche toxisch wirken, ohne dass dabei die Mikroorganismen selbst in den Körper übergehen, so müssen die in Rede stehenden Todesfälle als durch putride Intoxication bedingte bezeichnet werden.

Bei allen verendeten Thieren zeigte nämlich nur die mikroskopische Untersuchung des sehr spärlichen Secrets der Impfstelle das betreffende Bacteriengemisch, die inneren Organe zeigten keine wahrnehmbaren Veränderungen.

Nunmehr am Schlusse der angestellten Versuche angelangt, sei es mir gestattet, auf den Untersuchungsgang und die dabei gewonnenen Resultate noch einen kurzen Rückblick zu werfen.

Nachdem sich zunächst die 9 genannten Bacterien auf den gebräuchlichen Nährböden und in Erde gezüchtet als nicht pathogen gezeigt hatten, und auch das Gemisch aller dieser Spaltpilze, unter denselben Bedingungen gezüchtet, ebenfalls sich als nicht schädlich für Thiere erwies, ergaben sich positive Resultate bei den Impfversuchen mit dem Gemisch der 9 Bacterien, wenn man die einzelnen auf frischem Fleisch züchtete. Auch die weiteren Versuche mit Gemischen, in denen eine geringere Anzahl Bacterien vertreten war, ja die grösste Zahl der Mischungen der 36 Versuchsvariationen, bei denen je zwei Bacterien gemischt waren, zeigten dasselbe positive Resultat.

Fragen wir nach den Gründen, weshalb bei Wechsel des Nährbodens sich die Eigenschaften der Bacterien auch in Bezug auf ihre

Wirkung auf den thierischen Organismus ändern, so sind dieselben wohl darin zu suchen, dass die durch die Bacterien veranlasste chemische Zersetzung des Nährbodens sich je nach der Zusammensetzung dieses Nährbodens verschieden gestaltet, und die bei dieser Zersetzung gebildeten Stoffwechselproducte jedesmal andere sind.

Dass, will man die zersetzenden Wirkungen, die die Bacterien auf das thierische Gewebe selbst ausüben, des Näheren ergründen, ein Nährboden wie das frische Muskelfleisch noch Veranlassung zu weiteren lohnenden Versuchen geben wird, ist offenbar. Aber hier müssen die bacteriologischen Untersuchungsmethoden Hand in Hand gehen mit den chemischen, wenn es gelingen soll, diesen verschiedenen von den Bacterien durch Zersetzung des Nährbodens gebildeten Spaltproducten eine feste Gestalt zu geben.

Die Untersuchungen Brieger's haben gezeigt, dass es wohl möglich ist, diese Stoffwechselproducte chemisch darzustellen. In seinen Untersuchungen über Ptomaine¹⁾ weist er auf das Klarste nach, dass es „die Beschaffenheit des Nährbodens ist, die maassgebend ist für die Synthesen bildende Kraft der Bacterien“.

So gelang es ihm, aus dem Fleisch von Säugethieren, das er der zersetzenden Kraft von Bacterien aussetzte, das giftige Neurin darzustellen, während das faulende Fischfleisch das nicht minder giftige Muscarin zu erzeugen vermag.

Während Brieger bei der chemischen Darstellung dieser bei der Fäulniss des Fleisches sich bildenden Ptomaine die dabei in Frage kommenden Bacterien keiner näheren bacteriologischen Untersuchung unterwarf, haben sich die vorliegenden Versuche gerade damit beschäftigt, die Wirkungen der Spaltproducte des durch ganz bestimmte Bacterienarten zersetzten Muskelfleisches näher zu ergründen. Weiterhin beweisen dieselben Untersuchungen, dass nicht nur von der Beschaffenheit des Nährbodens die Beschaffenheit der von den Bacterien gebildeten Zersetzungsproducte abhängt, sondern es scheinen auch, wenn man ein und denselben Nährboden der Zersetzung durch verschiedentliche Bacterien unterwirft, in einzelnen Fällen die Zersetzungsproducte andere zu sein.

Es ergibt sich dies aus der Verschiedenheit der Resultate bei den Impfungen mit den Zweiergemischen. Es zeigten sich nämlich, wie aus der obigen Tabelle ersichtlich, 8 von diesen Mischungen als absolut wirkungslos auf den thierischen Organismus, ein Beweis, dass die von diesen bestimmten Zweiergemischen gebildeten Stoff-

1) L. Brieger, Ueber Ptomaine. Berlin 1885.



wechselproducte andere sein müssen, als die von den anderen Gemischen gebildeten.

Schon aus dieser verhältnissmässig sehr kleinen Reihe von Versuchen geht hervor, in welcher Vielgestaltigkeit sich die von den Bacterien gebildeten Zersetzungsproducte zeigen können, und welche einer grossen Zahl eingehender Untersuchungen es bedürfen wird, um all die mannigfachen Formen dieser Stoffwechselproducte kennen zu lernen.

Dass mit der Lösung dieser und ähnlicher Fragen dann der Weg gebahnt sein wird zu einem grösseren und weiteren Felde der Thätigkeit, nämlich zur praktischen Verwerthung der biologischen Eigenschaften der Mikroorganismen, sowie ihrer physiologischen Wirkungen auf den thierischen Organismus, liegt auf der Hand.

Einen kleinen Beitrag zur Lösung solcher Fragen zu liefern, war Zweck der vorliegenden Untersuchungen.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Schottelius, spreche ich für die freundliche Unterstützung bei meinen Arbeiten in seinem Laboratorium, sowie für die eingehende Durchsicht der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

VITA.

Verfasser, WILHELM LIERMANN, wurde am 12. Septbr. 1864 als ältester Sohn des Rectors WILHELM LIERMANN und seiner Ehefrau MARIE geb. BIEDENKAPP zu Frankfurt am Main geboren. Seine Schulbildung empfing er auf der ehemaligen höheren Bürgerschule und auf dem städtischen Gymnasium seiner Vaterstadt. Ostern 1884 bestand er das Abiturienten-Examen und bezog die Universität Freiburg i. B., indem er zugleich vom 1. April bis zum 1. October 1884 der ersten Hälfte seiner Militärflicht genügte. Ebendasselbst bestand er nach weiterem dreisemestrigem Studium am 23. Februar 1886 das Tentamen physicum. Nachdem er je ein Semester in München und Berlin studirt hatte, kehrte er nach Freiburg zurück und beendigte am 17. Januar 1889 das medicinische Staatsexamen. Vom 5. Februar bis zum 5. August 1889 genügte er zu Freiburg der zweiten Hälfte seiner Militärflicht. Das Examen rigorosum bestand er am 22. November 1889.

Im Laufe seiner Studienjahre besuchte der Verfasser die Vorlesungen, Kliniken und Kurse folgender Professoren und Docenten: BÄUMLER, BARDELEBEN, BAUER, BAUMANN, BOLLINGER, EMMINGHAUS, GERHARDT, HEGAR, KAST, KIRN, KRASKE, VON KRIES, LEWIN, R. MEIER, MANZ, MIDDELDORPF, NUSSBAUM, RÜDINGER, SCHOTTELIUS, SENATOR, STRASSER, THOMAS, WARBURG, WEISMANN, WIEDERSHEIM, WIEDOW, WINCKEL, VON ZIEMSEN.

Allen diesen, seinen hochverehrten Lehrern spricht der Verfasser hier seinen aufrichtigen Dank aus.

10871

321