Beiträge zur Kenntniss des Bacillus der Bubonenpest.¹

Von

Prof. Dr. Zettnow.

(Hierzu Taf. III–V.)

Nachdem Anfang December 1894 das Institut für Infectionskrankheiten durch gütige Vermittelung des Hrn. Prof. Metschnikoff eine Cultur von Pestbacillen erhalten hatte, gestattete mir Hr. Geheimrath Koch, mit den Bacillen einige Versuche anzustellen und zwar in seinen eigenen Arbeitsräumen, um bei der Pathogenität dieser Bakterien für Mäuse und Ratten jeder Verschleppung von Keimen nach Möglichkeit vorzubeugen. Für diese Erlaubniss sage ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.

Zunächst wurden Deckglaspräparate einer 6 Stunden alten, auf Glycerin-Agar bei 37° gewachsenen virulenten Cultur, welche eine von Hrn. Dr. Beck geimpfte Ratte innerhalb 3 Tagen tödtete, angefertigt und nach der Löffler'schen Methode gefärbt, um festzustellen, ob Geisseln sich nachweisen lassen oder nicht. Statt solcher erschien eine grosse Kapsel, wie sie die beiden ersten Figuren auf Tafel III in 1000-facher Vergrößerung zeigen. Zur passenden Vertheilung der Bacillen war eine sehr geringe Menge des Agarbelages in etwa 3^{cem} Leitungswasser gleichmässig aufgeschwemmt und von dieser Flüssigkeit wurden 2 Platinösen voll auf die Deckgläser gebracht, so dass die letzteren in 4 bis 5 Minuten trocken waren. Die abgebildeten Stellen stammen aus der Mitte des Präparates, wo die Färbung auf weite Strecken hin gleichmässig und ziemlich kräftig war, während der Untergrund die ersten Anfänge

¹ Eingegangen am 1. October 1895.

eines Niederschlages zeigt. Im Präparat findet man nicht selten grössere Haufen von Bacillen durch eine gemeinschaftliche Hülle verbunden und in lebhafter Theilung begriffen, wie Fig. 1 diesen Zustand bei einer kleineren Anzahl veranschaulicht. Die Mehrzahl der Bakterien liegt jedoch einzeln oder zu zwei; an vielen Stellen lässt sich in der Hülle ein feinerer Bau erkennen, wie Fig. 2 zeigt. Der eine Bacillus unten, dessen Hülle wahrscheinlich durch mechanische Einwirkungen etwas unregelmässig gestaltet ist, hat sich so weit gestreckt und zur Theilung angeschickt, dass man die Einschnürung eben erkennen kann; von den oberen hat der linke die Theilung eben vollendet und ist von einer fast noch kugeligen Hülle umgeben, während der rechte im Begriff ist, auch in dieser sich zu theilen und sich anschickt, die alte, wohl bald sich auflösende Hülle durch eine neue, sich kräftiger färbende zu ersetzen.

Im Anschluss an meine Veröffentlichung¹ betrachte ich diese völlig nach Art der Geisseln färbbare Hülle als das Plasma der Bakterienzelle und dementsprechend den inneren Theil als Kern. Bei einfacher Färbung der Pestbacillen zeigt sich hin und wieder eine schwache Andeutung der Hülle in Gestalt eines klareren, den Kern umgebenden Raumes, jedoch nur an denjenigen Stellen, wo das Material dick aufgestrichen ist und in Folge dessen soviel fremde Stoffe aus dem Nährboden übertragen sind, dass der Untergrund des Präparates deutlich gefärbt erscheint. Sind die Bacillen jedoch einigermaßen dünn vertheilt, so erblickt man z. B. bei Benutzung einer frischen Cultur nur rundliche, wenig gestreckte Formen, seltener kleine Ketten von 4 bis 6 Individuen.

Bei Untersuchung der lebenden, nach meinen Beobachtungen völlig unbeweglichen Bacillen im geheizten Mikroskop bei 35° kann man leicht bei jedem einzeln liegenden Pestbacillus eine grosse kreisrunde helle Zone beobachten, welche dem Plasma entspricht. In einem besonderen Falle konnte die Theilung eines Individuums verfolgt werden. Als dasselbe um 4^h 34 in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht war, konnte an dem fast runden Kern die erste Andeutung der Theilung bemerkt werden; 6 Minuten später war dieselbe deutlich geworden; 10 Minuten darauf war die Theilung des Kernes vollzogen, auch zeigte das Plasma eine geringe Einbuchtung; um 5^h 15 sah man zwei gesonderte Bacillen, welche sich bis 6^h 30 jedoch nicht von Neuem getheilt hatten, sondern in demselben Zustande verblieben waren wie um 5^h 15. Einer Andeutung von Geheimrath Koch folgend, hatte ich für den Versuch ein Agartröpfchen auf dem Deckglase breit ausgestrichen, um auf ihm statt in Bouillon die Bacillen zu beobachten. Streicht man mit einem haarfeinen Platindraht eine Spur

¹ *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. X. [S. 689.]

des Materials auf der Oberfläche aus, ohne dieselbe zu verletzen, so gelingt es leicht, eine Stelle zu finden, an welcher die Bacillen einzeln und für die Beobachtung bequem liegen.

Die beiden Entdecker der Pestbacillen Kitasato¹ und Yersin² sprechen davon, dass die Bacillen mitunter Kapseln zeigen, doch ist es mir auch bei eifrigem Suchen nicht gelungen, in Ausstrichpräparaten von menschlichem Gewebssaft, welche Kitasato angefertigt hat, Bacillen mit solchen Gebilden zu finden. Durchmustert man das Präparat mit den üblichen Vergrösserungen, z. B. mit Apochr. 2^{mm}, Compens Oc. 4 und 160^{mm} Auszug, in Wirklichkeit also bei $\frac{160 \cdot 4}{2} = 320$ facher Vergrösserung und bei nicht allzu hellem Lichte, so glaubt man hin und wieder helle Höfe, besonders bei kleinen Ketten von Bacillen vor sich zu haben; so wie man jedoch ein stärkeres Ocular, z. B. Nr. 8 und kräftiges Licht anwendet, sieht man den Irrthum ein. Der Hof löst sich alsdann in eine weniger stark gefärbte, jedoch aus denselben körnigen Stoffen wie im übrigen Untergrunde bestehende Masse auf und hat auch nicht entfernte Aehnlichkeit mit den Kapseln, wie sie z. B. beim Fränkel'schen Diplococcus und dem Friedländer'schen Bacillus beobachtet werden, oder wie sie der Pestbacillus im gebeizten Zustand zeigt.

In und auf Glyceringelatine entwickelt sich der Pestbacillus bei 18 bis 22° Zimmertemperatur langsam.

Fig. 3, Taf. III stellt in natürlicher Grösse sein Wachsthum im Stich innerhalb 21 Tagen dar. Als schneeweisser, besonders im unteren Theil aus einzelnen Körnchen bestehender Faden geht er fast gleichmässig in allen Theilen an, ohne die Gelatine zu erweichen; er erreicht auch in längerer Zeit keine bedeutende Ausdehnung, erstreckt sich jedoch auf der Oberfläche bis zum Glase.

Bringt man ihn auf die Platte, so erscheinen die Colonieen gleichzeitig in der Tiefe wie auf der Oberfläche und erreichen bei 18 bis 22° in 5 bis 6 Tagen einen Durchmesser von 0.2 bis 0.3^{mm}. Die in der Tiefe liegenden sind und bleiben scharfrandig und feinkörnig, während die dicht unter der Oberfläche entstandenen, sobald sie auf dieselbe gelangen, einen sehr zarten Rand vorschieben. Fig. 4, Taf. IV zeigt eine derartige Colonie in 125facher Vergrösserung, 6 Tage alt, während Fig. 5 eine ebenso alte Tupfcolonie 100mal vergrössert zeigt. Für photographische Zwecke hat es sich mir als praktisch gezeigt, Oberflächen-Colonieen dadurch herzustellen, dass man mit Hülfe eines sehr feinen, etwa 0.1^{mm}

¹ *Preliminary Notice of the Bacillus of the bubonic plague.* Hongkong, July 1894. p. 2 u. 4.

² *Annales de l'Institut Pasteur.* Septbr. 1894. T. VIII. p. 664.

dicken Platindrahtes die Oberfläche der erstarrten Gelatine an 10 bis 20 Stellen impft; man kann sich auf diese Weise gesonderte Colonieen in beliebigem Abstände verschaffen, bei deren Aufnahme man nicht durch seitliche oder in der Tiefe liegende gestört wird. Die Fig. 5 giebt eine Stelle wieder, an welcher der Platindraht vermöge seiner Federkraft von dem an der Spitze befindlichen Impfmateriale verschieden grosse Mengen dicht neben einander abgesetzt hat.

Die Gestalt der Bacillen in den Reinculturen ist mannigfach. In ganz jungen Glycerin-Agar- oder Bouillon-Culturen zeigt die Mehrzahl der Bacillen fast Kugelgestalt, so dass kleine Verbände von 4 bis 6 Stück, grössere kommen auch bei alten Culturen selten vor, lebhaft an Streptokokken erinnern; neben denselben findet man deutliche Bacillen doppelt bis dreifach so lang als breit; ferner auch bei schwacher Färbung kräftig tingirte kurze und längere Fäden, ohne Andeutung einer Gliederung, die schon als Involutionsformen aufgefasst werden müssen; auch gelingt es bei schwacher Färbung mit Methylenblau, oder falls man Fuchsin benutzt hat, durch Entfärbung mit Alkohol bei den gestreckten Bacillen den mittleren Theil gegenüber den Polen als schwächer färbbar nachzuweisen, kurzum alle Formen wiederzufinden, welche man bei den Figg. 6 bis 9 von Ausstrichpräparaten in 1000facher Vergrösserung herrührend beobachten kann.

Bei Fig. 6, Milzsaft einer von Hrn. Dr. Beck geimpften Ratte, würden diese hellen Lücken noch leuchtender erscheinen, wenn das Negativ weniger stark copirt wäre. Das Präparat ist nach Gram gefärbt, jedoch nicht mit absolutem Alkohol entfärbt, sondern sehr vorsichtig mit solchem von 50 Procent.

Das grösste Interesse beanspruchen die Figg. 7 bis 9, angefertigt nach Präparaten, welche Kitasato im Juni 1894 von menschlichen Pestleichen in Hongkong angefertigt und von denen er eine Anzahl im Januar 1895 Hrn. Geheimrath Koch gesendet hat.

Fig. 7, Herzblut, nach der klumpigen Anordnung der rothen Blutkörperchen zu schliessen, in stark geronnenem Zustand ausgestrichen; Figg. 8 und 9, Bubonenflüssigkeit, von verschiedenen Stellen desselben Präparates. Die Hauptmasse des Präparates zeigt das Aussehen wie Fig. 8; nur hart am Rande befindet sich eine schmale Zone, in welcher die Entfärbung beim Abspülen des Präparates eine stärkere gewesen ist; daher die Polfärbung besser sichtbar geworden ist (Fig. 9).

Im Blut sind die Bacillen nicht überall so reich enthalten, wie die abgebildete Stelle (Fig. 7) es veranschaulicht; sehr selten sind Haufen von Bacillen, wie ich einen solchen, aus etwa 60 grossen und kleinen, dicken und dünnen Individuen bestehend, in einem Kitasato'schen Präparate vom

Blute aus der Fingerkuppe eines Kranken beobachtet und photographirt habe. Dagegen findet man grosse Anhäufungen von Bacillen in den Schnittpräparaten. Bei Durchmusterung der Figuren fallen sowohl bei Nr. 7 wie bei 9 die kleinen, an Streptokokken erinnernden, bei Fig. 7 vielleicht solche vorstellenden Verbände auf.

Die Photogramme sind im Januar 1895 mit Hülfe des grossen Zeiss-schen Apparates auf selbsthergestellten Erythrosinplatten angefertigt worden; ihre Veröffentlichung hat sich verzögert, da ich darauf gehalten habe, dass die Reproduction meiner Negative solche Bilder liefern sollte, dass sie Albumindrucken gleichwerthig sich erweisen, d. h., dass sie bei weissem Untergrunde alle Zartheiten einer Copie auf Albuminpapier zeigen sollten. Nachdem der Lichtdruck bei diesen Anforderungen versagt hatte, habe mich für Kupferätzung entscheiden müssen.

IV

V

VI

VII

VIII

IX