

III. Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen nebst Versuchen über die Entstehung des Milzbrandes durch Einathmung.

Habilitationsschrift

von

Dr. Hans Buchner, königl. bayr. Assistenzarzt.
(München 1880.)

Referat von Dr. Max Gruber. München.

(Schluss aus No. 43.)

Die zunächst unternommenen, mannigfach variirten Versuche durch Impfung mit den unveränderten Heubakterien Milzbrand hervorzurufen, schlugen fehl. Kleine Pilmengen waren wirkungslos, grosse führten zum Tode, der aber lediglich eine Folge der Vergiftung durch die mitinjicirten Zersetzungsproducte der Heupilze, welche sich von diesen nicht trennen liessen, war. Die Heupilze selbst vermochten sich im thierischen Organismus nicht zu vermehren. Diese merkwürdige Erscheinung zeigt, dass vom thierischen Gewebe durch seine Functionen ein schädlicher Einfluss ausgeübt werden muss, denn in den thierischen Flüssigkeiten stand den Heupilzen eine reichliche und, wie die Kulturen ausserhalb des Körpers zeigen, völlig zusagende Nahrung zu Gebote. Ueber die Art dieses Einflusses giebt Nägeli's Gährungstheorie, wonach den lebendigen Zellen eigenthümliche Schwingungszustände znkommen, deren Wirksamkeit sich auf eine gewisse Entfernung ausserhalb ihres Leibes erstreckt, eine Vorstellung. Auch der Versuch, den Heupilzen die Concurrrenz durch Schwächung des thierischen Gewebes, die auf verschiedene Weise herbeigeführt wurde, zu erleichtern, misslang. Es wurden daher die Heubakterien zunächst in thierischen Flüssigkeiten ausserhalb des Organismus gezüchtet. Derartige Flüssigkeiten konnten aber nicht durch Erhitzen pilzfrei gemacht werden, es musste daher der Versuch darüber entscheiden, ob die Fäulnispilze, die vereinzelt stets im Thierkörper vorkommen müssen¹⁾, von der Kultur fern zu halten seien. Zunächst wurde Eiereiweiss mit etwas Fleischextractlösung verwendet, später frisch gesunden Kaninchen entnommenes Blut. Der Erfolg war über Erwarten günstig. Innerhalb der ersten 12—15 Stunden wurde in eine neue Blutprobe umgezüchtet. In den ersten 12 Stunden blieb das Blut, obwohl es bei Körpertemperatur geschüttelt wurde, scheinbar völlig unverändert. Erst um die 15. Stunde herum zeigte die beginnende Carmoisinfärbung die Auflösung der Blutkörperchen an. In den ersten 24 Stunden war niemals Fäulnissgeruch wahrnehmbar. Es entwickelte sich reines Ammoniak. Das Blut wurde also von den Heupilzen wie andere eiweisshaltige Flüssigkeiten zersetzt. Die mikroskopische Untersuchung ergab eine reichliche reine Heupilzvegetation. Andere Pilze traten erst am 2. oder 3. Tage auf und bewirkten dann die ihnen eigenthümlichen Zersetzungen.

Diese Thatsache, dass das Blut auch ausserhalb des Körpers noch die Vermehrung der Fäulnispilze zu verhindern vermochte, während es den Heubakterien einen üppigen Nutzboden darbot, ist höchster Beachtung werth.

Sie zeigt, dass nicht allein verschiedene Individuen, sondern auch einzelne Organe gegen verschiedene Pilze verschiedene Widerstandsfähigkeit haben können und stützt aufs Willkommenste Buchner's Theorie über die Entstehung der specifischen Krankheitsbilder über Disposition und erworbene Immunität²⁾.

Die im Blute gezüchteten Heubakterien erwiesen sich in ihrer Natur verändert. Sie bildeten in Fleischextractlösung gezüchtet, nicht mehr trockene, sondern schleimige Decken, in Heuaufguss wuchsen sie nur mehr spärlich und in verkrümmten Formen. Sie zeigten jetzt die grösste Uebereinstimmung mit der Uebergangsform, die bei der Umzüchtung der Milzbrandpilze in der ungefähr 900. Generation erhalten worden war. Weitere Veränderungen traten beim Weiterzüchten im Blute bis zur 14. Umzüchtung nicht ein. Daher wurde jetzt abermals der Versuch der Züchtung im Thierkörper gemacht. Impfungen mit dem Blute selbst blieben erfolglos. Nun wurden in der Voraussetzung, dass Sporen zu diesen Infectionen geeigneter sein möchten, solche in Fleischextractlösung gezüchtet. Von dem erhaltenen Sporenbodensatz wurden steigende Mengen Mäusen und Kaninchen unter die Rückenhaut injicirt. Kleine Mengen blieben wirkungslos, bei grösseren Mengen traten Abscedirung und septische Erscheinungen ein, in 3 Fällen mit mittleren Pilmengen aber verendeten die Thiere an unzweifelhaftem Milzbrand. Sowohl der anatomische Befund, als die Reinkultur und die Weiterimpfung liessen darüber keinen Zweifel. Hiermit war der

¹⁾ Dieses ergibt sich aus der Leichtigkeit mit der Krankheitskeime, daher auch andere Spaltpilze in den Organismus eindringen.

²⁾ Näheres hierüber in Dr. H. Buchner, Die Nägeli'sche Theorie der Infectionskrankheiten in ihren Beziehungen zur medicinischen Erfahrung. Leipzig, Engelmann 1877.

Beweis des genetischen Zusammenhanges der Milzbrand- und der Heubakterien und die Möglichkeit des Ueberganges der einen in die andere auch in umgekehrter Richtung aufs Vollkommenste erbracht. Um aber bei den Impfungen eine grössere Zahl von positiven Fällen zu erhalten, wurde ein anderes Verfahren der Infection eingeschlagen. In der Vermuthung, dass die mitinjicirte Flüssigkeit durch Verdünnung und Vergiftung der ergossenen Gewebssäfte den Eintritt der septischen Vorgänge befördert habe, wurden Leinenbändchen in die Sporenflüssigkeit getaucht und getrocknet unter die Rückenhaul gebracht, wodurch wenigstens der schädliche Einfluss der Verdünnung vermieden werden konnte. Und wirklich konnte, nachdem die richtige Impfmenge ermittelt war, bei weissen Mäusen mit diesen aus den Heubakterien gezüchteten Pilzen in jedem einzelnen Falle Milzbrand hervorgerufen werden.

Diese Milzbrandfälle unterschieden sich in einem charakteristischen Umstande von den durch Contagion erzeugten. Während bei den letzteren der Tod 24 oder längstens 48 Stunden nach der Impfung erfolgt, dauerte die Incubation nach der Impfung mit den im Blute gezüchteten Heupilzen stets 4—5 Tage. Offenbar ist diese lange Zeit zur völligen Umwandlung der veränderten Heupilze in Milzbrandpilze erforderlich. Obwohl der Beweis der Möglichkeit der Umwandlung der beiden Pilzformen in einander erbracht ist, lässt sich die natürliche Aetiologie des Milzbrandes noch nicht völlig feststellen, da die unveränderten Heupilze Milzbrand nicht hervorrufen und besondere Eigenschaften der Heupilze von Milzbrandlocalitäten noch nicht erforscht sind. Jedenfalls steht eine grundsätzliche Aenderung der geltenden Theorien bezüglich der Entstehung des Milzbrandes bevor, umso mehr als diese mit den Thatsachen durchaus im Widerspruche sind.

Im Anhang zu dieser Untersuchung berichtet Buchner von Versuchen über die Entstehung von Milzbrand durch Einathmung.

Obwohl die Erfahrung darüber keinen Zweifel lässt, dass die Infectionsstoffe leicht durch die Lungen direct ins Blut gelangen können, fehlen über das Nähere dieses Vorganges experimentelle Erfahrungen. Das Milzbrandcontagium erschien hierzu als geeignetes Versuchsobject, wegen der Leichtigkeit, beliebige Mengen rein zu cultiviren, wegen der Bildung der widerstandsfähigen Dauersporen und der Leichtigkeit, den Erfolg der Einathmung zweifellos und rasch durch Nachweis des Milzbrandes sicher zu stellen.

Die Schwierigkeit, das Contagium fein zu vertheilen und längere Zeit fein zerstäubt in der Athemluft zu erhalten, wurde durch einen ebenso einfachen als sinnreichen Apparat überwunden. Die Sporen haltende Flüssigkeit wurde auf verschiedenen pulverigen Substanzen eingetrocknet. Nur wenige derselben waren nach dem Trocknen noch so fein vertheilbar, als es zu diesen Versuchen erforderlich war.

Nur Kohlenpulver und Talkpulver (Federweiss) waren brauchbar. Bei ihrer Zerstäubung trat das positive Resultat überraschend sicher ein. In 24 Fällen, wobei weisse Mäuse je $\frac{1}{4}$ —2 Stunden Sporenstaub athmeten, trat der Tod ein, während von einer grossen Zahl von Einathmungsversuchen mit anderen Pulverarten nur einer, mit gebrannter Magnesia ein positives Resultat gab. Diese letzteren geben nun die beste Controle, dass bei den wirksamen die Aufnahme des Contagiums wirklich durch die Lungen stattfand. Es sind nämlich noch 3 Wege denkbar, auf denen die Infection hätte stattfinden können, Wunden der äusseren Haut, Wunden der Schleimhäute und Aufnahme durch den Verdauungskanal. Nur der erste liess sich ausschliessen, die beiden anderen konnten unmöglich sicher ausgeschlossen werden. Wären sie aber von Einfluss gewesen, dann hätten auch die schlechter stäubenden Pulverarten wirken müssen; nur für die Aufnahme durch die Alveolen der Lunge kann die Feinheit und Leichtigkeit des Pulvers maassgebend sein.

Es wurden aber noch besondere Versuche über die Wirksamkeit des Contagium von den Verdauungswegen aus angestellt, da über diesen Punkt die Anschauungen der Autoren weit auseinander gehen.

Die Experimente hatten bisher positive und negative Resultate fast in gleicher Zahl ergeben. Jedenfalls sind also hier grössere Widerstände — sei es der Einfluss der Verdauungssäfte, sei es Undurchdringlichkeit der unverletzten Schleimhaut — zu überwinden als z. B. bei der Impfung ins Unterhautzellgewebe.

R. Koch hat milzbrandige Massen und Sporen an weisse Mäuse verfüttert, ohne ans Ziel zu kommen. Buchner kam zu demselben Resultate, als er nur Bakterien fütterte. Auch bei Zusatz von Kohlenpulver, das er mit Rücksicht auf die positiven Fälle, die Pasteur und Toussaint bei „Rauehfütterung“ erhalten haben, zufügte, konnte er niemals Milzbrand hervorrufen. Bei Verfütterung von kleinen Sporen-mengen blieb der Erfolg derselbe. Auch Kohlenpulverzusatz nützte hier nichts.

Als endlich grosse Sporenmassen gegeben wurden, traten positive Erfolge ein. So starben von 4 Mäusen, die 4 Tage lang einen

Milzbrandsporenbrei erhielten, 2 am 4., 1 am 5. Tage. Von 6 anderen, die einen Semmelbrei mit grossen Sporen-mengen verzehrten, starben 5 innerhalb 5 Tagen. In letzterem Falle war kein Kohlenpulver zugesetzt worden.

Warum waren nun die Stäbchen bei Fütterung nicht wirksam? Die Verdauungssäfte wirkten offenbar schädlich auf sie ein, denn der entleerte Stäbchenkoth war bei Impfung unter die Rückenhaul unwirksam, während Sporenkoth hierbei auch in kleinster Menge Milzbrand erzeugte. Doch lässt sich so das negative Resultat nicht genügend erklären; da Koth aus der Mitte des Ileums entnommen, Milzbrand hervorrief. Es müssen also auch mechanische Hindernisse vorhanden sein und zwar müssen die Bakterien beim Durchtritt durch die Schleimhaut noch grössere Schwierigkeiten finden als die Sporen, von denen auch wohl eine millionenfach grössere Menge zur wirksamen Infection vom Darmkanal nöthig ist, als zur Infection durch die Lungen. Es ist auch in der That leicht einzusehen, dass ein cylindrisches Stäbchen grösseren Reibungswiderstand findet als ein eiförmiges Körperchen von gleichem Querschnitt. Braucht also das Stäbchen längere Zeit die Schleimhaut zu durchdringen, dann wird ihm wohl der Aufenthalt im sauerstoffarmen Gewebe schaden, der für die Dauerspore gleichgültig ist.

Aus diesen Versuchen geht ganz sicher hervor, dass bei den Einathmungsversuchen keine Gefahr einer Nebenwirkung des Darmkanales vorhanden war, wie noch schlagend folgender Versuch beweist.

Von einem Talkmilzbrandsporenstaub wurde $\frac{1}{4}$ zur Einathmung bei 10 weissen Mäusen verwendet. Alle starben. Die übrigen $\frac{3}{4}$ wurden 10 andern Mäusen derselben Zucht auf einmal verfüttert. Sie blieben sämtlich gesund. Von der zerstäubten Masse war vielleicht der millionste Theil in die Alveolen gelangt, dreimillionenmal so viel blieb im Verdauungskanal unwirksam. Um so viel leichter erfolgt also der Uebergang der Milzbrandpilze im Blut von den Lungen aus. Da bei den Einathmungen der Tod binnen 24—36 Stunden eintrat, also in derselben Zeit wie bei den Impfungen, so ist es nicht wahrscheinlich, dass die Pilze auf dem Wege von den Lungen ins Blut Lymphdrüsen passiren müssen.