

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.]

Zur Kenntniss der anaëroben Bacterien.

Von

Dr. med. **Carl Lüderitz.**

(Hierzu Taf. I.)

Ueber das Verhalten der Bacterien zum freien Sauerstoff sind uns in den letzten Jahren wichtige Aufschlüsse zu Theil geworden. Mit Sicherheit ist festgestellt nicht bloss, dass eine grosse Anzahl von Bacterien zum Lebensprocess den freien Sauerstoff gänzlich entbehren kann, sondern dass es auch Bacterien giebt, die um so besser gedeihen, je vollständiger das Medium, in dem sie sich aufhalten, von Sauerstoff befreit ist. Diese letztere Gruppe, von Liborius¹ als die der obligaten Anaëroben bezeichnet, beansprucht aus verschiedenen Gründen ein ganz besonderes Interesse. Schon die Thatsache an sich, dass, entgegengesetzt allen übrigen uns bekannten lebenden Wesen, diese Organismen vom Sauerstoff nicht förderlich sondern feindlich beeinflusst werden, verdient in allgemein biologischer Hinsicht eingehende Würdigung. Ausserdem aber scheint sich herauszustellen, dass diese Lebewesen nicht nur nicht selten anzutreffen sind, sondern im Gegentheil sich einer ausgedehnten Verbreitung erfreuen und dass es nur an der Mangelhaftigkeit unserer Methoden gelegen hat, wenn wir bisher von ihnen nichts Genaueres gewusst haben. Da sie in den meisten faulenden Substanzen, in den verschiedensten Gährgemischen, in jeder gedüngten Erde in grosser Anzahl anzutreffen sind, so ist die Rolle, die sie im Naturhaushalt spielen, ohne Zweifel eine recht bedeutsame; durch den Umstand, dass einzelne Arten auch pathogene Wirkungen zu entfalten vermögen, werden sie ferner für das ärztliche Interesse von Wichtigkeit.

¹ Liborius, Beiträge zur Kenntniss des Sauerstoffbedürfnisses der Bacterien. *Diese Zeitschrift.* Bd. I. Hft. 1.

Und doch ist uns erst eine ganz geringe Anzahl dieser Bacterienarten genauer bekannt. Sehen wir ab von allen nicht ganz zuverlässigen, zumal auch von den älteren, sich nicht auf sichere Reinculturen beziehenden Angaben, so sind als pathogene Arten der *Bacillus* des malignen Oedems, der Rauschbrandbacillus, sowie eine von Liborius gefundene, von ihm als *Pseudo-Oedembacillus* bezeichnete Art anzuführen; ferner sind von demselben Autor vier saprophytische Arten und von Gruber¹ zwei ebenfalls nicht pathogene und zwar Buttersäure bildende anaërobe Arten beschrieben worden. Bei dieser Spärlichkeit unserer Kenntnisse auf dem vorliegenden, noch sehr der Durchforschung bedürftigen Gebiet erscheint es mir angemessen, durch die nachstehende Beschreibung einiger bisher nicht bekannter, hierher gehöriger Bacterienformen — Art ihrer Gewinnung, Verhalten zum Sauerstoff, mikro- und makroskopische morphologische Charaktere — zur Kenntniss der anaëroben Bacterien einen Beitrag zu liefern.

Dieselben sind sämmtlich, obwohl, wie ich gleich hier bemerken möchte, nach den vorliegenden Erfahrungen nicht pathogen, aus dem Körper von weissen Mäusen und von Meerschweinchen gewonnen, nachdem diese Thiere durch subcutane Einverleibung von Gartenerde krank gemacht und gestorben waren. Die todbringende Ursache war wohl meistens der *Bacillus* des malignen Oedems; wenigstens fand sich ausgedehntes blutiges subcutanes Oedem, auch liess sich der *Oedembacillus* mehrfach in Reincultur daraus herstellen. In anderen Fällen war das Oedem nur spärlich oder fehlte ganz, oder das Unterhautbindegewebe und die angrenzende Muskulatur waren mehr oder weniger reichlich durch Gasansammlung aufgetrieben; mehrfach starben die Thiere unter den Erscheinungen des Tetanus. Stets aber liessen sich aus dem subcutanen Gewebssaft anaërobe Bacterien, häufig nur obligate, bisweilen auch facultative, in wechselnder Artenanzahl gewinnen.

Die zur Reindarstellung dieser Organismen von mir benutzten Methoden anlangend, so dienten als Nährsubstrate — abgesehen von Bouillon für Reinculturen — ausschliesslich die festen Nährböden: 10 procentige Nährgelatine, 1½ procentiger Nähragar, Rinderblutserum. Zur Gelatine und zum Agar waren in der Regel 1½ Procent Traubenzucker hinzugefügt. Von den für die Züchtung anaërober Bacterien in festen Nährmedien angegebenen Methoden — ich gehe im Einzelnen nicht näher auf dieselben ein, sondern hebe als die wichtigsten und brauchbarsten dieser Verfahren hervor: die zuerst von Hesse² angegebene, von Liborius³

¹ Gruber, *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*. 1887. Bd. I.

² Hesse, *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1885. Nr. 14.

³ A. a. O.

dann vervollkommnete Methode der Benutzung hoher Schichten des Nährsubstrats, die von Roux¹ und von Gruber² angegebenen Verfahren der Evacuierung des Culturglases mittelst der Luftpumpe und die jüngst von C. Fränkel³ mitgetheilte Methode der Herstellung eines mit Wasserstoffgas gefüllten Rollröhrchens — von diesen Methoden benutzte ich vorzugsweise die Liborius'sche und die von C. Fränkel angegebene. Anfänglich bediente ich mich auch flacher Glasflaschen, welche die Form der bekannten Urinflaschen in verkleinertem Maassstabe darboten, jedoch ausser der weiteren, den Schnabel bildenden Oeffnung noch an der gegenüberliegenden Seite eine zweite, in ein angeschmolzenes Glasrohr sich fortsetzende engere Oeffnung besaßen: die weitere Mündung diente zur Einführung der beimpften flüssigen Gelatine, die in dünner Schicht auf der planen Grundfläche des Gläschens ausgebreitet wurde, und sodann zur Durchleitung von reinem Wasserstoffgas, welches aus der entgegengesetzten Oeffnung wieder austrat. Kautschukschläuche, Klemmschrauben und ein Paraffinüberzug dieser Theile bildeten nachher den Abschluss des luftfreien, vom Wasserstoffapparat entfernten Gläschens. Wie sich jedoch herausstellte, war dieser Abschluss mitunter kein vollständiger, so dass streng anaerobe Bacterienarten nicht immer zum Wachsthum gelangten; und ich habe deshalb diese Gläschen, obwohl sie die Vorzüge des Plattenverfahrens — die Vertheilung der Keime über eine grosse Fläche und die Möglichkeit bequemen Abimpfens — sehr vortheilhaft darboten, späterhin nicht mehr benutzt. Uebrigens würden sie bei etwas modificirter Ausführung sich gewiss als recht brauchbar erweisen.

Zur Herstellung einer Cultur in hoher Schicht des Nährbodens, einer „hohen Cultur“, wie sie kurz genannt werden möge, wurde das etwa zur Hälfte, in einer Höhe von 7 bis 9^{cm}, mit Gelatine oder Agar gefüllte Reagensgläschen zunächst durch Kochen über freier Flamme oder auch durch etwa 10 Minuten langes Erhitzen in siedendem Wasser möglichst von Luft befreit, sodann durch Hineinstellen in Eiswasser rasch wieder etwas abgekühlt und darauf bei 30 bis 40° mit dem zu prüfenden Material beimpft. Dabei ist es wichtig, dass man die eingeführten Keime möglichst gleichmässig in dem flüssigen Medium vertheilt und ausserdem sowohl bei dieser Procedur als bei der durch Ueberimpfen in ein zweites und drittes Gläschen geschehenden Herstellung von Verdünnungen das Miteinführen von Luft in die Nährsubstanz so viel als möglich vermeidet. Ganz zweckmässig erreicht man dies mit Hülfe eines langen und starken,

¹ Roux, Sur la culture des microbes anaërobes. *Annal. de l'inst. Pasteur* I. 1887.

² A. a. O.

³ C. Fränkel, Ueber die Cultur anaërober Mikroorganismen. *Centralblatt für Bacteriologie*. 1888. Bd. III.

in eine grosse Oese endenden Platindrahtes, welcher bis auf den Boden des Gläschens eingetaucht und dann in dem Medium einige Male auf und ab und leicht rotirend bewegt wird. Zur Ueberimpfung wird die aus dem ersten Gläschen entfernte Schlinge sofort in ein zweites Gläschen eingeführt und die beimpften Nährsubstrate werden darauf in Eiswasser rasch zum Erstarren gebracht. Von grosser Wichtigkeit bei dem angegebenen Verfahren ist das vorherige Auskochen des Nährbodens, ohne welches, zumal bei Benutzung etwas älterer und deshalb mit Sauerstoff stärker imprägnirter Nährsubstanz, das Wachsthum obligater Anaëroben oft völlig ausbleibt; mehr zur Zeitersparniss, als zur Verhütung von Luftabsorption dient das weiter angegebene Abkühlen in Eiswasser.

Charaktere und Werth dieser hohen Culturen sind von Liborius bereits erörtert worden. Gleichwohl möchte ich, da seine Angaben sich zum Theil vervollständigen lassen, noch einmal kurz auf diese Punkte hier eingehen. Durch den Umstand, dass von der Oberfläche der Cultur aus die Luft in dieselbe eindringen kann und dass hierdurch die oberen Schichten des Nährbodens sich mit Sauerstoff sättigen, ganz unten jedoch nur Spuren dieses Gases oder auch gar kein Sauerstoff hingelangt, hat diese Methode vor allen anderen den grossen Vorzug, dass das Verhalten einer bestimmten Bacterienart zum Sauerstoff auf engem Raum in einem einzigen Bilde klar zu Tage tritt. Die aëroben Bacterien wachsen nur in den obersten Schichten, die gegen Luft indifferenten in jeder Höhe des Nährbodens, während die luftempfindlichen Anaëroben nur in den tieferen Schichten sich zu entwickeln vermögen. Je nachdem diese Empfindlichkeit gegen Luft eine geringere oder grössere ist, beginnt das Wachsthum der letzteren 0.5 bis 4^{cm} unterhalb der freien Oberfläche, und diese obere Grenze liegt bei sehr reichlicher Einsaat höher, mitunter gut 1^{cm} höher, als wenn nur eine geringere Anzahl von Keimen hineingelangt ist. Wurde das Impfmateriel recht gleichmässig in dem Nährmedium vertheilt, so ist ferner stets zu beobachten, dass die einzelnen Colonieen nach dem Boden des Glases hin an Grösse zunehmen und dass auch ihre Anzahl nach unten hin reichlicher ist.

Als ein Nachtheil der Methode ist zunächst zu erwähnen, dass sie in Bezug auf die Isolirung der Keime und das Entstehen getrennter Colonieen hinter dem Plattenverfahren bei Weitem zurücksteht: der disponible Raum ist zu klein und stärker anaërobe Bacterien gelangen, wenn sie in dem im Nährboden vertheilten Bacteriengemisch nicht schon von vornherein in relativ grösserer Zahl enthalten sind, neben weniger anaëroben oder gegen Luft indifferenten Arten häufig gar nicht zur Entwicklung. Vielleicht mag ausserdem der Umstand, dass das Nährsubstrat trotz des Auskochens nicht von allen Spuren von Sauerstoff befreit ist,

hier störend einwirken. Ein anderer Uebelstand liegt in der oft recht grossen Schwierigkeit des Abimpfens. Hier nämlich bleibt, wenn man nicht schon eine Reincultur vor sich hat, meistens nichts übrig, als unter sorgfältiger Vermeidung jeder Verunreinigung das Gläschen zu zerschlagen; und auch dann kann es noch recht schwierig sein, sich durch Loslösen des Nährbodens vom Glase und durch Zerschneiden desselben die betreffende Colonie zur Abimpfung freizulegen. Ein dritter Nachtheil der Methode besteht in dem Umstande, dass hohe Culturen von obligaten Anaëroben, besonders von solchen Arten, welche den Nährboden wenig oder gar nicht verflüssigen, sich nach Wochen, wenn man von ihnen weiterimpfen will, nur wenig lebenskräftig und bisweilen ganz abgestorben erweisen, und dies nicht nur in den oberen und mittleren, sondern auch in den tiefsten Partieen des Nährbodens. Schuld hieran kann nur der von der Oberfläche her im Nährboden verbreitete Sauerstoff sein, der eben nicht bloss in den obersten Schichten, hier allerdings am reichlichsten, sich ansammelt, sondern allmählich bis auf den Boden des Gläschens vordringt. Auf diese deletäre Wirkung des Sauerstoffs wird weiter unten noch des Näheren eingegangen werden.

Die eben beschriebenen Mängel der Methode der Züchtung in hohen Nährböden schränken den Werth derselben ohne Frage erheblich ein, trotzdem aber bleibt sie wegen der Leichtigkeit, mit der sie auszuführen ist, und wegen der instructiven Bilder, die sie liefert, ein werthvolles Forschungsmittel.

Weniger bequem und weniger instructiv, aber dafür auch frei von jenen oft sehr unangenehmen Mängeln, ist die zweite von mir vorzugsweise benutzte Methode: Züchtung in dem von C. Fränkel angegebenen, mit Wasserstoff gefüllten Rollröhrchen. Ein nur wenige Centimeter hoch mit Nährgelatine gefülltes Reagensglas wird in gewöhnlicher Weise beimpft und anstatt mit dem Wattepfropf sodann mit einem sorgfältig sterilisirten, doppelt durchbohrten, mit zwei dünnen Glasröhren armirten Gummistöpsel verschlossen, der zur Sicherung eines luftdichten Verschlusses noch einen Paraffinüberzug erhält. Nachdem mittelst der Glasröhren, von denen die eine bis auf den Boden des Gläschens hinabreicht, ein Strom einer „indifferenten“ Gasart, und zwar reinen Wasserstoffgases, während $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunde durch die flüssig erhaltene Gelatine geleitet und dadurch die Luft aus dem Gläschen entfernt worden ist, werden beiderseits die Röhrchen abgeschmolzen und wird alsdann durch schnelles Umdrehen des Gläschens in Eiswasser die Gelatine in dünner Schicht an den Wänden desselben ausgebreitet. Die Methode hat sich recht gut bewährt und ist bei einiger Uebung auch nicht zu zeitraubend. Ein Hineinfallen von Luftkeimen in das Gläschen

lässt sich in der Regel vermeiden, ist übrigens, da die Keime gesondert zur Entwicklung kommen, von geringem Belang. Bei der Herstellung von Bouillonculturen, die nach der gleichen Methode der Austreibung der Luft mittelst Wasserstoffgases geschieht, müssen fremde Keime natürlich gänzlich ausgeschlossen werden, aber, wie gesagt, wird bei genügender Umsicht dies auch in den allermeisten Fällen erreicht.

Es möge nun die Beschreibung der von mir gefundenen, nur bei Sauerstoffabschluss gedeihenden Bacterienarten folgen. Die denselben beigefügten Benennungen, die nach den Hauptmerkmalen der Gelatine-culturen gewählt sind, haben nur den Zweck, zur besseren Verständigung zu dienen, und könnten füglich auch durch andere Bezeichnungen ersetzt werden.

1. *Bacillus liquefaciens magnus*. Bewegliche, an den Enden leicht abgerundete Bacillen von 0.8 bis 1.1μ Dicke und wechselnder Länge. Die meisten Stäbchen sind 3 bis 6μ lang, gerade oder etwas gekrümmt, doch findet man auch kürzere von 2μ Länge und andererseits längere, bis 50μ lange, gerade oder gewundene Fäden. Kommt es zur Sporenbildung, so findet man ein ovales glänzendes Körperchen in dem 4 bis 6μ langen Stäbchen, entweder in der Mitte oder mehr oder weniger nahe dem einen Ende desselben, nicht selten aber sind auch in einem längeren Faden, ohne dass eine Gliederung desselben in Einzelzellen sich bemerkbar macht, eine oder mehrere Sporen anzutreffen. Der Dickendurchmesser der sporenführenden Bacillen ist meist etwas grösser als der der sporenfreien, auch haben sie ein etwas blässer Aussehen. Die freien Sporen sind stark glänzend, 0.8μ breit und 1 bis 2μ lang, die längeren Gebilde haben die Gestalt eines an den Enden abgerundeten Stäbchens. Mit wässerigen Lösungen von Methylviolett, Fuchsin und Methylenblau erzielt man kräftige Färbung der Bacillen; bei Anwendung von Lugol'scher Lösung färben sich die sporenhaltigen Bacillen (gezüchtet in Traubenzucker-Gelatine), manche nur fleckweise und blass, andere in toto und ausgeprägt, violett. Dieselbe Reaction haben Prazmowski¹ und Gruber² an den von ihnen beschriebenen anaëroben Buttersäurebacillen beobachtet, die jedoch in ihren übrigen Eigenthümlichkeiten von dem vorstehend beschriebenen *Bacillus* durchaus verschieden sind.

Das Wachsthum in Nährgelatine, gleichgültig, ob dieselbe Traubenzucker enthält oder nicht, ist schon bei Zimmertemperatur ein lebhaftes: meist schon 24 Stunden nach der Aussaat zeigt sich auch makroskopisch

¹ Prazmowski, *Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten*. Leipzig, 1880.

² A. a. O.

beginnende Entwicklung. In hoher Cultur sieht man, 1 bis 2^{cm} unterhalb der Oberfläche beginnend, durch dieselbe verstreut kleine Pünktchen oder Strichelchen oder bis sandkorngrösse graue Bläschen, die bei schwacher Vergrösserung den in Fig. 6 dargestellten Anblick geben, nach zwei Tagen sind die Colonieen 1 bis 2^{mm} grosse glattrandige, mit durchscheinendem mattweisslichen Inhalt gefüllte Kugeln. Bei weiterer Vergrösserung derselben tritt in der Mitte oder am Boden jeder Kugel eine weissliche Flocke hervor und nach 3 bis 4 Tagen ist in der Regel die ganze Gelatine verflüssigt. Gleichzeitig wird auch die obere colonieenfreie Zone der Gelatine von unten her aufgezehrt und es bleibt eine anfangs trübe, späterhin unter Abscheidung eines weisslichen schleimigen Bodensatzes sich klärende Flüssigkeit. Bei Aussaat von nur wenigen Colonieen ist das rasche Wachsthum dieses Bacillus besonders deutlich wahrzunehmen: die einzelnen Colonieen, rasch sich vergrössernd, am oberen Pol häufig mit einer kleinen Gasblase versehen, nehmen in einigen Tagen die ganze Breite des Gläschens ein, breiten confluirend sich nach allen Richtungen hin aus und haben binnen Kurzem die ganze Gelatine verflüssigt.

Die Gasbildung dieses Bacillus ist nicht besonders reichlich, wird durch Hinzufügung von Traubenzucker (1 bis 2 Procent) zur Gelatine deutlich vermehrt und ist am ausgesprochensten bei den in Wasserstoffröhrchen hergestellten Culturen bemerkbar. Das Gas hat einen sehr unangenehmen, an alten Käse und Zwiebeln erinnernden Geruch; eine chemische Analyse desselben wurde nicht ausgeführt.

In Gelatine-Stichculturen entsteht in zwei Tagen eine 1 bis 1.5^{cm} unter der Oberfläche beginnende, bis zum Grunde des Stiches reichende, einige Millimeter breite Verflüssigung, deren Form in Fig. 1 wiedergegeben ist: wurstförmig mit geraden Contouren, oder auch wie zart gedrechselt aussehend, mit mattweissem silbergrauen Inhalt.

Auch in Agar, mag derselbe Traubenzucker enthalten oder nicht, sowie in Blutserum tritt üppiges Wachsthum ein. Die obersten Colonieen liegen hier der Oberfläche etwas näher wie in den Gelatineculturen, bei sehr grosser Anzahl beträgt im Agar die obere colonieenfreie Schicht häufig nur 5^{mm}. Die einzelne Colonie, besonders wenn sie noch jung ist, hat im Nähragar ein zart verästeltes Aussehen, wie es etwa gewissen Moosarten eigen ist. Bei älteren Colonieen, die einen Durchmesser von 3 bis 4^{mm} erreichen, sind die Verästelungen gröber, verworren und verwaschen, aber das Bild ist immer noch typisch und von den Wuchsformen anderer Bacterien zu unterscheiden. Fig. 7 giebt das vergrösserte Abbild einer 4 Tage alten Colonie. — In frisch erstarrtem Blutserum bildet sich bei Stichculturen (bei Brüttemperatur) in 24 Stunden ein einfacher Streif im Verlaufe des Stichs, weiterhin entstehen rasch zahlreiche seitliche Aus-

läufer, wie eine Bürste anzusehen, und bald ist unter Entwicklung von deutlich faulig riechenden Gasen der grösste Theil des Serums verflüssigt.

Pathogene Eigenschaften scheint der *Bacillus* nicht zu besitzen. Wenigstens blieben zwei weisse Mäuse, deren eine den vierten Theil einer Pravaz'schen Spritze voll Gelatinecultur subcutan injicirt erhielt, während der anderen ein mit derselben Flüssigkeit getränktes sterilisirtes Wattebäuschchen tief in eine Hauttasche eingeführt wurde, ganz munter, und ebensowenig wurden bei zwei Meerschweinchen, denen je eine halbe Pravaz'sche Spritze voll Gelatinecultur subcutan einverleibt war, besondere Krankheitserscheinungen bemerkt.

2. *Bacillus liquefaciens parvus*. Stäbchen von 0.5 bis 0.7 μ Dicke und wechselnder Länge. In den Colonieen können sie zu langen, oft vielfach gekrümmten Fäden auswachsen, in flüssigen Nährmedien (Bouillon) fehlen die Fäden und die mittlere Länge der isolirten, mitunter noch in der Theilung befindlichen und dann zu zweien zusammengefügt, Stäbchen beträgt 2 bis 5 μ . Deutliche Eigenbewegung konnte nicht beobachtet werden; allerdings wurden die Beobachtungen an Präparaten, zu denen die Luft ausgiebigen Zutritt hatte, vorgenommen, aber auch floriden Culturen entnommene und rasch untersuchte Objecte zeigten die Bacillen völlig bewegungslos. Die Verhältnisse der Sporenbildung liessen sich nicht genau feststellen, doch ist es mir wahrscheinlich, dass die Bacillen, wie andere Anaeroben, dabei sich im Dickendurchmesser vergrössern. Denn in Bouillonculturen von 37° — für viele Bacterien ein zur Sporenbildung sehr geeignetes Medium — ist der Dickendurchmesser sehr vieler Bacillen etwas grösser als der oben angegebene, bis 1 μ gross; und in Blutserumculturen wurden neben Stäbchen von geringerem, 0.6 μ betragenden Querdurchmesser sogar solche bis zu 1.2 μ Dicke, die dann oft an den Enden leicht verjüngt waren, angetroffen. In den letztgenannten Culturen zeigten ausserdem die Bacillen vielfach, bald an beiden Enden, bald in einer Reihe durch den ganzen Zellenleib oder verstreut in demselben, kleine rundliche glänzende Gebilde, und ähnliche glänzende Körperchen, die aber von sehr ungleicher Grösse waren, fanden sich frei neben den Stäbchen. Mit Anilinfarben liessen sich nur die Stäbchen, nicht aber jene glänzenden Körperchen, die also vielleicht als Sporen anzusehen sind, tingiren. Der wiederholt erhobene gleiche Befund und die aus diesen Blutserumculturen vorgenommene Weiterzüchtung des *Bacillus* in Reincultur liessen die Möglichkeit, dass etwa eine Verunreinigung vorlag, ausschliessen. — Mit wässerigen Lösungen der drei vorhin genannten Anilinfarben färben sich die Bacillen gut, Granulosereaction konnte nicht beobachtet werden.

In Nährgelatine, Nähragar, Bouillon und Blutserum erfolgt, sobald überhaupt eine anaerobe Existenz ermöglicht ist, bei 20 bis 22° lebhaftes Wachsthum, bei Traubenzuckerzusatz zum Nährsubstrat noch lebhafter als ohne denselben. Das Verhalten des Bacillus zum Sauerstoff betreffend, so schliesst er sich der zuerst beschriebenen Bacterienart an, ist vielleicht jedoch um ein Geringes gegen Luft empfindlicher als diese. In hohen Gelatineculturen, in denen die Keime gleichmässig vertheilt wurden, sowie in Gelatine-Stichculturen hat die obere von Colonieen freie Zone eine Dicke von 1 bis 2^{cm}. Die einzelne Colonie hierselbst ist nach 1 bis 2 Tagen (bei 20°) eine punktförmige, bei Loupenvergrösserung rundliche, rauh begrenzte Masse, verflüssigt in geringem Grade die Gelatine und wächst, wenn die Colonieen nicht zu dicht gesät sind, zu etwa 2 bis 2.5^{mm} breiten, durch ihre veränderte Lichtbrechung von der umgebenden Gelatine sich deutlich abgrenzenden, in ihrem oberen Theile mit klarer Flüssigkeit, im unteren mit weisslichem Bodensatz gefüllten kugeligen Bezirken heran. Besonders zierliche Bilder erhält man an Stichculturen, in denen die aneinandergereihten, nach unten an Grösse zunehmenden Colonieen wie eine Perlenkette aussehen (s. Fig. 3). Auf der Platte entstehen graugelbliche, etwa einen Millimeter breite runde Klümpehen, die bei schwacher Vergrösserung eine unebene höckerige Begrenzung und eine schmale Zone klarer Verflüssigung zeigen.

Im Agar präsentiren sich die Colonieen, die in hoher Cultur hier schon weiter oben als in der Gelatine, 0.5 bis 1^{cm} unter der Oberfläche, beginnen, als undurchsichtige compacte Massen, die anfangs ziemlich glatt begrenzt und meist von tafelförmiger, oft mandel- oder wetzsteinförmiger Gestalt sind, später durch knollige und buschige Wucherungen ein weniger charakteristisches Aussehen erhalten (s. Fig. 10). — Erstarrtes Blutserum wird durch den Bacillus, der hier vom Stichcanal aus knollige verwaschene Auswüchse bildet, langsam verflüssigt.

Gasbildung wurde in den Gelatineculturen nicht beobachtet; im Agar, auch im traubenzuckerfreien, traten einige Male spärliche Gasblasen auf, desgleichen im Blutserum; in Bouillon entstand deutlicher Fäulnisgeruch.

Auch dieser Bacillus erwies sich gleich dem vorigen — geprüft allerdings nur an einer kleinen weissen Maus, welcher $\frac{1}{4}$ ^{cem} verflüssigter, von zahlreichen Colonieen durchsetzter Gelatinecultur in das Unterhautgewebe applicirt worden war — als nicht pathogen.

3. *Bacillus radiatus*. Bewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden von etwa 0.8 μ Dicke und meist 4 bis 7 μ Länge. Auch kürzere Exemplare kommen vor, andererseits sind auch lange Fäden, an denen mitunter die Zusammensetzung aus einzelnen Gliedern erkennbar ist,

häufig anzutreffen. Die Beweglichkeit ist geringer als beim *B. liquefaciens* magnus und nur in frischen lebenskräftigen Culturen deutlich. Die Sporen fanden sich immer nur in den einzelnen Bacillen, nicht in den Fäden, und zwar in der Mitte oder mehr dem einen Ende genähert. Clostridiumformen entstehen nicht, doch sind die sporenführenden Stäbchen meist etwas dicker. Die freien Sporen sind 0.8 bis 0.9μ dick, 1.2 bis 2μ lang, stark glänzend, mit rundlichen Enden. — Untersucht man Gelatineculturen, die nicht mehr ganz frisch sind, so findet man häufig neben den typischen schlanken Fäden blasse, kugelige oder körnige Massen von etwas grösserem Durchmesser wie die Bacillen, mitunter in äusserst reichlicher Anzahl und den Haupttheil der festen Culturmasse ausmachend. Offenbar handelt es sich um Zerfallsproducte der Fäden, da diese selbst mitunter am einen Ende zu derartigen Bildungen angeschwollen sind. Ferner sind in solchen älteren Culturen nicht selten eigenthümliche gelblich glänzende Gebilde von etwa 0.8μ Dicke und 1.5 bis 3μ oder noch grösserer Länge, mit glatten oder zackigen Contouren, anzutreffen, die wohl als krystallinische Formationen anzusprechen sind. — Anilinfarbstoffe werden von den Bacillen gut aufgenommen, bei Anwendung von Lugol'scher Lösung tritt bloss Gelbfärbung ein.

Ein gutes Nährsubstrat für den Bacillus ist schon die gewöhnliche Gelatinemischung, die von ihm energisch verflüssigt wird, doch wird durch Traubenzuckerzusatz das Wachsthum deutlich verstärkt. Bei reichlicher Einsaat lebenskräftigen Materials in hohe Nährgelatine ist bei 22° schon nach 24 Stunden letztere in ganzer Ausdehnung mit Ausnahme der obersten 1 bis 2^{cm} breiten Zone trübe von zahllosen feinsten Colonieen, erscheint dann von zahllosen glänzenden Fäserchen, die oben eine sehr zierliche Grenze der Cultur bilden, dicht durchsetzt und ist binnen 2 bis 3 Tagen verflüssigt, während gleichzeitig unterhalb der festen Gelatineschicht sich etwas Gas angesammelt hat. Weiterhin wird auch diese letztere Gelatine rasch aufgezehrt und es bleibt eine trübe, später sich bald klärende und etwas Sediment abscheidende Flüssigkeit. Entwickeln sich nur wenige Colonieen, so wird man an die strahligen Wuchsformen von Schimmelpilzen erinnert: von einem aus verfilzten Fasern bestehenden, zum Theil verflüssigten Centrum aus strahlen allseitig feinste, häufig in ihrem Verlaufe durch intacte Gelatine unterbrochene Fäserchen aus, die sich weithin und in den Bereich anderer Colonieen hinein durch die Gelatine verbreiten (s. Figg. 2 und 8). Während dann das compactere Centrum der Colonie an Ausdehnung zunimmt, bilden die strahligen Ausläufer, die unter dem Mikroskop sich aus geraden oder gewundenen, oft spiralig gedrehten und durcheinander gewirrten Bacillenfäden zusammengesetzt zeigen, häufig das Centrum für neue radiär sich ausbreitende

Colonieen, und in wenigen Tagen ist von einigen wenigen Keimen aus die ganze Gelatine von Fäden dicht durchsetzt und gleichzeitig verflüssigt. Ein ähnliches Bild erhält man auf der Platte (im Wasserstoffröhrchen): ein dichteres Centrum und reichliche gerade oder leicht gebogene feine Ausläufer. Die beschriebenen Bilder entstehen jedoch nur, wenn es sich um ganz lebenskräftige Keime handelt, besonders also, wenn das Material direct dem Thierkörper oder einer von Sauerstoff gründlich befreiten Cultur entnommen wurde. Wird dagegen der *Bacillus* einfach in hoher Nährgelatine weiter gezüchtet, so nimmt nach mehreren Uebertragungen seine Wachsthumsenergie ab, vielfach kommt nur ein Theil der eingepflichten Keime zur Entwicklung, und die Colonieen haben auch ein anderes Aussehen: die Strahlenbildung ist gering oder fehlt ganz, meist überwiegt die Verflüssigung, und die Colonieen bilden dann rundliche oder nach unten sich verschmälernde, aus trüber Flüssigkeit und dickem Sediment bestehende Massen. — Im Stich beginnt das Wachsthum ebenfalls 1 bis 2^{cm} von der Oberfläche der Gelatine entfernt: in zwei Tagen entstehen hier, senkrecht zu einer axialen, dem Verlauf des Einstichs entsprechenden, etwas dichteren Masse, zahllose feine mattglänzende Ausläufer, die vielfach verästelt und mit einander verfilzt sind, so dass das Ganze etwa wie eine mit zahlreichen Nebenwurzeln versehene Hauptwurzel oder auch wie eine stark behaarte Raupe gestaltet ist.

Im Nähragar bilden die Colonieen, die hier etwa 1^{cm} unterhalb der Oberfläche die obere Grenze ihres Auftretens haben, zarte Verästelungen, die in den ersten Tagen sehr ähnlich den Entwicklungsformen des *B. liquefaciens magnus*, nur noch zarter als diese sind. Werden sie grösser — sie erreichen einen Durchmesser von 3 bis 4^{mm} — so werden die Hauptäste stärker, das Gewirr der feineren Ausläufer wird dichter, an der Peripherie zeigen sich plumpe Auswüchse, im Ganzen jedoch sind die Formen zarter und schlanker wie bei der zuerst beschriebenen Bacterienart (s. Fig. 9). Auch im traubenzuckerfreien Agar ist die Entwicklung lebhaft. — Blutserum wird durch den *Bacillus* stark verflüssigt.

In allen Nährsubstraten wurden ferner mässige Gährungserscheinungen beobachtet, bei Zuckerzusatz zur Gelatine bez. zum Agar stärker als ohne denselben, noch stärker in den durch Wasserstoffdurchleitung luftfrei gemachten Culturen. Die in Zuckergelatine entwickelten Gase hatten einen unangenehmen, stechenden, ungefähr wie beim *B. liquefaciens magnus* an Käse und Zwiebeln erinnernden Geruch, während die Zersetzung des Blutserums unter Entwicklung stark faulig riechender Gase vor sich ging.

Für Mäuse erwies sich der *Bacillus* als nicht pathogen: einer weissen Maus wurde etwas mit flüssiger Gelatinecultur getränkte sterilisirte Watte in eine subcutane Tasche gebracht, einer zweiten Maus wurde 0.25^{cem}

ebensolcher Culturflüssigkeit unter die Rückenhaut injicirt; beide Thiere blieben gesund.

4. *Bacillus solidus*. Diese Bacillen haben eine Dicke von 0.5μ und eine Länge von im Mittel 4.5μ . Auch kürzere Stäbchen bis 1μ herab, sowie längere, bis 10μ , die dann oft aus zwei Stücken bestehen, trifft man an, eigentliche Fäden jedoch nicht. Sie sind, wenn recht frisch untersucht, ziemlich lebhaft beweglich: purzelnd und pendelnd und dabei sich vorwärts bewegend. Die Sporenbildung anlangend, so trifft man in älteren Gelatineculturen vielfach Stäbchen, die am einen Ende oder beiderseits ein kleines, den Durchmesser des Stäbchens kaum überschreitendes glänzendes Körperchen aufweisen, das vielleicht als Spore zu deuten ist; doch fanden sich keine freien Sporen vor. Die Färbung der Bacillen mit Anilinfarben (Methylviolett, Fuchsin, Methylenblau) gelingt gut, Granulosereaction konnte nicht erzielt werden.

Der *Bacillus* ist etwas stärker anaërob als die vorstehend beschriebenen Arten, lässt sich aber ohne Schwierigkeit in den gebräuchlichen Nährmedien züchten. In Traubenzuckergelatine entstehen in zwei Tagen punktförmige Colonieen, die compact, rundlich und glattbegrenzt bleiben und bis zu Mohnkorngrösse heranwachsen können. Verflüssigung findet nicht statt, degegen ziemlich reichliche, besonders bei lebhaftem Wachsthum den Nährboden zerklüftende Entwicklung von unangenehm nach zersetztem Fusschweiss riechenden Gasen. Fehlte der Traubenzuckerzusatz, so war das Wachsthum nur spärlich und die Gährungserscheinungen blieben aus. Als Illustration ist in Fig. 4 das Aussehen einer Gelatine-cultur wiedergegeben. — Im Nähragar werden die Colonieen nur wenig grösser, sind zart und durchscheinend und bei schwacher Vergrösserung am besten wohl einer weichen Watteflocke vergleichbar. — Blutserum wird nicht verflüssigt, das Wachsthum beschränkt sich hier auf die mittleren und unteren Parteen der Stichgegend, in deren Umgebung ausserdem einige Gasblasen auftreten. — Sehr lebhafte Entwicklung erhält man in luftfreier Bouillon, die bei Brüttemperatur sich in 24 Stunden stark trübt und faulig stinkende Gase producirt. — Pathogene Wirkung scheint der *Bacillus* nicht zu besitzen, wenigstens blieb ein Meerschwein, dem 0.5 ccm verflüssigter, stark bacillenhaltiger Gelatine-cultur unter die Haut gespritzt wurde, gesund.

5. *Bacillus spinosus*. Bewegliche, gerade oder gekrümmte, an den Enden abgerundete Bacillen von im Mittel 0.6μ Dicke und verschiedener Länge. Die kürzesten Stücke maassen 1.5μ , die gewöhnliche Länge betrug 3 bis 8μ ; doch trifft man auch vielfach, ausnahmslos in dem Absatz von Gelatineculturen, lange, oft stark gekrümmte Fäden an, die

mitunter noch die Zusammensetzung aus einzelnen Gliedern erkennen lassen und dann bei Färbung mit Anilinfarben neben den stark tingirten Zellenkörpern ein schwächer gefärbtes Bindemittel zeigen. Im Stadium der Sporenbildung, die nur an den einzelnen 3 bis 6μ langen Stäbchen constatirt werden konnte, verdicken sich letztere, so dass ihr Durchmesser, besonders mehr weniger nahe dem einen Ende, wo die längliche Spore gelegen ist, 1 bis 1.2μ gross wird, während die Enden der Stäbchen sich stärker abrunden oder etwas verjüngen. Doch kommt es nicht zu den typischen, z. B. von Prazmowski beschriebenen Clostridiumformen. Die Bewegungen des Bacillus sind ziemlich lebhaft: purzelnd, wackelnd oder einfach gradlinig; an den sporenführenden Stäbchen ist dabei bald das Ende, wo die Spore liegt, bald das andere Ende das vordere. — Mit wässerigen Lösungen von Methylviolett, Fuchsin, Methylenblau erzielt man gute Färbung, Granulosereaction bleibt aus.

Obwohl der Bacillus stärker anaërob ist wie die vier vorstehend beschriebenen Arten, so lässt er sich doch, sobald nur für ausgiebige Entfernung des Sauerstoffs gesorgt ist, in den gebräuchlichen Nährböden zu üppigem Wachsthum bringen. Ganz wesentlich aber ist ein Zuckerezusatz zur Gelatine bez. zum Agar, ohne welchen in hohen Culturen meist überhaupt kein Wachsthum erfolgt. In hoher Nährgelatine bilden sich, der grösseren Luftempfindlichkeit entsprechend erst 3 bis 3.5 cm unter der Oberfläche beginnend, bei 20° in zwei Tagen rundliche oder unregelmässige mohnkorn- bis hanfkorn-grosse Verflüssigungen, die weiterhin zu grösseren, grau schillernden, im Innern mit weisslicher strahliger Wucherung versehenen, flüssigen Kugeln heranwachsen. Während die strahligen Ausläufer der im Innern dieser Kugeln gelegenen dichten Bacterienmasse an den oberen Colonieen meist fehlen, treten sie um so ausgeprägter auf, je tiefer im Glase die Colonie gelegen ist, und überschreiten hier vielfach die Grenze der kugeligen Verflüssigung, so dass die Colonie etwa wie ein Stechapfel anzusehen ist. In Fig. 5 habe ich von diesen Wuchsformen eine Anschauung zu geben versucht. Späterhin, doch viel langsamer wie beim *B. liquefaciens magnus* und *B. radiatus*, confluiren die Colonieen und auch nach oben hin schreitet die Verflüssigung fort, während gleichzeitig reichliche schleimig-geballte Massen sich absetzen. Die Zoogloea-Bildung markirt sich besonders merkwürdig, wenn man massenhaftes Material zur Einsaat benutzt hat: es erscheint dann in der stark getrübten, von einer 2.5 bis 3 cm hohen intacten Gelatineschicht bedeckten Flüssigkeit eine sanduhrförmige, oben und unten an den Grenzen der Cultur breitbasig aufsitzende, später zu Boden sinkende, schleimig verfilzte Masse, die sich mikroskopisch als aus zahllosen Bacillenfäden und Fädensträngen und einer schleimigen Zwischensubstanz bestehend erweist. — Auf der

Platte entstehen runde, mit trüber Flüssigkeit gefüllte und in der Mitte einen grobstrahligen weisslichen Ballen enthaltende Colonieen, deren Rand bei stärkerer Loupenvergrösserung fein radiär gefasert erscheint. Die Stichcultur giebt eine zierliche, etwa einer stacheligen Raupe gleichende, Verflüssigung.

Im Agar bilden die Colonieen undurchsichtige, von einem verwaschenen Saum umgebene Klümpchen, die bis zu 4^{mm} breit werden können; sie erscheinen mikroskopisch aus zahllosen verschlungenen Fädchen zusammengesetzt, die bei grösseren oder älteren Colonieen nur noch in der Randzone erkennbar (s. Fig. 11) oder auch ganz durch plumpe knotige Massen ersetzt sind. — Erstarres Blutserum wird durch den Bacillus ausgedehnt verflüssigt.

Bezüglich der Menge der producirtten Gase schliesst sich der *B. spinosus* etwa den ad 1 und ad 3 beschriebenen Anaërobenarten an: meist wird, sobald überhaupt lebhaftes Wachsthum vorhanden ist, in allen Nährmedien geringe oder stärkere Gasbildung beobachtet, ausnahmslos in den durch Wasserstoffdurchleitung noch besser von Luft befreiten hohen Culturen. Die Natur dieser Gase anlangend, so sind leider chemische Analysen noch nicht ausgeführt; die Gase aus Zuckergelatine rochen wie etwa ein Gemisch von Schweizerkäse und verdorbenem Himbeersaft, die aus Bouillon und aus Blutserum rochen ähnlich, etwas unangenehmer, jedoch nicht eigentlich faulig.

Zur Prüfung auf pathogene Wirkungen wurden einem Meerschweinchen 0.75^{ccm} frischer Bouilloncultur unter die Haut gespritzt und einer weissen Maus ein mit Gelatinecultur getränktes Wattestückchen tief in eine Hauttasche geschoben, doch traten an den Thieren keine bemerkbaren Krankheitserscheinungen auf.

Ueerblicken wir die vorstehend gegebene Schilderung verschiedener Anaërobenarten, so ist zunächst hervorzuheben, dass sie morphologisch nicht, wie man früher von den Anaëroben wohl glaubte, besondere Charakteristica darbieten. Sie sind beweglich oder nicht beweglich, verdicken sich bei der Sporenbildung oder verdicken sich nicht und lassen sich gleich den aeroben Bacterien in peptonisirende und nicht peptonisirende Arten unterscheiden. Dagegen bieten die oben beschriebenen Bacteriensorten sämmtlich, und zwar um so stärker, je mehr das Nährsubstrat von Luft befreit ist, Gährungserscheinungen dar. Die Menge der producirtten Gase ist bei den einzelnen Arten verschieden gross, am grössten beim *B. solidus*, geringer beim *B. liquefaciens magnus*, *radiatus* und *spinosus*,

noch geringer beim *B. liquefaciens parvus*. Stets wird die Gasbildung durch Traubenzuckerzusatz zum Nährsubstrat vergrößert bez. erst ermöglicht.

Interessant ist der verschiedene Grad von Luftempfindlichkeit, den die beschriebenen Bacillensorten aufweisen und der bei den zwei ad 1 und ad 5 geschilderten Arten ziemlich erheblich differirt. Bemerkt sei übrigens, dass bei hohen Culturen der Grad der Anaerobie nicht bloss nach der Höhe der intact bleibenden oberen Schicht des Nährbodens zu beurtheilen ist, sondern dass auch die Zeit, die bis zum deutlichen Sichtbarwerden des Wachstums verstreicht, mit in Rechnung gebracht werden muss. Denn wenn von zwei gegen Sauerstoff gleich stark empfindlichen Anaeroben der eine beispielsweise schon nach 24 Stunden, der andere etwa erst nach 4 Tagen sichtbare Colonieen bildet, so ist die wachstumsfreie obere Zone der hohen Cultur bei diesen zwei Bacterien nicht gleich hoch, sondern beim zweiten, da hier inzwischen die Luft tiefer in den Nährboden einzudringen vermochte, höher. So waren in einer hohen Gelatinecultur vom *B. liquefaciens magnus*, welche drei Tage lang einer Temperatur von 10° und darauf einen Tag lang einer solchen von 22° ausgesetzt gewesen war, die obersten Colonieen nicht, wie sonst, etwa 1.5 cm, sondern 3 cm von der Oberfläche entfernt. — Zur Veranschaulichung der verschieden starken Luftempfindlichkeit der einzelnen Bacterien möge die beifolgende kleine Tabelle, in welcher die Zahlen die in Centimetern ausgedrückte Höhe der oberen colonieenfreien Zone des betreffenden Nährbodens angeben, hier eingeschaltet sein.

Nährsubstrat	Tr.-Z.- Gelatine	Gewöhl. Gelatine	Sticheultur in Gelatine	Tr.-Z. Agar	Gewöhl. Agar	Sticheultur in Blutserum
1. <i>B. liquef. magnus</i>	1 bis 2	1 bis 2	1	0.5 bis 1	0.5 bis 1	0.5 bis 1
2. <i>B. liquef. parvus</i>	1 bis 2	1.5	1.5	0.5 bis 1	0.5 bis 1	0.5 bis 1
3. <i>B. radiatus</i>	1 bis 2	1 bis 2	1.25	0.7 bis 1.5	0.7	1.5
4. <i>B. solidus</i>	2 bis 3	2.5 bis 3	2	2	—	1.5
5. <i>B. spinosus</i>	3 bis 3.5	—	3 bis 4	2 bis 2.5	—	2.5

Wie sich zwischen diesen 5 Bacterienarten Uebergänge in Bezug auf die Luftempfindlichkeit finden, so ist anzunehmen, dass auch nach der Seite der facultativen Anaeroben hin die verschiedensten Zwischenstufen existiren. So giebt es Bacterien, welche dem Sauerstoff gegenüber sich völlig indifferent verhalten und bei jeder vorhandenen Menge dieses Gases gleich stark wachsen. Ich erwähne zum Beispiel einen Kettencoccus, den ich aus faulendem Blut isolirte. Aehnlich verhält sich der Bacillus der Mäusesepsicämie: in hohen Gelatinemassen, die ausserdem durch Wasser-

stoffdurchleitung möglichst luftfrei gemacht und erst nach dem Erstarren der Gelatine wieder der Luft ausgesetzt waren, erschienen in allen Schichten gleich zahlreiche und gleich grosse Colonieen, aber in einigen Gläschen blieben später die oberen Colonieen im Wachsthum ein wenig zurück, so dass also eine leichte Beschränkung desselben durch Lufteinwirkung stattzufinden scheint. Ich erwähne ferner einen Bacillus, der aus dem Oedemsaft einer mit Erde getödteten Maus isolirt wurde und Stäbchen von 3 bis 5μ Länge und 0.4μ Dicke bildet, die bei der Sporenbildung etwas anschwellen und in dem einen stärker verdickten Ende die längliche Spore enthalten: dieser Bacillus wächst in Nährgelatine, die dabei nicht verflüssigt wird, sowohl in den obersten als in den tiefsten Schichten der hohen Cultur; während jedoch die obersten, zumal die an der Oberfläche des Nährbodens befindlichen Colonieen, selbst bei spärlicher Einsaat, äusserst fein, mit blossen Auge kaum erkennbar sind, erreichen die tieferen, je weiter nach unten, um so grösseren Umfang und bilden in der unteren sauerstofffreien Zone weissliche Klümpchen von fast 1 mm Durchmesser. In der von Liborius gegebenen Gruppierung der Bakterien in obligate Anaëroben, obligate Aëroben und facultative Anaëroben (Wachsthum auch bei Sauerstoffentziehung, aber geringer als bei reichlichem Luftzutritt) würden die letztgenannten zwei Bacillenarten gar nicht unterzubringen sein, und C. Fränkel¹ bezeichnet den Bacillus der Mäuse-septicämie daher auch als „facultativ aërob“. Es ist deshalb wohl zweckmässiger, wenn man zur Vereinfachung der Benennungen nur diejenigen Bakterien, deren Wachsthum durch Luftzutritt mehr oder minder gehemmt wird, als Anaëroben und alle diejenigen, welche durch Luftzutritt förderlich beeinflusst werden, als Aëroben bezeichnet.

Endlich sei noch hiugewiesen auf die im Vorstehenden schon mehrfach erwähnte deletäre Wirkung, welche der Luftsauerstoff auf die anaëroben Bakterien ausübt. Schon Pasteur, der Entdecker dieser Organismen, hat von den auf Sauerstoffabschluss angewiesenen Bakterien behauptet, dass sie durch Luftzutritt getödtet werden.² Aber die zum Beweise hierfür von ihm mitgetheilten Beobachtungen und Experimente, die sich speciell auf den Erreger der Buttersäuregährung beziehen, sprechen nicht mit Sicherheit für eine Tödtung, sondern ebensowohl für blosse Entwicklungshemmung. So ist z. B. seine Angabe, dass die Beweglichkeit der an gewöhnlichen Deckglaspräparaten untersuchten Anaëroben binnen Kurzem erlischt, vollkommen richtig (beim *B. liquefaciens magnus*,

¹ C. Fränkel, *Grundriss der Bakterienkunde*. 2. Aufl. Berlin 1887.

² Pasteur, *Compt. rend.* T. LII. p. 344. T. LVI. p. 416 u. 1189. — *Études sur la bière*. Paris 1876. p. 292–294.

der im hängenden Tropfen untersucht wurde, hört die Bewegung nach $\frac{1}{4}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunde auf), aber die Abtödtung der Bacterien ist hiermit nicht bewiesen. Auch sonst in der Literatur fand ich keine, diese Giftwirkung beweisenden Thatsachen angegeben; und es blieb somit fraglich, ob mit der Entfernung des hemmenden Agens, des Sauerstoffs, das Triebwerk des Lebens wieder in Gang kommt oder ob es irreparabel gestört bleibt.

Schon beim *B. radiatus* wurde mitgetheilt, dass derselbe, in hohen Culturen weiter gezüchtet, allmählich an Wachstumsenergie einbüsst: die Colonieen entwickelten sich langsamer als sonst, ihre Anzahl blieb hinter der Menge der eingesäeten Keime zurück oder das Wachsthum blieb ganz aus. Dieselben Beobachtungen wurden an mehreren anderen, nur in hohen Culturen fortgezüchteten, Anaëroben gemacht. Mehrere, im Vorstehenden nicht aufgeführte Anaëroben, die nur in hohen Gelatineculturen rein gezüchtet, aber in ihren übrigen Charakteren noch nicht untersucht und vorläufig bei Seite gestellt waren, erwiesen sich nach einigen Wochen als abgestorben, indem sie auch in ganz luftfreien Medien nicht zum Wachsthum gebracht werden konnten, und sind mir auf diese Weise völlig abhanden gekommen.

Bemerkenswerth ist ferner die Art und Weise, auf welche bei den die Gelatine verflüssigenden Anaëroben allmählich auch die oberen, anfangs von Colonieen freien Schichten des Nährbodens, nachdem hier offenbar durch die entwickelten gasigen Stoffwechselproducte die Luft vertrieben worden ist, in die Verflüssigung hineingezogen werden. Dabei nämlich treten neue aus den in der oberen Gelatine vertheilten Keimen entwickelte Colonieen nur spärlich oder auch gar nicht auf, sondern von unten her, von den alten Colonieen aus, die häufig, obwohl mit einander schon verschmolzen, noch durch ihre oberen hügeligen Grenzflächen als einzelne Colonieen erkennbar sind, greift die Verflüssigung weiter um sich. Es spricht dies dafür, dass die in den oberen Schichten vertheilten Keime, trotzdem durch Wiederverdrängung der Luft günstige Existenzbedingungen für sie hergestellt worden sind, doch inzwischen durch den Contact mit dem Sauerstoff ihre Lebensfähigkeit eingebüsst haben. Damit stimmt überein, dass bei den die Gelatine nur wenig oder nicht verflüssigenden Arten ein „Hinaufrücken“ der Colonieen, selbst bei stärkerer Gasproduction und dadurch eintretender Verdrängung des Sauerstoffs, in irgendwie nennenswerthem Maasse nicht beobachtet werden konnte.

Zur genaueren Feststellung der Luftwirkung wurde noch eine Anzahl besonderer Versuche angestellt. Eine reichliche Menge (mehrere Platinösen voll) sporenfreien Materials vom *B. liquefaciens magnus* wurde mit Gelatine zu einem Esmarch'schen Rollröhrchen verarbeitet, nachdem

vorher aus der beimpften Gelatine eine Oese voll in hoher Nährgelatine vertheilt war. Die in der dünnen Gelatineschicht isolirten Keime kamen hierbei mit der Luft in die innigste Berührung. Solcher Röhrrchen wurde eine ganze Reihe hergestellt, sodann in jedem einzelnen Röhrrchen nach kürzerer oder längerer Zeit, während welcher natürlich keine Spur von Wachsthum sich zeigte, die Gelatine bei 35° wieder verflüssigt und davon, zur Prüfung der nunmehrigen Lebensfähigkeit der Keime, je eine Oese voll in hoher Traubenzuckergelatine vertheilt. Dabei ergab sich, dass in diesen hohen Culturen, je nachdem die Luft längere oder kürzere Zeit hindurch in den Rollröhrrchen auf die Keime hatte einwirken können, sich nur wenige oder gar keine Colonieen entwickelten, während in den Controlculturen, die, wie erwähnt, vor dem Ausrollen der beimpften Gelatine hergestellt waren, stets zahllose, nach zwei Tagen schon bis auf die oberflächliche Schicht den ganzen Nährboden verflüssigende Colonieen auftraten. Im Einzelnen zeigten die aus den Rollröhrrchen abgeimpften hohen Culturen folgendes Verhalten:

nach	2stündiger	Luft	einwirkung	(2	Versuche)	6	bez.	8	Colonieen,
„	4	„	„	(2	„)	keine	Colonie,	
„	8	„	„	(2	„)	1	bez.	keine
„	24	„	„	(6	„)	keine	Colonie,	
„	2	tägiger	„	(3	„)	„	„	
„	3	„	„	(1	„)	„	„	

Schon in weniger als zwei Stunden war also die weitaus grösste Menge der Keime durch die Luftwirkung getödtet worden. Ich erwähne auch den folgenden, nach anderer Methode ausgeführten Versuch, der zu dem gleichen Ergebniss geführt hat. Von fünf mit der genannten Bacterienart möglichst gleichmässig beimpften Gelatinegläschen wurde eines sofort nach der Beimpfung zu einem Fränkel'schen Wasserstoff-Rollröhrrchen verarbeitet, die vier anderen, ebenfalls möglichst rasch nach der Beimpfung, in die Form von Luft-Rollröhrrchen gebracht. Nach 2 bez. 4 Stunden wurde dann in je zweien dieser Luft-Rollröhrrchen die Gelatine bei 35° wieder verflüssigt und wurden mittelst Wasserstoffdurchleitung, Abschmelzen und Ausrollen aus diesen 4 Culturen ebenfalls Wasserstoff-Rollröhrrchen hergestellt. Nach 2 Tagen war die Gelatine des ersten Röhrrchens, dessen Bacterieninhalt also von Luft verschont geblieben war, durch zahllose Colonieen verflüssigt; von den nächsten beiden Röhrrchen, deren Keime zwei Stunden hindurch der Luft ausgesetzt gewesen waren, zeigte das eine zahlreiche Colonieen, nach Schätzung jedoch mindestens wohl zehnmal weniger als im ersten Röhrrchen, das andere bot eine noch viel geringere Anzahl dar; in den letzten beiden Röhrrchen (vierstündige Luftwirkung)

war gar keine Entwicklung sichtbar. Erst am nächsten Tage konnten hier zehn bez. 16 Colonieen, die späterhin üppig sich ausbreiteten, wahrgenommen werden.

Wurden übrigens statt sporenlosen Materials freie Sporen des *Bacillus* in einem Rollröhrchen der Luft ausgesetzt, so blieb, wie zu erwarten war, deren Absterben aus und die nach 3 Tagen abgeimpfte hohe Cultur kam zu üppigem Wachsthum.

Es ergiebt sich also, dass der *B. liquefaciens magnus*, den man nicht einmal als ganz streng anaërob bezeichnen kann, trotzdem durch grössere Mengen von Luft schon in wenigen Stunden abgetödtet wird. Von anderen Anaëroben wurde noch der *B. radiatus* auf diesen Punkt hin genauer untersucht, ferner an einem anderen, oben nicht aufgeführten, *Bacillus* die Wirkung reinen Sauerstoffgases (in 1 Versuche) geprüft: die Bacterien waren nach 24 Stunden nicht mehr lebensfähig. Auch für die übrigen oben beschriebenen Bacillensorten möchte ich, nach den hier mitgetheilten Erfahrungen, diese Giftwirkung als erwiesen betrachten.

Erklärung der Abbildungen.

(Tafel I.)

- Fig. 1.** Stichcultur von *Bac. liquefac. magnus* in Gelatine.
Fig. 2. Cultur von *Bac. radiatus* in Gelatine.
Fig. 3. Stichcultur von *Bac. liquefac. parvus* in Gelatine.
Fig. 4. Cultur von *Bac. solidus* in Gelatine.
Fig. 5. Cultur von *Bac. spinosus* in Gelatine.
Fig. 6. Ganz junge Colonieen von *Bac. liquef. magnus* in Gelatine. 60/1.
Fig. 7. Vier Tage alte Colonie derselben Art in Agar. 60/1.
Fig. 8. Jüngere Colonie von *Bac. radiatus* in Gelatine. 28/1.
Fig. 9. Jüngere Colonie derselben Art in Agar. 60/1.
Fig. 10. Colonie von *Bac. liquefac. parvus* in Agar. 60/1.
Fig. 11. Einen Tag alte Colonie von *Bac. spinosus* in Agar. 60/1.
-

Fig. 1.

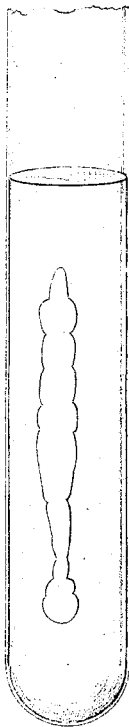


Fig. 2.

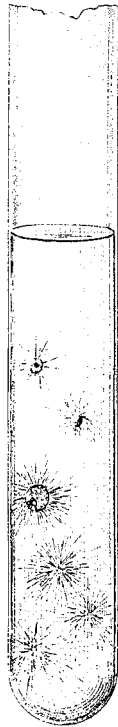


Fig. 3.

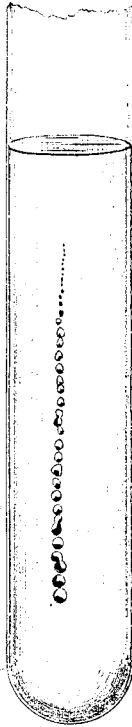


Fig. 4.

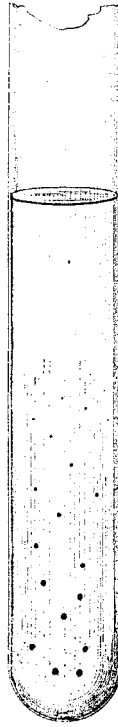


Fig. 5.

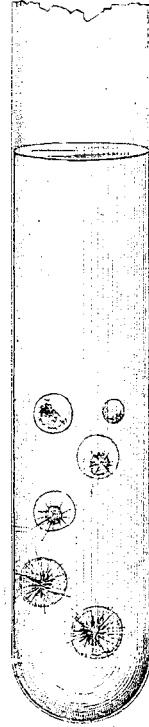


Fig. 6.

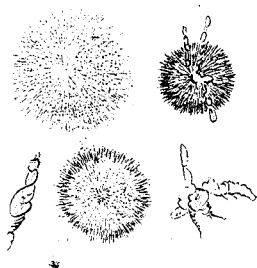


Fig. 8.

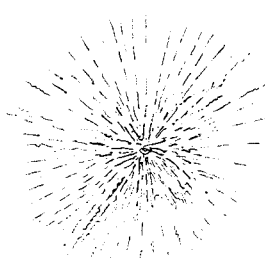


Fig. 10.

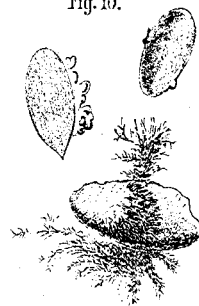


Fig. 7.



Fig. 9.



Fig. 11.

