

III.

Kommt durch die Entwicklung von Bacterien im lebenden Körper eine Erschöpfung desselben an Bacterien-Nährstoffen zu Stande?

Von

Dr. H. Bitter,

Assistenten am hygienischen Institut zu Breslau.

Aus den an anderer Stelle dieses Heftes mitgetheilten Untersuchungen von Sirotinin geht hervor, dass die in Reinculturen nach Verlauf einer gewissen Zeit stets beobachtete Wachsthumseinstellung der Bacterien im Wesentlichen theils durch eine übermässige Production von Säure oder Alkali, theils aber auch durch eine Erschöpfung des Nährbodens an Nährstoffen bedingt ist. In manchen Fällen scheint es sogar ausschliesslich der Mangel an Nährmaterial zu sein, welcher zum Aufhören des Wachstums der Mikroorganismen Anlass giebt. Es könnte nun den Anschein haben, als ob durch Beobachtungen letzterer Art die zur Erklärung des Nicht-recidivirens mancher Infectionskrankheiten aufgestellte sogenannte Erschöpfungshypothese, nach welcher die Ursache der Immunität in dem Fehlen gewisser Nährstoffe in den Körpersäften zu suchen sein soll, in besonderer Weise gestützt würde. Diese Theorie, deren Hauptvertreter für Deutschland Klebs, für Frankreich Pasteur waren, hat besonders auf die Autorität des letztgenannten Forschers hin viele Anhänger gefunden. Der Beweis, welchen Pasteur für die Richtigkeit derselben erbracht zu haben glaubte, gründete sich auf eine den Sirotinin'schen Versuchen analoge Beobachtung. Da Pasteur nämlich feststellen konnte, dass in älteren Culturen von Hühnercholera-bacterien das Wachsthum dieser letzteren nach einiger Zeit und zwar in Folge einer Erschöpfung des Nährbodens aufhörte, so nahm er keinen Anstand, das Nichtgedeihen der Hühnercholera-bacillen in den präventiv geimpften Hühnern dadurch

zu erklären, dass die vorher in den Körper der Thiere eingebrachten abgeschwächten Bacillen dort einen für das Fortkommen der virulenten Krankheitserreger unerlässlichen Stoff aufgezehrt hätten.

Gegen diese Beweisführung ist vor Allem einzuwenden, dass sich die im Culturegefäß im Laboratorium gewonnenen Resultate doch nicht ohne Weiteres auf die Vorgänge im lebenden Körper übertragen lassen. Wäre dieses der Fall, dann könnten allerdings auch einige Beobachtungen von Sirotoinin zu Gunsten der Erschöpfungshypothese gedeutet werden.

Wenn wir überlegen, dass die für pathogene Mikroorganismen als Nährmaterial in Betracht kommenden Substanzen zugleich integrierende Bestandtheile des thierischen Organismus darstellen, so ist eine Jahre lang dauernde Erschöpfung der Körpersäfte an denselben schon von vornherein kaum denkbar, da doch der Organismus die zu seinem eigenen Bestande nothwendigen Stoffe jedenfalls schnell wieder ersetzen muss.

Abgesehen aber von diesem theoretischen Gegengrunde lässt sich nun auch eine ganze Reihe von Thatsachen beibringen, welche die Unzulässigkeit einer Erklärung der Immunität durch Erschöpfung des Nährbodens auf das Ueberzeugendste darthun.

Zunächst muss die Beobachtung der im Gefolge der Milzbrand-schutzimpfungen bei Schafen auftretenden Erscheinungen zu ernstlichen Bedenken gegen die Richtigkeit der Erschöpfungshypothese Anlass geben. Um nämlich hier eine Erschöpfung der Körpersäfte an irgend einem Nährstoff durch die eingepflichten abgeschwächten Bacterien mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen zu können, wäre es bei der Menge des im Körper eines Hammels vorhandenen Bacteriennährmaterials doch durchaus erforderlich, dass eine ausgiebige Vermehrung und Verbreitung der Vaccins im ganzen Körper stattfindet. Ich konnte nun aber an anderer Stelle nachweisen, dass die Wucherung der abgeschwächten Milzbrandbacillen beim I. Vaccin nur auf die nächste Umgebung der Impfstelle beschränkt ist, dass niemals im Blut und in den inneren Organen, ja nicht einmal in den der Impfstelle zunächst gelegenen Lymphdrüsen Bacillen gefunden werden. Die Bacillen des II. Vaccin scheinen sich selbst am Orte der Injection kaum zu vermehren.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass die wenigen an der Impfstelle gewachsenen Bacillen den ganzen Körper des Hammels nicht in dem Grade irgend eines Nährstoffes beraubt haben können, dass dadurch die nach der Schutzimpfung thatsächlich bestehende vollständige Immunität ihre Erklärung fände.

In gleicher Weise kann auch für die bei Kaninchen nach der Methode von Chamberland und Roux erzielte Immunität gegen Milzbrand die Erschöpfungshypothese nicht in Anspruch genommen werden. Denn

wenn auch bei diesen Thieren ein zuverlässiger Schutz nur durch Einbringung grosser Mengen des ersten Vaccin in die Blutbahn erreicht werden kann, so findet doch, wie aus den Untersuchungen von Chamberland und Roux sowohl, wie auch aus den von mir selbst angestellten Versuchen hervorgeht, keine Vermehrung der injicirten Bacillen im Blute statt; vielmehr sterben dieselben rasch ab und zerfallen in kurzer Zeit vollständig. Bacillen aber, welche nicht wachsen, können schwerlich dem Körper Nährmaterial entziehen.

Wie weit die Verbreitung der Vaccins bei Schutzimpfung gegen andere Infectionskrankheiten sich erstreckt, muss erst noch durch genauere Untersuchungen festgestellt werden; doch ist anzunehmen, dass dieselbe bei Schweinerothlauf und Hühnercholera sich kaum anders verhalten wird, wie bei Milzbrand, zumal der Verlauf dieser drei Seuchen als acute Septicämien viel Aehnliches hat.

Aber gesetzt auch, es stellte sich bei diesen Krankheiten die Wucherung der abgeschwächten Bacillen als beträchtlicher heraus, wie beim Milzbrande, so wäre dadurch für die Erschöpfungshypothese wenig gewonnen. Es lässt sich nämlich zeigen, dass, selbst wenn bei Infection mit den virulenten Mikroorganismen die Bacillen im Blut sich fast ins ungemessene vermehren, dennoch beim Tode des Thieres keine irgendwie merkbare Erschöpfung der Körpersäfte an Nährstoffen eingetreten ist.

Zunächst konnte ich dieses für das Blut von auf der Höhe einer Erkrankung an Milzbrand, Schweinerothlauf und Hühnercholera stehenden Thieren sicherstellen.

Als Versuchsthiere dienten für Milzbrand und Hühnercholera Kaninchen, für Schweinerothlauf Tauben. Diesen Thieren wurden entweder kurz vor oder unmittelbar nach dem Tode an der betreffenden Infectionskrankheit einige Tropfen Blut unter aseptischen Cautelen entnommen und sofort in kleinen feuchten Kammern mikroskopisch untersucht, um die Menge der in ihnen vorhandenen Bacillen festzustellen. Zugleich wurden von einigen Blutstropfen gefärbte Präparate angefertigt, um Vergleichsobjecte zu haben, mit deren Hülfe später eine in den feuchten Kammern etwa stattgefundene Vermehrung der Bacillen annähernd bestimmt werden konnte.

Die Blutstropfen in den feuchten Kammern wurden dann bei einer Temperatur von 35° bis 37° C. theils im d'Arsonval'schen Apparate gehalten, theils auf dem heizbaren Objecttische continuirlich beobachtet. Es ergab sich dabei Folgendes: Im Blute der Milzbrandkaninchen fanden sich unmittelbar nach der Entnahme stets ziemlich reichlich Milzbrandbacillen (und zwar immer nur in Form kurzer oder mittellanger Stäbchen)

Rothlauf-Taubenbouillon ohne Pepton	Normale Taubenbouillon ohne Pepton	Rothlauf-Taubenbouillon mit Pepton	Normale Taubenbouil mit Pepto
Nach 24 Stunden leichte Trübung der Bouillon. ¹ Nach 5 Tagen Bouillon fast klar mit leichtem weissen Bodensatz.	Genau die gleichen Er- scheinungen	Nach 24 Stunden Trübung der Bouillon. Nach 5 Tagen Bouillon fast klar. Boden- satz etwas stärker wie vorher.	Genau d gleichen l scheinung

überall zwischen den Blutkörperchen zerstreut. Bildung von längeren Fäden war niemals zu beobachten. Wurden nun einige der Stäbchen in dem auf dem heizbaren Objecttisch befindlichen Präparat im Mikroskop eingestellt und von Zeit zu Zeit beobachtet, so war schon nach einer Stunde eine deutliche Verlängerung der Bacillen zu constatiren. Diese nahm im Verlauf der nächsten Stunden rasch zu, so dass lange Fäden entstanden, und nach 8—10 Stunden war der ganze Tropfen von einem dichten Filz von Milzbrandfäden vollständig durchwachsen. Aus Vergleichen mit den Anfangs gefärbten Präparaten war leicht zu entnehmen, dass sich die Zahl der ursprünglich vorhandenen Bacillen gewiss um über das hundertfache vermehrt hatte, — ein Zeichen, dass selbst beim Tode des milzbrandkranken Thieres noch reichlich Nährstoffe für die Milzbrandbacillen im Blute derselben vorhanden waren. In den im d'Arsonval'schen Apparate gehaltenen Tropfen war nach 8—10 Stunden das gleiche üppige Wachsthum nachzuweisen. — In ganz ähnlicher Weise fand im Blute der an Schweinerothlauf und Hühnercholera gestorbenen Thiere nach mehrstündigem Verweilen bei Körpertemperatur noch eine so ausgiebige Vermehrung der Bacillen statt, dass eine Erschöpfung auch dieses Blutes an Nährstoffen in keiner Weise angenommen werden kann.

Wenn nun schon das Blut, welches doch bei den acuten Septicämien die eigentliche oder vielmehr einzige Ansiedelungsstätte der Erreger darstellt, durch das stärkste im Körper mögliche Wachsthum der pathogenen Organismen keinen merkbaren Verlust an Nährstoffen erleidet, so werden wir noch weniger Grund zu der Annahme haben, dass etwa den übrigen Bestandtheilen des Körpers, besonders den die Hauptmasse desselben ausmachenden Muskeln und der sie durchtränkenden Lymphe irgend ein Nährstoff in nennenswerther Menge entzogen wird.

¹ Die Trübungen in sämmtlichen Bouillongläsern erwiesen sich mikroskopisch und durch Cultur als nur von Schweinerothlaufbacillen bewirkt.

Rothlauf-Taubengelatine ohne Pepton	Normale Taubengelatine ohne Pepton	Rothlauf-Taubengelatine mit Pepton	Normale Taubengelatine mit Pepton
Nach 48 Stunden gutes Wachstum längs des ganzen Impfstiches. Nach 5 Tagen Ausdehnung des Wachstums bis etwa 1 bis 2 ^{mm} von der Glaswand. Cultur weisslich ohne braune Färbung längs des Impfstiches.	Dasselbe Wachstum	Nach 48 Stunden kräftiges Wachstum längs des Impfstiches. Dasselbe erscheint etwas dichter wie vorher. Nach 5 Tagen Ausdehnung des Wachstums bis zur Glaswand. Cultur längs des Impfstiches bräunlich. Auch weiter in die Gelatine hinein ist die Cultur dichter wie vorher und von leicht bräunlichem Ton.	Dasselbe Wachstum

Ich habe jedoch versucht auch hierüber mir durch einige Experimente volle Gewissheit zu verschaffen, und zwar besonders deshalb, weil mir eine Angabe von Schottelius¹ auffiel, welche, wenn sie sich bestätigte, vielleicht doch zu Gunsten einer Nährstoffentziehung aus den muskulösen Theilen des thierischen Organismus hätte gedeutet werden können. Schottelius fand nämlich, dass in zwei Fällen Schweinerothlaufbacillen auf einer Nährgelatine, welche mit Bouillon aus dem Fleisch von Schweinen, die an Rothlauf verendet waren, hergestellt wurde, nicht wuchsen; während sie auf Gelatine, zu deren Bereitung Fleisch von gesunden Schweinen benutzt war, gut fortkamen. Schottelius selbst scheint allerdings geneigt, diesen Befund, wenn er sich als constant herausstellen sollte, zu Gunsten einer Retention schädlicher Stoffwechselproducte zu deuten.

Es schien mir also angezeigt zu sein, zunächst die Versuche von Schottelius zu wiederholen. Da mir Schweine zu denselben nicht zur Verfügung standen, so wählte ich Tauben als Versuchsobjecte. Letztere sind zur Entscheidung der Frage, ob die Schweinerothlaufbacillen bei ihrem Wachstum im thierischen Organismus eine Erschöpfung desselben an Nährstoffen bewirken, ebenfalls besonders gut geeignet, weil bei ihnen die Wucherung der Rothlaufbacillen im Blute eine Höhe erreicht, wie bei kaum einem anderen Thiere.

Die Ausführung der Versuche selbst gestaltete sich in folgender Weise.

80^{grm} Fleisch von zwei Tauben, welche nach ca. 4 Tagen einer Impfung mit Schweinerothlauf erlegen waren, und bei der mikroskopischen Untersuchung im Blut und in den Organen ungemein reichliche Mengen von Bacillen zeigten, wurden mit 160^{grm} destillirtem Wasser in bekannter Weise ausgezogen, und das erhaltene Fleischwasser durch Kochen und nachträgliches Filtriren vom Eiweiss befreit. Mit Hülfe der so erhaltenen

¹ Lydtin und Schottelius, *Der Rothlauf der Schweine* u. s. w. 1885. S. 236.

Bouillon stellte ich mir vier verschiedene Nährsubstrate her. Ein Theil der Bouillon kam ohne jeden Zusatz zur Verwendung, ein zweiter wurde mit 1 Procent Pepton und 0·5 Procent NaCl versetzt. Die dritte Portion wurde durch Zufügung von 7 Procent Gelatine in einen festen Nährboden umgewandelt; der Rest endlich erhielt ausser 7 Procent Gelatine noch einen Zusatz von 1 Procent Pepton und 0·5 Procent NaCl. Alle vier Nährmedien wurden dann durch Sodalösung auf die gleiche schwach alkalische Reaction gebracht, filtrirt und in Reagensgläsern sterilisirt. Genau dieselben Nährböden wurden zum Vergleich aus dem Fleische gesunder Tauben hergestellt. Von jedem der acht verschiedenen Nährsubstrate wurden drei Probirröhrchen mit Schweinerothlaufbacillen geimpft, und zwar die Gelatineröhrchen als Stichcultur, und dann sämmtlich bei 22° C. in demselben Brütöfen gehalten. Obenstehende kleine Tabelle zeigt die erzielten Wachsthumsergebnisse, aus welchen zur Evidenz hervorgeht, dass eine wesentliche Nährstoffentziehung aus den Geweben der rothlaufkranken Thiere durch die Bacillen sicher nicht stattgefunden hatte. Besonders anschaulich wird dieses noch dadurch gemacht, dass die Wachsthumverbesserung, welche durch Zusatz von Pepton und Kochsalz hervorgerufen wurde, stets in den aus normalem und in den aus Rothlauffleisch hergestellten Nährsubstraten genau denselben Betrag aufwies.

In ganz gleicher Weise wie beim Schweinerothlauf habe ich auch noch die aus dem Fleisch von an Milzbrand gestorbenen Kaninchen hergestellte Bouillon und Nährgelatine in Bezug auf ihre Nährfähigkeit für Milzbrandbacillen mit denselben Nährsubstraten aus dem Fleisch gesunder Kaninchen verglichen. Das Ergebniss dieser Versuche war, dass der Bacillus anthracis in Milzbrandbouillon und Milzbrandgelatine ohne Peptonzusatz die gleiche üppige Entwicklung zeigte, wie auf den analogen Nährböden aus normalem Kaninchenfleisch, und dass bei Peptonzusatz das Wachsthum in beiden Fällen in durchaus gleicher Weise nur wenig besser wurde.

Nachdem es mir somit gelungen war, nachzuweisen, dass bei der Schutzimpfung und beim natürlichen Ueberstehen von Infectionskrankheiten eine Erschöpfung der thierischen Körpersäfte an Nährsubstanzen nicht eintritt, glaubte ich doch noch einige Versuche anschliessen zu sollen, um sicherzustellen, dass in den durch Präventivimpfung immun gewordenen Thieren die virulenten Bacterien thatsächlich nicht durch Mangel an Nährstoffen am Wachsthum gehindert werden.

Wäre letzteres der Fall, so müssten natürlich die betreffenden Mikroorganismen auch auf den dem Körper entnommenen Gewebsflüssigkeiten der immunen Thiere nicht wachsen; denn es ist nicht einzusehen, wie in

diese eben ausserhalb des Organismus ein Nährstoff hineingelangen sollte, welcher im Körper nicht vorhanden ist.

Nun gedeihen aber Milzbrandbacillen im Blut immunisirter Hammel, wenn nur der erste bacterienfeindliche Einfluss desselben überwunden ist, ebenso üppig, wie im Blut normaler Schafe, wovon ich mich in verschiedenen Fällen mit voller Sicherheit überzeugen konnte (siehe auch Versuche von Nutall S. 388). Ebenso stellt das Blut von gegen Milzbrand immunisirten Kaninchen für den *B. anthracis* kein schlechteres Nährmaterial dar, als das Blut normaler Thiere derselben Art. Nach Einbringung einiger Milzbrandsporen und etwa 30 stündigem Verweilen bei 30° C. sind Tropfen beider Blutarten stets von einem gleich dichten Filz von Milzbrandfäden durchwachsen.

Weiterhin gelang es mir dann nachzuweisen, dass auch Blutserum immuner Hammel sowohl im flüssigen als auch im festen Zustande in seiner Güte als Nährboden für Milzbrandbacillen durchaus keinen Unterschied gegenüber dem Blutserum empfänglicher Hammel erkennen lässt. Das Serum der beiden in meiner Arbeit über Verbreitung der Vaccins erwähnten immunisirten Hammel, welche getödtet wurden, verglich ich in dieser Hinsicht mit dem Serum eines nicht immunen Thieres der gleichen Art.

Nach 36 stündigem Aufenthalt bei 35° C. war die mit Milzbrand geimpfte schräge Fläche beider Serumarten vollständig mit einer starken Lage von Milzbrandbacillen bedeckt, deren Dicke und Kräftigkeit keinerlei Differenzen aufwies. Auch die flockige Trübung in dem flüssigen Serum war stets gleich stark.

Bei Vergleichung des Wachsthums von Milzbrandbacillen auf Nährgelatine, welche aus dem Fleisch eines immunisirten Hammels bereitet war, mit dem auf Gelatine aus Bouillon von normalen Hammeln, ergab sich ebenfalls keine Differenz in der Stärke der Entwicklung, sondern die Bildung der Cultur war auf beiden Gelatinen sehr üppig und durchaus gleich.

Durch einen vergleichenden Versuch mit Bouillon aus dem Fleisch eines gegen Milzbrand immunisirten und eines normalen Kaninchens, welcher in analoger Weise angestellt wurde, wie die oben beschriebenen Versuche mit Bouillon von an Rothlauf und Milzbrand gestorbenen Thieren, liess sich ebenfalls eine Erschöpfung der Gewebe des immunen Kaninchens an Nährstoffen mit Sicherheit ausschliessen. —

Da nach unseren heutigen Anschauungen die Immunität gegen dieselben Infectionskrankheiten im Wesentlichen in denselben Ursachen begründet sein muss, mag die Immunität erworben sein, oder mag sie einer Thierspecies angeboren sein, so müsste, wenn die Erschöpfungs-

hypothese zu Recht bestände, auch das Blut von natürlich gegen eine Infectionskrankheit immunen Thieren keinen Nährboden für die betheiligten Mikroorganismen darstellen. Aus der Nuttall'schen Versuchsreihe (S. 378) ist aber zu ersehen, dass im Blut verschiedener von Natur ganz oder relativ gegen Milzbrand immuner Thiere, wie im Hunde-, Hühner-, Tauben- und Menschenblut nach Verlauf einer gewissen Zeit die gleiche üppige Vermehrung der Milzbrandbacillen stattfindet, wie im Blut nicht immuner Thiere. —

Aus den sämtlichen im Vorstehenden wiedergegebenen Versuchen ist also wohl mit voller Sicherheit zu entnehmen, dass die Immunität gegen die drei acuten Septicämien, Milzbrand, Schweinerotlauf und Hühnercholera nicht durch Erschöpfung der Körpersäfte an irgend einem Nährstoff bedingt sein kann. Aber auch für andere Infectionskrankheiten, welche bei einmaligem Ueberstehen Immunität hinterlassen, wird eine derartige Annahme kaum gemacht werden dürfen, wenn wir bedenken, dass bei denselben die Verbreitung und die Menge der pathogenen Mikroorganismen im Körper keine grössere, meistens sogar eine weit geringere ist, als bei den von mir untersuchten acuten Septicämien. Denn die Möglichkeit einer Erschöpfung des Nährsubstrates wird doch immerhin in erster Linie abhängig sein von der Menge der auf demselben wachsenden Bacterien.

Wahrscheinlich werden denn auch mit der Zeit weitere Untersuchungen für die übrigen Infectionskrankheiten den vollen Beweis der Unzulässigkeit der Erschöpfungshypothese erbringen und vielleicht eine mit den thatsächlichen Verhältnissen mehr in Einklang stehende Erklärung des räthselhaften Wesens der Immunität geben können.
