

Untersuchungen über Bacterien.

VII.

Versuche über die Infection mit *Micrococcus prodigiosus*.

Von
Dr. A. Wernich,

Universitätsdocenten in Berlin.

1. Als ich Anfangs März d. J. das pflanzenphysiologische Institut in Breslau aufsuchte, um während der Ferienwochen unter der Leitung des Herrn Prof. Ferd. Cohn mir einige Uebung im Experimentiren mit Bacterien anzueignen, wollte ein günstiger Zufall, dass im Institut reiches Material zur Anlage von Culturen des *Micrococcus prodigiosus* Cohn (*Monas prod.* Ehrbg.) vorhanden war. Herr Prof. Cohn stellte — mit Hinweis auf die ausserordentlichen Vortheile, welche grade dieser Organismus Untersuchungen über Art und Weise der Infectionen gewähren könnte — mir dasselbe zur Disposition und schlug mir die im Wesentlichen nachstehend benutzte Methode der Untersuchung vor, bei deren Ausführung mich auch Herr Dr. Eidam freundlichst unterstützte.

Vor zehn Jahren hat J. Schröter mit gleichem Material systematische Versuche angestellt und dieselben in diesen Beiträgen (Bd. I. Heft II. 109) veröffentlicht. Seine Arbeiten fassten vornehmlich die chromogene Eigenschaft des *Micrococcus* in's Auge, geben aber auch für die Auffassung seiner Lebensbedingungen einige werthvolle Anhaltspunkte. Mir war es um die Beantwortung folgender Fragen zu thun:

1. Auf welche Weise findet bei *M. prodigiosus* die Uebertragung der Keime statt?
2. Durch welche Mittel und Vorkehrungen werden die Keime zerstört oder die Folgen der absichtlichen Uebertragung aufgehoben?

Es handelte sich, mit anderen Worten, um den Modus der Infection und um die Vernichtung der inficirenden Keime. Einige Vorversuche über die allgemeinen Eigenschaften des *Micrococcus prod.* und über die Auswahl des vortheilhaftesten Nährbodens mögen als Einleitung dienen.

I. Wie verhält sich *Micrococcus prodigiosus* zu seinem Nährboden?

2. Trägt man einen kleinsten Theil des rothen Schleimes einer älteren *Micrococcus*cultur in der Art auf die Fläche eines neuen Nährbodens auf, dass man durch sorgfältiges Verstreichen die röthliche Färbung fast unsichtbar macht, so zeigt die neu inficirte Fläche bei einer Zimmertemperatur von 18° C. in den ersten 12 Stunden keine mit blossem Auge sichtbare Veränderung. Das früheste Zeichen der gelungenen Ueberimpfung konnte ich 15 Stunden nach dem Zeitpunkte derselben mittelst Loupe auf der sehr glatten und reinen Oberfläche einer gekochten Kartoffel entdecken. Nach 24—30 Stunden treten an vielen Stellen gleichzeitig äusserst kleine (0,3—0,5 mm grosse) rosenrothe oder etwas hellere Tröpfchen auf, die bis zur Grösse von 3—4 mm anwachsen, dann zusammenfliessen und im Verlauf von 60—72 Stunden durch immer noch nachschliessende Tröpfchen zu einem continuirlichen Ueberzuge der ernährenden Fläche umgewandelt werden¹⁾. Farbennüance, Dicke, Unregelmässigkeiten in der Entwicklung desselben hängen von einer Reihe äusserer Momente ab, von denen wenigstens einige mit solcher Regelmässigkeit auftreten, dass sie bei Besprechung der einzelnen Nährmaterialien erwähnt werden sollen.

Das Mikroskop löst mittelst starker Vergrösserungen (Hartn. J. XII.) den rothen Schleim in unzählige, ganz dicht zusammenliegende, sphäroellipsoidische Körperchen auf, welche chagrinartig den röthlichen Schleimtropfen erfüllen. Die Körperchen sind alle vollkommen gleich gross und gleich geformt und zeigen keinerlei Bewegungen. Die schon von Schröter ausgesprochene Vermuthung, dass die Körperchen selbst nicht die Träger der rothen Färbung seien, dass vielmehr das Pigment nur in den sie umgebenden Schleim secernirt sei, theile ich vollkommen, obgleich ihr Beweis auf einige Schwierigkeiten stösst. Macht man durch die Grenze des Kartoffelnährbodens und der aufgetrockneten *Micrococcus*wucherung einen mikroskopischen Schnitt, so zeigt sich, wie an der Oberfläche die Körperchen massig in deutlich gefärbten Wolken aneinander liegen. Sie dringen aber auch in ihren Nährboden ein: *Micrococcus*-Häufchen umlagern netzartig die Kartoffelzellen, indem sie in der durch das Kochen aufgeweichten Intercellularsubstanz bis zu deren

¹⁾ Im Sommer bei einer Zimmertemperatur von 22—27° C. sind die Nährflächen (Kartoffelscheiben) schon nach 20 Stunden gleichmässig mit rothem Ueberzuge bedeckt.

vierter und fünfter Schicht sich entwickeln. Diese tief eingedrungenen Micrococceuhäufchen erschienen stets farblos; doch liess sich nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die Färbung wegen der geringeren Mächtigkeit der Schicht unkenntlich wurde, oder ob wirklich die von der Luft abgeschlossenen, ins Innere der Kartoffel vorgebrungenen Massen einer röthlichen Farbe entbehrten. — Ein gewisses Interesse gewährten derartige Durchschnitte noch gleichzeitig durch die Aehnlichkeit unserer Micrococcen und ihres Verhaltens zur Kartoffelsubstanz mit in die tieferen Gewebsschichten der Schleimhaut vordringenden Diphtheriekeimen.

3. Der *Micrococcus prodigiosus* greift seinen Nährboden in sehr energischer Weise an; auf vorwiegend amyllumhaltigen Substanzen wie auf eiweiss- und kleberhaltigen Materialien vegetirend erzeugt er den charakteristischen Geruch, welcher seine Bildung stets begleitet: den sehr prägnanten und unverkennbaren, von Cohn auch durch Salzsäure-Reaction constatirten Trimethylamingeruch. Erst wenn nach einer Entwicklung von 100—120 Stunden *Bacterium Termo* den *Micrococcus prod.* verdrängt und die Nährfläche mit einer oft 2—3 mm dicken Schicht gelblicher Schmiere überdeckt, so dass die rothe Färbung bis auf Spuren verschwindet, stellt sich auch Seitens dieser Substanzen ein starker Fäulnissgeruch ein. — Der Farbstoff liefert, wenn man trockne oder feuchte mit *Micrococcus prod.* bedeckte Kartoffelscheiben durch Alkohol extrahirt, eine schön carmin- bis rubinrothe Tinktur, deren charakteristische Eigenschaften von Schröter in der bereits angeführten Arbeit erschöpfend dargelegt sind. Auf besonders üppigen und reinen Culturen des *M. prodigiosus*, wenn derselbe in dichter gleichmässiger Schicht die ganze Oberfläche des Substrats überdeckt, zeigt er eine andere merkwürdige Eigenschaft, auf welche mich Dr. Eidam zuerst aufmerksam machte. Sie besteht in einem grüngoldenen metallischen Glanz der dunkelblutrothen Culturen, der sehr intensiv sein kann, mit dem Schimmer aufgetrockneten Fuchsins die grösste Aehnlichkeit zeigt, von mir nur auf Kartoffeln erzielt wurde und noch nicht beschrieben worden ist.

4. Um einen für die eigentlichen Versuche besonders geeigneten Nährboden zu ermitteln, wurden die Vorversuche 1—22 angestellt, in welchen absichtliche Uebertragungen gut gelungener Culturen auf feuchtes Filtrirpapier, Collodium, feuchte Watte, Stärkekleister, Reisbrei, Kartoffeln in verschiedenem Zustande, Mohrrüben in verschiedenem Zustande, Eiweiss und Eigelb ausgeübt wurden. Die Entwicklung fand im Brutofen bei 30—35 °C. statt.

Die Uebertragungsversuche auf die drei zuerst genannten Medien,

sowie auf bloss in kaltem Wasser aufgequollenen Reis, auf rohe Kartoffeln, auf rohe Mohrrüben, auf ungekochte Eibbestandtheile schlugen constant und ohne Ausnahme fehl.

Stärkekleister nahm die Infection an und zeigte nach 30 bis 36 Stunden einen sehr dünnen carmoisinrothen Ueberzug, der sich hier und da zu etwas dunkler gefärbten Streifen verdichtete. Eine im Laufe der nächsten 24 Stunden stattfindende Verbreitung bestand nur in einem geringen Saum, dessen Ränder ebenfalls etwas dunkler gefärbt erschienen. Nach 72 Stunden hatte der Kleister meistens bereits den charakteristischen sauren Geruch angenommen und die *Micrococcus*-Entwicklung stand vollkommen still, war auch durch Zusatz erprobter Bacterien-Nährlösung (saueres phosphors. Kali, schwefels. Magnesia $\bar{a}\bar{a}$ 1,0 — neutrales weinsteinsaures Ammoniak 2,0 — Chlorcalcium 0,1 — Aq. destill. 200,0) nicht wieder zu erwecken.

Reisbrei erschien bereits nach 30 Stunden deutlich inficirt. Der rothe Ueberzug, der wie bei Stärke eine karmoisin- oder pfirsichblüthfarbene hellere Nüance zeigte, umwuchs die einzeln aus dem Brei ragenden Reiskörner und nahm auf den unteren Flächen derselben einen etwas dunkleren Farbenton an. Die Ausbreitung in die Fläche schien auch hier (vielleicht durch Austrocknung) beschränkt; das Uebergiessen mit der angeführten Nährlösung führte jedoch noch am fünften Tage eine weitere Ausbreitung herbei. Der sich entwickelnde Geruch muss als Modergeruch bezeichnet werden; er ist wohl der Entwicklung anderer Organismen zuzuschreiben.

Eiweiss und Eigelb werden in rohem Zustande von *Micrococcus prod.* nicht angesteckt. Gekocht nehmen sie ihn begierig an und zeigen schon nach 24 Stunden grössere blutrothe Tropfen, die stark über die Oberflächen emporragen. Im Eigelb dringen die Keime in die Tiefe vor soweit die Substanz noch gelockert ist; auf der Fläche des Eiweisses trat bereits im Lauf der nächsten 24 Stunden eine Degeneration der Culturen ein, indem dieselben sich mit einem sehr feuchten, nur noch schwach röthlichen Hof umgaben, welcher ein unzuverlässiges Impfmateriale lieferte: Zwei Drittel der mit demselben versuchten Kartoffel-Infectionen schlugen fehl. Mit der fortschreitenden Verwässerung der auf Eiern angestellten Culturen schlug auch der Anfangs deutliche Trimethylamingeruch in einen (schwachen) Fäulnisgeruch um.

Mohrrübenschnitte sind ungekocht gegen *Micrococcus prod.* immun. Gekocht entwickeln sie ihn innerhalb 24 Stunden in Gestalt eines röthlichen glasigen Schleimes, der die ganzen Oberflächen überzieht und ein sehr schönes Impfmateriale liefert. Die mit demselben

auf Kartoffeln angestellten Culturen zeigten ausnahmslos den oben beschriebenen merkwürdigen Metallglanz. Auf den Mohrrüben- culturen selbst entwickelt er sich nie; dieselben gingen übrigens sehr schnell zu Grunde und verloren bereits am vierten Tage ihre Uebertragungsfähigkeit.

Kartoffeln. Die auffallende Thatsache, dass nur die gekochte Kartoffel die *Micrococcus*-Infection bereitwillig annimmt, die rohe dagegen sich absolut abweichend verhält, veranlasste mich zu einer grösseren Anzahl von vergleichenden Versuchen, die durch die leichte Beschaffung und Handhabung grade dieses Materials besonders gefördert wurden. Von befreundeter Seite darauf hingewiesen, dass die rohe Kartoffel vielleicht einen hindernden Säuregehalt habe (*acid. hydrochlor.?*), stellte ich zunächst die Reaction beider Zustände als eine schwach saure fest. Mehrstündiges Einlegen roher Kartoffeln in schwache und starke Lösungen von *Natr. carb.* machte dieselben zur Annahme der Infection nicht willfähriger. Kochen in starkem Essig zerstörte die Disposition der weichgekochten nicht im Geringsten, während allerdings Einlegen in Salzsäure ihre Eigenschaft als Nährboden für unseren *Micrococcus* aufhebt. Wurden mehrere Kartoffelschnitte in starker *Natr. sulf.*-Lösung, andere in Essig gekocht, so zeigte sich nach der Infection in der Entwicklung und im Gedeihen der Culturen nicht der geringste Unterschied; — ich muss also die Frage, „ob die Imprägnation mit alkalischen oder sauren Flüssigkeiten (abgesehen von der energischen Einwirkung concentrirter Säuren) die Disposition des Kartoffelnährbodens wesentlich alterire,“ — verneinen. Schon Schröter weist auf die Analogie hin, welche das Verhalten der Kartoffelnährfläche mit dem verschiedenen Widerstande darbietet, welchen die menschlichen Schleimhautflächen inficirenden Keimen entgegensetzen; es ist zur Weiterverbreitung, zum Wachsthum und zur Vermehrung derselben nicht blos eine Nährsubstanz nöthig, sondern dieselbe muss sich auch in einem besonders prädisponirten Zustande befinden. *Micrococcus prodigiosus* ist eben kein Parasit, sondern ein Saprophyt; er vermag wie alle saprophytischen Pilze den Widerstand lebender Gewebe nicht zu überwinden, und bedarf neben der Quellung, Lockerung und theilweisen Auflösung der Intercellularsubstanz auch der Abtödtung der Zellen, um sich anzusiedeln. —

Die gekochte und wieder abgekühlte Kartoffel bietet in ihrer Schnittfläche den sichersten und bestdisponirten Boden für die Weiterverbreitung unseres *Micrococcus* dar; an ihr wurden demnach die weiteren Versuchsreihen ausnahmslos angestellt.

II. Auf welche Weise findet die Uebertragung der Keime von *Micrococcus prodigiosus* statt?

5. Es ist weit weniger Sorgfalt nöthig, die Impfung auszuführen, als sie zu vermeiden. Wer mit *Micrococcus prod.* arbeitet, impft unabsichtlich alle disponirten Körper, mit denen er in Berührung kommt. Keine der gewöhnlichen Vorsichtsmassregeln ist hier ausreichend; ich sehe von so groben Versuchsfehlern ab, etwa Messer, die man gereinigt zu haben glaubt, zur Herstellung der Schnittflächen zu benutzen; Gefässe anzuwenden, die nach der Entfernung vorheriger Culturen einfach ausgespült wurden; mit den eigenen noch so sorgfältig gewaschenen Händen die herzustellenden Versuchsobjecte zu berühren: unabsichtliche Aussaaten von *Micrococcus*-keimen sind die unausbleiblichen Folgen so grober Vernachlässigungen. Aber auch die Fläche des Arbeitstisches, ein neuer Draht, (den man im ungeglühten Zustande zur Herstellung der Schnittfläche benutzen will), das Handtuch, mit welchem man in naiver Fürsorge die zu schneidende Kartoffel fasst, kann verunreinigt sein und durch eine der Aufmerksamkeit entgangene vorherige Berührung verschleppte Keime aufgenommen haben. Kurz — nach einiger Zeit des Arbeitens mit diesen exquisit contagiösen Keimen sieht man sich in der Lage, ein System raffinirtester Cautelen auszudenken, durch deren unablässig eingedenke Anwendung es allein möglich ist, *micrococcus*-freie Kartoffelschnitte zu erhalten. Dann erst enthüllt sich die durch die fortwährenden Infectionen aller in einem Institut ausgestellten disponirten Materialien entstandene Vermuthung, dass die Verschleppung der Keime ohne weiteres durch die Luft stattgefunden habe, als ein Irrthum, und die Annahme gewinnt an Wahrscheinlichkeit, dass die Epidemien von *Micrococcus prodigiosus*, wie sie in Häusern, Instituten, Strassen, kleinen Orten zuweilen die aufgestellten Speisereste — Kartoffelgerichte, Eiersalate, gekochtes Fleisch, Mehlspeisen und andere breiartige Substanzen — überfallen haben, auf unbeachtete Berührungen, auf Verschleppung zurückzuführen seien. Mit anerkennenswerther Vorsicht äussert sich Schröter über die von ihm beobachteten derartigen Vorgänge: Von einer dem pflanzenphysiologischen Institut im Herbst 1868 eingelieferten, an ihrer ganzen Fläche rothgewordenen Kartoffel wurde 6 Wochen später das Material zu Culturen entnommen, die den ganzen Winter hindurch fortgeführt wurden. „Hierdurch schienen sich reichliche Keime in den Institutsräumen verbreitet zu haben, denn in der Folge bedurfte es nur des Auslegens von Nährsubstanz, um ziemlich sicher zu sein, das Auftreten von rother Färbung in kleinen Theilchen zu er-

halten, die dann beliebig vermehrt werden konnten. Nachdem in den letzten Jahren die absichtlichen Culturen eingestellt worden sind, scheinen sich die Keime ganz verloren zu haben.“ Für die Frage nach der Verbreitung inficirender Keime durch die Luft schien mir eine relativ vollständige Feststellung des Verbreitungsmodus, dem unser *Micrococcus* unterworfen ist, so wichtig zu sein, dass ich die folgenden 28 Experimente ausschliesslich dieser Untersuchung widmete. Es dürfte eben kaum einen Organismus geben, dessen Ueberpflanzung — wenn gelungen — sich so prägnant und zweifellos documentirt, wie dies beim *Micrococcus prod.* der Fall ist. Die Untersuchung eines einzigen Krankheitsgiftes, welches in gleicher Reinheit und Sicherheit die Spuren seiner Weiterverbreitung verfolgen liesse, würde über die Fragen „Miasma oder Contagion“ manche Aufklärung verschaffen.

6. Die Voraufgabe, nicht da zu inficiren, wo man nicht inficiren wollte, wurde auf folgende Weise gelöst. Die 15 Minuten gekochte Kartoffel wurde aus dem siedenden Wasser mit einer geglühten Zange herausgenommen, auf ein reines erhitztes¹⁾ Becherglas gelegt, mit erhitzter Watte umstopft, um fest zu stehen und dann mit einem neuen geglühten Draht durchschnitten; der zum Versuch dienende Theil fiel, ohne dass auch nur seine Schale berührt worden wäre, nach Entfernung der erhitzten Watte mittelst geglühter Zange von selbst in das Becherglas hinab. Auch dieses letztere wurde beim Schneiden nicht mit den Händen direct, sondern nur, nachdem sie mit erhitzter Watte armirt worden waren, berührt. Auf diese Weise gelang es, Kartoffelscheiben zu erhalten, die bei Brutwärme von jeder unbeabsichtigten Cultur ausnahmslos frei blieben; an ihnen liessen sich die Fragen nach der Wirkung des Contactes und nach etwaiger Infection durch die Luft lösen.

7. Contact. Feuchte Beschaffenheit und Reibung der gegenseitigen Flächen sind für die Uebertragung des *Micrococcus* von einem inficirten auf ein neues Kartoffelstück Bedingung. Während auf einer ausgetrockneten Fläche auch das Bestreichen mit feuchter Impfmasse keine Wirkung erzielte, erfolgte, wenn man eine alte Micrococccencultur mit einem normal feuchten Stücke zusammenlegte, die Uebertragung auch durch die minimalen Reibungen,

¹⁾ Wenn mehrfach vom Erhitzen verschiedener Gegenstände — Bechergläser, Watte etc. — die Rede ist, so wird darunter ein 10—15 Min. langer Aufenthalt dieser Gegenstände im Gasofen bei einer Temperatur von 130—150° C. verstanden; Zangen und Drähte wurden in der Gasflamme geglüht.

welche in einem begangenen Zimmer stets unvermeidlich sind; die frischgeschnittene Kartoffel gab am Berührungspunkte genügende Feuchtigkeit ab, um den entsprechenden Theil des eingetrockneten *Micrococcus*-Ueberzuges aufzuweichen. Die so erzielten Inficirungen waren jedoch beschränkt und unkräftig. Sehr üppig wurden sie, wenn man die Stücke mehrere Male an einander rieb; ausreichend für die contagiöse Uebertragung auch das Wischen und Reiben der frischen Kartoffelstücke auf den Glas- und Tischplatten, auf welchen mit *Micrococcus*-Material gearbeitet worden war. Instructiv war für diese Art der Infection die Fläche einer Kartoffel, welche, auf dem Arbeitstisch mit der Fläche gewischt, alle die Organismen in gleichzeitigen Culturen zeigte, welche im Verlauf derartiger Arbeiten aufzutreten pflegen ¹⁾.

Um die verschiedenen Arten des Contactes noch näher zu vergleichen, wurden drei Versuchsreihen angestellt, welche die Zufälligkeiten der unbeabsichtigten Infection darthun sollten. An drei Arbeitsplätzen, an welchen mehrere Tage mit *Micrococcus*-Material stark manipulirt worden war, wurden je drei in oben beschriebener Art infectionsfrei vorbereitete Kartoffelflächen in Bechergläsern aufgestellt: die erste auf der Platte des Arbeitstisches einige Male leicht angewischt — die zweite mit einem Glasdeckel geschützt, auf dessen untere Fläche *Micrococcus*-Impfschleim aufgetrocknet war, — die dritte nur der Berührung mit der Luft ausgesetzt und vor Vertrocknung durch eine Wasserschicht (*Aq. dest.* — vorher gekocht) am Boden des Glases geschützt. Die gewischten Kartoffeln zeigten sämtlich nach 30—36 Stunden das Aufgehen punktförmiger Culturen auch bei gewöhnlicher Stubenwärme, die mit dem beschmierten Deckel versehenen blieben bei dieser Temperatur frei; im Wärmekasten jedoch, wo sich der aufsteigende Wasserdampf an der Glasfläche zu Tropfen verdichtete, weichten diese Tröpfchen die Impfmasse auf und bewirkten minimale aber deutliche Infection (wie sich aus dem Verhalten des *Micrococcus* zum Wasser zeigen wird, mussten die Tröpfchen herabfallen, bevor die Keime zur Auflösung im Wasser gebracht waren). — Dagegen blieben die der Laboratorium-Luft ausgesetzten Flächen absolut frei. Auch die zahlreichen, in dem den *Micrococcen*-Culturen dienenden Brutofen aufgestellten Nährflächen wurden durch die Luft desselben nicht inficirt.

¹⁾ *Micrococcus prodigiosus*, *Micr. candidus*, *Micr. aurantiacus*, *Penicillium glaucum* und *Bacterium Termo*.

8. Luftübertragung. Die den gewöhnlichen Bewegungsmomenten unterworfenen Luft übertrug also die in ihr möglicherweise befindlichen Keime nicht. Es musste, um dieser Thatsache eine Erklärung hinzufügen zu können, vor Allem ermittelt werden, ob eine Luft, welcher direct Keime in grösserer Masse dargeboten wurden, positivere Resultate herbeizuführen im Stande wäre — und ob es etwa nur stärkerer Luftbewegung bedürfe, um die in der Zimmerluft vermutheten Keime zu einem wirksamen Contact mit der exponirten Nährfläche zu bringen.

Für die hierauf gerichteten 23 Versuche erwies sich die Arzberger-Zulkowskysche Wasserstrahl-Luftpumpe von Böhme¹⁾ in Brünn vorzüglich brauchbar. Mit dem Zuleitungsrohr an den Hahn einer Wasserleitung angeschraubt bewirkt dieselbe in dem Luftsaugerohr einen beträchtlichen negativen Druck und saugt eine Quantität Luft ein, deren Volumen man an dem aus dem dritten, dem Ausflussrohr wieder abströmenden Wasser direct messen kann. Der Wasserstrom wurde durchschnittlich so stark gewählt, dass in 10 Sec. 0,5 Liter Luft, also in einer Stunde 180 Liter Luft durch den Apparat gesogen wurden. Das Luftzuleitungsrohr wurde durch eine Glasgabel doublirt, so dass an jedes Zweigrohr derselben Apparate, welche von der aspirirten Luft durchströmt werden sollten, befestigt werden konnten. Diese Apparate waren, in unserem Falle, Systeme von mehreren cylindrischen Gläsern (I. II. III.), durch deren festschliessende Gummipfropfen Glasrohre traten, welche das Durchtreten der Luft durch die einzelnen Cylinder vermittelten. Das Glasrohr des am meisten von der Luftpumpe entfernten Cylinders (I.) mündete, gegen das Eindringen fremder Keime am äusseren Ende durch einen Wattebausch geschützt, in den Luftraum des Zimmers, das andere Ende reichte bis auf den Boden dieses „hinteren“ Cylinders (I.). Dicht unter dem Verschluss des letzteren begann ein zweites Glasrohr, welches, zweimal rechtwinklig gebogen, schliesslich in den zweiten „vorderen“ Cylinder (II.) hinüber leitete, und zwar auf den Boden desselben. Wenn es im Gange der Versuche lag, konnte diesem Cylinder mittelst einer gleichen Vorrichtung nun noch ein dritter (III.) angefügt werden; meistens ging sein unter dem Pfropf ansetzendes Ausgangsrohr in einen Zweig der Glasgabel über. So passirte der Luftstrom gleichzeitig zwei resp. drei jener Glasylinder, indem er stets den Boden des äussersten derselben (I.) zuerst erreichte, ihn durch das Ausgangsrohr

1) Vergleiche die folgende Abhandlung p. 121.

verliess, auf den Boden des vorderen (II.), resp. vordersten Glases (III.) geleitet wurde und auf diese Weise alle in den Gläsern ihm exponirten Gegenstände scharf bestrich. Die hinteren Cylinder (I.) wurden mit Infectionsmaterial, die vorderen (II.) mit infectionsfähigen gekochten Kartoffelstücken gefüllt. Es braucht wohl kaum bemerkt zu werden, dass die Präparation und Aufstellung des zu inficirenden Materials unter aller erdenklichen Sorgfalt unter den beschriebenen Cautelen erfolgte, und dass der regelrechte Gang des Luftstroms durch zeitweilig am hintersten Ende des Systems angefügte Wassercylinder controlirt wurde.

9. a) *Bewirkt der über feuchte stark entwickelte Micrococcus-culturen geleitete Luftstrom Keimübertragung auf vorgelegte Nährflächen?* — Zur Entscheidung dieser Frage wurden in 7 Versuchen in den hinteren Cylindern (I.) ausgebildete ganz mit rothem Schleim überdeckte Kartoffelstücke, im vorderen intakte Scheiben gekochter Kartoffel angebracht und der Luftpumpenapparat $2\frac{1}{2}$ —8 Stunden lang in Thätigkeit gesetzt. Auf dem Inhalt von 6 (vorderen) Gläsern, welche intaktes Material enthalten hatten, fanden sich rothe Pünktchen in verschiedener Zahl — drei, vier bis acht, — welche grösstentheils an den unteren, dem vom Boden aufsteigenden zugeleiteten Luftstrom zugekehrten Flächen der Kartoffelscheiben sassen. In einem nur auf $2\frac{1}{2}$ Stunden ausgedehnten Versuche liessen sich auf den Scheiben des vorderen Glases rothe Pünktchen schlechterdings nicht auffinden.

10. b) *Ist ein starker Luftstrom im Stande, von einer Monate lang eingetrockneten Cultur Partikeln mit sich fortzureissen?* — Bei drei Versuchen, in welchen sich der Luftpumpe zunächst Gläser mit empfänglichem Material, hinter jedem derselben ein Cylinder mit alten fest zusammengetrockneten Kartoffelscheiben, auf deren Fläche Micrococcus-Culturen eingetrocknet waren, befanden, blieben die vom Luftstrom bestrichenen frischen Stücke vollkommen — auch nach 4—5 tägigen Aufenthalt im Brutofen — von rothen Pünktchen frei.

11. c) *Kommt eine Infection zu Stande, wenn der ansteckende Stoff in Pulverform dem Luftstrom dargeboten wird?* — Es wurde in vier Versuchen der Boden des hinteren Cylinders mit einer 2—3 mm hohen Schicht abgeraspelten Pulvers von einer getrockneten Culturfläche überdeckt, der vordere Cylinder in gewohnter Weise mit Kartoffelstücken gefüllt, nach 3—5 stündiger Thätigkeit des Apparats die zu inficirenden Gefässe in den Brutofen gebracht. Hier zeigten sich schon nach 15—18 Stunden auf den exponirt gewesenen Nährflächen einzelne rothe Pünktchen, und wuchsen auf zwanzig und

mehr an. Sie sassen, wie bemerkt zu werden verdient, meistens auf der dem Verschluss des Glases zugekehrten oberen Fläche der Scheiben.

12. d) *Ist eine continuirliche Feuchterhaltung der durchgesaugten Luft im Stande, das Ablösen inficirender Keime von frischen (einen Schleimüberzug bildenden) Micrococcus-Culturen vollständig zu hindern?* — Die zur Lösung dieser Frage unternommenen Versuche wurden so angestellt, dass am entferntesten von der Luftpumpe zwei mit Wasser gefüllte Cylinder Platz fanden, durch welche der Luftstrom also zuerst hindurchtrat. Jedem Wassercylinder schloss sich ein, mit feuchter Micrococusschicht überdeckte Kartoffelstücke enthaltender Cylinder an und diesem war je ein in gewohnter Weise mit disponirtem Material gefülltes Gefäss vorgesetzt. Das Ergebniss der so angeordneten drei Versuche war nicht ganz leicht zu ermitteln, bei einfacher Besichtigung nach 42—70stündigem Aufenthalt im Brutofen erschienen die exponirten Stücke unverändert. Erst nach sehr genauer Durchmusterung jeder einzelnen Fläche liessen sich in jedem Cylinderinhalt 2—3 ganz schwach markirte rothe Pünktchen auffinden.

13. e) *Hindert eine Einschaltung von Watte in dem vom inficirenden zum exponirten Material gehenden Luftstrom die Uebertragung?* — Da durch Einbringung der Watte in die verbindenden Glasröhren stets luftdichte Verstopfung derselben herbeigeführt wurde, suchte ich zuerst die Bedingung des Experimentes so zu erfüllen, dass ich den mit inficirendem Material gefüllten Cylinder in einen grösseren Cylinder brachte, des ersteren Ausgangsrohr in eine 1,5 Cm. dicke Watteschicht münden liess und im oberen durch ein Drahtnetz (und die Watteschicht) vom Infectionsylinder abgegrenzten Raum des grösseren Gefässes die zu inficirenden Kartoffelscheiben placirte. Durch die schwierige Manipulation war indess eine unbemerkte Verschiebung der Watteschicht erfolgt, so dass eine kleine freie Passage für den von unten aufsteigenden Luftstrom entstanden war, in deren Umgebung bereits nach 15 Stunden rothe Pünktchen an den exponirten Stücken auftraten. — Es wurden dann weitere Versuche in der Art aufgestellt, dass zwischen die mit Micrococcus (auf feuchten Flächen oder in Pulverform) gefüllten und die zu inficirenden Cylinder ein solcher mit loser Watte eingeschaltet wurde. Bei dieser Anordnung blieben die vorderen Cylinder ausnahmslos frei.

14. f) *Bewirkt die unmittelbar aus dem Laboratorium aspirirte Luft Infection?* — Die mit Kartoffelstücken gefüllten Gläser, welche $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ —5 Stunden von einer direct aus dem Zimmerraum aspirir-

ten Luft bestrichen wurden, zeigten keine auf Infection deutende Veränderung des in ihnen enthaltenen Materials.

(Die negativen Ergebnisse wurden durch längeren, mindestens 5tägigen Aufenthalt der Cylinder im Brutkasten sicher gestellt.)

15. Die aus obigen Versuchen sich ergebenden Schlussfolgerungen sind besonders mit Rücksicht auf die von Naegeli in seinem Buche über die niederen Pilze und ihr Verhältniss zu den Infectionskrankheiten ausgesprochenen Theorien von allgemeiner Bedeutung, so dass ich dieselben in einigen präzisen Sätzen zusammenzustellen nicht unterlassen will:

Ein starker continuirlicher Luftstrom, der eine mit *Micrococcus prodigiosus* überzogene Oberfläche bestreicht und von da über disponirte Nährflächen geleitet wird, reisst trotz der zwei rechtwinklichen Krümmungen des Verbindungsrohres, wie unsere Anordnung sie mit sich brachte — Keime fort und setzt sie auf den exponirten Nährflächen ab. Und zwar findet dies statt, wenn die mit *M. prodigiosus* überzogene Oberfläche, wie das unter natürlichen Verhältnissen der Fall ist, feucht und der Luftstrom trocken ist, schwieriger und in geringerem Maasse, wenn derselbe feucht erhalten wird. Am leichtesten gelingt die Uebertragung der Keime, wenn dieselben dem Luftzuge in Staubform dargeboten werden. Dagegen werden von einer Oberfläche, auf welcher *M. prodigiosus* fest angetrocknet ist, keine Keime losgerissen. Ebenso wenig überträgt die gewöhnliche Bewegung der Luft des Zimmers Infektionskeime, auch wenn in demselben sich *Micrococcus*-Culturen befinden. Auch durch Watte wird die Uebertragung von *Micrococcus*keimen durch die Luft verhindert unter Verhältnissen die sonst Infektion veranlassen würden. Contact mit feuchten *Micrococcus*massen dagegen bewirkt sofort Infection.

III. Welche Mittel und Vorkehrungen zerstören die Keime des *Micrococcus prodigiosus* oder heben die Folgen der absichtlichen Uebertragung auf?

16. Die Bemerkungen von Schröter, dass der Zutritt von Licht für die Entwicklung des *Micrococcus* ohne Bedeutung sei, dass er andererseits nur bei Luftzutritt gedeihe, konnten unsere auf diesen Punkt gerichteten Versuche lediglich bestätigen. Dagegen ergeben dieselben hinsichtlich der Temperatur einige Abweichungen. Die gewöhnliche Zimmertemperatur (des Monats März) hielt die Entwicklung der Culturen wesentlich auf, so dass erst nach 60 Stunden unter ihrem Einfluss ein deutliches Angehen derselben erfolgte, während zu gleicher Zeit geimpfte und im Wärmekasten (35° C.) unter-

gebrachte Stücke schon nach 30 — ja zuweilen schon nach 20 Stunden lebhaftere Entwicklung zeigten; mit anderen Worten: die Incubationszeit wird durch eine auf 12—15° herabgeminderte Temperatur auf mindestens das Doppelte verlängert. — Die Vernichtungstemperatur für den *Micrococcus prodigiosus* liegt zwischen 68° und 80° C. trocken: während Stücke, welche im Gasofen 10—15 Min. lang der ersteren ausgesetzt wurden, noch gutes Impfmateriale liefern, waren bis auf 78° und 80° erhitzte nicht mehr ansteckungsfähig. Das Aussehen der Culturen giebt hier keinen Anhaltspunkt, da es noch bei viel stärkerer Erhitzung (125°—160°) sich nur durch eine blanke Kruste von dem unerhitzten Material unterscheidet, ohne dass in der Farbennüance oder im mikroskopischen Bilde eine Veränderung eingetreten wäre. — Bei gelinder Wärme eingetrocknet, behalten die aufbewahrten Culturen ihre Keimfähigkeit Monate lang. So waren meine ganzen Impfungen mit einem Material bewerkstelligt, das bereits im October 1878 getrocknet worden war. — Wird die Schnittfläche der gekochten Kartoffel im heissen Zustande geimpft, so zeigen die entstehenden Culturen ein kümmerliches und fleckweises Aussehen.

17. Wasser erweist sich im heissen und kalten Zustande der Vermehrung des *Micrococcus* feindlich, indem es ihn vom Nährboden löst und fortspült. Legte man gut entwickelte feuchte Culturen 20—36 Stunden in kaltes Wasser, so zeigten sie, herausgenommen, noch einen leichten pfirsichfarbenen Schimmer, in welchem fortpflanzungsfähige Keime nicht mehr enthalten waren; die so behandelten Stücke blieben auch unter sonst guten Brutverhältnissen steril. Der im Wasser zu Boden gesunkene leicht rosenfarbene Schlamm enthielt ebenfalls keine impffähigen Keime mehr. Die Auflösung der Micrococcuskörperchen im Wasser lässt sich auch unter dem Mikroskop direct beobachten.

Glycerin conservirt diese Körperchen mehrere Tage (auf 8 Tage Zeitdauer beobachtet). — Heisses Wasser bewirkt die Abspülung und Auflösung der Culturen in wenigen Minuten.

Alkohol zieht schnell den rothen Farbstoff aus und macht die Körperchen zur Impfung unfähig. Mit Alkohol behandelter Nährboden nahm zuweilen frisches Impfmateriale noch an und bewirkte ein kümmerliches Angehen desselben.

Carbolsäure macht nach kurzer Berührungsdauer sowohl den Keim unwirksam, als auch den Nährboden steril. — *Kali hypermanganicum* bewirkt in 2—5% Lösung keine Tödtung des Keims, alterirt dagegen die Beschaffenheit des Nährbodens. Salicylsäure

schien in verdünnter Lösung den Nährboden sogar ergiebiger zu machen, der Keim wurde durch sie nicht alterirt; stärkere wurden nicht versucht. — Von anorganischen Säuren erwiesen sich Salz- und Salpetersäure als absolut tödtlich.

18. Abgesehen von diesen Vernichtungsbedingungen (22 Versuche), deren Zahl ja noch bedeutend vermehrt werden könnte, existiren für den *Micrococcus prod.* solche in Gestalt anderer niederer Organismen, deren Keime, sei es dass sie mit überimpft wurden, sei es dass sie aus der Luft oder den Gefässen in die Culturflächen hineingelangten, ihn nach Verlauf von 5—6 Tagen von seinem Nährboden verdrängen. Es sind einmal *Micrococcus candidus* und *aurantiacus*, *Penicillium glaucum*, die sich an einzelnen beschränkten Stellen der Nährflächen ansiedeln. Wird aber der *Micrococcus prod.* nicht am vierten Tage nach der Uebertragung durch Eintrocknung fixirt, so beginnt ein schleimig-klebriger, hellwachsgelber Ueberzug von den nicht durch *Micrococcus* bepflanzen Stellen aus sich über die ganze Fläche zu verbreiten. Derselbe besteht aus reinem *Bacterium Termo*, welches nach 48—60 Stunden die rothen Stellen so reducirt, resp. unsichtbar gemacht hat, dass die ganze Oberfläche des Kartoffelschnitts nun schmierig und gelb erscheint. Doch stecken unter diesem Schlamm noch immer culturfähige *Micrococcus*-Keime, wie man sich durch Ueberimpfung eines anscheinend rein gelben Klümpchens auf eine frische Kartoffelfläche überzeugen kann. Dieselbe geht dann roth an, — eine Thatsache, die ohne Controlexperimente wohl im Interesse der polymorphotischen Theorie ausgebeutet werden könnte. Wiederholt man jedoch diesen Versuch (selbstverständlich unter den Cautelen gegen unabsichtliche *Micrococcus*übertragung) häufiger, so wird man sich bald überzeugen, dass aus noch älteren oder einmal wirklich reinen gelben Klümpchen sich immer nur *Bacterium Termo* — auch auf ganz frisch gekochten Kartoffeln — erzeugen lässt, mit anderen Worten, dass die verhängnissvolle, meistens nicht zu vermeidende Keimvermischung auch hier ihre Rolle spielt. — Die vorher erwähnten Organismen — *Micrococcus candidus* und *aurantiacus*, sowie *Penicillium glaucum* — lassen es zu, dass die blutrothen Tröpfchen des *M. prodigiosus* sich noch etwas erhöhen und ausbreiten; doch hat sich niemals gezeigt, dass — ebensowenig wie gegenüber dem *Bacterium Termo* — unser *Micrococcus* diese Afterwucherungen verdrängt und sein Terrain wiedererobert hätte.

Breslau, 4. April 1879.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Beiträge zur Biologie der Pflanzen](#)

Jahr/Year: 1879

Band/Volume: [3_1](#)

Autor(en)/Author(s): Wernich Albrecht

Artikel/Article: [Untersuchungen über Bacterien 105-118](#)