

## Ueber den genetischen Zusammenhang der Milzbrand- und Heubakterien.

Buchner, Hans, Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandkontagiums aus den Heupilzen. Sitzungsber. der k. bayer. Akad. der Wissensch. Mathem.-physik. Klasse. 1880. Heft III. — Derselbe, Ueber die experim. Erzeugung des Milzbrandkontagiums. II. Mitteilung. Ebendasselbst 1882. Heft II. — Derselbe, Kritisches und Experimentelles über die Frage der Konstanz der pathogenen Spaltpilze. In „Untersuchungen über niedere Pilze“, herausgeg. von Carl v. Nägeli. München 1882. — Koch, Robert, Zur Aetiologie des Milzbrandes. Mitteil. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte herausg. von Dr. Struck. Berlin 1881. — Prazmowski, A., Entwicklungsgeschichte und Morphologie von *Bacillus Anthracis* Cohn. Vorgelegt der Akademie der Wissensch. in Krakau am 20. März 1884 (polnisch).

Unter den zahlreichen Problemen, welche die Aetiologie der Infektionskrankheiten betreffen, nimmt wohl die Frage nach dem Ursprung der krankheitserregenden Spaltpilze eine der wichtigsten Stellen ein.

Nach der einen Auffassung, welche bis vor kurzem in der Wissenschaft die herrschende war und in Deutschland insbesondere durch Ferdinand Cohn und Robert Koch vertreten ist, hat eine jede infektiöse Krankheit ihren spezifischen Krankheitserreger d. h. einen besondern Spaltpilz zur Ursache. Diese Spaltpilze können auch außerhalb des Tierkörpers in der freien Natur an ihrem Gedeihen günstigen Oertlichkeiten leben und sich vermehren, behalten dabei alle ihre eigentümlichen Merkmale und Eigenschaften, insbesondere aber die Fähigkeit, Krankheiten zu erzeugen, sobald sie in den tierischen oder menschlichen Organismus eingedrungen sind. Sie haben mit den gewöhnlichen Fäulnis- und Gährungsspaltpilzen, mit denen sie manchmal habituell übereinstimmen, von denen sie auch mehr oder weniger sich unterscheiden können, nichts gemein; sie sind als spezifische Wesen, die nur aus ihresgleichen hervorgehen und ihresgleichen wieder erzeugen, zu betrachten.

Dieser Anschauung trat im Jahre 1877 Carl von Nägeli in seinem berühmten Werke: „Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten“ entgegen. Er stellte zuerst in Abrede, dass bei den Spaltpilzen überhaupt eine solche Kontinuität von morphologischen und physiologischen Merkmalen obwalte, wie sie von den genannten Forschern angenommen wird. Seine eignen langjährigen Beobachtungen haben ihn im Gegenteil belehrt, dass Form und Wirkung der Spaltpilze je nach den Lebensbedingungen stetem Wechsel unterworfen sind. Er kann deshalb die von Cohn aufgestellten Arten und Gattungen der Bakterien nicht anerkennen, sieht vielmehr in ihnen bloß Modifikationen oder Anpassungsformen einer einzigen oder einiger weniger Spezies. In betreff der krankheitserregenden Pilze äußert er sich folgendermaßen: „Die Miasmenpilze entstehen unter „den günstigen Bedingungen aus den Fäulnispilzen oder anderen all-

„gemein verbreiteten Spaltpilzen und gehen unter entgegengesetzten „Bedingungen wieder in diese über. Die Kontagienpilze, deren Wohn- „stätte der Organismus ist, und die regelmäßig aus dem Kranken in „den Gesunden übertreten, werden, sowie sie in äußeren Medien leben „und sich fortpflanzen, zu gewöhnlichen Spaltpilzen. Es muss auch „das Umgekehrte vorkommen; die Kontagienpilze müssen aus den „letzteren entstehen können.“

Diese aus allgemeinen Betrachtungen und Erwägungen abgeleitete Theorie von Nägeli's, welche in einfacher Weise eine Anzahl von epidemiologischen Fragen löste, erfreute sich in weiten Kreisen einer sehr günstigen Aufnahme. Es fehlte ihr aber der experimentelle Nachweis, dass eine solche Umwandlung der gewöhnlichen Spaltpilze in pathogene und umgekehrt, wie sie von Nägeli angenommen wurde, in Wirklichkeit vor sich gehe. Diesen Nachweis zu liefern, stellten sich zwei von Hans Buchner im pflanzenphysiologischen Laboratorium von Nägeli's ausgeführte Arbeiten zur Aufgabe.

Zum Gegenstand seiner Untersuchung wählte Buchner zwei von Cohn als besondere Arten unterschiedene Spaltpilzformen, von denen die eine als sogenannter Heubacillus (*Bacillus subtilis* Cohn) in aufgekochten und neutralisierten oder schwach alkalischen Heuaufgüssen im Zustande absoluter Reinheit vorkommt, die andere aber als Milzbrandbacillus (*Bacillus Anthracis* Cohn) in an Milzbrand erkrankten Tieren in gewissen Organen massenhaft erscheint und als die wahre Ursache dieser Krankheit erkannt worden ist.

Beide Bacillen sollen nach Buchner morphologisch und entwicklungsgeschichtlich genau mit einander übereinstimmen und nur durch etliche physiologische Eigenschaften von einander sich unterscheiden. In morphologischer Beziehung gleichen sie einander in Form, Größe und Zusammensetzung ihrer Stäbchen und Fäden aus kurzen zylindrischen Gliedern; auch die Vorgänge der Teilung und der Bildung von stark lichtbrechenden länglichen Sporen sind bei beiden wesentlich gleich. Physiologisch sind sie ebenfalls einander sehr nahe verwandt; denn beide bedürfen in gleicher Weise zu ihrem Leben und Gedeihen des Sauerstoffs der Luft, beide ernähren sich am besten durch Eiweiß und peptonartige Substanzen und beide bedingen ähnliche Zersetzungen (jedoch ohne Gährungserscheinungen) in Nährlösungen, in denen sie sich vermehrt haben. Sie unterscheiden sich nur durch die Form ihrer Vegetationen in künstlichen Nährlösungen, indem Milzbrandbacillen am Grunde der Nährlösungen in Form von zarten Wölkchen vegetieren und dabei die Flüssigkeit klar und hell lassen, während Heubacillen die Nährlösungen trüben und schließlich auf der Oberfläche derselben dicke, runzlige Decken bilden, — sowie durch das eigenartige Verhalten dem tierischen Organismus gegenüber, da Heubacillen den Tieren eingepflicht in diesen wie eine tote Masse liegen oder spurlos verschwinden, Milzbrandbacillen aber sich

dann rasch vermehren und in der Regel nach kurzer Zeit den Tod des Tieres herbeiführen. In Zusammenhang mit dieser letztern Eigenschaft zeigen sich die Milzbrandbacillen sehr empfindlich gegen äußere schädliche Einflüsse, sobald sie aus dem Tierkörper heraus in künstliche Nährlösungen gebracht werden, während umgekehrt Heubacillen unter solchen Umständen sehr resistent sich erweisen. Letztere gehören auch zu den widerstandsfähigsten Organismen, die wir überhaupt kennen, da ihre Sporen außerordentlich lange hohen Hitze-graden widerstehen. In anbetracht dieser nahen verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Heu- und Milzbrandbacillen hielt es Buchner für wahrscheinlich, dass eben diese Spaltpilze beim richtigen Verfahren sich am leichtesten ineinander überführen lassen.

Wir wollen nun kurz die diesbezüglichen Versuche Buchner's skizzieren.

Zuerst versuchte Buchner die giftigen direkt der Milz an Milzbrand gestorbener Tiere entnommenen Milzbrandbacillen in die unschädliche Form der Heubacillen zu verwandeln. Zu diesem Behufe züchtete er dieselben ununterbrochen mehrere Generationen hindurch bei der Temperatur des Tierkörpers (35—37° C.) in einer halb- bis einprozentigen Lösung des Liebig'schen Fleischextrakts mit oder ohne Zucker- und Peptonzusatz. Um die Kulturen vor Eindringen fremder Keime zu schützen, bediente er sich eines aus zwei Gefäßen zusammengesetzten Apparates. Das größere von den beiden Gefäßen diente zur Aufnahme der Reservennährlösung, das kleinere sogenannte Züchtungsgefäß wurde mit einer entsprechenden Menge derselben Nährlösung beschickt und nach Sterilisierung des ganzen Apparates im Dampfkessel mit Milzbrandbakterien infiziert. Nach jedesmaligem Erlöschen der Vegetation wurde die erschöpfte Nährlösung des Züchtungsgefäßes durch eine verschließbare Oeffnung abgelassen und neue Nährlösung hinzugegeben, in der sich die im Züchtungsgefäße zurückgebliebenen Milzbrandkeime von neuem weiter entwickeln konnten. Um schließlich die Vegetationen mit der hinreichenden Menge Sauerstoff zu versehen, wurde das Züchtungsgefäß durch einen besondern Schüttelapparat in fortwährender Bewegung erhalten.

Die in dieser Weise vorgenommenen und öfters von Anfang an wiederholten Kulturen ergaben zunächst das beachtenswerte Resultat, dass die Virulenz der Milzbrandbacillen mit jeder weitem Züchtung sich verminderte, ohne dass in der äußern Form der Vegetationen sowie in der morphologischen Beschaffenheit und den chemischen Eigenschaften der Bacillen irgend eine Veränderung eingetreten wäre. Die Abnahme der Virulenz äußerte sich in der Weise, dass zur Erzeugung des Milzbrandes immer größere Mengen der Pilzflüssigkeit erforderlich waren. Die letzte Züchtung, welche noch infektiös wirkte, war die 36e, aber in diesem Falle wurden 10 cmm Pilzflüssigkeit zur Impfung (von weißen Mäusen) verwendet.

Bei weiteren fortgesetzten Züchtungen in der angegebenen Weise traten allmählich auch andere Veränderungen in der Natur der Milzbrandbacillen ein. Zuerst zeigten dieselben die Neigung zarte Ueberzüge an den Wandungen des Gefäßes zu bilden, welche Eigenschaft sich mit jeder weitem Generation steigerte. Als nun beinahe die ganze Vegetation an die Wandungen übersiedelte und in der Flüssigkeit nur wenige Pilze verblieben, wurde das Schütteln aufgegeben und in ruhender Nährlösung weiter gezüchtet. Die erste Züchtung bei Ruhe ergab eine starke, weißliche Decke an der Oberfläche der sonst klaren Nährlösung. Diese Decke war zwar von den Decken der Heubakterien noch sehr verschieden, da sie sehr locker und schleimig und war auch bei der leisesten Erschütterung zu Boden sank, aber sie bedeutete, wie Buchner meint, schon einen großen Fortschritt in der Umänderung der Milzbrand- in Heubakterien. Trotz dieser Veränderung könnte die jetzt erhaltene Form noch nicht mit Erfolg im Heuaufguss gezüchtet werden; es trat zwar in demselben eine Vegetation ein, aber sie war äußerst spärlich. Weitere Züchtungen in ruhender Nährlösung ließen auch diese Eigenschaft der Milzbrandbacillen nach und nach verschwinden und es gelang schließlich eine Form heranzuzüchten, welche im Heuaufguss ebenso gut vegetierte und eben solche feste trockene Decken bildete, wie die echten Heubakterien. Es stellte sich bei dieser Form auch die den Heubakterien eigentümliche, lebhaftere Bewegung ein, welche den Milzbrandbakterien, die nur zuweilen langsame Eigenbewegungen zeigen, abgeht.

„Nach 1500 Generationen (was nach Buchner's Berechnungen „einer Anzahl von 150 Züchtungen entspricht), welche zusammen im „Laufe eines halben Jahres zurückgelegt worden waren, — sagt „Buchner — musste die Umwandlung der Milzbrandbakterien in „Heubakterien als vollendet angesehen werden; denn es war un- „möglich, einen Unterschied zwischen den durch Züch- „tung aus ersteren erhaltenen Pilzen und den echten, „unmittelbar rein kultivierten Heupilzen aufzufinden.“

Mit größeren Schwierigkeiten hatte Buchner zu kämpfen bei denjenigen Versuchen, welche die Umwandlung der unschädlichen Heubacillen in die giftige, Milzbrand erzeugende Form bezweckten. Es wurden zuerst rein kultivierte Heubacillen direkt den Tieren (Kaninchen) eingepft in der Hoffnung, dass sie möglicherweise im tierischen Organismus ihre Natur von selbst ändern. Das Resultat dieser Impfungen, wie verschieden sie auch durchgeführt wurden, war aber ein durchaus negatives; geringe Mengen der Impfflüssigkeit blieben ohne bemerkbare Wirkung, größere führten den Tod unter septischen Erscheinungen herbei. Es musste also zuerst eine Veränderung der Natur der Heubakterien außerhalb des Tierkörpers versucht werden, um sie an die Lebensbedingungen im Tierkörper anzupassen und so zur Annahme infektiöser Eigenschaften zu bringen. Zu diesem

Zwecke wurden Heubakterien Anfangs im Eiereiweiß mit etwas Fleischextraktlösung, dann in defibriertem Blute gezüchtet; selbstverständlich konnten diese Flüssigkeiten nicht sterilisiert werden. Diese Züchtungen ergaben ein mehr befriedigendes Resultat; denn schon die ersten im Blute gezüchteten Bakterien zeigten nach Uebertragung in Fleischextraktlösung eine sichtbare Veränderung in der Richtung gegen die Milzbrandbakterien. Sie bildeten nach Art der früher geschilderten Uebergangsform zwischen echten Milzbrand- und echten Heubaecillen in Fleischextraktlösung nur äußerst lockere, schleimige Decken, die bei leisester Erschütterung zu Boden sanken und konnten in Heuaufgüssen nicht mehr zur reichlichen Vermehrung gebracht werden. Da jedoch eine weitere Umänderung durch fortgesetzte Züchtungen im Blute nicht erzielt werden konnte, so wurde mit der weitem Züchtung im Blute abgebrochen und von neuem zu Impfversuchen übergegangen. Als Impfmaterial dienten Sporen von Bakterien des Blutes, welche nach Umzüchtung der letzteren in Fleischextraktlösung sich bildeten. Mit diesen Sporen wurden weiße Mäuse in steigenden Mengen, von 0,1 bis 1,0 cmm infiziert. Während die mit größeren Mengen mit 0,3 cmm bis 1,0 cmm. injizierten Mäuse unter septischen Erscheinungen dem Tode erlagen, die übrigen aber sich bald erholten, starb eine von den zwei mit 0,2 cmm infizierten Mäusen am vierten Tage an charakteristischem Milzbrand. Dasselbe Resultat ergaben auch weitere Impfungen an weißen Mäusen und Kaninchen; stets war es die mittlere Injektionsmenge, welche ein positives Resultat ergab. Der Tod erfolgte in allen diesen Fällen nach einer längern Inkubationsdauer von 4 bis 5 Tagen, während nach Impfungen mit echtem Milzbrandgifte die Tiere gewöhnlich schon nach 24, höchstens 48 Stunden dem Tode erliegen. „Diese längere Zeitdauer — meint Buchner — ist wohl erforderlich, damit die Umwandlung der veränderten Heupilze im Körper in Milzbrandbakterien erfolgen kann.“

Als später anstatt flüssigen Impfmateriales an Leinenbändchen angetrocknete Sporen zur Impfung verwendet wurden, „konnte in jedem einzelnen Falle durch die veränderten Heupilze nach Ablauf einer Inkubationsdauer von 4 bis 6 Tagen der Milzbrand mit allen charakteristischen Befunden erzeugt werden.“

In einer spätern Arbeit theilte Buchner noch eine andere Methode der Umänderung der giftigen Milzbrandbakterien in Heubakterien mit, welche viel rascher, als die oben geschilderte, zum Ziele führt. Nach dieser Methode werden giftige Milzbrandbaecillen in einer Mischung von halbprozentiger Fleischextraktlösung mit frischem Eigelb und Normal-Natronlösung bei 36° C. kultiviert; das richtige Mischungsverhältnis ist 1 cem Eigelb und 1 bis 5 cem Normal-Natronlösung auf 20 cem Fleischextraktlösung. In einer so zusammengesetzten Nährlösung wachsen die Milzbrandbaecillen sehr üppig und zeigen

gleich in der ersten Generation sehr weit gehende Veränderungen. Sie behalten im wesentlichen noch die Form der Milzbrandbakterien, aber ihre Stäbchen sind in der Regel breiter, zeigen etwas schwerfällige Eigenbewegungen und bilden Sporen, die bis fünfmal so lang als breit sind. In Fleischextraktlösung übertragen bilden sie lockere, schleimige Decken, in Heuaufguss zeigen sie ein spärliches Wachstum ohne die charakteristische Deckenbildung. Nach nochmaliger Umzüchtung dieser als „Eiweißbakterien“ bezeichneten Form in der nämlichen Nährlösung, zeigte sie sich bei vorgenommenen Impfungen an weißen Mäusen wirkungslos; größere Impfungen derselben (über 20 cmm) wirkten dagegen noch infektiös. Durch weitere Züchtungen mit der in der ersten Versuchsreihe angewendeten Weise konnte auch sie zum vollständigen Verlust ihrer Virulenz gebracht werden.

Aus diesen Resultaten seiner Versuche schließt Buchner, dass Milzbrandbakterien bloß eine Anpassungsform der allgemein verbreiteten und unschädlichen Heubakterien sind, mit denen er sie deshalb zu einer einzigen naturhistorischen Art, dem *Bacterium subtile* (Buchner) vereinigt. Wie aus der obigen Darstellung zu ersehen ist, stützt er diese seine Behauptung auf zweierlei Thatsachen:

1) auf die Resultate der mit ungeänderten Bacillen vorgenommenen Impfungen und

2) auf die Vegetationsformen der ungezüchteten Bacillen in künstlichen Nährlösungen, namentlich aber im Heuaufguss. Ob auch andere Merkmale und Eigenschaften sich durch Umzüchtung verändert haben, ob z. B. die Milzbrandbacillen nach Verlust der Virulenz auch die hohe Widerstandsfähigkeit der Sporen der Heubacillen gegen Siedehitze erlangt haben, darüber finden wir in den Arbeiten Buchner's keinerlei Aufschluss.

Die Versuch Buchner's haben im allgemeinen eine sehr günstige Aufnahme bei den Bakteriologen gefunden; aber auch absprechendes Urtheil wurde ihnen zu teil. In letzterer Beziehung ist besonders beachtenswert die Kritik, welche Robert Koch gegen dieselben ergehen ließ. Die Einwände Koch's richten sich an erster Stelle gegen die von Buchner angewendeten Versuchsmethoden, in denen er die Hauptursache der erhaltenen Resultate zu erblicken geneigt ist. Er meint, dass die angewendeten Vorsichtsmaßregeln sowohl in der ersten, als auch insbesondere in der zweiten Versuchsreihe, in welcher nicht sterilisierte Nährlösungen gebraucht wurden, nicht hinreichenden Schutz gewährten, um fremde Bakterien von den Buchner'schen Kulturen abzuhalten; daher lassen sich seiner Ansicht nach die Resultate der vorgenommenen Impfungen durch Verunreinigung und Ueberwucherung der ursprünglichen Kulturen ganz einfach erklären. Weiter legt er Gewicht darauf, dass Buchner es unterlassen hatte, die von ihm (Koch) zuerst gebrauchten Färbungsmethoden anzuwenden, um die morphologischen Unterschiede, welche zwi-

sehen Heu- und Milzbrandbakterien existieren, nachzuweisen. Schließlich beruft er sich auf seine eignen Kulturversuche zum Beweise, dass Milzbrandbakterien auf verschiedensten Nährsubstraten (Nährgelatine von *humor aqueus*, Fleischextrakt, gekochte Kartoffeln) Wochen und Monate lang gezüchtet, dennoch ihre Virulenz im vollsten Maße behalten. Er bestreitet deshalb die Richtigkeit der Buchner'schen Resultate und spricht ihnen jede Bedeutung in der Abstammungsfrage der pathogenen Bakterien ab.

Eine Entgegnung auf die Kritik Koch's ist von seiten Buchner's nicht ausgeblieben. Da sie aber vorwiegend polemischen Charakter trägt, so braucht an dieser Stelle nur in Kürze auf sie eingegangen zu werden. Indem Buchner einige Schwächen der Koch'schen Argumentation sowie den Umstand benutzte, dass Koch selbst die Heubacillen nicht richtig zu charakterisieren wußte, vielmehr dieselben mit anderen nicht näher bekannten Bakterien vermengte, war es ihm leicht, die zwei ersten Einwände — wenn auch nicht ganz zu widerlegen, so doch wenigstens deren Spitze gegen Koch's eigne Untersuchungen zu wenden. Den letzten und schwerwiegendsten Einwand, dass Milzbrandbacillen bei künstlichen Züchtungen eine Abnahme der Virulenz nicht zeigen, wies er aber unter Hinweis auf den Umstand zurück, dass Koch unter ganz anderen Bedingungen experimentierte, somit auch zu anderen Resultaten gelangen musste. Im übrigen hält er an allen seinen früheren Anschauungen fest und behauptet durch seine Untersuchungen nicht nur die Möglichkeit der Umwandlung der Milzbrandbakterien in eine nicht infektiöse Form, sondern auch die genetische Zusammengehörigkeit der letzteren mit den Heubakterien erwiesen zu haben.

Diesem letzteren mit voller Bestimmtheit ausgesprochenen Satz Buchner's, dass „Milzbrand- und Heubakterien genetisch zusammengehören und eine einzige naturhistorische Art bilden,“ widersprechen die Resultate meiner eignen Untersuchungen, die ich im März d. J. der Krakauer Akademie der Wissenschaften vorgelegt habe<sup>1)</sup>. Dieselben stellten sich zur Hauptaufgabe die Richtigkeit der Voraussetzungen zu prüfen, welche die Basis der Versuche Buchner's bildeten.

Wie erwähnt, ging Buchner von der Ansicht aus, dass Milzbrand- und Heubakterien in morphologischer Beziehung mit einander vollständig übereinstimmen. Wäre diese Voraussetzung richtig, so

---

1) Diese Untersuchungen wurden noch im Jahre 1882 in den Monaten März bis August ausgeführt, kamen aber Umstände halber erst in diesem Jahre zur Veröffentlichung. Die wichtigsten Resultate derselben wurden in zwei Vorträgen, die ich in der polnischen Gesellschaft der Naturforscher „Copernicus“ in Lemberg und in der Lemberger medizinischen Gesellschaft im Mai 1882 gehalten habe, im Auszuge mitgeteilt.

würde die von Buchner behauptete spezifische Zusammengehörigkeit beider Spaltpilze sehr an Wahrscheinlichkeit gewinnen. Dies ist jedoch nicht der Fall, wie wir gleich sehen werden.

Die morphologische Uebereinstimmung sollte nach Buchner zuerst durch Cohn erwiesen worden sein. Cohn hat aber nur Heubakterien näher studiert und sich mit Untersuchungen von Milzbrandbacillen gar nicht befaßt. Letztere kannte er nur insofern, als ihm Robert Koch seine Kulturen von dieser Bakterie zur Besichtigung und Kontrolle übergab. Auf grund dieser jedenfalls flüchtigen Beobachtung stellte Cohn die Behauptung auf, dass Milzbrand- und Heubacillen sowohl in der äußern Form als auch in sämtlichen Phasen ihrer Entwicklung einander sehr ähnlich sind, und diesem Ausspruch stimmte auch Robert Koch bei. Beide Forscher schildern demgemäß in gleicher Weise die Wachstums- und Teilungsvorgänge, die Sporenbildung und Sporenkeimung der beiden Bacillenarten. Indess hat schon Brefeld gezeigt, dass Cohn die Auskeimung der Sporen von *Bacillus subtilis* gar nicht gesehen hatte und ich konnte diese Thatsache bestätigen. Es lag nun nahe, dass auch Koch den Auskeimungsprozess bei den Milzbrandsporen nicht oder nicht richtig beobachtet hatte; dann aber war die behauptete morphologische Uebereinstimmung beider Bakterien keineswegs als schon erwiesen zu betrachten.

Um diesen Punkt aufzuklären, habe ich mich veranlasst gefunden, die Entwicklungsgeschichte und Morphologie des Milzbrandbacillus noch einmal einem nähern Studium zu unterziehen. Diese Untersuchung hat nun ergeben, dass zwischen Heu- und Milzbrandbakterien sehr wichtige und entscheidende Formunterschiede bestehen und zwar nicht nur im Auskeimungsprozesse selbst, sondern auch in anderen morphologischen Merkmalen.

Um diese Unterschiede dem Leser recht anschaulich zu machen, will ich zuerst die Entwicklungsgeschichte der Heubacillen nach Brefeld's und meinen eignen Untersuchungen im kurzen skizzieren.

Als Heubakterien (*Bacillus subtilis* Cohn) werden jetzt diejenigen Bakterien bezeichnet, welche nach einer von W. Roberts erfundenen Methode sich in wenigstens eine Stunde lang aufgekochtem und nachher neutralisiertem Heuaufguss vorfinden. Durch ein so starkes und andauerndes Erhitzen werden sämtliche andere Bakterienkeime getötet und nur die Sporen des *B. subtilis*, welche, wie Brefeld zuerst nachgewiesen hat, selbst ein dreistündiges Aufkochen ohne Schaden ertragen können, am Leben erhalten. Der anfänglich klare Heuaufguss trübt sich nach 18 bis 24 Stunden, nimmt eine milchige Beschaffenheit an und lässt später eine zarte Haut an seiner Oberfläche erscheinen. Letztere verdickt sich mit der Zeit, nimmt eine runzlige, trockene Beschaffenheit an, während gleichzeitig die tieferen Schichten



der Flüssigkeit sich allmählich klären. Schließlich zerfällt die obere Decke und fällt zu Boden in Form einer staubigen Masse.

Verfolgt man die Veränderungen des Heuaufgusses unter dem Mikroskop, so findet man, dass sich in demselben zu Anfang der Trübung zahllose einzelne sowie zu Ketten verbundene Stäbchen vorfinden, die in lebhafter, eigentümlich wimmelnder Bewegung begriffen sind. Allmählich sammeln sich dieselben an der Oberfläche der Flüssigkeit, wachsen hier in der Regel zu langen gegliederten oder ungegliederten Scheinfäden aus, deren Anhäufung die oberflächliche Decke bedingt. In diesen Fäden vollzieht sich die Sporenbildung; ein jedes Glied des Scheinfadens streckt sich ein wenig in die Länge, vergrößert auch wohl seinen Querdurchmesser und bildet dann in seinem Innern eine längliche, stark lichtbrechende Spore. Nachdem die Sporen fertig gebildet sind, lösen sich die sie umgebenden Mutterzellenmembranen auf, die Sporen werden frei und fallen auf den Boden des Gefäßes, was sich äußerlich durch Auflösung und Zerstäubung der oberflächlichen Haut bemerkbar macht. Bringt man die Sporen in eine entsprechende Nährlösung in die feuchte Kammer, so lässt sich dann auch ihre Auskeimung direkt beobachten. Sie schwellen bei entsprechender Temperatur (36° C.) schon nach 1 bis 2 Stunden um das Doppelte ihres Volumens an, verlieren ihren Lichtglanz und keimen nach weiteren 1½ bis 2 Stunden aus. Die Auskeimung erfolgt stets in der Weise, dass das junge Stäbchen seitlich d. h. senkrecht zur Längsachse der Spore hervorbricht, sich dann rasch durch Wachstum verlängert, auch wohl Tochterstäbchen abgliedert, schließlich die Sporenhaut abstreift und davonschwimmt. Die abgestreifte Sporenhaut lässt an den beiden Enden der Längsachse deutliche Verdichtungen erkennen.

In dem eben beschriebenen anatomischen Bau der Sporen und der eigentümlichen seitlichen Auskeimung derselben liegen die charakteristischsten Merkmale von *B. subtilis*. Alle übrigen Merkmale, wie die Ueppigkeit des Wachstums, die Deckenbildung, die Aufeinanderfolge der Teilungen, der Quer- und Längsdurchmesser der Stäbchen können durch äußere Lebensbedingungen beeinflusst werden, aber die Beschaffenheit der Sporen und die Art ihrer Auskeimung bleiben stets dieselben.

Ganz andere morphologische Merkmale kommen in entscheidenden Punkten bei *B. Anthracis* zum Vorschein. Hat man eine Reinkultur desselben erlangt, was bei richtigem Verfahren nicht allzu schwierig ist, so findet man, dass die Nährlösung im ganzen Verlaufe der Vegetation klar und hell bleibt. Man sieht nur am Boden des Gefäßes zarte, wolkenartige Gebilde, die sich in der Flüssigkeit nach verschiedenen Richtungen ausspannen und bei seichter Schichte derselben mit ihren Fortsätzen bis an die Oberfläche reichen. Mitunter kommt es in ganz ruhigen Nährlösungen vor, dass sich an der Ober-

fläche eine zarte Haut bildet, die jedoch beim leisesten Erschüttern zu Boden sinkt. Letztere Erscheinung wird nicht nur in den späteren Generationen, sondern selbst in der ersten Züchtung der aus dem Blute der Milzbrandkadaver entnommenen Bacillen beobachtet. Die mikroskopische Untersuchung der wolkenartigen Gebilde lehrt, dass dieselben in der Hauptsache aus langen nebeneinander gelagerten oder durch einander gewundenen Scheinfäden, analog denen, die sich in der Heubakteriendecke vorfinden, zusammengesetzt sind. Zwischen den Fäden kommen auch kürzere Ketten von Stäbchen und Einzelstäbchen vor; letztere können bei entsprechender Temperatur (36° C.) auch Eigenbewegungen zeigen, aber diese sind schwerfälliger und von öfteren Ruhepausen unterbrochen, als bei *B. subtilis*. Ist für hinreichende Sauerstoffzufuhr und entsprechende Temperatur gesorgt, so findet in den Scheinfäden und Einzelstäbchen Sporenbildung in analoger Weise wie bei *B. subtilis* statt. Sind die Sporen fertig gebildet und deren Mutterzellmembranen aufgelöst, so verschwinden die wolkenartigen Gebilde und es bleibt nur ein trüber, staubartiger Absatz am Boden des Gefäßes zurück. Im entgegengesetzten Falle erhalten sie sich längere Zeit hindurch und die Stäbchen und Fäden zeigen Veränderungen, welche auf ein allmähliches Absterben der Vegetation schließen lassen. Bringt man die Sporen zum Auskeimen unter den ähnlichen Bedingungen, wie bei *B. subtilis*, so beobachtet man, dass dieselben sehr rasch (in der Regel nach 15 bis 20 Minuten) ihren Lichtglanz verlieren und um das Mehrfache ihres Anfangsvolumens anschwellen. Sie sehen dann jungen Stäbchen täuschend ähnlich, und man möchte sie auch für solche halten, wenn nicht ihre weitere ununterbrochene Beobachtung uns eines anderen belehrte. In Wirklichkeit keimen sie erst eine bis zwei Stunden später aus, indem das junge Stäbchen nicht seitlich, sondern stets in der Längsachse der Spore an einem der beiden Enden die Sporenmembran durchbricht, um dann rasch weiter zu wachsen und sich durch Teilung zu vermehren. Hat es eine gewisse Länge erreicht, so wirft es die Sporenhaut ab, welche dann als eine überaus zarte, dünne, an allen Stellen gleichmäßig verdickte Hülle erscheint.

Diese Art der Auskeimung ist für die Milzbrandsporen ebenso charakteristisch und unabänderlich, wie die eigentümliche Keimung der Sporen von Heubacillen; sie muss auch unabänderlich sein, weil sie in beiden Fällen durch den anatomischen Bau der Sporenmembran bedingt wird.

Durch dieses Merkmal sind aber die Milzbrandbacillen unbedingt als ein besonderes Wesen, als eine distinkte und den Heubacillen völlig fremde Spezies scharf unterschieden <sup>1)</sup>.

1) Buehner fand ebenfalls (Krit. und Experim. üb. die Frage der Kon-

Es ist dies aber nicht der einzige Unterschied, welcher zwischen Milzbrand- und Heubakterien besteht.

Ich habe schon oben hervorgehoben, dass die Eigenbewegungen der Milzbrandbacillen viel langsamer und schwerfälliger als bei den Heubacillen von statten gehen. Diese eigentümliche Art der Bewegung wird auch dann beibehalten, wenn die Milzbrandbacillen dahin gebracht werden, in der Nährlösung umherzuschwärmen, dieselbe zu trüben und auf deren Oberfläche dickliche Decken nach Art der Heubacillen zu bilden. Sie scheint mit der Form der eigentlichen Bewegungsorgane der Spaltpilze der sogenannten Wimpern zusammenzuhängen; doch sind alle meine Bemühungen, die Wimpern bei den Milzbrandbacillen aufzufinden, fruchtlos geblieben. Bei *B. subtilis* hat Brefeld zuerst je zwei lange Wimpern an beiden Enden der schwärmenden Stäbchen entdeckt.

Ein weiterer Unterschied liegt in der Zeitdauer, welche die Milzbrand- und Heubakterien unter gleich günstigen Bedingungen brauchen, um zur doppelten Länge heranzuwachsen und sich alsdann zu spalten. Bei einer Temperatur von 36° C. vollziehen sich diese Vorgänge bei *B. subtilis* in 20 bis 30 Minuten; *B. Anthracis* erfordert dazu ungefähr das Doppelte an Zeit; bei niedrigeren Temperaturen gehen auch Wachstum und Teilungen entsprechend langsamer vor sich.

Schließlich fand ich bei *B. Anthracis* noch einen eigentümlichen Dauerzustand, welcher zwar auch bei anderen Bakterien, nicht aber bei *B. subtilis* und den ihm verwandten Formen beobachtet wurde. Derselbe kommt dadurch zu stande, dass das Stäbchen nach außen eine dicke gallertartige Membran ausscheidet, welche alsbald erhärtet und dann eine Art derber und fester Hülle um das zarte Stäbchen bildet. Unter günstigen Umständen entwickeln diese Dauerformen neue gewöhnliche Stäbchen dadurch, dass die Hülle an irgend einem Punkte durchbrochen wird und das junge Stäbchen wie bei der Sporenkeimung aus derselben auswächst.

Nach allen diesen Merkmalen kann also von einer genetischen Zusammengehörigkeit der Milzbrand- und Heubacillen, wie sie von Buchner als durch seine Versuche erwiesen angenommen wird,

---

stanz d. pathog. Spaltpilze S. 268), dass die Keimung der Milzbrandsporen in einer andern Weise verläuft, als bei *B. subtilis*, wenn er auch den Keimungsprozess im ganzen nicht richtig gesehen hat. Merkwürdigerweise scheint er aber diesen Unterschied als ganz irrelevant zu halten, denn er sagt: „Es würde zu weit führen, auf diesen letztern Gegenstand (d. i. Beschaffenheit der Sporenmembran), der uns hier nicht interessiert, näher einzugehen“. Dies muss unsomewhat auffallen, als er einige Zeilen weiter oben selbst zugibt, dass, sollte der Auskeimungsprozess der Milzbrand- und Heusporien ein wesentlich anderer sein, so würde auch die genetische Zusammengehörigkeit von Milzbrand- und Heubakterien unmöglich erscheinen.

nicht die Rede sein. Dieselbe würde nur unter der Bedingung als feststehend zu betrachten sein, wenn es gelingen würde nachzuweisen, dass sämtliche morphologische Charaktere der Milzbrandbacillen, insbesondere aber die Art der Sporenkeimung veränderlich sind und in entsprechende Charaktere der Heubacillen übergehen. Dieser Beweis wird aber nach den Erfahrungen, die wir über die Veränderlichkeit der Arten haben, wohl schwerlich erbracht werden können. Es sind deshalb *B. subtilis* und *B. Anthracis* auch fernerhin als besondere Arten zu betrachten.

Eine andere Frage ist es aber, ob Milzbrandbacillen, wie es Koch und seine Schule will, unter allen Umständen ihre Virulenz bewahren, oder ob sie vielmehr auch in einer nicht virulenten Form existieren können? Diese Frage steht mit der behaupteten spezifischen Zusammengehörigkeit der Milzbrand- und Heubacillen, sowie mit den morphologischen Unterschieden, welche zwischen beiden bestehen, in keinem Zusammenhange. Denn es lässt sich ja denken, dass Milzbrandbakterien unter Beibehaltung aller ihrer morphologischen Merkmale ihre giftigen Eigenschaften unter Umständen verlieren, dann außerhalb des Tierkörpers als unschädliche Bakterien vorkommen, um beim Wechsel der Lebensbedingungen sie von neuem zu erlangen. Auch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Heubacillen sich ebenfalls an die Existenz im tierischen Organismus anpassen können und dann Milzbrand oder vielleicht eine andere Krankheit in demselben hervorzurufen im stande sind.

Wenn nun auch für die letztere Möglichkeit, abgesehen von den Buchner'schen Experimenten, welche, weil sie mit nicht sterilisierten Nährmedien ausgeführt worden sind, gegen die Methodik der Bakterienuntersuchungen sehr versündigen und das erhaltene Resultat in Frage stellen, keine sicheren Anhaltspunkte zur Zeit vorhanden sind, so verhält sich, was erstere Möglichkeit anlangt, die Sache anders.

Aus zahlreichen Untersuchungen über Milzbrandbakterien ist zur genüge bekannt, dass dieselben als solche, also mit allen ihnen zukommenden Eigenschaften, nicht besonders gut an die Existenz in der freien Natur angepasst sind. Sie zeigen sich, wie schon Buchner hervorgehoben hat, sehr empfindlich gegen äußere noch so geringfügige schädliche Einflüsse, stellen sehr hohe Anforderungen an die Temperatur (ihr Wachstum steht schon unter 16° C. still und ist noch bei 20° C. sehr langsam), und vor allem sind sie selbst unter den möglichst günstigsten Lebensbedingungen, wie künstliche Züchtungen zweifellos festgestellt haben, konkurrenzunfähig Fäulnis- und anderen Bakterien gegenüber, von denen sie in sehr kurzer Zeit überflügelt und unterdrückt werden. Daraus geht aber hervor, dass, sollten sie in der freien Natur leben und sich vermehren, sie sich erst soweit verändern müssten, dass sie auch unter den weniger günstigen Lebensbedingungen, wie sie ihnen die Natur darbietet, existieren

könnten. Da bis jetzt Milzbrandbakterien in der freien Natur nicht aufgefunden worden sind, so können wir auch nicht wissen, welche Eigenschaften ihnen alsdann zukommen. Dafür wissen wir aber mit Bestimmtheit, dass Milzbranderkrankungen sehr oft an Oertlichkeiten vorkommen, an denen Milzbrandkadaver nie vergraben worden sind. Diese Thatsache aber, wie es von gewisser Seite geschehen ist, dadurch erklären zu wollen, dass an solche Oertlichkeiten Sporen von Milzbrandbakterien von anderwärts angeschwemmt worden sind, scheint mir ebenso gezwungen und unzulässig wie die andere Annahme, dass dort Milzbrandbakterien als solche existieren und sich vermehren. Viel einfacher erklärt sich die Thatsache, wenn wir mit Buchner annehmen, dass an solchen Lokalitäten veränderte Milzbrandbakterien vorkommen, d. h. solche, die ihre große Empfindlichkeit gegen die Lebensbedingungen der freien Natur nicht mehr zeigen.

Wenn wir aber zugeben, und dies wird auch von den Anhängern der Konstanz der pathogenen Spaltpilze zugegeben werden müssen, dass Milzbrandbakterien sich in der angedeuteten Richtung verändern können, so ist kein Grund vorhanden, die andere Möglichkeit zu leugnen und sie in ihrer Virulenz für unabänderlich zu halten. Um so weniger darf diese Möglichkeit geleugnet werden, als es schon Thatsachen gibt, die direkt beweisen, dass die Virulenz der Milzbrandbakterien keineswegs eine konstante, von ihrer Natur unzerstrennbare Eigenschaft sei. Bekanntlich hat Pasteur aus den giftigen Milzbrandbakterien eine Form herangezüchtet, die in ihrer Virulenz abgeschwächt war und die er als Vaccine gegen tödlichen Milzbrand gebrauchen konnte. Er behauptet sogar, durch weitere Züchtungen dieser Form die Abschwächung bis zur vollständigen Wirkungslosigkeit des „virus“ gesteigert zu haben. Nun könnte zwar gegen dieses Resultat der Einwand erhoben werden, dass es sich bei der Pasteur'schen Milzbrandvaccine um krankhafte Veränderungen d. h. um eine Herabminderung der Lebensthätigkeit der Bakterien handelt; dieser Auffassung widerspricht jedoch die Angabe Pasteur's, dass die abgeschwächten Milzbrandbakterien sich normal vermehren und normale Sporen bilden, welche wieder abgeschwächte Generationen reproduzieren. Er sagt nämlich: „Autant de bactériidies des virulences diverses, autant des germes dont chacun est prêt à reproduire la virulence de la bactériidie, dont il émane.“ Und an einer andern Stelle: „Cette bactériidie inoffensive se cultive dans des milieux artificiels avec autant de facilité que la bactériidie la plus virulente et morphologiquement elle ne peut s'en distinguer si ce n'est par les caractères les plus fugitifs.“<sup>1)</sup>

Auch ich habe in meinen Kulturen, die zum Zwecke einer Nach-

1) Pasteur, Le vaccin du charbon. Compt. rend. T. XCII. 1881.

prüfung der Versuche Buchner's angestellt waren, eine Bakterie erhalten, die ich für eine nicht pathogene Form der Milzbrandbakterien halte. Sie zeigt nämlich genau dieselben morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Charaktere, wie die echten, giftigen Milzbrandbakterien. Ihre Stäbchen sind unter den gleichen Bedingungen von derselben Form und Größe, zeichnen sich durch die gleichen schwerfälligen Eigenbewegungen aus und bilden Sporen von derselben anatomischen Beschaffenheit, die in gleicher Weise auskeimen. Von den giftigen Milzbrandbakterien unterscheiden sie sich nur durch den Mangel der virulenten Eigenschaften und dadurch, dass sie die Fähigkeit der Eigenbewegung in viel höherem Grade besitzen, weshalb sie bei reichlicher Vermehrung die Nährlösungen trüben und später an deren Oberfläche dickliche, schmutzig weiße Decken von schleimiger Beschaffenheit bilden.

Diese letztere Eigenschaft scheint dafür zu sprechen, dass es dieselbe Bakterie ist, welche Buchner in seiner ersten Versuchsreihe aus den Milzbrandbakterien herangezüchtet hat und welche er eben aufgrund dieser Merkmale (Eigenbewegung und Deckenbildung) für identisch mit den Heubakterien erklärte. Da die Kulturen Buchner's in dieser Versuchsreihe in einer den Anforderungen einer exakten Methodik entsprechenden Weise ausgeführt worden waren, so scheint der Schluss gerechtfertigt zu sein, dass es ihm in diesen Versuchen in der That gelungen ist, aus den virulenten Milzbrandbakterien eine nicht virulente Form derselben heranzuzüchten. Ob auch die andere Versuchsreihe, bei der die Milzbrandbakterien in nicht sterilisierten Nährlösungen (frisches Eigelb und Natronlösung) kultiviert waren, dasselbe Resultat lieferte, lässt sich nicht behaupten; ich für meinen Teil wenigstens bin geneigt, nach den Charakteren der hier erhaltenen Bakterie zu schließen, anzunehmen, dass eine Verunreinigung und Unterdrückung der Milzbrandvegetation stattgefunden hat.

Leider war es mir nicht vergönnt, diese Fragen, wie ich es gewünscht habe, einer nähern experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Ich meine aber, dass es der Mühe wert sein würde, die Frage der Virulenz der Milzbrandbacillen noch einmal in vorurteilsfreier Weise experimentell in Angriff zu nehmen, und dass dann eine Verständigung zwischen den entgegengesetzten Ansichten über dieses ebenso praktisch wie theoretisch hochwichtige Thema erreicht werden könnte.

**A. Prazmowski** (Czernichow b. Krakau).

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1884-1885

Band/Volume: [4](#)

Autor(en)/Author(s): Prazmowski Adam

Artikel/Article: [Ueber den genetischen Zusammenhang der Milzbrand- und Heubakterien. 393-406](#)