

Sitzungsberichte

der

mathematisch - physikalischen Classe

der

k. b. Akademie der Wissenschaften

zu München.

Band X. Jahrgang 1880.

München.

Akademische Buchdruckerei von F. Straub.

1880.

In Commission bei G. Franz.

Sitzung vom 6. März 1880.

Herr v. Nägeli legt vor und bespricht folgende Abhandlung:

„Versuche über die Entstehung des Milzbrandes durch Einathmung“ von Dr. Hans Buchner.

Obwohl die Uebertragungsart vieler Infectionskrankheiten keinen Zweifel lässt, dass staubförmig in der Luft vertheilte Infectionsstoffe durch die Lungen direct dem Blute zugeführt werden können, so fehlt bisher doch die nähere Kenntniss dieses Vorgangs, welche nur das Experiment gewähren kann.¹⁾ Ein ausgezeichnetes Object bildet hiefür das Contagium des Milzbrandes, weil die Pilze, welche dasselbe darstellen, künstlich beliebig vermehrt und in die widerstandsfähige Dauerform übergeführt werden können, und weil ausserdem der Erfolg der Einathmung durch den eintretenden Tod des Versuchsthieres und den

1) Die mit nasser Zerstäubung tuberculöser Massen erhaltenen positiven Resultate von Tappeiner, Lippl und Schweningen beweisen nichts für einen directen Uebergang des eingeathmeten Infectionstoffes in's Blut. Die wahrgenommenen Erfolge erklären sich vielmehr dadurch, dass die zerstäubten Substanzen in den feineren Bronchiolen abgelagert wurden und hier zunächst begrenzte Infectionsherde bildeten, von denen aus in der Folge erst die allgemeine Infection sich entwickelte.

Nachweis des Milzbrandes sich zweifellos und innerhalb kurzer Zeit constatiren lässt.

Eine Reihe mit diesen Pilzen unternommener Einathmungsversuche, welche im pflanzen-physiologischen Institut des Herrn Professor v. Nägeli ausgeführt wurden, ergab denn in der That, dass bei Anwendung der richtigen Bedingungen ungemein leicht auf dem Athmungswege Infection erzielt werden kann.

Mit Rücksicht auf die natürlichen Verhältnisse schien es am wichtigsten, die Einathmung trockenen Pilzstaubes zu untersuchen. Es müssen hiezu Sporen verwendet werden, weil die Milzbrandbakterien durch stärkeres Austrocknen ihre infectiöse Wirksamkeit einbüßen. Da in der Natur wohl niemals reiner Pilzstaub, d. h. Staub, der nur aus Pilzen besteht, in die Lungen gelangen wird, so wurden auch hier chemisch indifferente, feine Pulverarten als Träger der Pilze gewählt, indem dieselben mit der Sporenflüssigkeit benetzt, dann bei Körperwärme getrocknet und wieder zerrieben wurden. Es ist sehr wichtig darauf zu achten, dass die Pilzflüssigkeit möglichst wenig klebrige organische Stoffe in Lösung enthält, und dass eine geringe Menge derselben auf viel Pulver verwendet wird. Andernfalls kleben die feinsten Staubtheilchen, welche bei der Einathmung gerade die wirksamsten sind, untrennbar zusammen.

Zu den Versuchen dienten ausschliesslich weisse Mäuse, die bekanntlich eine grosse Empfänglichkeit für Milzbrand besitzen. Die Zerstäubung erfolgte in einem geschlossenen Raume, für dessen Trockenheit durch ergiebige Ventilation gesorgt werden muss.¹⁾

1) Es ist nicht leicht, geringe Mengen pulverförmiger Substanzen in einem kleinen Behälter gleichmässig andauernd zu zerstäuben. Ein continuirlich blasender Luftstrom, auf diejenige Stelle gerichtet, an der

Verschiedene Pulverarten wurden allmählig durchprobt, nämlich Holzkohle, Talk,¹⁾ gebrannte Magnesia, Schwefelmilch, Bärlapp-Samen und solcher von *Lycoperdon giganteum* (Riesenpulverschwamm), Stärkemehl, endlich Strassen- und Zimmerstaub. Die Stäubungsfähigkeit dieser Pulver nach der Benetzung mit Sporenflüssigkeit und folgender Wiederaustrocknung war jedoch eine sehr verschiedene. Die meisten Substanzen zeigten sich nach dieser Procedur sehr ungeeignet, wiederum feinen Staub zu geben. Befriedigend war das Verhalten nur bei Holzkohle und Talkpulver. Diese beiden Staubarten waren es auch, welche bei den Einathmungsversuchen positive Resultate und zwar mit überraschender Sicherheit ergaben.

In 24 Fällen, bei je einmaliger Einathmung von Kohlen- oder Talk-Sporenpulver in der Dauer von $\frac{1}{4}$ —2 Stunden, erfolgte der Tod an Milzbrand nach Ablauf von 1—3 Tagen. Die Gesamtzahl der Versuche mit diesen beiden Pulverarten war selbstverständlich etwas grösser, da bei nicht genügend vorsichtiger Bereitung des Pulvers die Einathmung erfolglos blieb. Aber es kam vor, dass von 8 unmittelbar nach einander mit demselben Staube ausgeführten Versuchen, von denen keiner länger als 30

sich der Staub befindet, bewirkt zwar ein einmaliges Aufwirbeln des letzteren, aber nicht eine fortgesetzte Zerstäubung, weil der wieder zu Boden sinkende Staub an andern Stellen sich ablagert als an derjenigen, auf welche der Luftstrom trifft. Dem kann theilweise abgeholfen werden, wenn man dem Staubaume einen trichterförmig vertieften Boden gibt, und wenn die Luftströmung auf den tiefsten Punkt des letzteren gerichtet ist. Aber auch dann noch legt sich der Staub an den Innenwandungen des Trichters an und entgeht der Wirkung des Luftstromes. Es bedarf daher noch einer regelmässig wiederkehrenden Erschütterung des Trichters, um das Herabgleiten des innen lagernden Staubes bis auf den tiefsten Punkt herbeizuführen.

1) Jene Sorte von Talk, welche im Handel unter der Bezeichnung „Federweiss“ vorkommt.

Minuten dauerte, nicht ein einziger den tödtlichen Ausgang durch Milzbrand vermissen liess.

Dagegen hatte von einer grossen Zahl von Einathmungsversuchen, die mit den andern erwähnten Pulverarten in der gleichen Zeitdauer angestellt wurden, nur einer positives Resultat, und zwar einer von denen, die mit gebrannter Magnesia ausgeführt worden waren. Durch Controlimpfungen wurde jedesmal constatirt, dass diese durch Inhalation unwirksamen Staubarten infectionstüchtige Milzbrandsporen enthielten.

Es fragt sich nun, was aus diesen Resultaten geschlossen werden kann, d. h. ob man annehmen darf, dass der merkwürdige Erfolg der Kohlenstaub- und Talkinhalationen eine Aufnahme der Pilzstäubchen durch die Lungen bewaise. Denkbar sind ausserdem ja noch drei Wege, auf denen der Infectionsstoff bei diesen Versuchen in die Thiere gelangen konnte: einmal Verletzungen der Oberhaut, alsdann oberflächliche Schleimhautpartien (*Conjunctiva bulbi* etc.), endlich der Verdauungscanal. Von diesen drei Unbekannten lässt sich bei Einathmungsversuchen mit infectiösen Substanzen nur die erste mit einiger Sicherheit ausschliessen. Die beiden übrigen können unmöglich abgesondert werden. Es würde selbst nichts nützen, bei einem grösseren Thiere die Inhalation durch eine Trachealcantile direct in die Lungen zu leiten. Nur ein constant negatives Ergebniss könnte in diesem Falle vielleicht etwas beweisen. Ein positives wäre immer zweideutig wegen der möglichen Verunreinigung der Trachealwunde durch den Infectionsstoff.

Die angeführten, negativ ausgefallenen Versuche mit

1) Das Eindringen des Staubes in die peripheren Lungenläppchen lässt sich unter Anwendung von Kohlenpulver schon bei ganz kurzdauernder Einathmung leicht mikroskopisch nachweisen.

den weniger fein stäubenden Pulverarten bilden nun aber die denkbar beste Controle für die vorausgehenden Versuche, da in diesen Fällen Alles gleich blieb, mit Ausnahme dessen, dass die gröberen Stäubchen zu leicht niederfielen und desshalb nicht bis in die Alveolen vorzudringen vermochten. Obwohl die Thierchen am Ende des Versuchs oft ganz dicht mit diesen schlecht stäubenden Pulvern überdeckt waren, wodurch die Gelegenheit zum Verschlucken oder zu einer Infection durch oberflächliche Schleimhäute genau die nämliche war, wie bei den gut stäubenden Pulversorten, so blieb dies für den Unterschied in der Wirkung der Staubarten doch ganz gleichgültig. Aus dem einen positiven Ergebniss mit gebrannter Magnesia darf man aber nicht etwa schliessen, dass hier die Infection auf anderem Wege als durch die Lunge erfolgt sei. Denn einmal reihte sich die Magnesia, soweit man dies mit blossem Auge beurtheilen kann, bezüglich der Stäubungsfähigkeit unmittelbar jenen gut wirkenden Pulvern an; und dann muss überhaupt angenommen werden, dass auch bei den weniger geeigneten Staubsorten einzelne Pilzstäubchen bis in die Alveolen gelangten, aber nur während der Versuchsdauer zu wenig, um erfolgreich zu inficiren. Denn auch von völlig wirksamen Sporen braucht es, wie die Impfversuche zeigen, eine gewisse, nicht allzu geringe Menge, um den Milzbrand hervorzurufen. Vermuthlich könnte sonach durch erhöhte Einathmungsdauer die Wirkung der schlecht stäubenden Pulver gesteigert werden. Ein derartiger Versuch brächte jedoch für die Deutung keinen Gewinn. Er würde umso unsicherer, je länger er dauert, weil die Gelegenheit zur Aufnahme von Sporen in den Verdauungscanal im gleichen Masse zunehmen würde.

Dagegen schien es wichtig, die Wirksamkeit des Infectionsstoffes von den Verdauungswegen aus direct zu prüfen.

Bekanntlich gehen die Anschauungen der Autoren über diesen Punkt gerade beim Milzbrand gewaltig aus einander. Beobachtungen und Experimente haben bisher fast in gleicher Zahl positive und negative Resultate gegeben. Daraus geht jedenfalls soviel hervor, dass der Uebertragung auf diesem Wege gewisse Hindernisse entgegenstehen, die den Erfolg ausserordentlich viel unsicherer machen als z. B. bei Impfung unter die Haut. Diese Widerstände können entweder in einer schädlichen Wirkung der Verdauungssäfte auf die Pilze, oder in der Undurchdringlichkeit der unverletzten Schleimhaut liegen. In beiden Fällen sieht man von vorneherein, dass verschiedene Thier-species sich verschieden verhalten können.¹⁾

Was die Mäuse anbelangt, so hat R. Koch die Milzsubstanz milzbrandiger Thiere und ausserdem sporenhaltige Massen an dieselben verfüttert, ohne jedoch einen Erfolg zu sehen.²⁾ Das gleiche Resultat bekam ich bei Anwendung frischer Milzbrandtheile die nur Bacterien enthielten, oder bei mehrtägiger Fütterung mit grossen Mengen gezüchteter, als wirksam erwiesener Milzbrandbacterien. Auch bei Zumischung von Kohlenpulver, das durch seine scharfen Splitter möglicherweise Verletzungen in den Schleimhäuten bewirken kann, wurde der Erfolg nicht geändert.³⁾

1) In der That haben die Versuche von Renault, Colin und Bollinger zu derartigen Ergebnissen geführt. Die Unempfänglichkeit der Fleischfresser für Milzbrandinfection vom Darne aus erklärt sich freilich theilweise aus der überhaupt geringen Disposition dieser Thiere für Milzbrand. Eine kleine Zahl von aufgenommenen Pilzen, die bei einem Wiederkäuer zur Erzeugung von Milzbrand hinreicht, würde deshalb beim Fleischfresser wirkungslos bleiben.

2) Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn. II. 3. H. 1877. S. 299.

3) Zu dieser Versuchsmodification wurde ich hauptsächlich durch die Experimente von Pasteur und Toussaint veranlasst, welche

Ebenso blieben die Resultate, als Milzbrandsporen in mässiger Menge dem Futter zugesetzt wurden. Auch Zumischung von Kohlenstaub änderte nichts an diesem Verhalten. Dagegen bekam ich endlich positive Ergebnisse bei Anwendung von grösseren Sporenmengen. Von 4 weissen Mäusen, die 4 Tage lang einen derartig, und zwar unter Zusatz von Kohlenpulver bereiteten Brei zur Nahrung erhielten, erlagen zwei am 4., eine am 5. Tage an Milzbrand; die vierte blieb am Leben. Um zu erfahren, ob hier die Beimischung des Kohlenpulvers für den Erfolg entscheidend gewesen sei, fütterte ich 6 ausgewachsene weisse Mäuse der gleichen Abstammung 3 Tage lang mit einem Brei aus eingeweichter Semmel mit Zusatz grösserer Quantitäten von Milzbrandsporen. Bei dreien dieser Mäuse wurde dem Brei ausserdem Kohlenpulver zugesetzt. Innerhalb 5 Tagen erlagen 5 dieser Mäuse an Milzbrand. Die Ueberlebende, die am 4. Tage ebenfalls krank erschien, war gerade eine von jenen, die Kohlenpulver zugemischt erhalten hatten. Somit genügen grössere Mengen von Sporen an und für sich und ohne Zusatz mechanisch wirkender Stoffe vom Verdauungscanale aus zur Infection.

Es wäre nun sehr interessant zu wissen, worin der Unterschied zwischen Sporen und Stäbchen in dieser Hinsicht begründet ist. Liegt derselbe in einer verschiedenen Einwirkung der Verdauungssäfte auf beide Vegetationszustände, dann müssen Impfungen mit dem Koth von Mäusen, die mit Sporen oder mit Stäbchen gefüttert wurden, verschiedene Resultate ergeben. In der That zeigte sich, dass Sporenkoth bei subcutaner Anwendung ungemein leicht Milzbrand hervorrief, Stäbchenkoth dagegen in kleinerer Menge unwirksam war, in grösserer aber septische Processe

durch Anwendung von Rauhfutter, dem sie Milzbrandstoffe zugemischt hatten, bei ihren Thieren ziemlich viel positive Ergebnisse erhielten.

veranlasste. Indess ist damit doch nur entschieden, dass die Bakterien am Ende des Verdauungscanales unwirksam anlangen, man weiss aber nicht, wo diese Unwirksamkeit einzutreten beginnt. Deshalb tödtete ich eine mit Milzbrandbakterien gefütterte Maus und benützte den Darminhalt aus der Mitte des Ileums zu subcutanen Impfungen. Das Resultat war ein positives und zeigte somit, dass die Unwirksamkeit der Milzbrandbakterien von den Verdauungswegen der Mäuse aus durch einen schädlichen Einfluss der abgesonderten Säfte nicht, oder wenigstens nicht genügend erklärt werden kann.

Der entscheidende Umstand wird also wohl in den Bedingungen des Durchtritts durch die Schleimhaut zu suchen sein. In dieser Beziehung darf nicht übersehen werden, dass auch von den im Nahrungsbrei befindlichen Sporen offenbar nur der allerkleinste Theil zur Aufnahme in's Blut gelangt. Die Menge von Sporen, welche zur Infection durch den Verdauungscanal erfordert wurde, war wohl millionenmal grösser als diejenige, die zu einer erfolgreichen Impfung unter die Haut genügt hätte. Ueberdies zeigte sich schon aus der grossen Wirksamkeit des Kothes nach Sporenfütterung, dass der weitaus grösste Theil der Pilze ohne Veränderung hindurchgegangen war.

Wenn nun der Verdauungscanal der Mäuse überhaupt so wenig zur Aufnahme von Pilzen geeignet ist, dann kann möglicherweise ein Unterschied in der Form des Pilzes von Wichtigkeit sein. Und allerdings werden cylindrische Stäbchen weniger geeignet sein, durch enge Oeffnungen zu gehen, als eiförmige Körperchen vom gleichen Querschnitt, weil bei ersteren die Reibung eine grössere wird.

Dies ist jedoch nur die mechanische Seite der Frage. Gerade bei den Bakterien des Milzbrandes muss aber vielleicht noch ein anderer Umstand berücksichtigt werden. Wenn nämlich die Zeit, welche ein Pilz zur Durchwanderung der

unverletzten Schleimhaut d. h. bis zum Eintritt in den Kreislauf braucht, nicht sehr gering ist, dann wird dieser Aufenthalt im sauerstoffarmen Gewebe den Milzbrandbakterien schaden, während er für die Sporen gleichgültig ist.

Es geht aus diesen Ergebnissen hervor, dass bei den Einathmungsversuchen jedenfalls gar keine Gefahr einer störenden Nebenwirkung von Seite des Verdauungscanales existirte, weil die Menge von Sporen, welche die Thierchen dort, etwa durch Ablecken, aufnehmen konnten, bei weitem zu gering war, um eine Infection bewirken zu können. Um indess die quantitativen Verhältnisse, auf welche es dabei entscheidend ankommt, völlig klar zu machen, habe ich noch folgenden Versuch ausgeführt.

Von einer bestimmten Menge Talk-Sporenstaub wurde der vierte Theil zur Einathmung bei 10 weissen Mäusen verwendet; dieselben erlagen sämmtlich an Milzbrand, obwohl doch höchstens der tausendste Theil der wirksamen Sporen in die Verdauungswege gelangt sein konnte. Die übrigen drei Viertel des Pulvers wurden an weitere 10 Mäuse der gleichen Zucht auf einmal verfüttert und befanden sich somit gleichzeitig im Verdauungscanal dieser Thierchen. Trotzdem blieben die letzteren alle munter und am Leben.

Damit ist entschieden, dass die Lungen ganz ausserordentlich viel leichter den Uebertritt der Pilze in's Blut ermöglichten als der Darm. Denn von den zerstäubten Sporen konnte wohl nicht mehr als der millionste Theil in die Alveolen gelangt sein. Die dreimillionenfache Menge hatte aber vom Darne aus noch keine Wirkung.

Bezüglich der Zeit, welche der Uebergang der Pilze auf dem Athmungswege in's Blut erforderte, ist noch zu erwähnen, dass in manchen der beobachteten Fälle schon

24—36 Stunden nach der Einathmung der tödtliche Ausgang erfolgte. Im Vergleich mit entsprechenden Impfversuchen ist diese Zeit beinahe ganz auf die Entwicklung des Milzbrandes im Thiere d. h. auf die Pilzvermehrung zu rechnen. Es bleibt desshalb jedenfalls nur eine geringe Frist für den Uebergang der Pilze in's Blut, und es geht daraus mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass keine Lymphdrüsen auf diesem Wege passirt werden müssen. Mikroskopische Untersuchung dieser letzteren Verhältnisse würde übrigens zu keinem Ergebnisse führen. Dieselbe hätte nur dann Werth, wenn sie kurze Zeit nach der Einathmung ausgeführt werden könnte. Die wenigen eingeathmeten Sporen sind aber alsdann nicht aufzufinden und nicht zu erkennen. Alle späteren Untersuchungen mit positivem Ergebniss gestatten keinen sicheren Schluss, weil gerade die Lunge beim Milzbrand der Mäuse zu denjenigen Organen gehört, in welchen die Pilzentwicklung ohnehin vorzugsweise stattfindet.
