

## 556. M. Nencki: Ueber das Eiweiss der Milzbrandbacillen.

(Eingegangen am 10. Nov.; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Die Erforschung der chemischen Zusammensetzung der Spaltpilze hat mich schon früher beschäftigt und ich habe gemeinschaftlich mit Hrn. Dr. Schaffer vor mehreren Jahren die Resultate unserer Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Fäulnisbakterien veröffentlicht<sup>1)</sup>. Wir haben gesehen, dass die Leibessubstanz der auf zweiprocentiger Gelatine unter Zusatz von etwas Pankreassaft bei Luftzutritt gezüchteten Bakterien hauptsächlich aus Eiweiss besteht. So haben wir ihre Zusammensetzung, auf Trockensubstanz bezogen, in den verschiedenen Entwicklungsstadien wie folgt gefunden:

	I. Zoogloeamasse	II. Zoogloeamasse und Bakterien	III. Reife Bakterien
Eiweiss . . . . .	85.76 pCt.	87.46 pCt.	84.20 pCt.
Fett . . . . .	7.89 »	6.41 »	6.04 »
Asche . . . . .	4.20 »	3.04 »	4.72 »
Cellulose und andere organische Materien . . . . .	2.15 »	3.09 »	5.04 »

Die reifen von uns analysirten Bakterien waren unter dem Mikroskope durchaus homogen und gestützt auf die letzthin publicirten Untersuchungen von Berthold Bienstock<sup>2)</sup>, wonach die Eiweissfäulnis durch eine ganz spezifische Bacillenspecies bewirkt werde, bin ich der Ansicht, dass die von uns analysirten Stäbchen nur eine Species und kein Gemenge mehrerer waren.

Im verflossenen Sommer habe ich diese Untersuchungen von Neuem aufgenommen. Unter Benutzung der Reinkulturmethoden habe ich zunächst Milzbrandbacillen völlig frei von anderen Mikroorganismen gezüchtet. Für diese Culturen im kleinen Maassstabe haben sich als sehr zweckmässig Reagenzröhrchen von etwa 12—15 cm Länge und nebenstehender Form (siehe Zeichnung) erwiesen. Das obere Ende des Röhrchens (A) ist ein wenig verjüngt und wird mittelst darauf aufgeschliffenen offenen Aufsatzes (B) geschlossen. Das enge Röhrchen (c) des Aufsatzes wird lose mit Glaswolle gefüllt und so der

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 20, S. 443, 1879.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. klinische Medicin. Bd. VIII, Heft 1 u. 2.



Zutritt fremder Organismen verhindert. Man hat hierbei, gegenüber den mit Watte verschlossenen Sterilisir-  
röhrchen einen doppelten Vortheil; denn erstens kann nicht allein die Nährflüssigkeit ausgekocht, sondern auch das trockene Röhrchen auf beliebig hohe Temperatur erhitzt werden. Sodann aber beim Ueberimpfen wird einfach der Deckel abgehoben, wobei nicht, wie bei den mit Watte verschlossenen Reagenzröhrchen einzelne Fasern des an die Glaswand angetrockneten oder angebrannten Wattepfropfens haften bleiben. Aus diesen Culturröhrchen wurden die reinen Anthraxbacillen in ebenso construirte, mit der sterilisirten Koch'schen Nährpeptongelatine gefüllte Kolben von 1,5 — 2 L Inhalt übergeimpft. Bei der Temperatur von 37—39° C. und Luftzutritt war die Vermehrung der geimpften Bacillen eine sehr intensive. Anfangs an der Oberfläche der Flüssigkeit, wurde sie hernach in allen Schichten trübe und nach drei Wochen hörte die Vermehrung völlig auf. Die Nährlösung wurde ganz klar und die Anthraxbacillen, oder eigentlich wie die nachherige mikroskopische Besichtigung gezeigt hat, nur die Sporen derselben, setzten sich in reichlicher Menge zu Boden, so dass ich aus drei Culturkolben mehrere Gramm der frischen Sporen erhielt.

Wie die oben mitgetheilten Analysen zeigen, besteht die Leibessubstanz der trockenen Fäulnisbacterien mehr als wie zu 84 pCt. aus Eiweisssubstanzen. Die wichtigste unter ihnen, mehr wie 90 pCt. der Gesamtmenge betragend, war die von uns mit dem Namen Mykoprotein bezeichnete Substanz, die den Fäulnisbacterien durch 0,5 procentige Kalilösung entzogen werden kann.

Das Mykoprotein ist in Wasser, Alkalien und verdünnten Säuren leicht löslich, wird aber aus seinen sauren Lösungen schon durch geringen Zusatz von Kochsalz gefällt — ein für Mykoprotein besonders charakteristisches Verhalten. — Die Elementaranalysen dieses Eiweissstoffes ergaben 52,32 pCt. Kohlenstoff, 7,55 pCt. Wasserstoff, 14,75 pCt. Stickstoff und 25,38 pCt. Sauerstoff. Das Mykoprotein enthält keinen Schwefel und keinen Phosphor.

Es war zu erwarten, dass die Milzbrandbacillen, die den Fäulnisbacterien morphologisch und auch bezüglich der Art der Vermehrung sehr ähnlich sind, in ihrer chemischen Zusammensetzung quantitativ wohl einige Verschiedenheiten zeigen werden, dass aber auch chemisch

qualitative und leicht kenntliche Unterschiede zwischen den beiden Spaltpilzarten vorhanden seien, habe ich durchaus nicht vermuthet. Als ich aus den Milzbrandsporen das Mykoprotein darstellen wollte, habe ich zu meiner Verwunderung gesehen, dass davon nur Spuren in den Anthraxsporen enthalten waren. Dagegen wird die Hauptmenge der Proteinsubstanzen der Anthraxbacillen von einem eigenthümlichen Eiweissstoff gebildet, der in seinem chemischen Verhalten einerseits mit den Pflanzencaseinen, andererseits mit den thierischen Schleimstoffen Aehnlichkeit hat. Der Eiweisskörper des Anthrax, in Alkalien leicht löslich, ist in Wasser, Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren gänzlich unlöslich. Der durch Säure aus alkalischer Lösung in weissen Flocken abgeschiedene Körper, abfiltrirt und ausgewaschen, löst sich in Essigsäure und verdünnter Salzsäure selbst in der Wärme nicht. Auch seine procentische Zusammensetzung ist, wenn aus der mit dem geringen Material ausgeführten Kohlen- und Wasserstoff-Bestimmung der Schluss berechtigt ist, von der des Mykoproteins verschieden. Dagegen enthält dieser Eiweisskörper, den ich mit dem Namen Anthraxprotein bezeichnen will, ebenso wie das Mykoprotein keinen Schwefel. Als 0.4568 g der Substanz mit Salpetersäure oxydirt wurden, erhielt ich nach Zusatz von Baryumchlorid und 24 stündigem Stehen kein Barymsulfat. Dieser Umstand ist insofern von Interesse, als daraus hervorgeht, dass für das lebendige, protoplasmatische Eiweiss der Gehalt an Schwefel nicht nothwendig ist. Ich bin gegenwärtig mit Bereitung von Milzbrandbacillen in grösseren Mengen beschäftigt, um sowohl ihre näheren Bestandtheile zu bestimmen, als wie auch diese ihnen eigenthümliche Eiweisssubstanz genauer zu untersuchen.

Dass dieser Eiweisskörper wirklich aus reinen Milzbrandbacillen abstammte, habe ich mich durch Ueberimpfen der erhaltenen Sporen auf sterilisirte Nährgelatine überzeugt. Die darauf gewachsenen Bacillen waren ganz homogen, ohne jede Beimengung anderer Organismen. Auch Mäuse und Meerschweinchen mit den Sporen geimpft, gingen, wie die nachherige Section zeigte, an Milzbrand zu Grunde.

Unsere chemischen Untersuchungsmethoden der Spaltpilze sind sehr unvollkommen und mittelst ihrer können wir nur grobe Unterschiede erkennen, namentlich wie im vorliegendem Falle, wo grössere Mengen des reinen Materials schwer zu beschaffen sind. Ein solcher wesentlicher Unterschied wird durch die oben mitgetheilte Beobachtung, wonach das die Leibessubstanz der Milzbrandbacillen bildende Eiweiss von dem der Fäulnissbacillen verschieden ist, festgestellt. Ich zweifle nicht daran, dass sobald das Material zugänglicher und die Untersuchungsmethoden mehr vervollkommnet sein werden, anscheinend morphologisch ganz gleiche Species chemisch und physiologisch sehr wesentliche Unterschiede zeigen werden. Wir werden dann wissen, warum die eine Species der Spaltpilze für den thierischen Organismus un-

schädlich ist, während eine andere, anscheinend ihr ganz ähnliche, eine Reihe von Krankheitserscheinungen hervorruft. Zweifellos müssen die Letzteren wegen des chemischen Baues ihrer Leibessubstanz im Kampfe mit den thierischen Zellen Vorzüge besitzen. Aber auch für die Wahl des angegriffenen Gewebes, z. B. Haut, Lunge, Darm, worin sich der betreffende pathogene Spaltpilz localisirt, wird die chemische Beschaffenheit seiner Leibessubstanz maassgebend sein. Von diesen Gesichtspunkten aus verdient die schon früher in meinem Laboratorium von Dr. Szpilmann<sup>1)</sup> ausgeführte Untersuchung über das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen viel mehr Berücksichtigung, als ihr zu Theil geworden ist. Dr. Szpilmann sah, dass Luft und noch besser reiner Sauerstoff Vermehrung der Milzbrandbacillen, ebenso wie der Fäulnisbacillen beschleunigt. Ozon dagegen tödtet die Letzteren, während die Milzbrandbacillen darin leben und sich vermehren.

Diese Widerstandsfähigkeit gegen Ozon und aller Wahrscheinlichkeit nach auch gegen den in den Geweben freiwerdenden atomistischen Sauerstoff ist jedenfalls eine der maassgebenden Ursachen ihrer pathogenen Natur, wenn auch nicht ausschliesslich, denn z. B. Hunde sind gegen Milzbrand refractär. Besonders giftig wirkende Produkte entstehen bei dem Lebensprocess der Milzbrandbacillen nicht. Die von den Milzbrandsporen abfiltrirte, klare, alkalisch reagirende Flüssigkeit enthält noch ziemlich viel gelöstes Anthraxprotein, das durch Essigsäurezusatz daraus abgeschieden werden kann. Ich habe von dieser Flüssigkeit zwei Kaninchen je 5 ccm unter die Haut injicirt, ohne irgend welchen Schaden für die Thiere. Bekanntlich sind die Milzbrandbacillen aërobiotisch und gehen bei Sauerstoffausschluss zu Grunde. In den meisten Fällen ist die Menge der Bacillen im Blute und den Organen, namentlich aber der Lunge an Milzbrand verendeter Thiere eine so kolossale, dass wiederholt die Ansicht ausgesprochen wurde, ihre schädliche Wirkung auf den Organismus beruhe hauptsächlich in der Sauerstoffentziehung. Ich habe mittelst der von mir und N. Sieber in Pflüger's Archiv für Physiologie Bd. 31, S. 319 beschriebenen Methode, die physiologische Oxydation zu messen, bei Kaninchen im gesunden Zustande und nach der Infection mit Milzbrand die Menge des nach der Eingabe von 1 g Benzol ausgeschiedenen Phenols bestimmt; jedoch unter dem Einflusse von Milzbrand keine wesentliche Abnahme des gebildeten Phenols gefunden. Oefters findet man übrigens bei der Sektion von an Milzbrand gestorbener Thiere die Anzahl der Bacillen im Blute und den Organen ganz minim.

Die vorhandenen Analysen der Spaltpilze sind sehr spärlich; aber schon aus den bis jetzt ermittelten Thatsachen geht hervor, dass

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4, S. 350.

weder im Thier- noch im Pflanzenreiche eine so riesige Verschiedenheit bezüglich der chemischen Zusammensetzung der Leibessubstanz morphologisch nahe verwandter Organismen vorhanden ist, wie gerade bei den Spaltpilzen. Wie verschieden ist z. B. die Zusammensetzung der Essigmutter, die aus einer zähen Gallerte mit eingebetteten kurzen Stäbchen besteht, von der der Fäulnissbacterien. Nach den Analysen von Loew <sup>1)</sup> enthält die Essigmutter 98.3 pCt. Wasser und 1.7 pCt. Trockensubstanz und in der Letzteren 3.37 pCt. Asche und nur 1.82 pCt. Stickstoff, woraus v. Nägeli für die Essigmutterzellen etwa 12.6 pCt. aschefreie Stickstoffsubstanz, 84 pCt. aschefreie Cellulose (Pilzschleim) und 3.4 pCt. Asche berechnet.

Bern im November 1884.

---

**557. Carl Hell u. Ad. Ritter: Ueber die Einwirkung der Halogenwasserstoffsäuren auf Wurmsamenöl.**

II. Mittheilung.

(Eingegangen am 11. November.)

Im Anschluss an unsere, im 13. Hefte dieser Berichte veröffentlichten Untersuchungen über die Einwirkung des Chlorwasserstoffs auf Wurmsamenöl theilen wir in Folgendem die Resultate mit, welche wir bei der analogen Einwirkung des Brom- und Jodwasserstoffs auf Wurmsamenöl erhalten haben.

**II. Einwirkung von Bromwasserstoff auf Wurmsamenöl.**

In 100 g Wurmsamenöl wurde unter beständiger Abkühlung durch kaltes Wasser gasförmige Bromwasserstoffsäure, welche in bekannter Weise durch Einwirkung von Brom auf Phosphor und Wasser erhalten und durch Chlorcalcium getrocknet wurde, eingeleitet. Das Wurmsamenöl färbt sich in dem Maasse als es Bromwasserstoff aufnimmt dunkler und bald scheidet sich an den Gefäßwandungen eine weisse Krystallmasse ab, welche aber bei weiterer Bromwasserstoffzufuhr wieder verschwindet.

Unterbricht man die Bromwasserstoffentwicklung, wenn die Krystallbildung sich zeigt, so lässt sich durch rasches Absaugen in der

---

<sup>1)</sup> Vergl. C. v. Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879.