

Erklärung der Abbildungen.

Tafel II.

- Fig. 1. Schnitt durch einen kleinen Leberabscess. a Necrotisches Leberparenchym, b Bacillenhaufen, c Zone der Eiterkörper. System 4, Ocular 3 Hartnack. Präparat in Canadabalsam.
- Fig. 2. a Leberzellenbalken, b Bacillen in den Capillaren. System 7, Ocular 3 Hartnack. Glycerinpräparat.
- Fig. 3. a Kern einer Leberzelle, b Milzbrandbacillen, c Bacillus aus der Leber des Dachs. Präparate in Canadabalsam. Immersion 12. Ocular 3 Hartnack. d Milzbrandbacillen, e Bacillen des Dachs aus dem gleichen Präparat nach dem mit Immersion 12 Ocul. 3 erhaltenen Bild doppelt vergrössert.
- Fig. 4. Bacillen aus der Dachsleber mit in Jod gefärbten Inhaltskörnern. Glycerinpräparat. Immersion 12, Ocular 3. a Immersion 12, Ocular 5.

III.

Ein Beitrag zur Biologie der Bakterien.

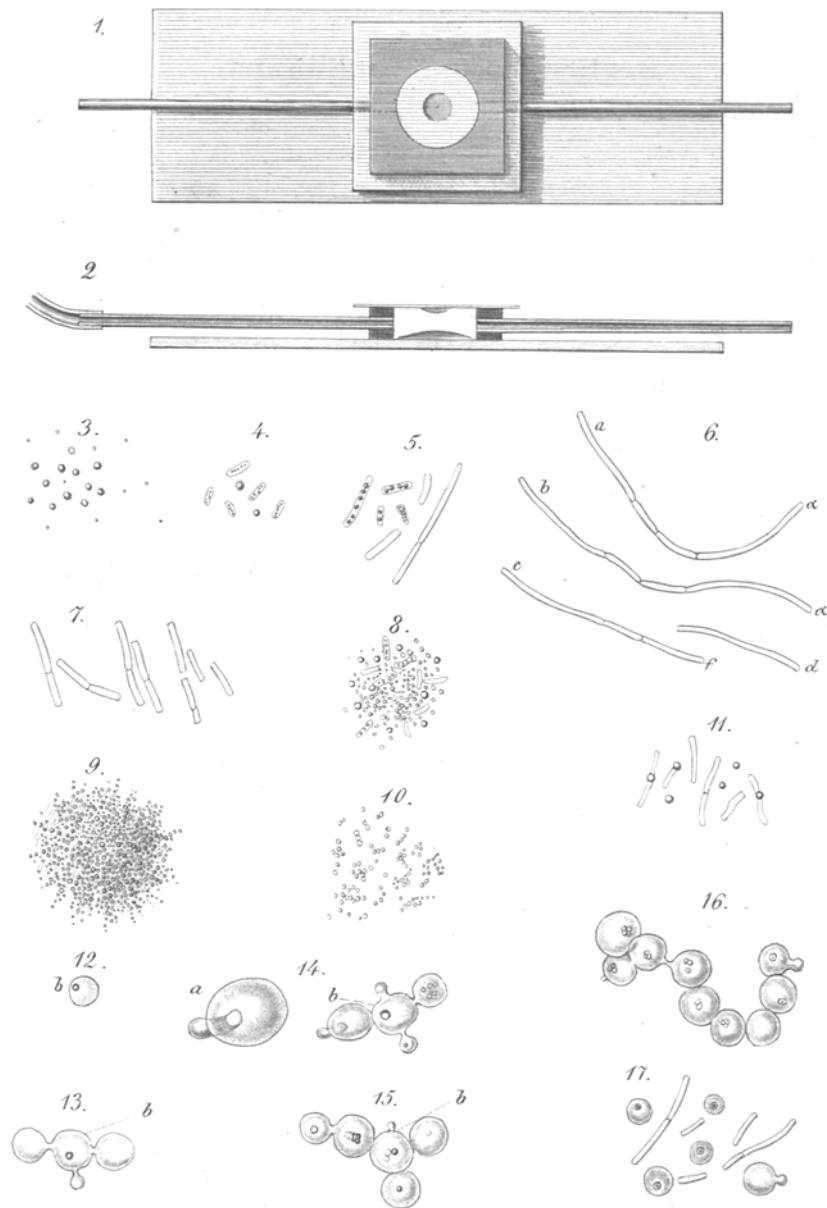
Von Dr. med. Louis Waldstein aus New-York.

(Hierzu Taf. III.)

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Heidelberg.)

I.

Seitdem niederste Lebewesen in causale Beziehung mit den Infektionskrankheiten und mit ähnlichen pathologischen Prozessen gebracht wurden, nahm das practische Interesse, sie in ihrer Wesenheit zu erkennen, stetig zu und dieser neue Impuls zum Studium der Biologie der Bakterien erweiterte den Kreis der Beobachter auf diesem Gebiete. Indessen beweist die grosse Zahl der Hypothesen, welche sich in manchen wesentlichen Punkten widersprechen und welche sich, trotz lebhafter Einsprache von competenter Seite, in der neuesten Zeit noch immer vermehren, dass wir noch weit davon entfernt sind, sichere Grundlagen für das Verständniss der pathologischen Vorgänge gewonnen zu haben. Beim Studium der überaus reichen Literatur dieses Gegenstandes fällt sofort auf, dass Behauptung und Widerlegung, zuweilen rein polemischer Natur, in raschem Wechsel an einander gereiht sind und die grösste Verwirrung schufen — dort wo es vor Allem darauf ankommt die ele-



mentaren Thatsachen durch genaue Beobachtung sicher zu stellen. So scheint es mir zunächst geboten die Entwicklung der Bakterien selbst, ihre Morphologie und die Bedingungen, welche ihrer Vermehrung günstig oder ungünstig sind, zu studiren und jede Beobachtung, insofern sie sich auf diesen, den eigentlichen Kernpunkt der Sache bezieht, einer auf das Experiment gestützten Kritik zu unterwerfen. — Nicht allein mit Rücksicht auf ähnliche Erwägungen hat eine Arbeit von Bastian¹⁾ den vorliegenden Untersuchungen als Ausgangspunkt gedient, sondern auch weil deren Resultate, wie er auch am Schlusse seiner Abhandlung betont, unsere ganze Anschauung von der pathologischen Bedeutung der Mikroorganismen wesentlich beeinflussen muss.

Nach Gerhardt²⁾ wird Alkohol allein an der Luft nicht oxydirt, dagegen bildet sich nach Zusatz von Kali Essig und eine braune harzige Masse, woraus sich ergeben soll, dass Kali gewisse Gähnungen begünstigen müsse. Hierauf begründet Bastian sein Verfahren. Er verwendet diese Substanz nicht nur um ihre Einwirkung auf fermentative Vorgänge zu studiren, sondern auch um den Nachweis zu führen, dass durch den Zusatz einer bestimmten Menge Kali Mikroorganismen in vorher sterilisiertem Harn entstehen.

Bastian's Versuchsanordnung ist folgende: 30 Ccm. frischen Harns, dessen Säuregrad nach „Minims“³⁾ mittelst Titirung einer Probe mit Kalilauge von bestimmter Concentration (5,84 pCt.) gefunden war, werden in eine vorher gründlich gereinigte Glasretorte gebracht. In diese Retorte wird sodann eine Glaskapsel, welche eine bekannte Menge („Minims“) derselben Kalilösung enthält, eingebracht und die Flüssigkeit auf der Lampe zum Sieden erhitzt. Während ein dünner Dampfstrahl durch die feine Oeffnung des vorher ausgezogenen Retortenhalses austritt, wird rasch zugeschmolzen. Nach kurzer Zeit hat sich die Spitze genügend abgekühlt; man kehrt die Retorte dann um, so dass die heisse Flüssigkeit den ganzen Hals des Gefässes ausfüllt und taucht es auf 8 Minuten oder länger in dieser Stellung in siedendes Wasser ein. Bastian bemerkt,

¹⁾ On the conditions favouring Fermentation and the appearance of Bacilli, Micrococc and Torulae in previously Boiled Fluids, by H. Charlton Bastian. Journal of the Linnean Society (Zoology). Oct. 24. 1877. London.

²⁾ l. c. S. 12.

³⁾ Englisches Apotheker-Gewicht = Gran.

dass in diesem Stadium zuweilen, wenn es nicht schon beim Zusammenschmelzen geschah, die dünne Spitze des Gefäßes einspringt und dadurch der ganze Versuch verunglückt. Ich habe gefunden, dass es in der That nicht ganz leicht ist, diesen Theil des Versuchs durchzuführen und dass es einige Uebung erfordert. Selbstverständlich muss genau untersucht werden, ob das Gefäß unbeschadet geblieben ist, ehe man es weiter behandelt. Beim geringsten Zweifel habe ich dasselbe als unbrauchbar auf die Seite gestellt. Sobald der Retorteninhalt kalt geworden ist, zerschellt man die in der Retorte befindliche Kapsel, mischt durch Schütteln den Urin mit der Kalilösung und bewahrt das Gefäß in einem Brütekasten bei 46° — 50° C. auf. Zur Controle werden andere Retorten, die ebenso zubereitet sind, in denen die Kapseln aber nicht zersprengt, die Flüssigkeiten nicht gemischt wurden, in den gleichen Raum gestellt. Bastian fand stets, dass nach Verlauf von 18—36 Stunden die Farbe der gemischten Flüssigkeiten heller wurde und dabei eine Trübung auftrat, welche durch zahllose Organismen bedingt war. „Es wimmelte, wie er sich ausdrückt, von Organismen“ [„swarms with organisms“¹⁾]. Der Urin, dem Kali nicht beigemischt war, blieb dagegen für unbestimmte Zeit anscheinend [„apparently“²⁾] unverändert. Zu Anfang der Versuche verfertigt Bastian einen Vorrath von Kapseln von verschiedenem Gehalt an 5,84 prozentiger Kalilauge aus kleinen Reagenseylinbern, welche am offenen Ende fein ausgezogen sind. In diese wird die abgemessene Menge Kalilösung in besonderer Weise eingeführt. — Bei den Wiederholungen der Bastian'schen Versuche hielt ich mich genau an seine Angaben und nur mit Rücksicht auf die Anfertigung der Kalikapseln gestattete ich mir aus naheliegenden Gründen, welche auch aus dem Folgenden zur Genüge einleuchten werden, eine Abweichung. Ich zog die kleinen Cylinder in der Nähe ihrer Mündung in der Weise aus, dass ein längeres fast capillares Mittelstück entstand, beschickte sie durch einen eigens construirten Tropfapparat und schmolz dann einfach das obere Stück ab. Um die Keime, welche in diese Kapseln mit hineingekommen sein möchten, zu zerstören, wurden sie einige Zeit in kochendes Wasser gethan. Es käme, meint Bastian, nicht darauf an, ob länger oder kürzer. Ich meinerseits

¹⁾ l. c. p. 24.

²⁾ ibid.

liess sie, wie auch die Retorten, volle 20 Minuten der Siedehitze des Wassers ausgesetzt.

Gegen die Methode wurde zunächst von W. Roberts¹⁾ und Pasteur²⁾ eingewendet, dass die Keime in der Kalilösung durch die kurze Dauer der Erhitzung auf 100° C. nicht zerstört würden, da erfahrungsgemäss zur Sterilisirung alkalischer Flüssigkeiten eine höhere Temperatur, als sie bei sauren Flüssigkeiten hinreiche [Pasteur³⁾], und eine längere Dauer der Erhitzung [W. Roberts⁴⁾] nothwendig sei. Daraufhin unterzog sie Bastian einer 20 stündigen Erhitzung und später während einer Stunde bis 150° C. im Oelbade stets mit dem gleichen Erfolge, als wenn sie nur auf kurze Zeit im kochenden Wasser gelegen hätten. Er sagt bezüglich des Ueberhitzens in Oel, dass die nachherige Reinigung der Kalikapseln sehr umständlich sei. Das führt uns auf die Hauptfrage, wie mir dünkt, ob man wohl anzunehmen berechtigt ist, dass alle Keime, welche in den Retorten und in ihrem Inhalt vorhanden sind und jene, welche den Kalikapseln möglicherweise aussen anhafteten und im trockenen Zustande mit eingebracht werden, wirklich entwicklungsunfähig gemacht werden. Burdon-Sanderson⁵⁾ hat besonders darauf hingewiesen, dass selbst in frisch destillirtem Wasser Bakterienkeime enthalten seien und dass bei allen derartigen Versuchen eine besondere Gefahr in dem Haftenbleiben derselben an den Gefässwandungen liege.

Dass man über die Temperaturbreite, innerhalb welcher die Keime noch ihre Lebensfähigkeit bewahren können, noch zu keinem übereinstimmenden Resultate gekommen, ist ersichtlich aus einer kleinen Auslese der einschlägigen Beobachtungen.

Bastian⁶⁾ giebt in einer früheren Arbeit an, dass schon 70° C. ausreichen, um eine Flüssigkeit zu sterilisiren. Nach W. Roberts⁷⁾ ist eine längere Erhitzung auf 100° C. erforderlich; er ist meines Wissens der Erste, der den Einfluss der Erhitzungsdauer genauer

¹⁾ Phil. Trans. of Royal Soc. of London. 1874. p. 457.

²⁾ Comptes rendus. Juli 23. 1877.

³⁾ I. c.

⁴⁾ I. c.

⁵⁾ 13th Report of the Medical Officer of the Privy Council.

⁶⁾ Proc. of the Royal Soc. of London, 1872—1873. p. 225.

⁷⁾ I. c.

studirte. E. Ray-Lankester¹⁾ hat beobachtet, dass die Sterilisirung zwischen 65—120° C. je nach der Dauer erfolgt. Brefeld²⁾ berichtet, dass die Sporen von *Bacillus subtilis* nach der Einwirkung von 110° C. während 5 Minuten getödtet werden, doch genügen auch niedererere Hitzegrade: zwischen 105 und 110° C., wenn länger erhitzt wird. Place³⁾ fand Bakterienkeime nach Einwirkung von 120—160° C. noch lebensfähig, während Burdon-Sanderson beobachtete, dass *Bact. Termo.* und *Torula* absterben, wenn die betreffende Flüssigkeit längere Zeit gekocht wird. Pasteur und Joubert⁴⁾ constatirten die Resistenzfähigkeit der *Bac. Anthracis*-Sporen („Corpuscules Germes“) selbst bei 120—130° C., während die ausgebildeten „Bactéridies“ die Siedehitze nicht überstanden. Ich habe selbst wiederholt bakterienhaltige Flüssigkeiten mehrmals aufkochen lassen und fand nachträglich keine bemerkenswerthe Veränderung in der Beweglichkeit und Fortpflanzungsfähigkeit. — Auch bezüglich der Kältegrade weichen die Angaben auseinander. Frisch⁵⁾ fand, dass *Bacillus* und *Micrococcus* nichts von ihrer Lebensfähigkeit eingebüßt hatten, nachdem die Flüssigkeit, welche sie enthielt, 2½ Stunden lang fest gefroren war und dann aufgetaut wurde. Pasteur⁶⁾ verlangte seiner Zeit, dass Bastian die Retortenflüssigkeit länger kochen solle, worauf er aber erwiderte, dass es wesentlich sei, das Kochen vor dem Zusammelzen nicht zu lange fortzusetzen, weil dadurch die Flüssigkeit eine chemische Veränderung erleiden würde, besonders da unter den Verhältnissen durch den Dampfdruck die Temperatur in der Retorte noch um Einiges über 100° C. erhöht werde. Er stellt Versuche in diesem Sinne mit Urin an und belegt seine Behauptung mit dem Befunde, dass sich Ammoniak entwickle. Diese Entgegnung erinnert an die Einwände Needham's gegen die Versuche von Spallanzani im letzten Jahrhundert⁷⁾), wonach die Flüssigkeit durch langes Kochen dermaassen

¹⁾ Nature, April 2. 1874.

²⁾ Ueber *Bacillus*, vorgetragen in der Sitzung der Gesellsch. Naturforsch. Freunde in Berlin, Febr. 19. 1878.

³⁾ Maanblad voor Natuurwetenschappen No. 8. 1873.

⁴⁾ Comptes rendus, April 30, Juli 16. 1877.

⁵⁾ Sitzungsber. d. k. Acad. der Wissenschaften, Mai 12. 1877.

⁶⁾ Comptes rendus, Jan. 22. 1877.

⁷⁾ Pasteur, Annales de Chimie et de Physique. Tome LXIV. 1862.

verändert worden wäre, dass sich überhaupt keine Organismen in derselben hätten bilden können.

Solange wir nicht wissen, mit welchen Formen von Bakterien wir es in den Flüssigkeiten zu thun haben, — denn es scheint als besäßen die verschiedenen Entwickelungsstadien verschiedene Resistenzfähigkeit gegen hohe Temperaturgrade — und so lange es denkbar ist, dass miteingebrachte Keime ihre Lebensfähigkeit nicht verloren haben, so lange wird der Beweis einer „Abiogenesis“ nicht erbracht werden können.

Doch es bleiben immerhin noch diejenigen Retorten, welche „anscheinend“ unverändert geblieben sind, um die Schlussfolgerung zu stützen als habe die Kalllauge eine specifische Einwirkung auf die Flüssigkeit, so dass unter den gesetzten Bedingungen ihre Gegenwart die „Generatio de novo“ veranlasste. Auf diese Seite der Bastian'schen Arbeit ist von den Nachuntersuchern wenig Gewicht gelegt worden.

Wie mir scheint, beklagt sich Bastian mit Recht, dass man an der Hand von modifizirten Verfahrungsweisen gegen seine Schlüsse aufgetreten sei und wenn seine Resultate im Folgenden einfach Bestätigung gefunden hätten, so wäre hier der Ort, diese seine Einwürfe eingehend zu würdigen. Was nun die weiteren Bedingungen anlangt, welche die Bastian'sche Methode schafft, so muss in erster Reihe der Sauerstoff in der Retortenluft in Betracht gezogen werden.

Gay-Lussac wollte die Ursache, warum sich in den Spallanzani'schen Gefässen keine Organismen entwickelten, in dem Mangel an freiem Sauerstoff gefunden haben¹⁾ und von da ab beschäftigte man sich vielfach mit diesem Gegenstande. Die Beobachtungen von Pasteur und Joubert³), Koch⁴), Toussaint⁵) u. A. m. stimmen darin überein, dass der Milzbrandpilz (Bac. Anthr.) zu seiner vollständigen Entwicklung freien Sauerstoff nicht entbehren kann. Cohn⁶) behauptet das Gleiche von den Fadenbakte-

¹⁾ Pasteur, Annales de Chim. et de Phys. I. c.

²⁾ Ibid.

³⁾ Comptes rendus, April 30 u. Juli 16. 1877.

⁴⁾ Beiträge zur Biolog. der Pflanzen. Bd. II. Hft. 2. S. 275.

⁵⁾ Comptes rendus, August 13. 1877.

⁶⁾ 51. Jahresber. der Schlesisch. Gesellschaft für Vaterländische Cultur und Beiträge zur Biolog. d. Pflanz. Bd. II. Hft. 2.

rien (Bac. Subt.), obgleich sie sich bei möglichstem Luftabschluss doch noch, wenn auch mit verminderter Schnelligkeit, vermehren können, während Bac. Termo gar nicht beeinflusst zu sein scheint. Ja, Pasteur sieht es geradezu als eine günstige Bedingung für die Vermehrung von Fäulnissvibrionen an, wenn die Fadenbakterien nach dem Verbrauch des Sauerstoffs abgestorben sind und auf der Oberfläche der Flüssigkeit Häutchen gebildet haben und so der Zutritt von atmosphärischer Luft verhindert wird. Bastian's eigene Versuche bewiesen ihm, dass der Sauerstoff von der allergrössten Bedeutung ist. Schenk¹⁾ schloss aus seinen Beobachtungen an Kuhpockenlymphe, dass Coccus keinen freien Sauerstoff zu seiner Vermehrung nötig habe. Auch die Hefezellen sprossen nach Breßfeld²⁾ nicht, wenn die Sauerstoffzufuhr abgeschnitten wird, während die Gährung weiter geht. Er trat somit gegen die Theorie Pasteur's auf, nach welcher die Gährung in directem Verhältniss stehe mit dem Lebensprozess der Hefezellen. Diese Veröffentlichung machte zur Zeit grosses Aufsehen und es fehlte nicht an Gegnern, die, wie Adolf Meyer³⁾ und Traube zu anderen Resultaten gekommen waren, während Dumas⁴⁾ fand, dass Sauerstoffzuleitung auf die alkoholische Gährung keinen Einfluss ausübe, dass sie indessen im luftleeren Raume verlangsamt werde.

Sowie mit dem Grad der Ausbildung der einzelnen Formen die Resistenzfähigkeit gegen hohe Hitzegrade abzunehmen scheint, so scheint der Mangel an freiem Sauerstoff dann auch ihre Vermehrung am meisten zu gefährden, während die Coccus- und Stäbchenformen grössere Unabhängigkeit in dieser Beziehung zeigen. Auch die „Corpuscules germes“ der Milzbrandbakterien vertragen den Luftabschluss, ohne dadurch ihre Entwicklungsfähigkeit einzubüssen. Koch⁵⁾ hat beobachtet, dass sie weniger freien Sauerstoff zu ihrer Entwicklung als zu ihrer Entstehung nötig haben. Der ausgebildete Bac. Anthrac. ist demnach gehemmt in der Sporenbildung, wo die Spore selbst sich noch weiter entwickeln kann.

Das Verfahren von Bastian zerstört wahrscheinlich jene Bakte-

¹⁾ Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspf. Bd. V. 1873.

²⁾ Verh. der Würzburger physisch-med. Gesellsch. Bd. 8.

³⁾ Bericht der deutschen chem. Gesellsch. Jahrg. 7. No. 14.

⁴⁾ Annales de Chimie et de Physique. Tome III.

⁵⁾ l. c.

rien, welche schon höhere Entwickelungsstadien erreicht haben könnten; die Möglichkeit aber, dass jüngere Formen oder lebensfähige Keime in den Retorten enthalten sind, nachdem sie in den Brütekästen gebracht wurden, ist nicht ausgeschlossen, um so weniger als die mannichfältigen Versuche über die Beständigkeit der verschiedenen Bakterienformen keine übereinstimmenden Resultate ergeben haben. Wenn auch der Mangel an atmosphärischem Sauerstoff geeignet ist, die Vermehrung derselben zu verlangsamen, so ist es zum mindesten denkbar, dass die weiteren Bedingungen, wie z. B. die Temperatur von 45—50° C., diese Vermehrung begünstigen könnten. Für die letztere Annahme sprechen anderweitige Versuche über die Einwirkung verhältnissmässig hoher Brütetemperaturen, welche Bastian angestellt hat.

Bevor ich auf die Controlversuche selbst eingehe, ist es geboten, noch eine kurze Bemerkung über jene Retorten vorauszuschicken, welche in den Bastian'schen Versuchen keine Veränderung zeigten, in denen die Flüssigkeit anscheinend unverändert und klar blieb, und welche die specifische Wirkung der Kalilauge bestätigen sollen. Wäre es nicht denkbar, dass sie doch Bakterien enthielten und dass die Trübung in den anderen Retorten zum grossen Theile von Phosphaten herrührte, welche der Neutralisation und der fortgesetzten Einwirkung der angewendeten Brütetemperatur zu verdanken wären? Diese Bedenken sind um so gerechtfertigter als Cohn¹⁾ beobachtete, dass Flüssigkeiten bei Vermehrung von Bakterien „anscheinend“ intact bleiben können. Bei den ungünstigen Bedingungen, unter welchen Keime in der kalifreien Retortenflüssigkeit enthalten sein mögen, kann ohnedies wohl kaum von einem üppigen Gedeihen und reichlicher Zoogloeabildung die Rede sein. W. Roberts²⁾ giebt an, dass in manchen Kolben erst nach Monaten Bakterien auftreten, nachdem ihr Inhalt vorher vollständig unverändert geblieben war.

Die Versuche, welche W. Roberts³⁾, Tyndall⁴⁾ und Pasteur⁵⁾ zur Prüfung der Angaben von Bastian anstellten, er-

¹⁾ Beiträge zur Biolog. d. Pflanz. Bd. II. Hft. 2.

²⁾ Philosoph. Trans. of Royal Soc. of London. 1874. p. 463.

³⁾ Proceedings of the Royal Soc. Vol. XXV. p. 455.

⁴⁾ Ibid.

⁵⁾ Comptes rendus, Juli 23. 1877.

gaben sämmtlich negative Resultate: sie konnten seine Beobachtung, dass Kalilauge, zu vorher sterilisirtem Urin hinzugefügt, die Entstehung von Mikroorganismen veran lasse, nicht bestätigen. Aehnliche Untersuchungen an dem Urin in Harnblasen von Hunden unter Abschluss von atmosphärischer Luft stellten Cazeneuve und Livon¹⁾ an, die ebenfalls nicht im Sinne Bastian's ausfielen.

Bei der Wiederholung der Versuche selbst verwendete ich nur solchen Urin, welcher beim Kochen keine Phosphate ausfallen liess, wie das von Bastian ausdrücklich gefordert wird. Er wurde stets sogleich filtrirt und sein specifisches Gewicht notirt. Zur Bestimmung des Säuregrades bediente ich mich statt der Gewichtsmethode („Minims“), der volumetrischen Methode mittelst einer Kalilösung von 5,85 pCt. und des folgenden einfachen Tropfapparats: Das Hauptstück desselben besteht aus einer mässig weiten Glasmöhre, welche an beiden Enden ausgezogen und deren Lumen in der Nähe des einen Endes zu einer Kugel erweitert ist. Wenn dasselbe in ein Stativ eingeklemmt wird, so steht die Kugel mit dem kurzen Ende nach oben, während das lange Stück der Röhre nach abwärts gerichtet ist. Mit dem unteren Ende der Glasmöhre ist durch ein kurzes Stück mit Quetschhahn versehenen Gummischlauchs eine Glascapillarröhre verbunden. Der Apparat wird am zweckmässigsten in der Weise gefüllt, dass man durch die capillare Oeffnung die Kalilösung aufsaugt bis die Kugel und der grösste Theil der kurzen Fortsetzung der ursprünglichen Röhre gefüllt ist. Um Verdunstung und Bildung von kohlensaurem Kali möglichst zu verhindern, wird der oberen Oeffnung ein Glashütchen aufgestülpt. Zum gleichen Zwecke muss die Lösung oft erneuert und unter festem Verschluss aufbewahrt werden. Man geht nun über zur Gewichtsbestimmung der Tropfen, welche bei leisem Druck auf den Gummihahn aus der Capillare austreten. Mit dem hier verwendeten Apparate betrug das Gewicht eines Tropfens 0,0075 Grm. Es ist gut, wenn man sich nicht damit begnügt, das Gewicht der Tropfen ein für allemal bestimmt zu haben, sondern wenn man die Wägungen bei jeder Reinigung und Füllung des Apparats wiederholt. Den einfachsten Schutz für die Capillarröhre bildet das Rohr eines umgekehrten Glastrichters, welcher etwas erhöht gestellt wird, so dass man unter seinem Rande das Gefäss mit der zu titirirenden Flüssigkeit durch-

¹⁾ Comptes rendus, Sept. 17. 1877.

schieben und mit einem Glasstäbchen das Umrühren besorgen kann, wobei gleichzeitig der Quetschhahn mit der anderen Hand regulirt wird, ohne dass der Apparat die geringste Verschiebung erleidet.

Ueberdies kann die Capillarröhre mit Watte umgeben und so in der schützenden Röhre festgehalten werden. Diese Vorsichtsmaassregeln sind von Wichtigkeit, da es selbstverständlich darauf ankommt, der Gleichheit der Tropfen versichert zu sein.

Zu 30 Cem. des frischen, filtrirten Harns wird Tropfen nach Tropfen der Titriflüssigkeit bis zur neutralen Reaction hinzugefügt und die Tropfenzahl als Grad der Acidität vermerkt. Bastian hebt besonders hervor, dass selbst ein kleiner Ueberschuss von Kalilauge dem Gelingen des Experiments Eintrag thue, während etwas weniger nicht so schädlich sei. Er verwendete Kalikapseln, welche entweder $\frac{2}{3}$ oder $\frac{3}{4}$ so viel Lösung enthielten als der Acidität des Urins entspricht und empfiehlt das erstere Verhältniss. Deshalb hielt ich mich, mit Ausnahme der ersten Versuche, an Kalikapseln des Gehalts von $\frac{2}{3}$ der Acidität der betreffenden Versuchsflüssigkeit. Die Retorten wurden in allen Einzelheiten genau nach den Angaben Bastian's behandelt und dann dem Brütekasten (45—50° C.) übergeben und zwar, je eine mit gemischten und eine mit getrennten Flüssigkeiten. Die Untersuchung der Flüssigkeiten wurde in der Weise ausgeführt, dass ich 3—5 Proben aus derselben Retorte unter das Mikroskop brachte und alle Theile des Objects durchsuchte. Die den Bakterien eigenthümliche Bewegung und die Vergrösserung der Zoogloecamassen waren dabei die entscheidenden Momente zur Bestimmung der Anwesenheit resp. des Fehlens von Organismen in den Proben. Es wurden im Ganzen über fünfzig solcher Retorten angesetzt und untersucht.

Die mit Kali gemischten Flüssigkeiten, welche nach verschiedenen Zeiträumen: 24—72 Stunden und bis zu 14 Tagen, den Retorten entnommen wurden, waren sämmtlich geträut und keine einzige Probe enthielt Mikroorganismen, vielmehr bestanden die Niederschläge, wie sich nach näherer Untersuchung und mikrochemischen Reactionen ergab, zum grössten Theil aus Phosphaten, daneben aus amorphen und krystallinischen Massen. Der Geruch war nicht auffällig verändert, selbst da nicht, wo sich einzelne Triphosphatkristalle vorhanden. In einigen Retorten entstand die Trübung schon im Wasserbade und in Folge dessen wurde das Ver-

fahren eingedenk der Bemerkung Bastian's, dass die Concentration und somit auch die Acidität dem Volumen nach durch den Wasser-verlust beim Sieden zunimmt, dahin modifizirt, dass nur vorher gekochter Urin titriert wurde und der so gefundene Säuregrad die Wahl der Kalimenge in den Kapseln bestimmte. Auch die Empfindlichkeit des Lakmuspapieres konnte möglicherweise in Frage kommen und deshalb verliess ich dies Reagens ganz und verwendete die viel empfindlichere Rosolsäure¹) in verdünnter alkoholischer Lösung. Diese Substanz lässt in ihrer Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig, der Farbenwechsel von Gelb zu schönem Rosaroth nach Zusatz des kleinsten Ueberschusses von Alkali ist nicht zu verken-nen, während es oft vom individuellen Farbensinn abhängt zu unter-scheiden, ob blaues Lakmuspapier noch leicht geröthet wird oder nicht.

Als aber nach zahlreichen Wiederholungen die Resultate fort-dauernd negativ ausfielen, befürchtete ich, dass es an den unter-suchten Proben liegen und dass die Bakterien so vereinzelt vorkom-men könnten, dass ich nur zufällig nie bakterienhaltige Tropfen unter das Mikroskop gebracht hätte. Um diese Möglichkeit auszu-schliessen, wurde der Urin in Glasröhren aufgesogen, welche an beiden Enden haarfein ausgezogen waren und nun das eine Ende einen Augenblick in die Bunsen'sche Flamme gehalten, wobei es zu-schmolz und sich gleichzeitig leicht umbog. An diesem Hükchen liess ich die Probe einige Zeit hängen, damit sich die Bakterien, welche etwa in Suspension geblieben sein möchten, an der feinen Oeffnung ansammeln könnten. Allerdings war bei diesem Verfahren eine Vermehrung unter den veränderten Bedingungen zu befürchten, indess das Resultat blieb gleichwohl das nehmliche. Endlich wäre es möglich, dass die Ursache der abweichenden Ergebnisse in der Beschaffenheit des Urins selbst gelegen sein möchte. Aber auch alle möglichen Veränderungen der Versuchsflüssigkeit wie z. B. Urin verschiedener Individuen, Beimischung von Traubenzucker- und Peptonlösung [den Huizinga'schen Versuchen²) nachgebildet] beein-flussten das Endresultat nicht.

¹⁾ Ueber die Rosolsäure, oder richtiger Corallin siehe: Commalle, Journ. de Pharm. et de Chimie. Tome XVIII. p. 356 u. Dingler's Polytech. Journ. CCXI. p. 377.

²⁾ Pflüger's Archiv Bd. VII. 1873 u. Bd. VIII. 1874. Vergl. Versuche von Samuelson und Gscheidlin.

Selbst nach Verlauf eines Monats waren die Flüssigkeiten jener Retorten, in denen die Kalikapseln unversehrt blieben, mit wenigen Ausnahmen vollkommen klar und wo mikroskopisch untersucht wurde, fanden sich keine Bakterien vor. Eine geringe Trübung bildete sich nur in wenigen mit niederem Säuregrad und diese löste sich nach Zusatz von Essigsäure auf.

Soweit ist es also nicht möglich gewesen die Befunde von Bastian zu bestätigen und es fehlte jeder Anhalt, um die Divergenz im Ergebniss von Versuchen, die genau in derselben Weise ange stellt wurden, zu erklären.

Noch verblieben 17 Retorten im Brütekasten, welche theilweise Urin allein und theilweise Urin mit der entsprechenden Menge Kalilauge enthielten. Diese wurden erst am 17. October geöffnet, nachdem sie zwischen 65—126 Tage bei 45—50° C. aufbewahrt geblieben waren.

Die Flüssigkeiten waren fast sämmtlich von einem in Flocken suspendirten oder den Gefäßwandungen anhaftenden gelblich-weissen Niederschlag mehr oder weniger getrübt, reagirten mit Rosolsäure deutlich alkalisch und entwickelten zum Theil schwach ammoniakalischen Geruch. Nur eine Probe roch faulig und bei dieser war beim Zusammischen der Retorte ein Unglück passirt. Der Niederschlag löste sich nach Zusatz von Essigsäure in den meisten Fällen fast ganz auf; die mikroskopische Untersuchung ergab, dass er aus amorphen Massen und wenigen Krystallen bestand; helle Krystallnadeln, welche aber bei aufmerksamer Betrachtung mehr in die Länge gestreckten farblosen Prismen glichen, konnte ich lange nicht deuten, bis ich bei späteren Versuchen Gypskrystalle zu vermuthen Ursache hatte¹⁾). Dagegen fielen mir eigenthümliche zoogleähnliche Massen von gelblicher Farbe auf, die grosse Resistenz gegen Säure zeigten und welche auch bei einer anderen Gelegenheit zur Beobachtung kamen. Neben diesen Niederschlägen enthielten aber sämmtliche Retorten, auch jene, deren Flüssigkeit vollkommen klar geblieben war und eine, deren Inhalt sauer reagirte und auf welche ich noch zurückzukommen habe, Bakterien verschiedener Formen: Vorwiegend Kugelbakterien in lebhafter Bewegung, entweder vereinzelt, zu zweien

¹⁾ P. Fürbringer, Deutsch. Archiv für klin. Med. Bd. XX. S. 511.

oder zu Ketten vereinigt, oder in Zoogloeaform nebst einer geringen Zahl bewegter oder ruhender Stäbchen- und Fadenbakterien. In keinem Falle konnte aus der Klarheit oder Trübung der Flüssigkeit entschieden werden, ob sich überhaupt oder ob sich mehr oder weniger Organismen darin befanden; doch stand die Trübung, welche nach Zusatz von Essigsäure eventuell noch verblieb in anscheinend directem Verhältniss zur Masse der Zoogloea.

Es ergiebt sich hieraus, dass die fortgesetzte Einwirkung der Brütetemperatur eine Veränderung in der Flüssigkeit zu bedingen scheint, welche der Vermehrung von Organismen in derselben günstig sein muss, obgleich die übrigen Verhältnisse dem entgegenwirken. In welcher Weise oder ob überhaupt die Kalilauge dabei von Bedeutung ist, liess sich vor der Hand noch nicht entscheiden, da Mikroorganismen auftraten gleichviel ob der Inhalt der Gefässer mit Kali gemischt wurde oder nicht. Ein etwaiges Verhältniss zwischen der Entwicklung von Keimen und den veränderten chemischen Eigenschaften des Substrats würde nur durch eine möglichst getrennte Untersuchung beider Erscheinungen constatirt werden. In diesem Sinne wurden die folgenden Versuche angestellt.

Zuvörderst wurde frischer filtrirter Urin in reine Reagenzylinder gebracht, mit Watte fest verschlossen und in das Wasserbad bei $45-50^{\circ}$ C. eingetaucht. Nach 30 Stunden war die Reaction alkalisch verbunden mit Bakterien- und Ammoniakentwickelung. Nach einiger Zeit, während welcher der Cylinder im Wasserbade verblieb, sanken die gebildeten Zoogloeamassen zu Boden und die Flüssigkeit wurde allmählich klar. Doch trotz der mangelnden Lebensäusserung der Organismen entwickelte sich fortgesetzt Ammoniak und die Alkalescenz nahm zu. Diese letztere wurde mittelst eines Tropfapparats mit 5 prozentiger Schwefelsäure bestimmt und an der Umwandlung von alkalisirter Rosolsäure (rosaroth) zur strohgelben Farbe, sobald der erste Säuretropfen im Ueberschuss hinzukam, erkannt. Es scheint hieraus zu folgen, dass die Zersetzung des Harnstoffs nicht so abhängig ist von den Lebensäusserungen der Bakterien, wie dies nach der vitalistischen Theorie Pasteur's zu erwarten wäre und oft behauptet wird, sondern vielmehr dass sie durch die länger fortgesetzte Einwirkung einer Temperatur von $45-50^{\circ}$ C. begünstigt, wenn nicht gar eingeleitet werden kann.

Auch das Harnferment von *Musculus*¹⁾ [welches *Pasteur*²⁾ und *Joubert* wohl anerkennen, in welchem sie aber ein Product der Bakterien erblicken] kann nicht zur Erklärung obigen Befundes verwertet werden, da dasselbe, nach den Angaben seines Entdeckers, schon bei 80° C. zerstört und von Alkalien in seiner Wirksamkeit neutralisiert wird und in den *Bastian'schen* Retorten beide schädliche Momente zusammenkommen und dennoch Ammoniak auftritt.

Bekanntlich wird Harnstoff in wässriger Lösung beim Erhitzen in zugeschmolzenen Glasröhren oder wenn man denselben in Substanz mit Alkalihydrat schmilzt, zerlegt. Mit Zugrundelegung der letzterwähnten Thatsache wurden 4 Reagenzylinder mit wässriger Lösung von künstlichem Harnstoff³⁾ beschickt und zweien eine kleine Menge Kalilauge zugefügt. Ein Cylinder mit einer ohne Kalilauge wurde am offenen Ende fein ausgezogen, zugeschmolzen und im Brütekasten bei 45—50° C. aufbewahrt, während die beiden anderen mit Watte verschlossen in das Wasserbad bei derselben Temperatur eingestellt wurden. Das Ergebniss dieser Reihe war:

I. Reagenzylinder mit Urea + Kalilauge, Watteverschluss: Ammoniakentwickelung nach 17 Stunden Aufenthalt im Wasserbad.

II. Gleiche Anordnung wie I. ohne Kalilauge: Schwache Ammoniakentwickelung, alkalische Reaction nach Aufenthalt von 139 Stunden im Wasserbade.

III. Reagenzylinder mit Urea + Kalilauge, zugeschmolzen: Schwache Ammoniakentwickelung nach Aufenthalt von 12 Tagen im Brütekasten.

IV. Gleiche Anordnung wie III. ohne Kalilauge, wurde erst nach 57 Tagen untersucht und zeigte keine deutliche Ammoniakentwickelung aber entschiedene alkalische Reaction auf Rosolsäurezusatz, während die Lakmusreaction ausblieb.

Demnach ist eine Temperatur von 45—50° C. hinreichend um nach längerer Einwirkung den Harnstoff zu zersetzen, und zwar um so rascher, wenn Kalilauge hinzugefügt ist; die Alkalescenz der Flüssigkeit in IV. lässt ebenfalls keine andere Deutung zu. Von ganz besonderem Interesse ist in letzterem Falle die Verzögerung

¹⁾ Comptes rendus Tome 82. p. 333.

²⁾ Journ. de Pharm. et de Chim. Bd. XXIV. p. 206. 1876.

³⁾ Die Chemikalien, welche in diesen und in allen folgenden Versuchen Verwendung fanden, wurden von E. Merck in Darmstadt bezogen.

der Ammoniakbildung in der zugeschmolzenen Retorte. Ist die Ammoniakentwickelung eine starke, wie das bei I. der Fall war, so kann schon der Geruch entscheidend sein, wo aber dieselbe schwach war, wurde sie nachgewiesen durch die Rothfärbung eines Wattebausches, welcher mit Rosolsäure befeuchtet und über die Mündung des Glases gehalten wurden. Bei dieser Reaction muss genau auf die Zeit, welche der Farbenwechsel in Anspruch nimmt, geachtet werden; denn schon geringe Spuren von Ammoniak in der Zimmerluft können denselben bewirken; ebenso darf der Bausch den Rand des Glases nicht berühren, so dass die Reaction nur auf aufsteigende Ammoniakdämpfe bezogen werden kann.

Bezüglich der Reaction muss besonders noch einer Retorte der weiter oben mitgetheilten Reihe gedacht werden. Sie zeigte wie wichtig es ist, bei der Bestimmung der Alkalescenz sich nicht allein der empfindlichsten Reagentien zu bedienen, sondern auch eine etwaige Abnahme des Säuregrades nachzuweisen, da die Eröffnung des betreffenden Gefäßes möglicherweise zu einer Zeit geschehen kann, wenn die Harnstoffzersetzung erst ihren Anfang genommen hat. Jene Retorte enthielt neben einer unversehrten Kalikapsel 30 Ccm. Urin von 80 Tropfen Acidität, wurde in der gewöhnlichen Weise behandelt und kam am 11. Juli in den Brütekasten. Am 17. October wurde sie aufgebrochen und die Flüssigkeit untersucht. Diese war vollkommen klar und reagierte schwach sauer; doch die Acidität hatte abgenommen dermaassen, dass sie nunmehr nur 35 Tropfen der 5,85 procentigen Kalilauge entsprach. Unter dem Mikroskop erschienen Kugelbakterien und einzelne Stäbchen und Fäden theils ruhend, theils in lebhafter Bewegung. Auf eine solche Abnahme der Acidität unter gleichzeitiger Bildung von Ammoniak wurde Bastian gleichfalls hingewiesen. Er fand, dass, wenn Harn zwei Minuten lang gekocht, das zugeschmolzene Gefäß während acht Minuten in siedendem Wasser gelassen wurde, um dann 7 Tage lang bei 50° C. im Brütekasten zu stehen, der Säuregrad von 30 Ccm. von 21 auf 13 „Minims“ Liqu. Potass. herabsinkt und Ammoniak gebildet wird.

So genau auch Bastian seine Verfahrungsweise beschreibt, so wird es gleichwohl nie gelingen, seine Versuche in aller Strenge nachzumachen, da der Urin natürlicherweise nicht derselbe sein wird. Diese Verschiedenheit in der Zusammensetzung, und dass

es auf geringe Abweichungen ankommt, ist wohl ohne Weiteres einleuchtend, beeinträchtigt im Allgemeinen alle Nachuntersuchungen mit Heuinfus und mit den verschiedenartigen Abkochungen, welche schon verwendet wurden. Beweiskräftig werden nur jene Controlversuche sein, welche mit Flüssigkeiten von gleicher und bekannter Zusammensetzung angestellt werden können. Am ehesten ist dies zu erreichen mit künstlichen Nährflüssigkeiten. Selbstverständlich dürfen die betreffenden Ergebnisse nur beschränkte Anwendung auf allgemeine Fragen finden, sie werden vielleicht nur mangelhafte Aufschlüsse geben können. Dieselben Einwürfe gelten auch für Versuche mit Infusen etc., während andererseits die Bestätigung resp. die Zurückweisung nur unter gleichartigen Cautelen wissenschaftliche Gültigkeit beanspruchen dürfen. Abgesehen hiervon ist es rationeller, die unter bekannten Bedingungen gefundenen Thatsachen nachträglich erst auf complicirtere Vorgänge anzuwenden und zu prüfen, als gleich von vornherein einen unbekannten Nährboden zu wählen. Wollen wir also dem Verständniss der mitgetheilten Erscheinungen näher treten und zu ermitteln suchen, ob und in wie weit die Harnstoffersetzung mit der Vermehrung der Keime in Verbindung steht, so wird eine einfachere Flüssigkeit als Urin voraussichtlich eher zum Ziele führen.

In den folgenden Versuchen wurde die Mayer'sche Nährsalzlösung verwendet (0,1 phosphorsaures Kali, 0,1 krystallisierte schwefelsaure Magnesia, 0,01 dreibasisch phosphorsaurer Kalk auf 100 Cem. destillirtes Wasser) nur dass statt weinsauren Ammoniaks künstlicher Harnstoff hinzugefügt wurde, nachdem die Mischung gekocht und filtrirt war. Nach Zusatz des Harnstoffs wurde stets noch einmal filtrirt. Es ist zweckmässig, bei der Darstellung der Nährsalzlösung das Kalksalz zuletzt beizugeben, da es sich bekanntlich in saurer Flüssigkeit leichter löst. Cohn¹⁾) hat zwar gefunden, dass diese Mischung bei gewöhnlicher Temperatur für Bakterienvermehrung nicht günstig sei; in Anbetracht unserer Befunde sei jedoch seine Beobachtung angeführt, dass in einer Lösung von käuflichem Milchzucker ohne irgend eine Zuthat stickstoffhaltiger Substanz schon nach vier Tagen reichliche Bakterien- und Hefeentwicklung eintrat, was ihn vermuthen liess, dass der hiezu nötige Stickstoff der Luft entstammte.

¹⁾ Beitr. zur Biolog. der Pflanzen. Bd. I. Hft. 2. S. 201.

Mit dieser stickstofffreien wasserhellen Nährlösung und Harnstoff (0,06 Grm. auf 30 Ccm.), deren Acidität 110 Tropfen auf 30 Ccm. betrug, wurde eine Anzahl Reagenzylinder beschickt, zugeschmolzen und dem Brütekasten (45—50° C.) übergeben. Nach Verlauf von 65 Tagen war der Inhalt sämmtlicher Gefässer leicht getrübt und wimmelte von Bakterien. Die Reaction war schwach sauer, aber der Säuregrad war auf durchschnittlich 66 Tropfen (auf 30 Ccm.) gefallen. Die Acidität der Flüssigkeit war offenbar zu stark, die Ammoniakentwickelung resp. die Entstehung von kohensaurem Ammoniak und die Zersetzung dieser Verbindung zu schwach, um den Nachweis von freiem Ammoniak zu gestatten. Deshalb wurde zu den Wiederholungen der Bastian'schen Versuchsreihen eine verdünntere Nährsalzlösung hergestellt. Diese bestand aus 0,005 phosphorsaurem Kali, 0,005 schwefelsaurer Magnesia, 0,001 dreibasisch phosphorsaurem Kalk auf 100 Cem. destillirten Wassers.

Es wurden eine Anzahl Retorten mit und ohne Beimengung von Kalilauge nach den oben ausführlicher mitgetheilten Bastian'schen Vorschriften zubereitet und der Brütetemperatur überlassen, wobei in je 30 Cem. N-freier Salzlösung Harnstoff im Verhältniss von 3,0 Grm. auf 200 Cem. aufgelöst und vor Einfüllung in die sorgfältig gereinigten Retorten nochmals filtrirt wurde. Die Resultate dieser Versuchsreihen waren dieselben wie die mit Urin. So zwar, dass schon nach Verlauf von 10—14 Tagen die kalihaltigen Flüssigkeiten bei geringer Trübung und alkalischer Reaction Bakterien enthielten, während in jenen Retorten ohne beigemengte Kalilösung, wo die Zersetzung des Harnstoffs also weniger begünstigt wurde, das Auftreten von Bakterien frühestens nach 57 Tagen Aufenthalt im Incubator erfolgte.

Was die Bakterienformen in allen vorliegenden Versuchen anlangt, muss bemerkt werden, dass Kugelbakterien und besonders *Micrococcus* (Billroth) am zahlreichsten vertreten waren: In lebhafter Bewegung, vereinzelt oder an einander gereiht, oder ruhend und in *Zoogloea*formen. In einigen Fällen fanden sich auch vereinzelte Gebilde vor, welche den *Ascococcus* von Billroth¹⁾ gleich oder ihnen nahe zu stehen scheinen. Die Stäbchen- und Fadenform war in verhältnissmässig geringer Zahl vorhanden und alle

¹⁾ Untersuchungen über die Vegetationsformen von *Coccobacteria septica* etc.
S. 12. Berlin 1874.

zeigten entschiedene Trübung des Inhalts. Auch in den Proben künstlicher Nährflüssigkeit mit Harnstoff kamen jene eigenthümlichen schön gelb-bräunlichfarbeneen zoogloeaähnlichen Haufen von punktförmigen Gebilden vor, von denen weiter oben schon die Rede war. Ich bin nicht im Stande sie als Organismen zu erkennen, denn eine Bewegung oder eine Vermehrung ihrer Elemente liess sich nicht constatiren.

Wenn unter den ungünstigsten Bedingungen: Kochen und möglichstem Abschluss von Sauerstoff sich etwa noch lebensfähig gebliebene Organismen entwickeln und vermehren können und andererseits die Wahrscheinlichkeit, dass in den angewendeten Nährflüssigkeiten die Ammoniakentwickelung in directem Verhältniss zu einer solchen Vermehrung und Entwicklung steht, dann müsste die Entziehung dieser Stickstoffquelle voraussichtlich ein neues Hinderniss hinzufügen. Zum Entscheid dieser Frage diene ein Vergleich der folgenden Versuche. Sie sind den Bastian'schen nachgebildet und die Flüssigkeiten wurden untersucht, nachdem sie 41 Tage bei 46—48° C. im Brütekasten zugebracht hatten.

I. N-freie verdünnte Nährsalzlösung mit Harnstoff (3,0 Grm.: 200 Cem.). Die Flüssigkeit blieb wasserklar, Reaction alkalisch, enthielt Kugel-, Stäbchen- und Fadenbakterien.

II. N-freie verdünnte Nährsalzlösung + Urea mit 40 Tropfen Kalilösung gemischt: spärlicher Niederschlag, Flüssigkeit selbst klar, Reaction alkalisch, nur wenige bewegliche Kugelbakterien neben Krystallen und amorphen und feinkörnigen Massen. — Vielleicht ist der Zersetzungsprozess schon abgelaufen.

III. N-freie verdünnte Nährsalzlösung mit verdünnter Ammoniaklösung, die wie die Kalilauge in Glaskapseln eingebracht und später gemischt wurde. Verhältnissmässig starke diffuse Trübung, Reaction alkalisch, massenhafte Kugel-, Stäbchen- und Fadenbakterien.

IV. N-freie verdünnte Nährsalzlösung + Urea und eine Kapsel mit 50 Tropfen 5 procentiger Schwefelsäure, welche, ebenfalls nach der Bastian'schen Methode, beigemischt wurde. Flüssigkeit vollkommen wasserklar, Reaction schwach sauer, vereinzelte Kugelbakterien, Gypskristalle.

Schliesslich kam von der Flüssigkeit IV eine Probe in je einen Reagenzylinder, welcher mit Watte fest verschlossen bei Zimmer-

temperatur aufbewahrt wurde. In den einen wurde mittelst einer später zu beschreibenden Woulff'schen Flasche ein mit Ammoniak geschwängerter Luftstrom eingeblasen, bis die Reaction mit Lakmuspapier alkalisch war. Während einiger Tage wurde dies je einmal wiederholt und dann der Cylinder, mit Watte verschlossen, weggestellt. Nach Verlauf von 40 Tagen war die ursprüngliche Flüssigkeit noch vollkommen wasserklar, reagirte schwach sauer und zeigte keine Veränderung des mikroskopischen Befundes. Anders die mit Ammoniakluft behandelte. Sie war milchig getrübt und enthielt einen Bodensatz, der beim Schütteln in Gestalt von Wölkchen und Häutchen aufstieg. Unter dem Mikroskop erschienen zahlreiche Zoogloeacolonien, und im Gesichtsfeld wimmelte es von Pünktchen, Kugeln und Stäbchen. Bemerkenswerth ist der Umstand, dass Lakmuspapier neutrale Reaction ergab, während die Rosolsäure eine für dieses Reagens starke alkalische Reaction anzeigte.

Fasst man die Resultate der vorliegenden Versuchsreihen zusammen, so ergiebt sich, zunächst was die Bastian'sche Arbeit anlangt, dass allerdings in Urin, und fügen wir hinzu in harnstoffhaltiger Nährsalzlösung Mikroorganismen entstehen oder sich vermehren, nachdem die Flüssigkeit vorher eine bestimmte Zeit der Siedehitze ausgesetzt war und bei möglichstem Luftabschluss in einer Temperatur von 45—50° C. verweilt hat. Es sind aber bei unseren Versuchen diese Erscheinungen immer erst nach längerer Zeit eingetreten. Aus dem Klarbleiben oder Trübwerden der Flüssigkeit darf kein Schluss auf deren Gehalt an Bakterien gezogen werden, weil die Trübung durch andere Beimengungen erzeugt sein kann, während andererseits Bakterien in ganz klaren Flüssigkeiten getroffen werden. Nach Bastian treten nur in den kalihaltigen Retorten nach 18—36 Stunden Mikroorganismen auf, die übrigen Proben aber blieben „anscheinend“ unverändert. Dagegen beobachtete ich in allen die Vermehrung von Bakterien jedoch nur nach fortgesetzter Einwirkung der Brütetemperatur von 45—50° C. Dass jene Erscheinungen dort, wo Kalilauge zugegen war, früher auftrat, erklärt sich aus der dadurch bedingten rascheren Zersetzung des Harnstoffs resp. der begünstigten Lieferung des stickstoffhaltigen Nährmaterials Ammoniak, und insoweit kann dem Alkali ein gewisser Einfluss auf den Vorgang nicht abgesprochen werden.

Aus diesen Resultaten auf „Abiogenesis“ zu schliessen, ist man

meines Erachtens deshalb nicht berechtigt, weil, wie gezeigt wurde, zum mindesten bezweifelt werden kann, dass alle Organismen und alle Keime in den Flüssigkeiten und in den Behältern zerstört worden sind; zeigen doch die niedersten Formen grosse Resistenz gegen hohe Hitzegrade. Das Bemerkenswerthe an den Ergebnissen ist, dass bei Ausschluss einer „Abiogenesis“ die Verzögerung der Vermehrung der Bakterien aus dem vorhergegangenen Kochen und dem Abschluss von freiem Sauerstoff ebenso einfach sich erklärt wie die Thatsache einer Vermehrung derselben überhaupt, unter diesen ungünstigen Bedingungen, aus der Zufuhr von Stickstoff in Form von Ammoniak zusammen mit der längeren Einwirkung der Brütetemperatur. Harnstoff selbst mag, wie Cohn¹⁾ gefunden hat, keine Stickstoffquelle für die niederen Lebewesen abgeben, aber sobald derselbe sich zerlegt hat und Ammoniak frei wird, ist bei Gegenwart der nöthigen Aschenbestandtheile für die Ernährung jener Gebilde gesorgt, selbst wenn der Vorrath an freiem Sauerstoff, wie in den vorliegenden Versuchen, möglichst gering ist.

II.

Die aus obigen Versuchen gewonnene Thatsache, dass Ammoniak, einer einfachen N-freien Nährsalzflüssigkeit von bekannter Zusammensetzung hinzugefügt, der Vermehrung von Bakterien günstig ist, veranlasste mich die dabei sich vollziehenden Vorgänge der directen Beobachtung zugängig zu machen. Dabei hoffte ich die Lebensgeschichte dieser Organismen, welche durch die Arbeiten der Pathologen einerseits und der Botaniker andererseits ein mehr denn rein theoretisches, ein hohes practisches Interesse gewonnen haben, genauer studiren zu können.

Der antiseptischen Wundbehandlung liegt die Idee zu Grunde, dass die Beteiligung dieser Organismen an den pyämischen und septischen Prozessen eine active sei. Zahlreiche Hypothesen nehmen behufs der Erklärung der Infectionskrankheiten eine specifiche Wirkung für sie in Anspruch, sei es mit Rücksicht auf morphologische oder physiologische Eigenthümlichkeiten; andererseits fehlt es doch nicht an bedeutenden Forschern auf diesem Gebiet, die

¹⁾ Beiträge etc. Bd. I. Hft. 2.

wie Billroth¹⁾, Hiller²⁾, Toussaint³⁾, Frisch⁴⁾, Max Wolff⁵⁾ u. A. m., keine genügenden Gründe erkennen wollen, welche uns berechtigten specifische Bakterien morphologisch zu unterscheiden. Selbst die Arbeiten von Koch⁶⁾ über den Milzbrand und die Entdeckung der Recurrensspirillen von Obermeier⁷⁾ haben nach der Ansicht Mancher die Frage von der Specificität einzelner Bakterienformen noch keineswegs endgültig entschieden. So finden z. E. Pasteur und Joubert⁸⁾ die Ursache der pathogenen Wirkung der Milzbrandbakterien in der Entziehung des Sauerstoffs aus dem Blute, welchen sie zu ihrem Gedeihen gebrauchen, während sie von anderer Seite [Toussaint⁹⁾] in embolischen Vorgängen gesucht wird. Wenn der ersten Ansicht die Behauptung, dass alle Bacillen „aerobic“ seien, daneben gestellt wird, so ist nicht recht einzusehen, weshalb nur der Bacillus Anthracis Milzbrand erzeugen sollte. Klebs¹⁰⁾ bestreitet, nebenbei bemerkt, diese Hypothese von dem Standpunkte aus, dass die Gründe dafür nicht ausreichen. Fernerhin liegen Beobachtungen von Recurrenssällen vor, welche nicht angethan sind, der Spirochaete Oberm. sogar diagnostische Dignität [Weigert¹¹⁾] beizulegen; Stricker¹²⁾ sieht vorerst in der Gegenwart von Spirillen im Blute Recurrenskranker sogar nur eine Coincidenz.

Gewiss ist kein Kapitel der Pathologie so reichlich mit Widersprüchen ausgestattet wie das von den Infectionskrankheiten, und dies liegt nicht allein an der grossen Schwierigkeit des Objects, sondern zum allergrössten Theil an den weitgehenden Schlüssen aus einzelnen Versuchsreihen und an dem einseitigen Standpunkte

¹⁾ Coccobacteria septica etc.

²⁾ Langenbeck's Archiv XVIII. 4.

³⁾ Comptes rendus, Sept. 3. 1877.

⁴⁾ Experimentelle Studien über die Verbreitung der Fäulnissorganismen in den Geweben etc. Erlangen 1874.

⁵⁾ Centralblatt 1873. No. 32.

⁶⁾ I. c.

⁷⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1873. No. 13, 33.

⁸⁾ Comptes rendus, April 30, Juli 16. 1877.

⁹⁾ I. c.

¹⁰⁾ Klebs u. Tiegel, Comptes rendus, Oct. 22. 1877.

¹¹⁾ Deutsche medicin. Wochenschrift. 1876.

¹²⁾ Vorlesungen über allgem. u. experim. Pathologie. I. 1877.

vieler Experimentatoren, wie das mit Recht von Panum¹⁾, Hiller²⁾ u. A. m. hervorgehoben wird. An der Hand der vitalistischen Gährungstheorie sucht man vielfach die Erklärung der complicirtesten Krankheitsbilder zu begründen und findet oft in der Coincidenz allein genügenden Anhalt, um eine neue specifische Form aufzustellen. Berücksichtigt man die verhältnissmässig ungeheure Schnelligkeit der Vermehrung und die Variabilität der Gestaltung, so wird die Annahme, dass nach wiederholten Züchtungen und Filtrirungen das Product stets dasselbe bleibe, nicht wahrscheinlich.

Unsere Kenntnisse von der Biologie der Bakterien sind noch zu mangelhaft und unvollständig um ohne weiteres in der Pathologie verwerthet zu werden; bei diesem Stand der Sache ist der kleinste Beitrag, welcher die Lebensbedingungen dieser niedersten Organismen zu erforschen sucht, willkommen.

Die Botaniker haben, ohne Hinblick auf die pathogene Bedeutung, in neuester Zeit dies Feld am eifrigsten bestellt; besondere Verdienste hat sich Ferdinand Cohn³⁾ um die Förderung dieser Disciplin erworben. Das Studium der Literatur über diesen Gegenstand wird nicht zum kleinsten Theil erschwert durch die Verschiedenheit der Bezeichnungen bei den einzelnen Autoren. Wir sind Cohn besonderen Dank schuldig für sein Bestreben eine einfache Nomenclatur aufgestellt zu haben. Wenn ich mich im Folgenden derselben hauptsächlich bediene, so geschieht das mehr um die Formen bestimmter zu bezeichnen, als weil ich Ursache hätte in der genetischen Auffassung mich ihm anzuschliessen. Billroth's⁴⁾ Eintheilung hat den Vortheil der Entwicklung, wie ich sie zu beobachten Gelegenheit hatte, mehr zu entsprechen; sie wird sich aber schwerlich gut durchführen lassen, weil die Grössenbestimmungen in den einzelnen Fällen zu grosse Schwierigkeiten darbieten.

Zum Vorversuch diente eine Retorte, welche genau nach den Vorschriften Bastian's behandelt wurde. Anstatt Urin enthielt sie stickstoffreie Nährlösung und die eingebrachten und später zerstellten Glaskapseln enthielten statt Kalilauge je 20 Tropfen verdünntes Ammoniak (10 Tropfen gesättigte Ammoniaklösung auf

¹⁾ Dieses Archiv Bd. 60. S. 301. 1874.

²⁾ Langenbeck's Archiv Bd. XVIII.

³⁾ Beitr. zur Biolog. der Pflanzen. Bd. I u. II.

⁴⁾ Coccobact. sept.

100 Cem. destillirtes Wasser). Nachdem das Gefäss sieben Tage lang bei Zimmertemperatur gelegen hatte, enthielt es zahlreiche Kugel-, Stäbchen- und Fadenbakterien ruhend oder in lebhafter Bewegung. Mehrfache Wiederholungen dieses Versuchs ergaben das gleiche Resultat.

Zum Zwecke der continuirlichen Beobachtung musste eine Kammer verwendet werden, welche gestattete nach Belieben Ammoniak zuzuleiten und deren einfache Construction zuliesse, dass sie unschwer auseinander genommen und möglichst gründlich gereinigt werden könnte. Fig. 1 und 2 stellen eine solche feuchte Kammer in natürlicher Grösse dar. Sie besteht aus einem Objectträger, auf dessen Mitte ein durchbohrtes Quadrat aus Hartgummi von 4 Mm. Dicke mit Canadabalsam aufgekittet ist. In den gegenüberliegenden Wandungen ist je ein Zu- und ein Ableitungsrohr aus Neusilber eingelassen, wodurch der mittlere Raum nach zwei Seiten hin nach aussen communicirt. Der Boden des Raumes wird mit einem Tropfen destillirten Wassers, welcher die Feuchtigkeitsquelle abgiebt, bedeckt. Will man nun eine Beobachtungsreihe beginnen, so wird ein kleines Tröpfchen der verdünnten stickstoffreichen Nährösung auf ein dünnes Deckgläschen gebracht und dasselbe, das Tröpfchen nach unten gekehrt, auf die mit reinem Olivenöl bestrichene obere Fläche des Quadrats aufgelegt. Ueber das Ende des Zuleitungsrohrs ist ein dünner, fest anschliessender Gummischlauch gezogen, der mit der einen Oeffnung einer Woulff'schen Flasche von etwa 200 Cem. Gehalt in Verbindung steht. Um etwaige Rückströmungen zu verhindern war das Ableitungsrohr der Kammer mittelst eines kurzen Stücks Gummischlauch mit einem rechtwinklig gebogenen Glasröhrchen verbunden, wodurch Wasserverschluss ermöglicht war während der Unterbrechungen der Beobachtung. In der gleichen Absicht wurde in solchen Pausen die ganze Leitung von Stelle zu Stelle durch Klemmen unterbrochen. Die zu untersuchenden Flüssigkeiten können am bequemsten und am reinsten mittelst Glascapillaren unter das Mikroskop gebracht werden. Es ist zweckmässig einen Vorrath davon anzufertigen, doch muss man dabei beachten, dass beide Oeffnungen sogleich nach dem Ausziehen zugeschmolzen und erst direct vor Gebrauch abgeknickt werden.

Die Woulff'sche Flasche war an allen drei Oeffnungen mit Gummistöpsel verschlossen, durch deren Bohrung je ein Glasröhr-

chen in die Flasche hineinragte. Das eine dieser Glasröhrenchen, welches in die Flüssigkeit der Flasche eintauchte, stand mit einem Gummischlauch in Verbindung, welcher zum Eintreiben von Luft bestimmt war; die beiden anderen endeten frei im Luftraum der Flasche; das eine von ihnen, das mittlere, war mit Wachs verstopft, so dass nach Bedürfniss Luft in die Flasche eingelassen werden konnte, während das andere durch einen Gummischlauch die Communication zwischen Flasche und Kammer vermittelte. Die Flasche selbst enthielt auf 100 Cem. destillirtes Wasser 10 Tropfen concentrirte Ammoniaklösung.

Nachdem das Mikroskop auf ein bestimmtes Gebilde im Tröpfchen eingestellt ist, was um so eher geschehen kann, wenn in dessen Nähe irgend ein mikroskopischer Fremdkörper die Orientierung erleichtert, wird die Kammer mit den Klemmfedern des Objectisches befestigt und ein schwacher mit Ammoniakdämpfen geschwängerter Luftstrom durchgeblasen. Letzteres geschieht am besten vom Beobachter selbst, indem er das mit einem kurzen Glasansatz versehene Ende des Zuleitungsschlauches in den Mund nimmt und leicht durchbläst. Damit das Tröpfchen nicht verdunstet, darf der Luftstrom nicht zu stark sein. Versuche mit einem Flaschenapparat als Gebläse bewährten sich nicht: Der Luftstrom war zu stark und ungleichmässig, als dass die Feuchtigkeitsquelle am Boden der Kammer die Verdunstung hintanzuhalten vermochte. 10 bis 20 leichte Luftstösse, wobei die einzelnen Blasen nicht zu gewaltsam in der Flaschenflüssigkeit aufsteigen dürfen, etwa alle drei Stunden wiederholt, genügen vollkommen. Es ist darauf aufmerksam zu machen, dass die Versuche während der Sommerzeit länger fortgesetzt werden konnten als während des Winters in geheiztem Raume.

Man kann sich leicht davon überzeugen, dass das Ammoniak wirklich durch die Kammer streicht, wenn man die Rosolreaction in der Flüssigkeit oder mittelst Wattebausch an der Oeffnung des Ableitungsrohrs anstellt; im günstigen Falle tritt sofort der charakteristische Farbenwechsel auf.

Soll die Kammer gereinigt werden (Chloroform und Alkohol), so kann leicht mit der Spitze einer mässig starken Klinge der Kautschukaufsatzz abgesprengt werden. Beim Aufkitten mit eingedicktem und erwärmt Canadabalsam passirt es zuweilen, dass der

Aufsatz beim Erkalten abspringt; dann ist es am besten, denselben kalt aufzukitten und abzuwarten, bis der Balsam hart geworden ist. Diese kleinen Unannehmlichkeiten werden aber beim Gebrauch durch die Einfachheit des Apparats gegenüber den sonst gebräuchlichen Kammern reichlich aufgewogen.

Das Untersuchungsobject waren Keime, die in manchen Fällen zufällig in der Flüssigkeit enthalten oder anderen Proben entnommen waren und methodisch ausgesäet wurden.

Im Verlaufe dieser ganzen Untersuchungsreihe, wie auch in den oben beschriebenen Bastian'schen Versuchen bediente ich mich fast ausschliesslich der Zeiss'schen Linsen: Ocular 4 und Object F (constatirte Vergrösserung 1020) und wo es galt die feinere Structur genauer zu studiren habe ich Hartnack Ocular 4 mit Immersion 12 (Vergr. 1500) verwendet. Die Zeichnungen wurden mit Hülfe der ersteren ausgeführt und künstliche Beleuchtung mit grosser Sammellinse als Lichtquelle benutzt. Namentlich dann kann man mit Vortheil letzteres Mittel anwenden, wenn es möglich ist, das oft lästige auffallende Licht abblenden zu können.

Die Resultate sorgfältiger und oft wiederholter continuirlicher Beobachtungen, welche, nebenbei bemerkt, grossen Aufwand an Geduld und einige Uebung erfordern, seien in Folgendem in Kürze dargestellt.

Anfänglich ist das Gesichtsfeld in allen Einstellungsebenen entweder vollkommen frei von Körperchen oder aber es erscheinen punktförmige Gebilde und, gewöhnlich dann, wenn die Flüssigkeit inficirt wurde, einzelne hellglänzende Körperchen von kugelrunder oder ovoider Gestalt, welche regungslos an derselben Stelle verweilen. Diese letzteren werden von Osmiumsäure nicht gefärbt und lösen sich nach Zusatz von Aether nicht auf. In der Nähe des Deckglases, also in möglichster Entfernung von dem freien Luftraum der Kammer, zeigen die Pünktchen (Micrococci) nach Verlauf von etwa 9 Stunden lebhafte Bewegung, so dass einzelne plötzlich aus dem Sehfelde hinausschiessen. Mittlerweile trat bald hier bald da ein neues Pünktchen auf, welches entweder aus einer tiefer liegenden Schicht aufgestiegen oder erst zur kenntlichen Grösse gekommen ist; ob das eine oder das andere wage ich nicht zu entscheiden. Wo vor wenigen Stunden nur ein Individuum sich fand, liegt nunmehr eine ganze Versammlung gleichartiger Punkte unbeweglich

neben einander und man kann mit aller Sicherheit die Vergrösserung eines solchen Haufens in der Zunahme der Zahl erkennen; der Vorgang selbst lässt sich aber wegen der Kleinheit der einzelnen Theile nicht genauer verfolgen. Nach einiger Zeit, manchmal erst am folgenden Tage, hat sich eine vollkommene Zoogloea colonie ausgebildet, von deren Rande sich einzelne Micrococci oder zwei- und mehrgliedrige Micrococcenketten, nachdem sie einige Zeit in pendelnder Bewegung begriffen waren, losreissen, um sodann frei in der Flüssigkeit umherzuschwimmen. Die einzelnen Glieder der Ketten berühren sich nicht unmittelbar, sondern es scheint als ob die glänzende Hülle und Zwischensubstanz des Ganzen auch das Bindemittel bildet; dies erscheint um so wahrscheinlicher, nachdem man wiederholt beobachtet hat, wie nach einem Zusammenstoss so umhüllter Micrococci oder Ketten die Zwischenmasse nunmehr die Trennung zu verhindern scheint. Billroth¹⁾ hat darauf hingewiesen, dass mit zunehmender Gliabildung die Beweglichkeit der umhüllten Gebilde abnimmt. Wenn die Zoogloea colonie eine gewisse Grösse erlangt hat (vielleicht hängt das Phänomen mit einer Veränderung in der Beschaffenheit der Flüssigkeit bis zu einem gewissen Grade zusammen), sinkt sie zu Boden, in unserem Falle dem Luftraum näher und wenn man auf eine solche Colonie einstellt, so ist es auffallend, wie viel rascher die Vergrösserung derselben vor sich geht; endlich sistirt die Vermehrung ihrer Elemente und das Ganze zerfällt in eine amorphe Masse. Neben diesen Vorgängen vollzieht sich an einer Anzahl ähnlicher punktförmiger Gebilde ein wesentlich verschiedener Prozess und zwar fast ausschliesslich in jenen Theilen der Flüssigkeit, welche dem Luftraum am entferntesten liegen. Dieselben nehmen an Grösse stetig zu, bis sie zu ausgesprochenen hellglänzenden Kugeln herangewachsen sind, und sich leicht in ihrer weiteren Entwicklung verfolgen lassen. Ich habe sie viele Stunden lang fortgesetzt beobachten können, weil ihre Bewegungen sehr träge sind und sie lange innerhalb der Grenzen des Gesichtsfeldes bleiben. Sie senden feine Sprossen aus, die entweder stäbchenförmig bleiben oder an ihrem Ende kolbig anschwellen und nach einiger Zeit wieder eingezogen werden. Nach etwa 3—5 Minuten wird an einer anderen Stelle der Kugel wieder ein stäbchenförmiger Fort-

¹⁾ I. c. S. 24.

satz ausgesendet, um früher oder später zu verschwinden, was aber nicht immer als Einziehung in die Mutterzelle zu betrachten ist, sondern es genügt eine Drehung der Kugel oder des Ovoids, um den Auswuchs zu verdecken. In dieser Weise erschien der Vorgang während eines ganzen Tages und ich konnte vorerst keine wirkliche Abschnürung beobachten. Bei 38° C. auf dem heizbaren Objecttisch wurden die Bewegungen zwar lebhafter, die Abschnürung aber nicht beschleunigt. Später hatte ich oft Gelegenheit den Abschluss der Erscheinung wahrzunehmen; Fig. 12—16 stellen sie in verschiedenen Stadien dar. Bei a. Fig. 14 ist ein Glied grösser gezeichnet, um auf eine Eigenthümlichkeit aufmerksam zu machen, welche mich, da ich über die Natur derselben noch nicht im Klaren war, längere Zeit in der Meinung erhielt, als hätte ich die von Brefeld¹⁾ beschriebene Entbindung von *Bacillus subtilis* vor mir. Es wäre zum mindesten verfrüht jetzt schon in irgend eine Befprechung der Brefeld'schen Arbeit einzutreten, da seine Methode noch nicht genauer und seine Zeichnungen überhaupt noch nicht veröffentlicht worden sind. Aber auch schon seine vorläufigen Mittheilungen sind von so eingreifender Wichtigkeit, dass ich dadurch lebhaft angeregt wurde, die Entwicklung von *Bacillus subtilis* (welche auch in meiner Flüssigkeit zur Ausbildung gelangten) mit angestrengter Aufmerksamkeit darauf hin zu verfolgen. Nur nach vielen Täuschungen, die unter den Verhältnissen wohl begreiflich sind, erkannte ich, dass eine dritte Art der Kugelgebilde, welche sich anfänglich von den übrigen in nichts unterscheiden und welche ebenfalls aus der kleinsten Punktform entstehen, durch einfache Streckung zu Fadenbakterien von unterschiedlicher Länge auswachsen. Diese Beobachtung stimmte in allen Einzelheiten mit den Befunden der namhaftesten Forcher überein. Was die Unterscheidung von *Bac. sub.* und *Bac. ulna* [Cohn²⁾] anlangt, so muss ich nach meiner Erfahrung der Bemerkung von Warming³⁾ beipflichten, dass sie in der Form nicht scharf von einander zu trennen sind, indem alle möglichen Zwischenformen vorkommen; ebenso habe ich seine Beobachtungen an *Bacterium Termo* wiederholt und bin, wie er,

¹⁾ Ueber *Bacillus*, vorgetragen in der Sitzung der Gesellschaft naturforschender Freunde Febr. 19. 1878.

²⁾ Beitr. zur Biolog. der Pflanzen. Bd. I. Hft. 2.

³⁾ Om nogle ved Danmarks Kystis levende Bakterier. Copenhagen 1876.

der Meinung, dass die verschiedenen Grössen derselben wahrscheinlich Zwischenformen entsprechen.

Eine weitere Quelle von Täuschungen ergaben jene Proben, wo Bacilli mit den hellglänzenden runden Gebilden durcheinander vorkamen und sehr häufig das Bild entstand, als ob sich ein Faden aus einer Kugel oder aus einem Ovoid herausarbeitete, bis eine kleine Ortsbewegung des einen oder anderen erkennen liess, dass die zufällige Lagerung zu einander den Irrthum veranlasste.

Obgleich es z. Z. nicht möglich ist, die Brefeld'schen Untersuchungen durchzuführen, so konnte ich doch nicht umhin mit wenigen Worten zu berühren was ich mit Hinblick auf seine Angaben zu beobachten Gelegenheit hatte. Die Wachsthumsvorgänge und das Aussehen des vorerwähnten Sprosspilzes erinnern sofort an den Hefepilz; doch von diesem unterscheidet er sich vor Allem in der Grösse. Wiederholte vergleichende Messungen ergaben für den in Rede stehenden Pilz 0,0029 Mm.; für die Weinhefenzelle 0,0032 Mm., während die Essighefenzelle 0,0060 Mm. im Durchmesser hatte. Ich kann gleichfalls in der Beschreibung und in der Abbildung, welche Cohn¹⁾ von ähnlichen Gebilden giebt, die er im Harn gefunden hat (Harnferment von Pasteur), eine völlige Uebereinstimmung mit meinen Befunden nicht erkennen.

Die Dauersporen, oder sagen wir, die ersten Bildungsphasen von *Bacillus*, von *Bacterium Termo* und von dem beschriebenen Sprosspilze unterscheiden sich in Nichts unter einander und von den *Micrococcus*formen; erst im Laufe der weiteren Entwicklung gehen sie auseinander. Dies ist zwar ein so bedeutender Unterschied, dass man ihn zur Aufstellung von getrennten Gruppen verwertet hat. Doch wenn es sich herausstellen sollte, dass die Stammform ein und dieselbe ist, dann wird wohl der genetische Standpunkt ebenso berücksichtigt werden müssen in der Systematik der Bakterien, wie es mit dem rein morphologischen und physiologischen bis jetzt der Fall gewesen ist. Von vorn herein ist es doch keineswegs undenkbar, dass diese niedersten Lebewesen eine Differenzirung in den späteren Entwickelungsstadien und je nach den obwaltenden Verhältnissen erfahren mögen. Ich erinnere nur an die Untersuchungen über alkoholische Gährung von Brefeld²⁾

¹⁾ L. c. Bd. I. Hft. 2. S. 106 u. Taf. III. Fig. 6.

²⁾ L. c.

einerseits und von Ad. Mayer¹⁾ und Traube andererseits, welche darthun, dass eine solche Auffassung selbst in Bezug auf Spross- und Schimmelpilze von den Botanikern nicht kurzweg von der Hand gewiesen wurde. Dagegen ist man (De Bary u. A. m.) seiner Zeit wohl mit vielem Recht den extremen Ausführungen Hallier's (Pleomorphismus) entgegengetreten.

Dann werden freilich die scharfen Grenzen fallen müssen, welche vielfach gezogen worden sind und welche die Lehre von der Specificität einzelner Formen in's Leben rief und stützen sollten. Ob daraus der Pathologie ein Nachtheil erwachsen würde, liesse sich dann erst entscheiden, wenn die Forschung auf diesem Gebiete sich, im Gegensatz zu der bisherigen Methode, mehr damit befasst haben wird zu ermitteln, ob die verschiedenen Formen nicht ihrerseits ein Resultat jeweils gegebener Bedingungen sind.

Besonders wenn irgend ein kleiner Fremdkörper, ein Krystall etc., als Orientirungszeichen im Gesichtsfelde liegt, gelingt es leicht durch continuirliche Beobachtung, die Entwicklung von zwei anfänglich ähnlichen Keimgebilden zu verfolgen. Beide punktförmige Körperchen vergrössern sich langsam aber innerhalb weniger Stunden und stellen nunmehr vollständig gleichartige hellglänzende Kugeln dar. Nach einiger Zeit beginnt eine derselben träge Bewegungen zu machen, sendet Fortsätze aus, zieht sie wiederum ein und so erneuert sich das Spiel, bis endlich die Sprossung sich ganz vollzieht und sich zwei Individuen gebildet haben, welche sich trennen oder noch verbunden die Zahl vermehren. Wärenddem hat die zweite Kugel durch Streckung eine mehr und mehr längliche Gestaltung angenommen, bis endlich ein Micro- oder Desmobacterium (Cohn) das Endresultat ist. In anderen Fällen oder in anderen Theilen desselben Gesichtsfeldes nimmt die Beweglichkeit eines solchen Pünktchens sehr rasch zu und plötzlich schiesst es als Micrococcus umher und verschwindet. Kurz, alle möglichen Ausgänge sind in einem solchen Tröpfchen neben einander zu erwarten und bald wimmelt es von den verschiedensten Formen zwischen Micrococcus- und Bacterium Termo- und Bacilluscolonien hindurch.

Es kann freilich noch immer behauptet werden, es seien die Keime schon an sich verschieden. Unsere Hülfsmittel gestatten uns

¹⁾ l. c.

vorerst nur morphologische Eigenthümlichkeiten an jenen kleinsten Körperchen nachzuweisen und die Möglichkeit einer versteckten individuell verschiedenen Energie ist dem gegenüber, was uns die directe Beobachtung lehrt, werthlos, wenn wir darauf angewiesen sind, aus solchen Erfahrungen allein Ausgangspunkte für weitere Untersuchungen zu gewinnen. Eine solche Gemeinschaft der Descendenz lässt immerhin den physiologischen Abweichungen im späteren Lebensalter freies Spiel.

Ihre Abhängigkeit vom freien Sauerstoff, welche von vielen Forschern angegeben wird, zeigten die Bacillusformen auch hier in der Weise, dass sie sich am ehesten in der Nähe des freien Luftraums der Kammer ausbildeten, während sie je tiefer in der Flüssigkeit um so kürzer und um so spärlicher vorkamen und um so früher ihre Bewegungen einstellten und sich zu Colonien gruppirten.

Bei den Bewegungen der Stäbchen- und Fadenbakterien bleibt der Körper meist steif und es ist daher sehr naheliegend Geisseln als Bewegungsorgane zu vermuthen. Es gelang mir indessen nie, solche mit unzweifelhafter Sicherheit nachzuweisen, obgleich es nach den übereinstimmenden Beobachtungen von Ehrenberg¹⁾, Cohn²⁾, Dallinger und Drysdale³⁾, Warming⁴⁾ und nach den photographischen Abbildungen von Koch⁵⁾ wohl kaum mehr zu bezweifeln ist, dass viele Bakterien mit Geisseln versehen sind. Nur die längeren Fadenbakterien schlängelten den Körper aalartig bei der Vorwärtsbewegung.

Entsprechend den Versuchen in der Retorte sollten nun die Bedingungen zur Vermehrung von Bakterien zunächst dadurch verschlechtert werden, dass die Oeffnungen einer Kammer, welche ein von Stäbchen- und Fadenbakterien wimmelndes Tröpfchen enthielt, durch Abklemmung der Gummischläuche verschlossen wurden. Nach 17 Stunden waren keine Stäbchen und Fäden mehr sichtbar, sondern nur kleine Kugelbakterien und Micrococcen, von denen der grössere Theil in Ruhe war und die übrigen hin- und herschiessende Bewegung zeigten. Nach weiteren 15 Stunden wurden die Klemmer

¹⁾ Infusionsthierchen. S. 76 u. Taf. V. Fig. 1 u. 2. 1838.

²⁾ Beitr. etc. Bd. I. Hft. 2. S. 183.

³⁾ The Monthly Microscopical Journal. Vol. XIV. p. 105. 1875.

⁴⁾ I. c.

⁵⁾ Beitr. zur Biologie der Pflanz. Bd. II. Hft. 3.

entfernt und alle 2 Stunden ein Ammoniakluftstrom durchgeblasen. Schon nach 4 Stunden nahm die Zahl von bewegten Kugelbakterien zu und unter den ruhenden treten hier und da grössere hellglänzende Kugeln auf. Am darauffolgenden Tage lagen einzelne gestreckte Gebilde und ausgebildete Desmobakterien dicht gedrängt neben einander, während vorher kein einziges Stäbchen- oder Fadenbacterium im Gesichtsfelde zu entdecken war.

Wiederholte Versuche dieser Art liessen erkennen, dass in den gegliederten und nichtgegliederten Fäden von Stelle zu Stelle dunkle Körnchen im Innern entstanden, was bei stärkerer Vergrösserung (1500) Bestätigung fand. Es gelang nie den Zerfall eines Bacillus direct zu beobachten; doch bleibt, besonders wenn die plötzliche Verwandlung des Bildes nach dem Abschluss der Ammoniakluft-Zufuhr berücksichtigt wird, nicht gut eine andere Deutung übrig als wie ein solcher Zerfall. Koch¹⁾ hat ähnliche Beobachtungen an Bac. Anthr. nach Verbrauch des Sauerstoffs gemacht, Klebs²⁾ im Verlaufe der Entwicklung von Microsporon septicum; Billroth³⁾ fand „— eine weit häufigere und deutlich zu verfolgende Umwandlung des Bakterienkörpers ist die zu kleinen runden Kugelchen, zu blassem Coccoe“. Man hat das consecutive Auftreten von vorwiegend einer Form auf einen Kampf um's Dasein zurückgeführt; dagegen neige ich mich eher der Meinung zu, dass solche Erscheinungen durch die Annahme ähnlicher Verwandlungen, welche ihrerseits von den Ernährungsverhältnissen abzuhängen scheinen, viel ungezwungener erklärt werden können. Die runden Gebilde im Körper der Fäden waren selten grösser wie Micrococci und erst nachdem sie frei wurden, nahmen sie an Grösse und Glanz zu. Ich vermuthe deshalb, dass, wenigstens unter den vorliegenden Verhältnissen, die Dauergebilde anfänglich wahren Micrococci ähnlich sind, in dieser Form und im trockenen Zustande mit der Luft verweht werden können und erst wenn sie in feuchte Medien gelangen, zu wahren „Sphäroiden“ anwachsen. Sie werden, wie schon früher bemerkt, weder durch Osmiumsäure gefärbt noch durch Aether verändert. Dass ich die Entwicklung der Keimbildungen nur so weit constatiren konnte, schliesst natürlich die Möglichkeit nicht aus,

¹⁾ Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. II. Hft. 2.

²⁾ Bericht etc. 1873.

³⁾ Coccobact. etc. S. 21.

dass sie in anderen Nährflüssigkeiten noch innerhalb der Fäden weiter gedeihen können und so die Helobacteria [Billroth¹]) und die Bilder, wie sie von Koch²), Cohn³) u. A. m. gezeichnet wurden, entstehen.

Endlich blieb noch zu ermitteln, in welchem Grade oder ob überhaupt die Ammoniakzufuhr auch bei dieser Versuchsanordnung einen entscheidenden Einfluss auf die Vermehrung ausübt. Um dies zu prüfen wurde zunächst eine zweite Woulff'sche Flasche mit den bekannten Leitungsvorrichtungen und bis zur Hälfte gefüllt mit destillirtem Wasser und einigen Tropfen einer concentrirten Carbolsäurelösung mit der Ammoniakflasche in der Weise verbunden, dass der Ammoniakluftstrom erst durch die Carbolösung durchtreten musste, ehe er auf die vorgehaltene Rosolprobe einwirken konnte. Rothfärbung des Reagens trat weder hier noch bei der Anwendung von Essigsäure, Salzsäure, Kampherspirituslösung ein; das Ammoniak wurde also von der zweiten Flüssigkeit zurückgehalten.

Gleichzeitig wurden zu bakterienhaltigen Flüssigkeiten von denselben Lösungen zugesetzt und nach längerem Stehenlassen mikroskopisch untersucht. Dabei stellte es sich heraus, dass weder die Beweglichkeit noch die Zahl der Organismen in merklicher Weise abgenommen hatte. Wenn anders dieser primitive Versuch spruchfähig ist, dann wären damit ähnliche Beobachtungen von Buchholz⁴), Demarquay⁵), Eidam⁶), Schnetzler⁷) u. A. m. bestätigt. Besonders interessant ist die Beobachtung Schnetzler's, dass 2 prozentige Carbolsäurelösung nicht tödlich auf die Bakterien im Harn einwirkten, sondern deren Vermehrung verhinderte.

Die Anwendung der Säureflasche, wobei dieselbe zwischen die Ammoniakflasche und die Kammer eingeschaltet wurde, hatte zur Folge, dass die Bakterienentwicklung erst nach mindestens fünf Tagen ihren Anfang nahm und nur sehr vereinzelt traten Fadenbakterien nach der ersten Woche auf, während ohne Säure und

¹) l. c.

²) l. c.

³) l. c.

⁴) Botan. Jahresber. 1876.

⁵) Comptes rendus. 1875. p. 22.

⁶) 47. Versamml. deutsch. Naturforscher u. Aerzte. Sitzung Sept. 23. 1874.

⁷) Annales de Chimie et de Physique. 1876. p. 281.

mit Ammoniak schon am ersten Tage die Entwicklung und die Vermehrung eine unverhältnismässig lebhaftere war. Werden diese Versuche mit ausgesäten Keimen angestellt, so ist besonders darauf zu achten, dass keine Sporen von Schimmelpilzen in die Flüssigkeit mit hineingebracht werden; denn sobald nur wenige Mycelien entstanden sind, vermehren sich die Bakterien oft ungeachtet des Mangels an freiem Ammoniak. Es scheint dies vielleicht darauf zu beruhen, dass der abgestorbene Schimmel als Stickstoffquelle dienen kann.

Neben jedem einzelnen Versuch wurde ein Controlversuch angestellt und zwar in Form einer Kammer mit einem Nährsalztropfen, welcher unter eine Glasglocke gelegt und von Zeit zu Zeit mikroskopisch untersucht wurde. Stets bildeten sich einzelne Kugelbakterien, hin und wieder auch ein Bacillus aus doch erst nach vielen Tagen, in grösserer Zahl meist erst in der zweiten Woche. Ein Kolben mit der stickstofffreien Salzlösung, der mit einem Wattepfropf verschlossen war, enthielt erst nach Verlauf von 29 Tagen Kugel- und andere Bakterien unter geringer Trübung der Flüssigkeit.

Alle diese Versuche weisen, wenn man sie in Beziehung auf die Frage nach der Abiogenesis von Bakterien überhaupt prüft, ein negatives Resultat auf. Doch es handelt sich, oder vielmehr es sollte sich bei allen Untersuchungen über ihre Biologie vorerst nur darum handeln, jene Bedingungen, welche einerseits die günstigsten, andererseits die ungünstigsten zu ihrer Vermehrung sind, aufzufinden. Besonders in letzterer Beziehung sind die Versuche der Verfechter einer „Abiogenesis“ von hohem Werthe und verdienen um deswillen eine vorurtheilsfreie Prüfung. Es wird aber, und das liegt in der Natur der Sache, voraussichtlich jeder neue Nachweis einer „Generatio de novo“ dem Einwande begegnen müssen, als seien nicht alle Keime zerstört worden, wenn aus Furcht vor einer chemischen Veränderung der Flüssigkeit die Anwendung höchster Temperaturgrade nicht zugelassen wird, da, wie wir annehmen müssen, überall wo bewegte Luft ist, auch Keime und organische Partikelchen [Hiller¹]), welche letztere selbst in frisch destillirtem Wasser den Keimen als Nahrung dienen können, umherschwärmen.

Dass in den Controlversuchen ohne Zuleitung von Ammoniak, wie bei den Ammoniak-Säure-Versuchen und endlich auch in der

¹) Langenbeck's Archiv Bd. XVIII.

stickstofffreien Salzlösung Organismen auftreten und sich vermehren, kann unmöglich gegen die Gültigkeit der übrigen Thatsachen verworfen werden; ich erinnere nochmals mit Hinblick hierauf an den Befund von Cohn¹⁾) bei Milchzuckerlösung ohne Stickstoffquelle und ebenfalls an die Beobachtung Schönbein's, dass bei der Verdunstung von Wasser an der Luft Ammoniak frei wird.

Die Ergebnisse dieser Versuche stehen im Widerspruch mit der Bemerkung Cohn's²⁾), dass die Kohlensäure die einzige ihm bekannte Kohlenstoffverbindung sei, welche von den Bakterien nicht assimiliert wird, wenn er hiermit auch die Kohlensäure mit einbegriffen sehen will, die an Basen gebunden in der Nährlösung enthalten ist.

Endlich ist mit Recht behauptet worden [Brefeld³⁾], dass die Culturen auf dem Objectträger immerhin nur unvollständige Auskunft zu geben vermögen; aber es muss auch andererseits anerkannt werden, dass Massenculturen allein uns niemals jene Einsicht in die Morphologie und Physiologie der Bakterien gewähren können, welche zum Verständniss ihrer Wirkung bei den Krankheitsvorgängen unumgänglich nötig ist.

Allgemein anerkannt sind die glänzenden Resultate der antiseptischen Wundbehandlung, nicht so unbestritten aber die wissenschaftliche Begründung der Methode und wenn man die Arbeiten von Tiegel-Kühne⁴⁾, Billroth⁵⁾, Hüter⁶⁾, Béchamp und Eustache⁷⁾ und vieler anderer Untersucher über das Vorkommen von Bakterien mit den Voraussetzungen der Lister'schen Lehre vergleicht, so sind wohl Bedenken theoretischer Art gerechtfertigt, wenn auch die Erfolge in der Praxis von allen Seiten gewürdigt werden. Die vorliegenden Versuche bieten mit Bezug hierauf einiges Interesse dar und wenn auch für sie eine allgemeine Anwendung auf diese Frage nicht in Anspruch genommen werden soll, so scheinen sie doch darauf hinzudeuten, dass die Wirkungsfähigkeit einer Anzahl antiseptischer Mittel nicht sowohl unmittelbar auf Zer-

¹⁾ I. c.

²⁾ Beiträge etc. Bd. I. Hft. 2. S. 200.

³⁾ Methoden zur Untersuchung der Pilze. Vorgetragen in der physikal.-medic. Gesellschaft in Würzburg. Febr. 1874.

⁴⁾ Dieses Archiv Bd. 60. 1874.

⁵⁾ Coccobact. sept.

⁶⁾ I. c.

⁷⁾ Comptes rendus. Nov. 5. 1877 etc.

störung der Keime beruhen möchte, sondern dass sie mittelbar die Vermehrung der Bakterien hintanhalten, indem sie ihnen durch chemische Bindung gewisse Nährsubstanzen entziehen. Allerdings könnte man einwenden, dass die Ergebnisse unserer Versuchsreihen nicht ausreichen, um auf die septischen Vorgänge im Allgemeinen übertragen zu werden. Wenn hingegen diese Prozesse durch die Entstehung und Einwanderung von Organismen allein erklärt werden sollen, so leuchtet es von vornherein nicht recht ein, wie die zahlreichen Beobachtungen der Ubiquität der Keime mit einer solchen Auffassung vereinbart werden können. So mag es gerechtfertigt sein, ähnliche Versuche wie die vorliegenden, welche die Bedingungen der Vermehrung schon anwesender Keime aufzusuchen sollen, zur Löung der Frage zu verwerthen.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel III.

- Fig. 1. Feuchte Kammer von oben gesehen.
- Fig. 2. Dieselbe im Durchschnitt.
- Fig. 3. Punktformige und hellglänzende kugelige Gebilde, wie sie zu Anfang der continuirlichen Beobachtungen im Gesichtsfelde erscheinen.
- Fig. 4. Erscheinung einzelner Kugeln und Stäbchen nach 48 Stunden.
- Fig. 5. Nach 41 Stunden in einer anderen Untersuchungsreihe.
- Fig. 6. Ausgebildete Fadenbakterien aus einer Colonie solcher Gebilde, a am 18. Juli 2 Uhr 35 Min. Nachmittags; b um 5 Uhr 15 Min.; c um 5 Uhr 45 Min. desselben Tages. Nachdem d sich abgelöst hatte, zeigte das Glied f lebhafte Bewegung.
- Fig. 7. Aus einer Colonie wachsender Fäden und Stäbchen; die einzelnen Glieder 0,0035 Mm. lang.
- Fig. 8. Punkt-, kugel- und stäbchenförmige Gebilde in einem zur Tiefe gesunkenen Haufen, der mit Gliamasse umgeben und durchsetzt war.
- Fig. 9. Zoogloecolonie punktförmiger Gebilde mit einzelnen hellglänzenden Kugeln und lebhaft in pendelnder Bewegung begriffener Ketten an der Peripherie.
- Fig. 10. Ketten, theils lebhaft beweglicher, theils ruhender kleinerer Kugelgebilde.
- Fig. 11. Kurze Fadenbakterien; zwischen denselben hellglänzende Kugeln.
- Fig. 12. Sprosspilz 1 Uhr 30 Min., b bezeichnet in diesen und den folgenden Figuren das gleiche Gebilde.
- Fig. 13. Um 3 Uhr 15 Min. Durchmesser von b 0,0029 Mm.
- Fig. 14. Um 3 Uhr 30 Min.
- Fig. 15. Um 6 Uhr 30 Min. desselben Tages.
- Fig. 16. Um 10 Uhr 30 Min. Morgens des darauf folgenden Tages.
- Fig. 17. Kürzere und längere Fäden und Sprosspilze neben einander gelagert.