

XXIII.

Studien über *Bacillus leprae*.

Von G. Armauer Hansen in Bergen (Norwegen).

(Hierzu Taf. X. Fig. 4.)

Die Frage von der Ansteckungsfähigkeit der Lepra ist in diesen letzten Jahren ihrer Lösung nicht näher gerückt trotz der Arbeiten Neisser's¹⁾ und Köbner's²⁾. Zwar meint Neisser eine locale Lepra bei Hunden hervorgerufen zu haben. Köbner aber, der selbst vergebliche Uebertragungsversuche auf Fische und Affen gemacht hat, weist nach, dass die Resultate Neisser's zu zweifelhaft sind, um etwas beweisen zu können. Ich selbst habe früher Uebertragungsversuche auf Kaninchen und Katzen gemacht, aber ohne positive Resultate zu erlangen. Ich glaube, dass unsere Haustiere schon längst leprös gewesen wären, wenn sie überhaupt für die Krankheit empfänglich wären. Am 28. October 1881 habe ich einem kleinen Affen einen gerade exstirpirten Knoten unter die Haut im Genick gebracht. Die Wunde heilte in einigen Tagen ohne Suppuration und längere Zeit hindurch konnte ich den Knoten sehr deutlich unter der Haut fühlen. Am 23. November war aber nichts vom Knoten selbst zu fühlen, dagegen hatte sich eine Verdickung unter oder in der Narbe entwickelt. Diese Verdickung schien in den folgenden Monaten etwas zunehmen zu wollen; die Vergrößerung war jedoch immer zweifelhaft, bis eine unzweifelhafte Verminderung sich einzustellen anfang und am 19. Mai 1882 habe ich notirt, dass gar keine Verdickung mehr fühlbar sei. An demselben Tage habe ich versucht, in die linke Cornea einen Tropfen einer Culturflüssigkeit, in welcher eine grosse Menge Bacillen war, die ich für Leprabacillen ansah, zu injiciren. Die Injection gelang nur unvollständig, weil die ganze Oeffnung der Spitze der Pravaz'schen Spritze

¹⁾ Dr. Albert Neisser, Weitere Beiträge zur Aetiologie der Lepra. Dieses Archiv Bd. 84.

²⁾ Prof. Heinrich Köbner, Uebertragungsversuche von Lepra auf Thiere. Dieses Archiv Bd. 88.

nicht in die Cornea eingeführt werden konnte. Ein Theil der Flüssigkeit ging daher in den Conjunctivalsack. Es entstand eine ziemlich heftige Conjunctivitis mit bedeutender Schwellung der Conjunctiva, die mich bis zum 26. Juni, hinderte die Cornea zu sehen. An diesem Tage sah ich, dass die untere Hälfte der Cornea verdunkelt war. Die Conjunctivitis heilte ohne Behandlung, die Verdunkelung in der Cornea hat sich unverändert erhalten. Das Thier hat sich die ganze Zeit ausgezeichnet befunden, weder Lebhaftigkeit noch Appetit waren jemals vermindert.

Es kann nun keinem Zweifel unterliegen, dass der eingebrachte Knoten vollständig absorbiert ist und mit ihm die zahlreichen Bacillen, die er enthielt, wenn dieselben nicht in dem neuen Nährboden zu Grunde gegangen sind. Es ist wohl möglich, dass die scheinbare Immunität des Affen daher rührt, dass die Bacillen in seinen Säften nicht gedeihen können. Es ist vielleicht ein Vorrecht des Menschengeschlechts, leprös werden zu können.

Bei einem anderen Affen habe ich am 29. Juni in das rechte Ohrfläppchen einen Tropfen einer Culturflüssigkeit, in welcher viele Bacillen waren, injicirt. Weder am Ohr noch sonst hat die Injection sichtbare Spuren hinterlassen.

Die Incubationszeit der Lepra beim Menschen ist wahrscheinlich eine ausserordentlich lange, wahrscheinlich mindestens ein Jahr, und ich habe folglich die Hoffnung nicht aufgegeben, dass die Affen noch leprös werden können. Ich werde sie jedenfalls behalten, so lange sie noch leben wollen, um ihr weiteres Schicksal kennen zu lernen.

Während des letzten Jahres habe ich auch vielfach Culturversuche mit Leprabacillen vorgenommen, um ihre Lebensbedingungen besser kennen zu lernen und möglicherweise weitere Indicationen für zukünftige Versuche zu erhalten.

Was das Vorkommen der Bacillen betrifft, so ist dasselbe sehr leicht nachzuweisen überall da, wo es in der tuberculösen Form der Krankheit lepröse Productionen giebt, mögen sie frisch oder alt sein; das gilt jedenfalls für die Knoten in der äusseren Haut. Die Affectionen der Leber und Milz, den Hoden, Lymphdrüsen und Nerven habe ich nie in ihren ersten Stadien gesehen: wenn ich aber diese Organe leprös erkrankt gefunden habe, dann habe ich auch Bacillen in ihnen gefunden. Köbner theilt mit, dass er Bacillen im Blute seines Patienten gefunden hat. Bisher habe ich sie im Blute nicht

finden können, zweifle aber nicht daran, dass sie daselbst zu finden sind, da es mir früher gelungen ist, in cultivirten Blutpräparaten ihre Abkömmlinge zu sehen.

In der anästhetischen Form der Krankheit habe ich bis jetzt keine Bacillen gefunden. Aber nur zweimal habe ich Gelegenheit gehabt, Stücke von Flecken zu untersuchen; beidemale ist es mir aber nicht gelungen, durch die gewöhnlichen Färbemethoden Bacillen in denselben nachzuweisen. Diese Lücke wird wahrscheinlich noch lange offen bleiben wegen der Schwierigkeit, Material zu bekommen. Bei Autopsien findet man nie etwas Lepröses bei diesen Patienten; sie sind alle, wenn sie sterben, von der Lepra geheilt; man muss also das Material bei den Lebenden suchen, und nur zweimal habe ich solches erhalten können. Wenn Neisser meint, a. a. O. S. 523, dass der Befund von Bacillen in frisch erkrankten Nerven „mit Sicherheit die bisher klinisch festgehaltene Trennung der tuberculösen und anästhetischen Symptome auf eine pathogenetische Schädlichkeit zurückführt und die bisher so befremdende Differenz der einzelnen Krankheitsbilder ohne Weiteres erklärlich macht“, so hat er dabei vergessen anzugeben, ob die untersuchten Nerven von einem tuberculösen oder anästhetischen Patienten herührten. Dass die Nerven in der tuberculösen Form anscheinend in derselben Weise leiden, wie in der anästhetischen, ist schon längst von Danielssen und Boeck nachgewiesen, und dass in den Nerven der tuberculösen Form dieselben braunen Elemente, wie sonst in den leprösen Producten dieser Form vorkommen, das heisst Bacillen, wie ich später zeigen werde, habe ich selbst auch längst dargethan. Wenn also nicht Bacillen in Nerven eines an der anästhetischen Form leidenden Patienten nachgewiesen sind, so besteht noch die Möglichkeit, dass die zwei klinisch so differenten Formen auch eine differente Pathogenese haben.

Wie man sieht, ist unsere Unkenntniss sowohl in Bezug auf das Verhalten der Bacillen zur Aetiologie der Krankheit, als in Bezug auf das Vorkommen derselben in den leprösen Producten noch ziemlich gross. Es wird aber doch Interesse haben, den Bacillus näher zu kennen und ich werde jetzt meine Culturversuche schildern.

Zuerst versuchte ich Aussaat von kleinen Stücken aus frisch exstirpirten Knoten in Ochsen- und Hühnerbouillon in Pasteur'sche Ballons, die in einen Culturkasten hingestellt wurden, wo die Tem-

peratur auf 36°—39° C. gehalten wurde. In diesen Medien gediehen aber die Bacillen gar nicht. Ich bereitete demnächst nach den Angaben Koch's¹⁾ etwas Blutserumgelatine, und nahm, um sicher zu sein, dass ich einen den Bacillen günstigen Boden haben würde, menschliches Blutserum. Nachdem die Serumgelatine während einer Woche keine Zeichen von Verunreinigung gezeigt hatte, wurde dieselbe über Objectträger, die vorher 1—2 Stunden lang bis auf 180° C. erhitzt worden waren, ausgegossen. Ein Knoten wurde mit vorher geglähter Scheere ausgeschnitten und mit derselben Scheere kleine Stücke aus demselben geschnitten und entweder direct auf die Serumgelatine gebracht oder erst nachdem sie in destillirtem Wasser zerzupft waren, in einem Uhrschildchen, das wie die Objectträger behandelt war. Einige Präparate wurden unbedeckt, andere mit einem Deckgläschen bedeckt unter eine mit nassem Filtrirpapier ausgefüllte Glasglocke im Brutapparat gebracht. Es wurde auch Aussaat in fließendes Wasser gemacht und das Präparat mit Deckglas versehen.

Es würde nun zu weitläufig und langweilig werden, sollte ich eine Copie meiner Versuchsprotocolle geben; ich ziehe es daher vor, einfach die Resultate der Culturen zu schildern, wie dieselben in fast allen Präparaten sich zeigten. In den frisch bereiteten Gelatinepräparaten sieht man gewöhnlich nur einzelne Zellen und Zellenhaufen, die durch die Präparation frei gemacht sind, aber keine Bacillen, wenn die Präparate nicht vorher in Wasser zerzupft sind, in welchem Falle man auch ziemlich viel freie Bacillen entdeckt. Am 2. und 3. Tage sieht man keine Veränderungen an den Präparaten. Am 4. Tage fängt man an etwas Entwicklung zu sehen. Die Zahl der Bacillen ist gewöhnlich bedeutend vermehrt und viele von ihnen zeigen ein knotiges Aussehen, wie dies schon Neisser beschrieben und abgebildet hat, a. a. O. Taf. XII. Fig. 1, 2, 3. Es ist meistens ausserordentlich schwierig, diese Knoten in ungefärbten Präparaten zu sehen. Da die Bacillen beweglich sind, kann eine Bacille, die man in Bewegung an dem einen Ende sieht, leicht den Eindruck machen, dass sie am Ende verdickt ist, während dieser Eindruck vielmehr die Folge der Bewegungen der Bacille ist. Mitunter bekommt man aber doch Bacillen in einer Stellung zu sehen, die keinen Zweifel über ihr Knotigsein hinterlassen, und jeder Zweifel

¹⁾ Dr. Robert Koch, Zur Untersuchung pathogener Bakterien in Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Berlin 1881.

muss verschwinden, wenn man die Bacillen in gefärbten Präparaten sieht (Fig. 4, a). Mitunter sind die Bacillen nur an einem oder an beiden Enden knotig, öfters aber trägt eine Bacille 3 oder 4 Knoten; diese letzten sind immer wenigstens doppelt so lang als die gewöhnlichen Bacillen. In einigen Präparaten findet man auch neben den knotigen Bacillen längere Fäden, die entweder isolirt herumswimmen oder auch so dicht verfilzt sind, dass es unmöglich wird, die einzelnen Fäden zu verfolgen. Diese Fäden sind glatt, oft articulirt, als beständen sie aus einer Reihe von Bacillen (Fig. 4, b), oder knotig, perlschnurförmig (Fig. 4, c). Neisser beschreibt neben knotigen Bacillen auch solche mit Lückenbildung und bildet sie in Fig. 3 und 8 ab. Dergleichen Bacillen habe ich noch nicht gesehen; dagegen habe ich unter den Perlschnüren einige gefunden, die am einen Ende Knoten an einem dünnen Strang zeigen, während sie am anderen Ende wie ein dünnes Bändchen sich präsentieren mit gefärbten und ungefärbten Partien (Fig. 4, c). Es ist wohl möglich, dass die Bacillen etwas flach sind, und dass die Knoten, die man sieht, wenn man die Bacillen von der Kante erblickt, nur als gefärbte Partien auftreten, wenn man die Bacillen von der Fläche betrachtet. Es ist mir doch auffallend, dass ich niemals Bacillen von dieser Form gesehen habe. — Die Regelmässigkeit, mit welcher man diese langen Fäden und Perlschnüre in den Culturen findet, sowie ihr Caliber zeugen davon, dass sie wirklich Abkömmlinge der Bacillen sind. Vom 5. Tag ab findet man in den Präparaten neben den knotigen Bacillen und den Perlschnüren auch kleine Gruppen von Körnern (Fig. 4, e), die oft eine lineäre Anordnung innehalten, und zuletzt wird das ganze Präparat von dergleichen Körnern erfüllt.

Einmal habe ich einen gerade extirpirten Knoten in flüssiges Blutserum in einem Reagenzgläschen gelegt und ihn daselbst vom 21. April bis zum 28. April gelassen. Der Knoten war dabei sehr weich geworden und in einem Präparat von demselben konnten keine Zellen mehr entdeckt werden, dagegen fand sich eine Unmasse kleiner Körner. Der Knoten wurde dann in absolutem Alkohol gehärtet, und in Schnittpräparaten aus demselben, die mit Fuchsin und Methyleneblau gefärbt wurden, finden sich Gruppen von kleinen Körnern, die ihrer Anordnung nach an die mit Bacillen gefüllte Cultur eines Knotens erinnern. Ich glaube annehmen zu können, dass hier sämtliche Bacillen auseinander gefallen sind zu kleinen Körnern.

Nachdem ich Kenntniss von den Untersuchungen Koch's über die Tuberculosebacillen erhalten hatte, versuchte ich selbstverständlich die Cultur der Bacillen auf festem Blutserum, und verwandte dazu wiederum menschliches Serum. Die Aussaat geschah in Reagenzgläser. Nach einer Woche oder etwas mehr, am 8. Tage war das Serum oberflächlich verflüssigt durch die sich vermehrenden beweglichen Bacillen. In diesen Culturen fanden sich nun dieselben Formen, die ich oben beschrieben habe, und in derselben Reihenfolge.

Die Culturen gedeihen nicht bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von 15° — 16° C. Die niedrigste Temperatur, bei welcher die Bacillen sich noch vermehren, habe ich noch nicht bestimmt.

Durch die oben geschilderten Resultate meiner Culturen glaube ich, dass die Resultate Neisser's bei seinen Culturen vollständig bestätigt und zugleich etwas erweitert worden sind. Die Knotenbildung an den Bacillen muss wahrscheinlich als Sporenbildung angesehen werden, und das endliche Resultat der Culturen, die kleinen Körner, als Sporen.

Sporenbildung findet offenbar auch im menschlichen Körper statt. Man findet nemlich im Saft von frischen Knoten knotige Bacillen (Fig. 4, d), und die grossen braunen Elemente, die sogen. regressiven Elemente, die man immer in alten Knoten findet, am reichlichsten aber in der Leber und Milz, den Testikeln und Lymphdrüsen, und auch in den Nerven, sind wahrscheinlich nur Ansammlungen von Sporen und sporenbildenden Bacillen. Das Material ist in diesem letzten Jahre leider sehr kärglich gewesen, und ich habe nicht so schöne und grosse braune Elemente im frischen Zustande vor Augen gehabt wie früher und habe in Folge dessen auch nicht Färbungen von solchen Elementen machen können. Ich gebe aber in Fig. 4, f eine Abbildung eines solchen Elementes aus einem Ulnarnerven mit Fuchsin gefärbt. Man sieht hier ganz deutlich, dass es mit kleinen Körnern angefüllt ist und zwischen diesen sieht man auch zwei Bacillen mit Knoten an beiden Enden. Ich habe auch einen älteren Knoten, in absolutem Alkohol aufbewahrt, der viel braune Elemente enthält, untersuchen können und habe Schnitte desselben theils mit Fuchsin, theils mit Methylenblau gefärbt. Die braunen Elemente sind meistens so dick, dass man die einzelnen Bestandtheile derselben nur schwierig oder gar nicht unterscheiden kann; an mehreren Stellen sieht man aber doch deutlich, dass sie mit

Körnern und knotigen Bacillen angefüllt sind, die sich ausgezeichnet mit Methylenblau färben lassen; in den Methylenblaupräparaten sieht man auch neben diesen grossen Elementen viele Bacillen gefärbt, und viele von diesen sind knotig, jedoch lange nicht so viele Bacillen wie in Fuchsinpräparaten. Ich glaube, dass nur die sporenbildenden Bacillen und die Sporen selbst die Methylenblaufarbe zurückhalten können. Ich habe mehrmals die Bacillen in Schnittpräparaten aus anderen Knoten durch Methylenblau gefärbt und eine gute Färbung erhalten. Die Bacillen sind aber nach 24—48 Stunden wieder entfärbt, und jetzt, im October, finde ich die Bacillen in Präparaten aus Culturen, die im Monat Juni angefertigt und mit Methylenblau gefärbt wurden, vollständig entfärbt, während die knotigen Bacillen und die Perlschnüre, wie sie in Fig. 4, c abgebildet sind, noch gefärbt sind.

Es ist nun ganz auffallend, dass die braunen Elemente oder Sporensammlungen in Hautknoten viel später und viel seltener zu finden sind, als in der Leber und Milz, den Testikeln, Lymphdrüsen und Nerven. Es hängt dies vielleicht mit der oberflächlichen Lage der Knoten zusammen, indem in diesen nicht immer die zur Sporenbildung nöthige Temperatur sich vorfindet, während dieselbe in den inneren Organen immer da sein wird. Es ist dies natürlich nur eine Hypothese und es giebt über diese räthselhafte Krankheit schon der Hypothesen genug, so dass es rationeller erscheint sich vorläufig mit den schon existirenden zu begnügen und weitere Meditationen aufzugeben, bis eine fortgesetzte Forschung bessere Anhaltspunkte gegeben hat.

Erklärung der Abbildungen.

Taf. X. Fig. 4.

- a Bacillen aus einer Blutserumgelatinecultur vom 23. Februar bis 1. März 1882.
- b Ein gegliederter Faden aus einer Cultur auf festem Blutserum vom 19. Mai bis 12. Juni. Mit Methylenblau gefärbt.
- c Perlschnüre aus einer Cultur auf festem Blutserum vom 21. Mai bis 26. Juni. Mit Methylenblau gefärbt.
- d Knotiger Bacillus aus frischem Knotensaft.
- e Gruppen von Körnern in einer Blutserumcultur vom 14. bis 19. März.
- f Ein braunes Element aus einem Ulnarnerven, mit Fuchsin gefärbt, Körner und zwei knotige Bacillen enthaltend.

Sämmtliche Figuren sind bei Zeiss' homogener Immersionslinse $\frac{1}{2}$ und Ocular No. 4 gezeichnet.