

(Aus dem bakteriologischen Untersuchungsamt der Stadt Altona/Elbe.  
[Vorstand: Dr. Zeissler.])

## Rauschbrand- und Pararauschbrandsporen als Pfeilgift.

Von

I. Zeissler und L. Raßfeld.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juni 1923.)

Unter den anaeroben Bacillen, insbesondere auch unter den pathogenen Anaerobiern, den Erregern des Gasbrandes, Rauschbrandes, malignen Ödems, des Tetanus und des Botulismus nimmt der *Fränkelsche Gasbacillus* (3) eine Sonderstellung ein wegen seiner Geißellosigkeit. Er ist, von dem von *Tissier* (4, 5) beschriebenen apathogenen Bacillus bifermentans abgesehen, den wir aus eigener Anschauung nicht kennen und darum hier nicht in den Bereich unserer Betrachtung ziehen wollen, der einzige geißellose anaerobe Bacillus bis auf den 1919 von *Christiansen* (1, 2) beschriebenen „Walfischsepticämiebacillus“.

Sporen dieses „Walfischsepticämiebacillus“, angetrocknet an die Spitzen sog. Todespfeile, dienten in früherer Zeit als Pfeilgift beim Walfischfang, über den *Christiansen* (1) wie folgt berichtet:

„Der Schauplatz dieses Fanges, worüber verschiedene Aufzeichnungen bis zum 12. Jahrhundert zurück vorliegen sollen, lag in den Bergischen Schären, in einer kleinen Bucht namens Skogsvaag oder Kvalvaag. In früheren Zeiten traf hier regelmäßig jedes Frühjahr ein oder mehrere Male der sog. Vaage Walfisch (*Balaenoptera rostrata*) ein, eine bekannte ziemlich große Art Bardewalfisch, der eine Länge bis zu 30 Fuß erreicht. Wenn der Walfisch von selbst oder von Booten gejagt in die Kvalvaagen Bucht hineingekommen war, wurde der schmale Zugang zu derselben durch Netze versperrt, so daß der Walfisch wie in einer Falle eingeschlossen war. Er versuchte niemals, sich den Ausgang zu erzwingen oder das Netz zu durchbrechen\*). Mit den primitiven

\*) Es ist eine Eigentümlichkeit, die sich auch bei anderen Walfischarten zeigt, daß die Tiere vor ganz schwachen Hindernissen zurückweichen, die sie im Wasser antreffen, und die sie an und für sich mit größter Leichtigkeit überwinden könnten. Dasselbe gilt übrigens auch für unseren heimischen Tümler (*Nise; Phocaena communis*), und auf diesem Verhalten beruht zum größten Teil auch die Fangmethode, welche zurzeit in dänischen Gewässern auf diese Tiere angewandt wird.

Fanggeräten der früheren Zeiten und ihren kleinen Booten war es eine sehr schwierige Sache, diese großen Tiere zu töten, solange sie noch im Besitz ihrer vollen Kraft waren. Die Fangmethode ging daher darauf aus, erst das Tier derartig zu schwächen, daß es, ohne weiteren Widerstand zu leisten, harpuniert und sodann aufs Land gezogen werden konnte. Dies erreichte man dadurch, daß man mit Pfeil und Bogen auf das Tier schoß, wenn es an die Oberfläche kam, um zu atmen, und zwar mit Pfeilen, die mit besonderen Eisenspitzen versehen waren. Diese Pfeile wurden aufbewahrt und immer wieder benutzt. Wenn eine genügende Anzahl Pfeile angebracht waren, ließ man das Tier in Ruhe. Nach 24—36 Stunden bemerkte man eine Veränderung: Der Walfisch zeigte sich matt und erschien in immer kürzeren Zwischenräumen an der Oberfläche, um zu atmen. Wenn dieser Zustand sich genügend entwickelt hatte, ging man daran, das Tier zu harpunieren, und dann konnte es ohne weiteres an Land gezogen werden.

Untersuchte man dann den Walfisch, so konnte man nachweisen, daß in der Umgebung von einem oder mehreren der Pfeile, welche durch den Speck und etwas in die Muskulatur eingedrungen waren, sich hämorrhagische Infiltrationen von beträchtlichem Umfang entwickelt hatten. *Ivar Nielsen* gibt an, daß diese den Durchmesser einer Elle haben und bezeichnet sie als ganz ähnlich den pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche man beim Rauschbrand des Rindes findet. „Die Gasentwicklung kann so bedeutend sein, daß es beim Anschneiden der kranken Partie aussieht, als ob deren Oberfläche sich in kochender Bewegung befindet“.

Es kann daher nicht angezweifelt werden, daß den Walfischen durch diese Pfeile eine Wundinfektion beigebracht wurde, die sich durch eine entzündliche hämorrhagische Infiltration mit Emphysem charakterisiert, und daß diese Infektion auf den allgemeinen Zustand des Tieres einwirkte und die bedeutende Ermattung und Schwäche herbeiführte. Die Fischer kannten diesen Zustand sehr gut und wußten, daß gewisse Pfeile imstande waren, diese Wirkung auf den Fisch hervorzurufen, und sie knüpften verschiedene, zum größten Teil abergläubische Vorstellungen an die Wirkung dieser Pfeile, die gewöhnlich ‚Todespfeile‘ genannt wurden.“

Aus einem 30 Jahre lang aufbewahrten getrockneten Stück brandiger Walfischmuskulatur gewann *Christiansen* (1) eine von ihm „Walfisch-septicämiebacillus“ benannte Kultur, welche nach seiner Beschreibung folgende Eigenschaften zeigte:

Stäbchenform.

Keine Geißeln.

Traubenzuckerblutagarplatte: Wuchsform II a.

Milch: Gerinnung, keine Peptonisierung.

Gelatine: Verflüssigung.

Hirnbrei: keine Schwärzung.

Obligate Anaerobiose.

Resistenz der Sporen gegen Siedehitze: 2 Minuten.

Einfacher Tierversuch am Meerschwein: blutig-seröses oder blutiges Ödem.

Als bemerkenswert hebt *Christiansen* das im Vergleich zu anderen anaeroben Bacillen überaus schnelle und vollständige Versporen seines

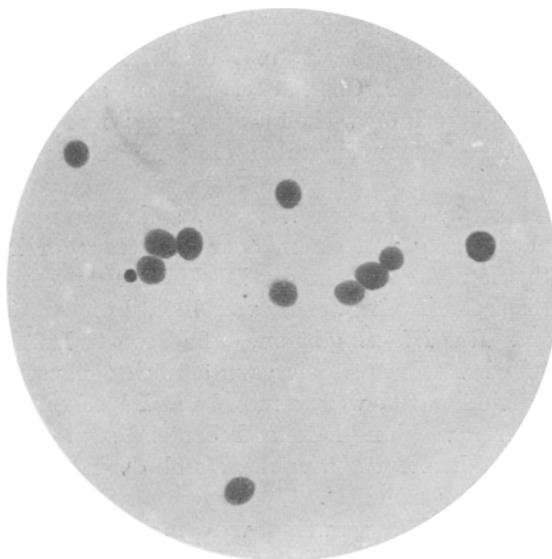


Abb. 1. Walfischsepticämiebacillus. Ausstrichpräparat 750/1 von ein-tägiger Traubenzucker-Blutagarplattekultur. Stäbchen vollständig ver-sport. Kugelform.

„Walfischsepticämiebacillus“ hervor, seine ungewöhnlich üppige Bildung von Klostridien und sogar vollkommenen Kugeln (Abb. 1) sowie die Fadenbildung im Peritoneum von Versuchstieren.

Den wichtigsten und für die Bedeutung seines „Walfischsepticämiebacillus“ als Pfeilgift ausschlaggebenden Tierversuch hat er wie folgt beschrieben:

„Die Möglichkeit, solche Versuche an Walfischen auszuführen, stößt ja selbstverständlich auf große Schwierigkeiten. Wie schon gesagt, hat die alte Vaagewalfischfang-Methode in Skogsvaag längst aufgehört, u. a. aus dem Grunde, weil die Walfische nur noch sehr selten in die Bucht kommen. Den Versuch aber an anderen Arten von Bardewal-fischen auszuführen, muß aus technischen Gründen als ausgeschlossen

bezeichnet werden. Dagegen bietet sich Gelegenheit, den Versuch an der in unseren (den dänischen) Gewässern allgemein vorkommenden kleinen Delphinart auszuführen, die unter dem Namen Tümmler (Norwegisch *Nise*: *Phocaena communis*) geht, da an einer bestimmten Stelle im Lillebalt (im Gamborg Fjord bei Middelfahrt) der planmäßige Fang dieser Tiere betrieben wird. Das Tier wird lebendig gefangen, indem es in ein aufgestelltes Netz hineingetrieben wird, und erst wenn es aus diesem in die Boote geschafft ist, wird es getötet.

Hier war also eine gute Gelegenheit, Versuche an lebenden Tieren vorzunehmen. Solange der Versuch dauerte, war es nötig, dem Tier möglichst seine natürlichen Lebensbedingungen zu belassen\*). Dieses erreichte man dadurch, daß man in unmittelbarer Nähe der Fangstelle in ziemlich seichtem Wasser einen Käfig aus Stahldrahtnetzen machte, welchen das Tier weder durchbrechen noch überspringen konnte. In dem Käfig konnte es sich frei bewegen, war aber ganz sicher von Nahrungsaufnahme abgeschnitten.

Am 13. November 1918 wurde ein Schwarm Tümmler in den erwähnten Fangnetzen eingefangen, und eines der Tiere, ein mittelgroßes Exemplar (Gewicht 35 Kilo) wurde mit besonderer Vorsicht in ein Boot gebracht, wo es sofort mit einer anderthalb Tage alten Hirnbreikultur vom Walfischbacillus geimpft wurde. Die Einimpfung wurde auf dem Rücken vorgenommen, ca. 30 cm oberhalb der Schwanzflosse, mit Hilfe einer Injektionsspritze, deren Kanüle erst durch die Speckschicht in die Muskulatur hineingeführt wurde, wo 0,4 ccm der Kultur injiziert wurden. Nach dieser Injektion blieb die Kanüle in der Wunde. Unmittelbar darauf wurde der Tümmler in den Käfig gebracht, wo er scheinbar in vollem Wohlbefinden umherschwamm. Die Impfung fand um 11 $\frac{1}{2}$  Uhr vormittags statt, und um 6 Uhr nachmittags war noch nichts abnormes an dem Tiere zu beobachten. Es schwamm ununterbrochen umher und kam regelmäßig an die Oberfläche, um zu atmen. Am nächsten Morgen um 8 Uhr war der Tümmler tot. Er stand aufrecht im Wasser, mit der Schwanzflosse auf den Boden gestützt, die Vorderpartie gegen die Oberfläche gekehrt, sodaß die Atemlöcher und ihre nähere Umgebung aus dem Wasser herausragten. Einige Stunden später fand die Obduktion statt.

Die Todesstarre war inzwischen eingetreten. Die Kanüle war herausgefallen. Durch starkes Drücken auf die Injektionsstelle konnte ein wenig hämorrhagische Flüssigkeit, vermischt mit kleinen Luftbläschen, aus dem Stichkanal herausgedrückt werden. Im übrigen war

\*) Wenn das Tier aus dem Wasser genommen wird, hält es sich nur ca. eine halbe Stunde lebend, öfters nicht einmal solange. Der Tod tritt unter starker Atemnot und Erstickungsanfällen ein.

nichts abnormes zu bemerken. Beim Durchschneiden der Speckschicht an der Impfstelle fand man dieselbe in einem recht großen Umkreis blutüberfüllt, indem die in der Speckschicht vorhandenen feinen Gefäße stark mit Blut angefüllt waren, was sich auch an der Schnittfläche in kleinen roten Pünktchen zeigte. An anderen Stellen des Körpers konnte man in dem Speck makroskopisch keine Gefäße wahrnehmen. Der Speck zeigte eine ganz homogene und weiße Schnittfläche. Auf der Grenze zwischen Speck und Muskulatur befand sich zum Teil loses Bindegewebe, welches in der Umgebung der Impfstelle ödematös gallertartig und hämorragisch durchtränkt war, durchsetzt von kleinen feinen Luftbläschen, sodaß ein deutliches Knistern hörbar wurde, wenn man mit einem Messer darüber hinstrich. Die Muskulatur selbst war in der Größe von 1—2 Handflächen, mit der Impfstelle als Zentrum, Sitz einer ödematösen Infiltration; die Farbe war ganz dunkel, schwarzrot und beim Durchschneiden bemerkte man ein bedeutendes Emphysem und Knistern unterm Messer. Irgend eine scharfe Grenze zwischen dieser veränderten und der übrigen Muskulatur fand sich nicht; und ein solcher Unterschied wäre auch sehr schwer zu erkennen gewesen, weil die gesunde Muskulatur auch von sehr dunkler Färbung war. Am besten war der Unterschied zu beobachten am ödematösen feuchten Zustand und am Emphysem.

Die inneren Organe waren sehr hyperämisch, zeigten aber im übrigen keine pathologischen Veränderungen. Das Blut war schlecht koaguliert.

Beim Mikroskopieren von *gram*-gefärbbten Ausstrichpräparaten der veränderten Muskelpartie fand man eine große Menge Bakterien, von denen viele mit Sporen versehen waren. In dem Präparat vom Speck der Impfstelle konnten dagegen keine Bakterien nachgewiesen werden.

Zu histologischen Untersuchungen wurden Stücke aus verschiedenen Stellen der infiltrierten und emphysematösen Muskulatur genommen, weiter von der Speckschicht der Impfstelle, von der Milz, Leber und Lunge. Die Stücke wurden in Formol-Alkohol fixiert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und nach *Gram-Weigert* gefärbt. Die Untersuchung zeigte dann, daß in der Muskulatur große ausgedehnte Blutungen waren und in größerer Ausdehnung Nekrose und wachsige Degeneration der Muskelbündel. In dem ödematös infiltrierten perimysialen Bindegewebe befanden sich ungeheure Menge von Bakterien, von denen viele mit Sporen und Sporenanlagen versehen waren. In der Speckschicht befand sich eine bedeutende Hyperämie, sämtliche Capillargefäße waren stark mit Blut gefüllt; aber Bakterien konnten nicht nachgewiesen werden. In den Schnitten der Organe bestand ebenfalls Hyperämie, aber auch hier fanden sich keine Bakterien.

Es kann nach dem Ausfall dieser Versuche kein Zweifel darüber bestehen, daß der isolierte Bacillus pathogene Eigenschaften besitzt auch für Walfische, und daß bei Impfung von Reinkulturen eine Infektion hervorgerufen werden kann, ganz entsprechend derjenigen, welche durch die infizierten Pfeile hervorgerufen wurde. Obwohl der Versuch nur an einem Zahnwalfisch ausgeführt wurde, kann man doch annehmen, daß der Bacillus auch für Bardewale pathogen ist, wenn auch die 2 großen Gruppen von Walfischen in systematischer Hinsicht sich recht fern stehen.“

*Christiansens* (2) zusammenfassender Bericht über die serologische Prüfung seines „Walfischsepticämiebacillus“ lautet:

„Mit dem Walfischbacillus, dem Bradsotstamm, dem von *Ghon* und *Sachs* isolierten Bacillus (Originalstamm Kräl) sowie 3 zu derselben Gruppe gehörenden Kadaverbacillen wurden von Kaninchen Immunsera hergestellt. Dabei zeigte es sich, daß der Walfischbacillus durch sein überaus geringes sowohl agglutininbildendes als agglutininbindendes Vermögen von den 5 übrigen abweicht. Das Walfischbacillenserum agglutinierte nämlich den Walfischbacillus nicht in Verdünnungen von über 1 : 100, während die 5 übrigen Sera die homologen Stämme in Verdünnungen bis zu 1 : 10 000—1 : 20 000 total agglutinierten.

Bei Komplementbindungsversuchen verhielt das Walfischbacillenserum sich dagegen ganz wie die übrigen Sera, indem es sowohl mit Walfischbacillenantigen als mit Antigenen der übrigen Stämme bis zur Titergrenze totale Bindung ergab.

Ähnlich verhielten sich diese Sera in einer Reihe passiver Immunisierungsversuche an weißen Mäusen (das Serum wurde intraperitoneal, die Kultur subcutan nach 20 Stunden injiziert). In diesen Versuchen besaß das Walfischbacillenserum in Gaben von 0,2—0,1 ccm eine sichere Schutzwirkung gegen nachfolgende Infektion sowohl mit Walfischbacillen als mit Bradsotbacillen (Infektionsgabe: 1/200 ccm Kultur = doppelte Dosis letalis); dagegen wirkte es nur unsicher gegen den *Ghon-Sachs*-Bacillus. Umgekehrt besaß ein Bradsotserum in Gaben von 0,1—0,02 ccm eine sichere Schutzwirkung sowohl gegen Walfischbacillen als auch Bradsotbacillen; weniger sicher schien die Wirkung dieses Serums gegen den *Ghon-Sachs*-Bacillus. Normale Kaninchen- und Pferdesera besaßen keinerlei Schutzwirkung.“

Im Sommer 1920 schickte uns *Christiansen* eine Kultur seines „Walfischsepticämiebacillus“ in Serum, getrocknet und in Glas eingeschmolzen. Die von uns damals vorgenommene Untersuchung dieser Kultur bestätigte alle Angaben *Christiansens* über die morphologischen, kulturellen und — am Meerschwein — pathogenen Eigenschaften seines „Walfischsepticämiebacillus“. Serologische Untersuchungen haben wir nicht angestellt.

Obwohl die Übereinstimmung der *Christiansenschen* und unserer Belege für die sachliche Richtigkeit beider zu sprechen schien, waren wir doch mit dem Ergebnis unserer Untersuchungen in einem Punkte nicht zufrieden, nämlich mit der Frage der Begeißelung, denn bei den mehrfach wiederholten vergeblichen Versuchen der Geißeldarstellung nach dem *Zettnowschen* Verfahren (7) mußten wir immer von schon versporten Kulturen mit vielen Klostridien und Kugelformen (vergl. oben) ausgehen und konnten deshalb die Möglichkeit nicht ausschließen, daß der „Walfischsepticämiebacillus“ in unversportem und nicht geblähtem Zustande vielleicht doch begeißelt sei. Das war aber nur

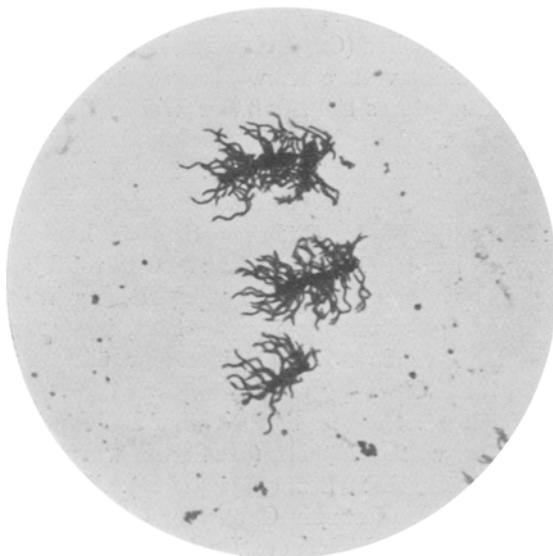


Abb. 2. Walfischsepticämiebacillus. Ausstrichpräparat 750/1 von ein-tägiger, sehr dünn besäter Traubenzucker-Blutagarplattenkultur. Einzel-kolonie besteht aus nicht versporten Stäbchen. Geisselfärbung nach *Zettnow*.

eine Vermutung von uns, für deren Richtigkeit wir damals keinerlei Belege beibringen konnten, und darum hat der eine von uns in 2 Publikationen (6, 7) den „Walfischsepticämiebacillus“ als besondere Bacillenart mit den Eigenschaften aufgeführt, welche sich aus *Christiansens* Beschreibung und unserer Untersuchung im Sommer 1920 ergeben hatten.

Seit unserer damaligen Untersuchung des „Walfischsepticämiebacillus“ sind nun 3 Jahre vergangen. In diesen 3 Jahren hat unsere Vertrautheit mit den anaeroben Bacillen und besonders auch mit der Technik ihrer Züchtung so große Fortschritte gemacht, daß uns die

Hoffnung nicht unbegründet erschien, die 1920 von uns nicht bezwungene Schwierigkeit, den „Walfischsepticämiebacillus“ in unversportem und nicht geblähtem Zustande gewinnen und auf Geißeln untersuchen zu können, jetzt zu überwinden.

Durch — verglichen mit unserem Vorgehen 1920 — sehr dünne Besäug der Traubenzuckerblutagarplatten (7) erhielten wir jetzt zarte Einzelkolonien, bestehend aus nicht versporten oder geblähten, im Dunkelfeld deutlich beweglichen (Eigenbewegung!) Stäbchen. Wiederholt angefertigte Zettnowpräparate derartiger Kolonien zeigten regelmäßig peritrich angeordnete Geißeln (Abb. 2).

Hiermit war die Lücke in unserer Untersuchung von 1920 geschlossen und nachgewiesen, daß der „Walfischsepticämiebacillus“ peritrich begeißelt ist, und daß uns selbst im Jahre 1920 ebenso wie vorher Christiansen (1, 2) der Nachweis der Geißeln nur wegen der ungemein raschen und vollständigen Versporung und Blähung der Kultur nicht gelungen war.

Die uns jetzt auf der Traubenzuckerblutagarplatte gewachsenen zarten Einzelkolonien des „Walfischsepticämiebacillus“ ließen sich jedoch keiner der uns bekannten typischen Wuchsformen (7) der anaeroben Bacillen einordnen, und damit entstand die Frage, ob eine Reinkultur vorliege mit einer ihr eigentümlichen neuartigen Wuchsform oder ob die nicht typische Wuchsform durch eine Mischkultur erzeugt sei. Kolonien vom Aussehen der Abb. 3 entschieden die Frage im Sinne des Vorliegens einer Mischkultur, und zwar einer Mischkultur bestehend aus Bacillenarten, welche auf der Traubenzuckerblutagarplatte in 3 verschiedenen Wuchsformen wachsen: Wuchsform IV (Abb. 4), Wuchsform VI (Abb. 5) und Wuchsform III (Abb. 6). Die weitere Bearbeitung (7) des „Walfischsepticämiebacillus“ ergab denn auch, daß er keine eigene Bacillenart ist, sondern ein Gemisch aus dem Rauschbrandbacillus (Wuchsform IV, Abb. 4), dem Pararauschbrandbacillus (Wuchsform III, Abb. 6) und dem Bacillus putrificus verrucosus (Wuchsform VI, Abb. 5). Letzterer, der Erzeuger des Limburger Käses und ähnlicher Weichkäse, ist apathogen (7).

Dieser Befund weist von neuem eindringlich auf die große Wichtigkeit exakter kultureller Arbeit und den sehr bedingten Wert serologischer Untersuchungen für das Studium der anaeroben Bacillen hin.

Das Pfeilgift für den Walfischfang an der norwegischen Küste bestand also nicht aus Sporen einer besonderen unbegeißelten Anaerobenart, sondern aus Sporen des Rauschbrandbacillus und des Pararauschbrandbacillus.



Abb. 3. „Walfischsepticämiebacillus“. Zweitägige Traubenzucker-Blutagarplattenkulturen 20/1. Mischkolonie aus dem Rauschbrandbazillus (*Wuchsform IV*, Abb. 4), dem *Bacillus putrificus verrucosus* (*Wuchsform VI*, Abb. 5) und dem Pararauschbrandbazillus (*Wuchsform III*, Abb. 6).

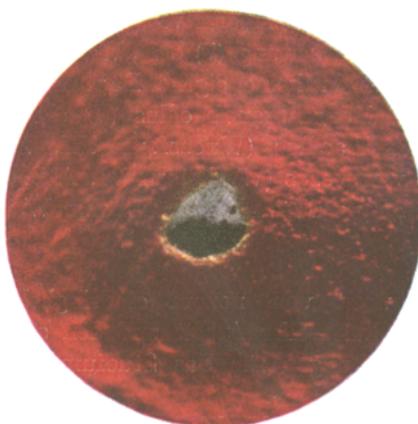


Abb. 4. Rauschbrandbacillus. Zweitägige Traubenzucker-Blutagarplattenkultur 20/1. *Wuchsform IV*.



Abb. 5. *Bacillus putrificus verrucosus*. Dreitägige Traubenzucker-Blutagarplattenkultur 20/1. *Wuchsform VI.*



Abb. 6. Pararauschbrandbacillus. Eintägige Traubenzucker-Blutagarplattenkultur 20/1. *Wuchsform III.*

Die Bilder Abb. 3—6 hat Herr Dr. *L. Becker* von kolorierten Photogrammen hergestellt, welche er mit Hilfe des „binokulären Plattenkulturmikroskopes“ (7) und des Zeißschen mikrophotographischen Apparates direkt von Blutplattenkulturen aufgenommen hat.

---

### Literaturverzeichnis.

- <sup>1)</sup> *Christiansen, M.*, Hvalsepticaemibazillen og dens Forhold til Oedembazilgruppen. Norsk magaz. f. laegevidenskaben 1919, Nr. 10. — <sup>2)</sup> *Christiansen*, Der Walfischsepticämiebacillus und sein Verhältnis zur Ödembacillengruppe. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig., **84**, H. 2, S. 127. 1920. — <sup>3)</sup> *Fraenkel, Eugen*, Über Gasphlegmonen. Monographie. Leopold Voß, Hamburg u. Leipzig 1893. — <sup>4)</sup> *Tissier*, Recherches sur la flore bactérienne des plaies de guerre. Ann. de l'inst. Pasteur 1916, S. 681—690 u. 1917, S. 161 bis 171. — <sup>5)</sup> *Weinberg et Séguin*, La Gangrène gazeuse. Masson et Co., Paris 1918. <sup>6)</sup> *Zeissler, Johannes*, Die Diagnostik der anaeroben Sporenbildner. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Würzburg 1922. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig., **89**, H. 1/3. 1922. — <sup>7)</sup> *Zeissler*, Die Technik der Anaerobenzüchtung. Handbuch der mikrobiologischen Technik von Kraus u. Uhlenhuth. II. Band. Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Wien. 1923.
-