

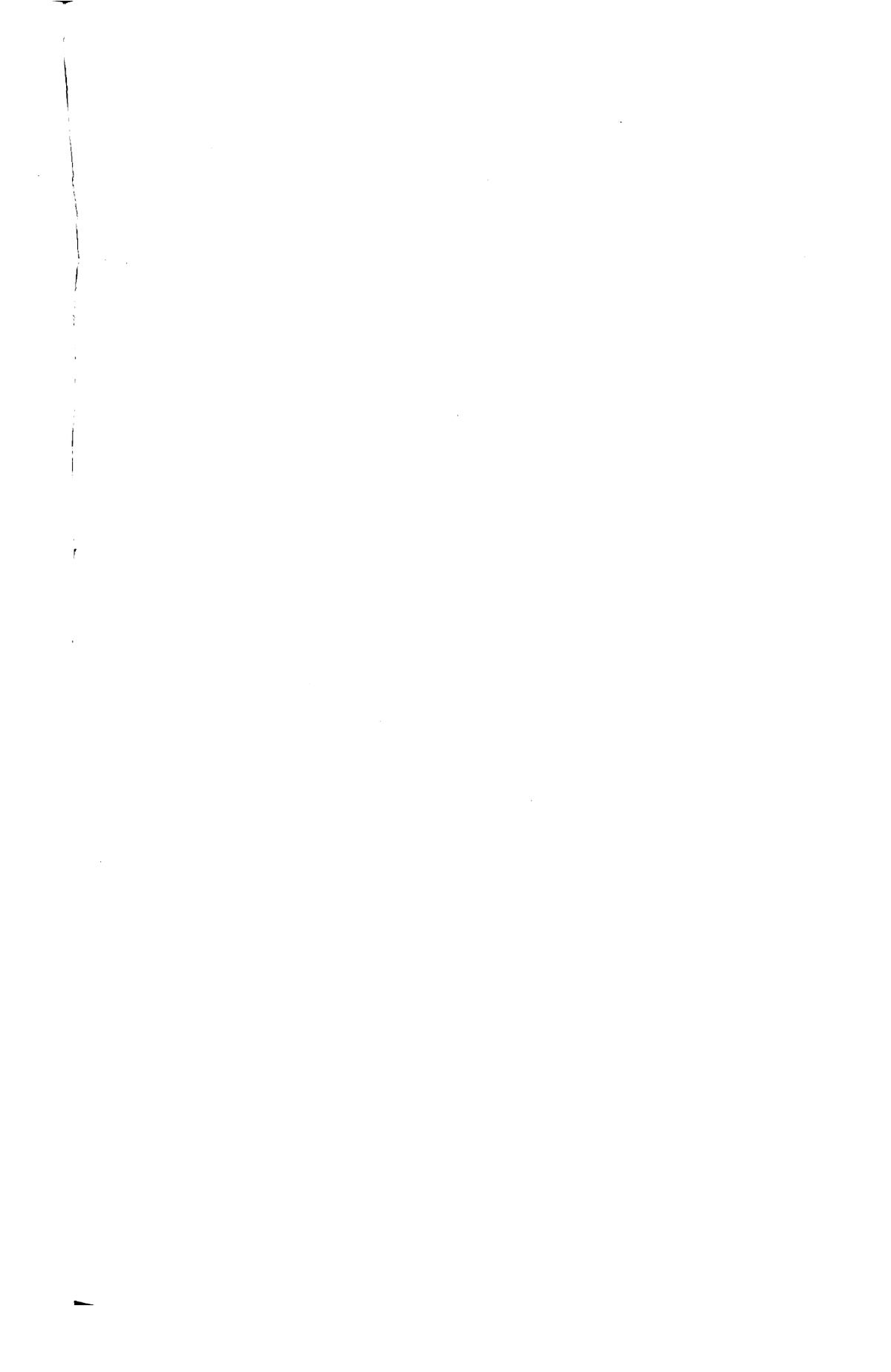


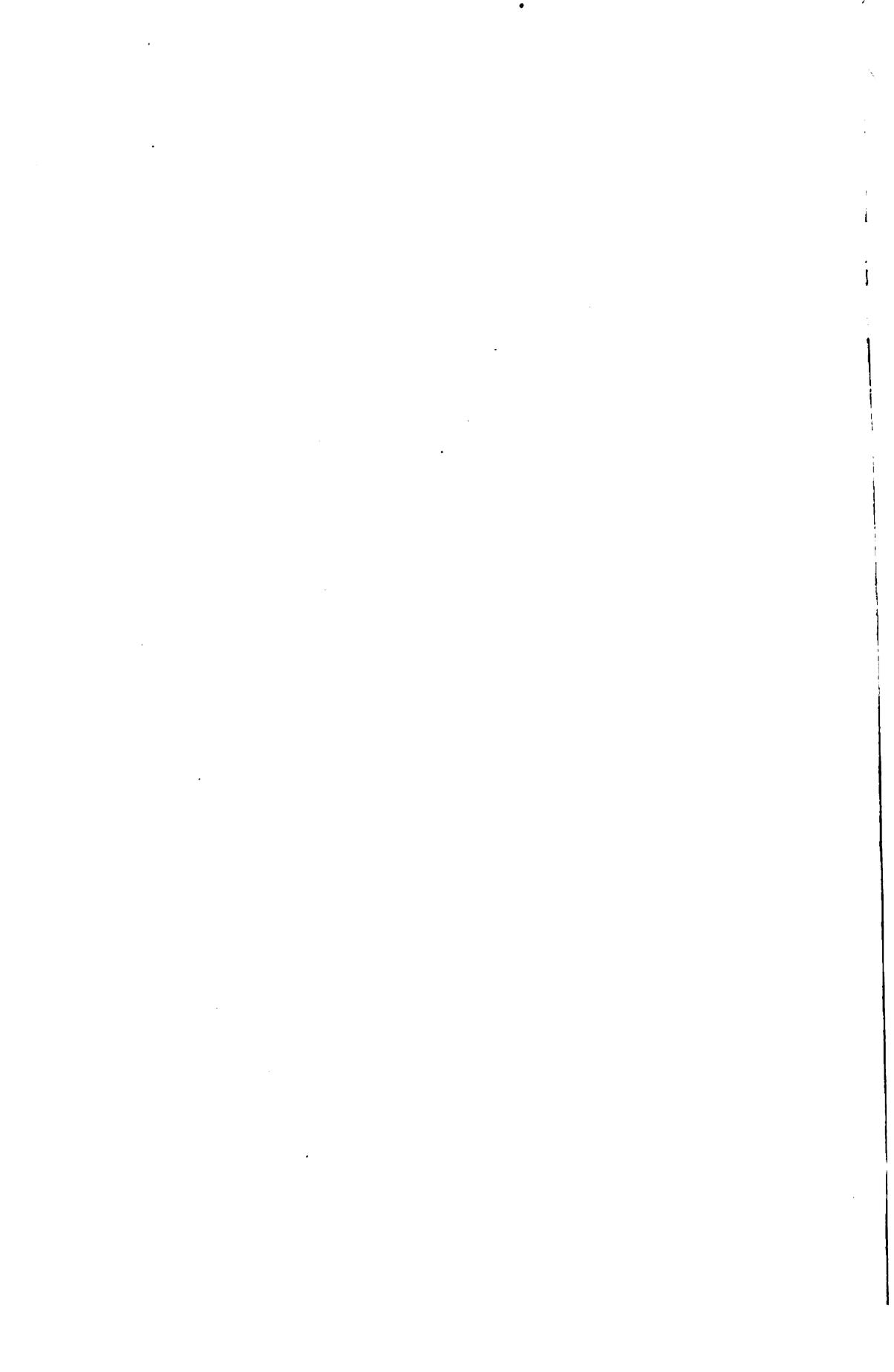
EX LIBRIS

BIOLOGY  
LIBRARY  
G









AUG 1 1913



**Zeitschrift**

für

**Chemotherapie**

**und verwandte Gebiete**

Herausgegeben von

**P. Ehrlich — F. Kraus — A. v. Wassermann**

Redaktion: **Fr. Keysser.**

**I. Teil: Originale**

**Zweiter Band**

**Heft 1.**

**Mit 7 Kurven und 9 lithographischen Tafeln.**

**Leipzig 1913**

**Verlag von Georg Thieme**

## INHALTSVERZEICHNIS.

- A clinical trial of Aethylhydrocuprein in Pneumonia.** By John Parkinson. Mit 7 Kurven. Seite 1.
- Experimentelle Untersuchungen über Heredo-Immunität bei afrikanischer Recurrens und über den etwaigen Einfluß von Immunitätsvorgängen auf die Wirksamkeit eines chemotherapeutischen Mittels.** Von Dr. F. Kusunoki. Seite 11.
- Therapeutische Versuche am Hunde als experimentellem Typhusbazillenträger.** Von Dr. A. Marxer. Seite 23.
- The resistance of various Bacteria to the disinfecting action of Toluol, and the allied bodies Benzol and Xylol.** By T. H. C. Benians. Seite 28.
- Über die Jarisch-Herxheimersche Reaktion der Gummata auf die Salvarsanbehandlung.** Von Privatdozent A. Hitrowo. Seite 50.
- Filtrierbare Virusarten.** Von Dr. Huntemüller. Mit 9 lithographischen Tafeln. Seite 56.
- 

Die **Zeitschrift für Chemotherapie und verwandte Gebiete**, Teil I: Originale, erscheint in zwanglosen Heften. Der Umfang eines Bandes (4 Hefte) wird ca. 40 Druckbogen betragen. — Preis desselben 20 Mark.

Der II. Teil: Referate erscheint in monatlichen Heften. Der Jahrgang umfaßt etwa 100 Bogen. — Preis jährlich 40 Mark.

---

Manuskripte sind an

Herrn **Dr. Keysser**,  
Jena, Chirurgische Universitätsklinik  
Bakteriol.-Chemotherap. Abteilung

zu senden.

**Zeitschrift**  
für  
**Chemotherapie**  
und verwandte Gebiete

Herausgegeben von

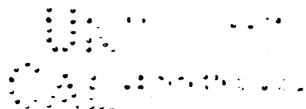
**P. Ehrlich — F. Kraus — A. v. Wassermann**

Redaktion: **Fr. Keysser**

**I. Teil: Originale**

**Zweiter Band**

Mit 11 Kurven, 22 teils farbigen Tafeln und 41 Tabellen.



**Leipzig 1914**

Verlag von Georg Thieme

BIOLOGY  
LIBRARY  
G

NO. 1110  
ANATOMY

Druck von C. Grumbach in Leipzig.

# INHALTSVERZEICHNIS.

## Heft 1.

- A clinical trial of Aethylhydrocuprein in Pneumonia.** By John Parkinson. Mit 7 Kurven. Seite 1.
- Experimentelle Untersuchungen über Heredo-Immunität bei afrikanischer Recurrens und über den etwaigen Einfluß von Immunitätsvorgängen auf die Wirksamkeit eines chemotherapeutischen Mittels.** Von Dr. F. Kusunoki. Mit 3 Tabellen. Seite 11.
- Therapeutische Versuche am Hunde als experimentellem Typhusbazillenträger.** Von Dr. A. Marxer. Seite 23.
- The resistance of various Bacteria to the disinfecting action of Toluol, and the allied bodies Benzol and Xylol.** By T. H. C. Benians. Seite 28.
- Über die Jarisch-Herxheimersche Reaktion der Gummata auf die Salvarsanbehandlung.** Von Privatdozent A. Hitrowo. Seite 50.
- Filtrierbare Virusarten.** Von Dr. Huntmüller. Mit 9 lithographischen Tafeln. Seite 56.

## Heft 2—4.

- Toxikologische und therapeutische Untersuchungen über quecksilberhaltige Farbstoffe.** Von Dr. Benno Hahn und Dr. rer. nat. Erwin Kostenbader. Mit 24 Tabellen und 4 Kurven. Seite 71.
- Über den Nachweis von Quecksilber in der Leber und im Blut von Kaninchen nach Injektion farbstoffhaltiger Quecksilberverbindungen.** Von Dr. Lénard. Seite 106.
- Studies on the Chemotherapy of Tuberculosis.** By H. Gideon Wells, Lydia M. De Witt and H. J. Corper. Mit 6 Tabellen. Seite 110
- Über die Anwendung der Morgenrothschen Kombinationstherapie (Salvarsan, Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum) bei der Syphilis.** Von Dr. Starke. Mit 4 Tabellen. Seite 128.
- Beitrag zur Ätiologie und Pathogenese der Pellagra.** Von Prof. G. Alessandrini und A. Scala. Seite 156.
- Kupferbehandlung der Tuberkulose und Chemotherapie.** Von Dr. Artur Strauß, Barmen. Seite 171.
- Di una particolare proprietà del Salvarsan. Suo possibile rapporto con il meccanismo d'azione.** Per Dott. Leonardo Martinotti. Seite 183.
- Zur Chemotherapie subkutaner und in Organen infiltrierend wachsender Mäusetumoren.** Mit einem Beitrag: Methode und Tech-

nik zur Züchtung infiltrativer Mäusetumoren. Von Fr. Keysser. Mit 13 farbigen Tafeln und 4 Tabellen. Seite 188.

**Mikroskopischer Beitrag zur Frage der Parasitotropie des Salvarsan und des Chinin.** Von Dr. Carl Lennhoff. Seite 220.

## AUTORENVERZEICHNIS.

	Seite		Seite
Alessandrini . . . . .	156	Kusunoki, F. . . . .	11
Benians, T. H. C. . . . .	28	Lénard . . . . .	106
Corper, H. J. . . . .	110	Lennhoff, C. . . . .	220
De Witt, M. . . . .	110	Martinotti, L. . . . .	183
Hahn, B. . . . .	71	Marxer, A. . . . .	23
Hitrowo. A. . . . .	50	Parkinson, J. . . . .	1
Huntemüller . . . . .	56	Scala, A. . . . .	156
Keysser, Fr. . . . .	188	Strauß, A. . . . .	171
Kostenbader, E. . . . .	71	Wells, G. H. . . . .	110

## A clinical trial of Aethylhydrocuprein in Pneumonia.

By

**John Parkinson.**

Mit 7 Kurven.

When the principles of antiseptics were first applied to surgical treatment it was thought that germicides might prove capable of disinfecting the blood in experimental infections and in the infective diseases of man. Many fruitless attempts, notably by Koch and Behring, were made in this direction. The hope of finding an „internal antiseptic“ was relinquished when the existing germicides proved to be more toxic to the living tissues than to the infecting bacteria. Attention was soon transferred to the study of immunity and certain antitoxic and bactericidal sera were found which have proved valuable in combatting infections. The possibilities of chemotherapy have again been brought to the forefront by research on pathogenic protozoal infections. The painstaking work of Uhlenhuth, Ehrlich, and others has placed the experimental chemotherapy of trypanosomiasis and spirillosis upon a sure basis. This work culminated in the discovery of salvarsan and its effect on the *spirochaeta pallida*.

The researches on protozoal infections raised hopes of a chemotherapy of bacterial infections, and Morgenroth and Levy<sup>1</sup> found in Aethylhydrocuprein a compound which has a specific action on the pneumococcus. In mice infected with virulent pneumococci this drug proved to have not only a prophylactic but also a curative effect. Better results have since been obtained by injecting oily solutions of the free alkaloid. (Morgenroth and Kaufmann<sup>2</sup>.) These results were confirmed by Gutmann<sup>3</sup> working with various strains of pneumococci. A review of the chemotherapy of pneumococcal infections has recently been published by Felix Rosenthal<sup>4</sup> in this journal. It has since been shown by Engwer<sup>5</sup> that Aethylhydrocuprein also exerts its chemotherapeutic action in the

experimental pneumonia of guinea-pigs. He concluded that its action lies not in a stimulation of leucocytosis but in extracellular destruction of the pneumococci.

Clinical observations are yet scanty. Fraenkel<sup>6</sup> has tried the drug in twenty-one cases of pneumonia. A serious toxic symptom—amblyopia—occurred in three cases, but rapidly disappeared when the drug was discontinued. After these complications the dose was reduced to 1.5 gm. per diem by mouth. With regard to the effect on the course of the disease, in 9 cases there was no definite action, in 6 cases the action was doubtful, and in the remaining 6 cases there appeared to be a favourable action and crisis occurred on the 4<sup>th</sup> or 5<sup>th</sup> day. Sir Almroth Wright<sup>7</sup> gives details of numerous experiments proving that Aethylhydrocuprein has a specific bactericidal effect upon the pneumococcus *in vitro*, and acts as well in serum as in watery solution. In mice, in normal men, and in patients with pneumonia, the blood acquired bactericidal powers towards the pneumococcus after administration of the drug. The opsonic power of the blood was not appreciably affected. Apart from these valuable experiments the effect of the drug was tried in eight cases of pneumonia. Doses of 0.5 to 2 gm. per diem were given, in some cases by mouth, in others subcutaneously. Amblyopia occurred in two of the cases. He concluded that the drug is either inefficacious or doubtfully efficacious.

Through the kindness of Professor Morgenroth I had the privilege of witnessing some of his laboratory experiments and later received a supply of the drug for a clinical trial. It was sent by Zimmer & Co., Frankfurt a./M. in a number of separate powders each labelled „0.5 gm. Aethylhydrocuprein hydrochloric“.

### Method of Investigation.

Nine consecutive cases of lobar pneumonia were treated in February and March, 1912. As the dosage for man was quite unknown, small doses were first tried and later 0.5 to 2 gm. per diem. It was given in some cases by mouth, dissolved in hot sweetened water, and was well borne. In other cases it was dissolved in hot normal saline solution (0.5 gm. to 20 c. c.) and injected, when rather cooler, under the skin of the breast. No local irritation occurred beyond slight temporary smarting and a local thickening of the subcutaneous tissues which remained for several hours.

The temperature, pulse rate, and respiration rate were recorded

on the chart every hour in some cases, every two hours in others. The patients were closely observed with regard to any change in their general condition. Two experiments were made (Cases IV & VII) to see if any effect could be demonstrated within the first hour after the injection.

**Case I.**

W. K., male, aged 19 years.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Rigor. Pain, left side.

3<sup>rd</sup> day of disease. Admission to Hospital. Cough. Rusty sputum.

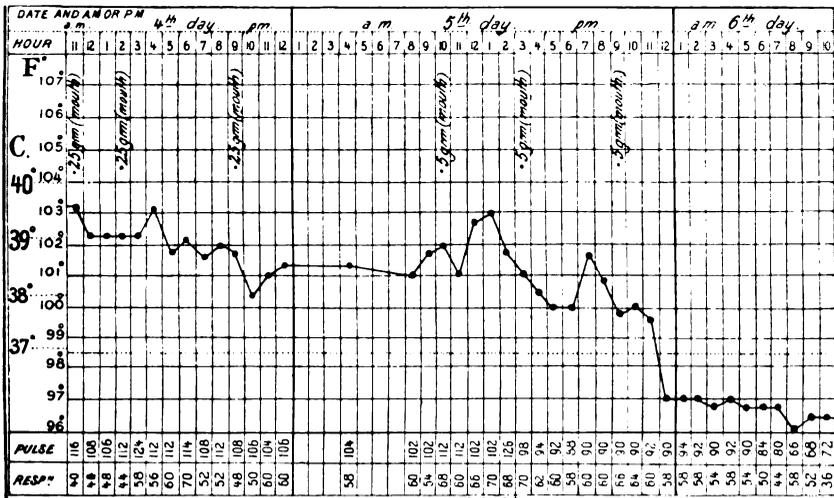
4<sup>th</sup> day of disease. Herpes labialis. Shortness of breath. Sputum. numerous pneumococci; pneumococcus not obtained on culture. Signs of consolidation, left upper lobe. Aethylhydrocuprein Hydrochlor. ("Ae.H.C.") 0.25 gm.  $\times$  3 by mouth.

5<sup>th</sup> day of disease. Ae.H.C. 0.5 gm.  $\times$  3 by mouth. Crisis, midnight.

**Effect of Treatment.**

General condition, temperature, and course of disease apparently uninfluenced. Crisis rather early (5<sup>th</sup> day). No toxic symptoms.

**Chart I.**



**Case II.**

L. D., male, aged 56.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Rigor. Pain, left side.

3<sup>rd</sup> day of disease. Admission. Shortness of breath. Cough. Sputum, blood-stained, many pneumococci: cultures. pure pneumococcus.

Emotional. Tremulous. History of alcoholism. Signs of consolidation, left lower lobe. Ae.H.C. 0.5 gm.  $\times$  1 by mouth.

4<sup>th</sup> day of disease. Insomnia. Restlessness. AE.H.C. 0.5 gm.  $\times$  4 by mouth.

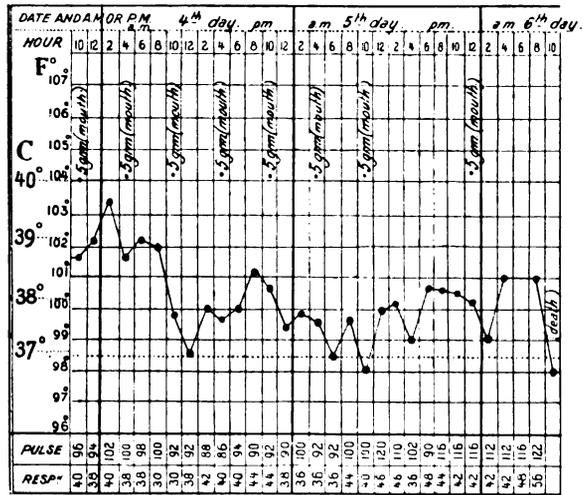
5<sup>th</sup> day of disease. Delirium. Signs of consolidation, right lower lobe („double pneumonia“). AE.H.C. 0.5 gm  $\times$  3 by mouth.

6<sup>th</sup> day of disease. Death. 10 a. m. Necropsy refused.

#### Effect of Treatment.

No beneficial effect observed. No toxic symptoms. Double pneumonia in an alcoholic subject. Delirium. Death.

Chart II.



#### Case III.

W. B., male, aged 19.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Rigor.

3<sup>rd</sup> day of disease. Pain, right side, Cough. Shortness of breath.

5<sup>th</sup> day of disease. Admission. Slight delirium, increasing during course of disease. Rusty sputum; pneumococci isolated. Signs of consolidation, right lower lobe.

6<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.125 gm. hypod.

7<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm  $\times$  2 by mouth.

8<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. by mouth at 10 a. m.

AE.H.C. 0.5 gm. by mouth at 2 p. m.

At 6 p. m. pupils widely dilated, and ears rather cyanosed. Administration of AE.H.C. stopped.

11<sup>th</sup> day of disease. Signs of consolidation, left lower lobe („double pneumonia“).

14<sup>th</sup> day of disease. Death. Necropsy refused.

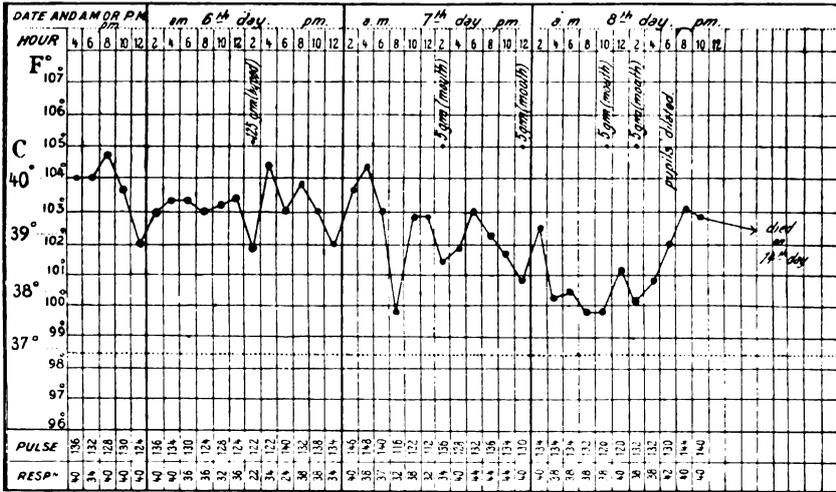
Effect of Treatment.

Toxic symptoms (dilated pupils, cyanosis of ears) after two doses of 0.5 gm. per os, the second dose being given four hours after the first.

Treatment not begun until 6<sup>th</sup> day. Rapid pulse, high temperature, and delirium before administration begun, and apparently not increased by the drug.

Double pneumonia. Delirium. Death on the 14<sup>th</sup> day of disease.

Chart III.



Case IV.

J. R., male, aged 22.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Pain, right side.

2<sup>nd</sup> day of disease. Signs of consolidation, right lower lobe.

3<sup>rd</sup> day of disease. Sputum, rusty and bloody, pneumococci present with other organisms. Pneumococcus not obtained on culture.

AE.H.C. 0.25 gm. × 1 hypod.

4<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. × 1 hypod. (See Exp. 1.)

One hour later, pupils widely dilated.

5<sup>th</sup> day of disease. Crisis, early morning.

Effect of Treatment.

No definite beneficial effect observed though the crisis was early (4<sup>th</sup> to 5<sup>th</sup> day).

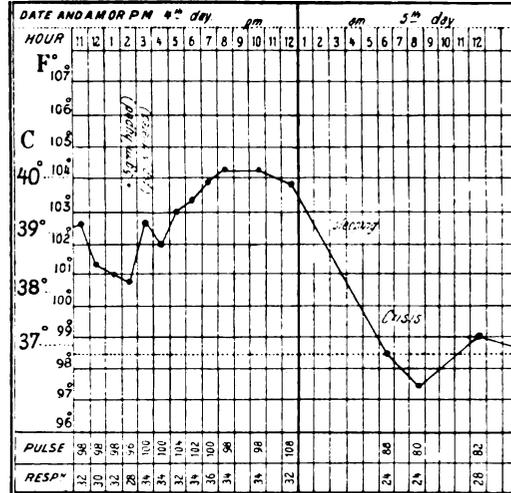
Toxic symptoms, dilatation of pupils.

Exp. 1 Effect on Temperature, Pulse, Respiration, and Blood pressure.

p.m.	Temperature.	Pulse.	Respiration.	Blood pressure.
2.5.	100.8 F. (38.2 C.)	98	34	95
2.20.	AE.H.C. 0.5 gm. hypod.			
2.35.	103.3 F. (39.6 C.)	104	36	95

p. m	Temperature.	Pulse.	Respiration.	Blood pressure.
2.50.	103.2 F. (39.6 C.)	100	32	95
3.5.	102.6 F. (39.3 C.)	100	34	95
3.20.	102.8 F. (39.4 C.)	100	32	95 (pupils dilated).

Chart IV.



## Case V.

F. S., male, aged 14.  
 1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Rigor. Headache. Pain in side.  
 4<sup>th</sup> day of disease. Herpes labialis. No sputum. Signs of consolidation, right lower lobe.  
 6<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.25 gm.  $\times$  2 hypod. (see Chart V).  
 7<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 9.25 gm.  $\times$  1 hypod.  
 7<sup>th</sup>—8<sup>th</sup> day of disease. Slow fall of temperature (slow crisis).

## Effect of Treatment.

No apparent beneficial effect.  
 No toxic symptoms.  
 Crisis 7<sup>th</sup>—8<sup>th</sup> day.

## Case VI.

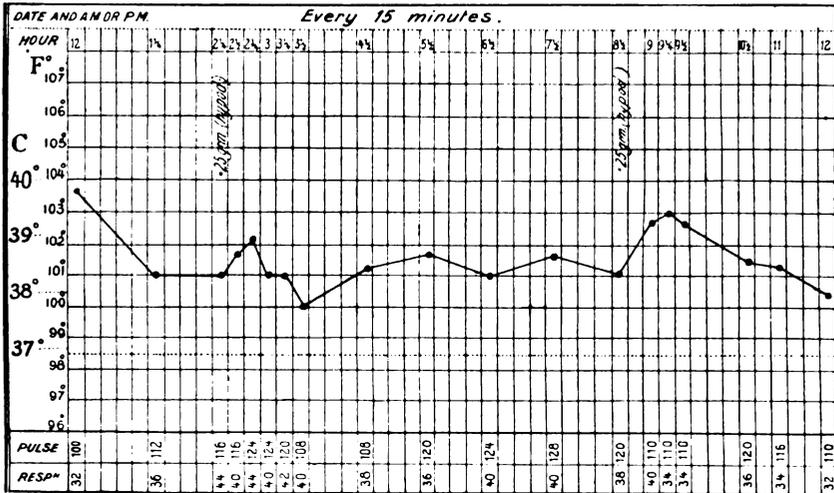
H. K., male, aged 16.  
 1<sup>st</sup> day of disease. Rigor. Pain, right side of chest.  
 3<sup>rd</sup> day of disease Admission. Herpes labialis. Rusty sputum. Signs of consolidation, right lower lobe (not well marked).  
 4<sup>th</sup> day of disease. 9 p. m. AE.H.C. 0.4 gm. hypod.  
 Crisis at midnight. Pupils widely dilated, and caused anxiety.

Effect of Treatment.

Crisis early and followed quickly after the injection. The drug may have contributed to this result, but a similar temperature chart is occasionally seen apart from specific treatment.

Toxic symptoms, dilatation of pupils.

Chart V.



Case VII.

C. F., male, aged 21.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Pain, right side.

2<sup>nd</sup> day of disease. Admission. Rusty sputum, pneumococci present but did not predominate.

3<sup>rd</sup> day of disease. Signs of consolidation, right lower lobe.

AE.H.C. 0.5 gm. × 2 hypod.

4<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. × 3 hypod.

5<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. × 2 hypod.

6<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. × 1 hypod.

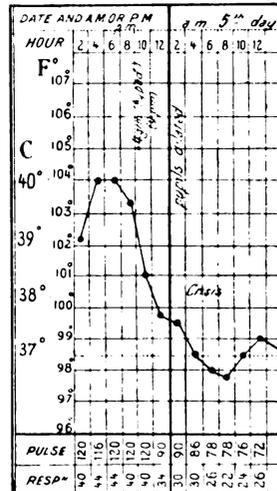
7<sup>th</sup> day of disease. (morning) Crisis.

Effect of Treatment.

Although AE.H.C. was given early and in full doses hypodermically, the course of the disease was unaffected.

No toxic symptoms.

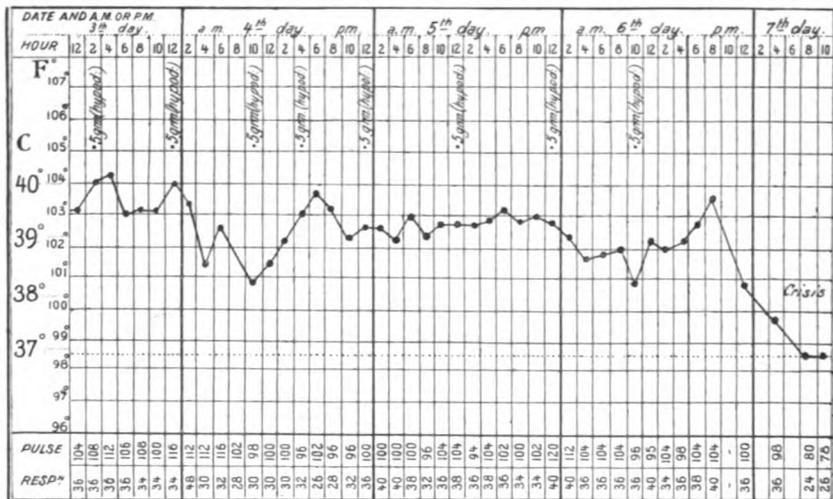
Chart VI.



Exp. 2. (3<sup>rd</sup> day).

p. m.	Pulse	Respiration
2.15.	116	34
2.25.	AE.H.C. 0.5 gm. hypod.	
2.30.	116	36
2.35.	116	36
2.40.	116	34
2.45.	122	32
2.50.	118	32
2.55.	116	38
3.0.	116	36
3.5.	112	36
3.10.	122	38
3.15.	116	34
3.20.	118	38
3.25.	116	38 Pupils unchanged.

Chart VII.



Case VIII.

F. B., female, aged 30.

1<sup>st</sup> day of disease. Rigor. Pain, left side.

4<sup>th</sup> day of disease. Signs of consolidation, left lower lobe.

6<sup>th</sup> day of disease. 8.30 p. m. AE.H.C. 0.5 gm. by mouth. } i. e., 1 gm.  
 10.30 p. m. AE.H.C. 0.5 gm. by mouth. }

7<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.5 gm. by mouth.

No further doses given as there was no sign of crisis and empyema was suspected.

14<sup>th</sup> day of disease. Operation for empyema. Resection of rib.

Pus contained pneumococci in pure culture.

**Effect of Treatment.**

Pneumonia progressed and empyema developed uninfluenced by the drug. No toxic symptoms and no alteration in temperature, pulse, or respiration rate followed the administration of 1 gm. AE.H.C. given by mouth in two doses of 0.5 gm. with an interval of two hours (6<sup>th</sup> day).

**Case IX.**

S. C., male, aged 15.

1<sup>st</sup> day of disease. Sudden onset. Vomiting. Abdominal pain. Headache.

3<sup>rd</sup> day of disease. Admission. Herpeslabialis. Nosputum. Diagnosis doubtful.

4<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.4 gm.  $\times 2$  hypod.

5<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.4 gm.  $\times 2$  hypod.

6<sup>th</sup> day of disease. AE.H.C. 0.4 gm.  $\times 2$  hypod.

12<sup>th</sup> day of disease. Aspiration, pus found. Operation, resection of rib.

Pus contained pneumococcus in pure culture.

**Effect of Treatment.**

Hourly chart showed no effect on temperature, pulse rate, or respiration rate.

No toxic symptoms.

This case may have been a pneumococcal empyema without pneumonia.

**Summary of Results.****1. Effect on Course of Disease.**

The crisis was earlier than usual in three cases. In these it is just possible that the treatment accelerated the crisis, but crisis on the fourth or fifth day is not very uncommon in cases of pneumonia treated symptomatically. Two cases died, but both showed delirium before the administration of the drug was begun and both developed „double“ pneumonia. In such circumstances it would have been wiser to abstain from the trial of a new drug. The object should first be a comparison of the clinical course of cases of moderate severity treated and untreated. In the four remaining cases the treatment produced no apparent results. Two developed pneumococcal empyema.

**2. Effect on Temperature.**

In Chart V. the temperature is recorded every fifteen minutes for an hour after the injection. It will be noticed that the temperature rose 1<sup>o</sup>—2<sup>o</sup> temporarily after each of the two injections (0.25 gm.). A similar rise in temperature is shown in Experiment 1 (Case IV) and in Chart IV. It is possible that these rises of temperature were due to the destruction of pneumococci in the blood. Yet the changes in temperature may have been coincidences; the cases are few, and Chart VII shows no similar reaction. Where the drug was given by mouth a rise in temperature was not the rule. Again, the temperature rose after the injection in Case IV

and preceded the crisis, while in Case VI the crisis occurred soon after the injection without any rise in temperature.

### 3. Effect on Pulse and Respiration.

Aethylhydrocuprein even in doses of 0.5 gm. hypod. seems to have little effect on the rate of pulse or of respiration. (See Experiments 1 and 2, and the figures below the temperature charts.)

### 4. Toxic Effects.

In three cases out of nine treated, the pupils became widely dilated. (Cases III, IV, and VII.) Case III also showed cyanosis of the ears. Amblyopia did not occur in any case, and no other toxic symptoms were observed.

### Conclusions.

1. Aethylhydrocuprein has little or no effect on the course of pneumonia in man.

2. Toxic symptoms, especially dilatation of the pupils, may appear after the administration of 1 gm. by mouth or 0.5 gm. hypodermically.

3. As the chemotherapy of bacterial infections is in its infancy, negative results and the occurrence of slight toxic symptoms should not prejudice against the cautious clinical trial of similar compounds, which may prove experimentally to have a specific effect on specific organisms.

To Professor Bulloch my warmest thanks are due for his introduction to Professor Morgenroth and his work, and for the personal interest he has taken in these clinical experiments. Professor Morgenroth gave me unusual facilities for seeing his methods, and his guidance and help have been invaluable. The Medical Staff of the London Hospital kindly allowed me full clinical opportunities. Dr. Paul Fildes was good enough to undertake the bacteriological examinations.

## References.

1. Morgenroth and Levy, Berliner klin. Wochenschr. 1911. 1560, 1979.
2. Morgenroth and Kaufmann, Münch. med. Wochenschr. 1912. 1734 and Zeitschrift für Immunitätsforschung und experim. Therap. 1912. XV. 610.
3. Gutmann, L., Zeitschrift für Immunitätsforschung und experim. Therap. 1912. XV. 625.
4. Rosenthal, Felix, Zeitschrift für Chemotherapie. Referate. 1912. 1149.
5. Engwer, Th., Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1912. LXXIII. 194.
6. Fraenkel, A., Berliner klin. Wochenschr. 1912. 664.
7. Wright, Almroth, Lancet 1912. ii. 1633, 1701.

# Experimentelle Untersuchungen über Heredo- Immunität bei afrikanischer Recurrens und über den etwaigen Einfluss von Immunitäts- vorgängen auf die Wirksamkeit eines chemo- therapeutischen Mittels.

Von

Dr. **F. Kusunoki** (Japan).

Da die Frage einer Vererbung der Immunität bei Spirillosen und die Beeinflussung der Behandlung durch dieselbe noch nicht ganz geklärt ist, habe ich einige diesbezügliche Versuche angestellt, über die ich kurz berichten will.

Ich arbeitete mit der *Spirochaeta Duttoni*, dem Erreger des afrikanischen Recurrensfiebers, und zwar deshalb, weil der Verlauf der durch sie bedingten Erkrankung ein verhältnismäßig langer ist und weil dieser Krankheitserreger eine ziemlich starke Immunität herbeiführt. Andere Spirochäten sind für derartige Versuche nicht sehr geeignet; die Hühnerspirochäten z. B. mit ihrer erheblichen, auch eine starke Immunität erzeugenden Virulenz verursachen einen viel zu schnellen Krankheitsverlauf, als daß er genau verfolgt werden könnte. Bei der Syphilis ist der Krankheitsverlauf ein unendlich langer; fernerhin ist es ja sehr zweifelhaft, ob die Syphilis überhaupt eine Immunität hinterläßt.

## Versuch I.

Um mich des immunisatorischen Vermögens des benutzten Stammes der *Spirochaete Duttoni* zu versichern, habe ich folgenden Versuch angestellt:

10 Ratten wurden subkutan mit der *Spirochaete Duttoni* ge-

impft, nach 2—3 Tagen bei allen Tieren ein positiver Blutbefund erhoben und weiter 2—3 Rezidive nach dem 1. Anfalle beobachtet.

Zwei Monate nach der Infektion wurden diese Tiere mit einem sechsmal passierten Stamm intraperitoneal reinfiziert.

Keins von den Tieren erkrankte. Trotz täglicher Untersuchungen des Blutes durch 10 Tage konnten keine Parasiten im Blute nachgewiesen werden. —

Vier Ratten wurden nun getötet und eine Milz- und Leberemulsion Mäusen injiziert. Dieselben blieben gesund. —

Genau wie die Ratten wurden auch 10 Mäuse behandelt, welche alle nach ein bis zwei Tagen erkrankten und 2—4 Rezidive durchmachten. Die Reinfektion, welche zwei Monate nach der Infektion an 5 Mäusen versucht wurde, fiel negativ aus. Ich komme durch diese Versuche zum Schluß, daß mein Stamm der Spirochäte Duttoni genügend virulent ist, um eine ziemlich starke Immunität herbeizuführen.

#### Versuche über hereditäre Immunität (Versuch II).

Ich untersuchte 5 junge Ratten, welche aus demselben Wurf stammten und deren Mutter zirka 18 Tage nach der Infektion mit Spirochaete Duttoni konzipiert hatte und 8 Tage lang vor der Konzeption ohne Parasiten im Blute war.

Der untersuchte Wurf kam 60 Tage nach der Infektion der Mutter zur Welt (die Gravidität der Ratten dauert zirka 5 Wochen). — Zwei Monate nach der Infektion wurde dieses Rattenweibchen mit einer größeren Menge von Spirochäten und einem virulenteren Stamm reinokuliert, doch blieben Krankheitserscheinungen aus. Drei Junge des Wurfs — zwei waren bald nach der Geburt eingegangen — wurden 35 Tage nach der Geburt, also ca. 77 Tage nach der Konzeption der Mutter und 95 Tage nach der Erstinfektion derselben mit spirochätenhaltigem Blut (20 Spirillen in einem Gesichtsfelde), und zwar mit 0,4 ccm pro 20 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. (Vor Anstellung dieses Versuches überzeugte ich mich durch mehrmalige Untersuchungen, daß in dem Blute der jungen Tiere keine Spirochäten vorhanden waren.)

Alle drei jungen Ratten gingen 3—4 Tage nach der Infektion an Rückfallfieber zugrunde.

Es geht aus diesem Versuche deutlich hervor, daß die Immunität der Mutter gegen Spirochaeta Duttoni auf die Nachkommen **nicht** vererbt wurde, trotzdem dieselben von

den schon immunen Zellen der Mutter stammten und lange Zeit mit dem Blutkreislauf der immunen Mutter in Zusammenhang waren.

In einem anderen Versuch wurde das trächtige Rattenweibchen (Nr. 10) mit der *Spirochaeta Duttoni* infiziert; beim zweiten Rückfall, 10 Tage nach der Infektion, warf das Weibchen 6 Junge, von welchen drei einige Tage nach der Geburt eingingen. Weder bei diesen noch bei den am Leben gebliebenen konnten auf irgend eine Weise Spirochäten nachgewiesen werden.

40 Tage nach der Geburt wurde die Impfung der Jungen mit *Spirochaete Duttoni* und gleichzeitig die Wiederimpfung der Mutter intraperitoneal vorgenommen. Die Infektion der Jungen gelang ohne weiteres, während die Wiederimpfung der Mutter negativ ausfiel.

In der Literatur ist über experimentelle Heredoimmunität nur wenig aufzufinden.

Uhlenhuth und Haendel beobachteten, daß 5 junge Ratten, die von einer Mutter wenige Tage nach dem Überstehen des amerikanischen *Recurrans* geworfen waren, immun gegen amerikanische, aber nicht gegen afrikanische und europäische Spirochäten waren.

Nach anderen (Breinl, Kinghorn, Nattan, Larrier) ist die hereditäre Immunität eine aktive Immunität nach der vererbten Infektion. Da die *Recurrans*spirillen am meisten, besonders am Anfang der Gravidität, von der Mutter auf den Fötus übergehen, so wird die aktive Immunität nach dem Überstehen der Krankheit schon am Ende der Gravidität oder nach der Geburt erzeugt.

Die Immunität, welche der Fötus oder das Junge nach der hereditären Infektion bekommt, ist stets sehr schwach und sehr variabel, so daß Nattan und Larrier bei jungen Ratten und Mäusen mit hereditärer Infektion bald nach Überstehen der ersten Erkrankung die Reinfektion manchmal gelang. Beide Autoren teilen mit, daß ihnen eine passive Immunisierung bei *Recurrans* unmöglich erscheint, was mit den Resultaten meiner Versuche übereinstimmen würde.

Die relativ starke Immunität der Mutter wird passiv auf die Nachkommenschaft nicht vererbt.

Wollte man das Resultat dieser Versuche auf die Syphilis übertragen, so müßte man bei der Syphilis das Auftreten einer passiven Heredoimmunität um so mehr ausschließen, als die Virulenz des Erregers eine viel geringere ist als die der *Spirochaeta Duttoni*.

Über die Frage der „Vererbung der Immunität“ bei Syphilis s. Genaueres bei Neisser, Beitr. z. Path. u. Therapie der Syphilis. 1910. Springer, Berlin.

Weitere Versuche galten der Frage, ob etwa die chemotherapeutische Wirkung eines Heilmittels durch die im erkrankten Organismus stattfindenden Immunitätsvorgänge beeinflußt bzw. etwa verstärkt wird.

Tabelle I.

Maus	Nr.	Kontrolle					Frühbehandlung	
		1	2	3	4	5	6	7
	Körpergew.	15 g	18 g	26 g	21 g	20 g	22 g	19 g
Infektion: je 0,2 ccm pro Maus (Körpergewicht 20 g) von einer								
2. Tag	Spirochätenzahl	++ (15)	++ (10)	++ (18)	+	++ (15)	+	++ (15)
	Dose Salv. pro 20 g	--	--	--	--	--	Salv. (1:900)	Salv. (1:900)
3. Tag		++ (20)	++ (15-20)	++++ (60)	++ (25-30)	++++ (60)	--	--
4. Tag		tot	++ (10)	++++ (100)	++++ (65)	++++ (100)	--	--
	Dose pro 20 g	--	--	--	--	--	--	--
5. Tag		--	--	++++ (ü. 100)	tot	tot	--	--
6. Tag		--	+ w	tot	--	--	--	--
	Dose pro 20 g	--	--	--	--	--	--	--
7. Tag		--	+	--	--	--	+ sw	--
8. Tag		--	--	--	--	--	+	+
							(2-3)	(2)
9. Tag		--	--	--	--	--	++	+
							(20-25)	(1-2)
10. Tag		--	--	--	--	--	++	--
							(12)	
11. Tag		--	--	--	--	--	tot	--
12. Tag		--	--	--	--	--	--	+ w
13. Tag		--	--	--	--	--	--	+
								(1)
14. Tag		--	--	--	--	--	--	tot
15. Tag		--	--	--	--	--	--	--
16. Tag		--	+	--	--	--	--	--
			(1/3)					
17. Tag		--	+	--	--	--	--	--
			(2)					
18. Tag		--	--	--	--	--	--	--
19. Tag		--	--	--	--	--	--	--
20. Tag								
			beob. bis zum 37. Tage. Am 36. wenig Spiroch. am 37. tot.					

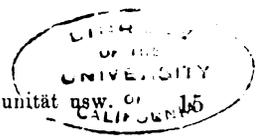


Tabelle I.

Frühbehandlung				Spätbehandlung			
8	9	14	15	10	11	12	13
17 g	20 g	18 g	19 g	17 g	19 g	18 g	19 g
Blutverdünnung (Spirochätenzahl 3—4 : 1) intraperitoneal injiziert.							
++ (15)	++ (10)	+++ (15)	+++ (12)	+	++ (15)	+	+++ (12)
Salv. (1 : 900)	Salv. (1 : 900)	Salv. (1 : 900)	Salv. (1 : 900)	—	—	—	—
—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
—	—	—	(2)	+++++	+++++	+	(15)
—	—	—	—	Salv. (1 : 900)	Salv. (1 : 900)	—	—
—	—	—	—	tot	+	—	—
—	—	—	+	—	—	+	+
—	—	—	(2)	—	—	(1)	(2)
—	—	—	—	—	—	Salv. (1 : 900)	Salv. (1 : 900)
—	—	—	+	—	—	—	—
—	—	—	(15)	—	—	—	—
+	—	—	+	—	—	—	—
(1)	—	—	(120)	—	—	—	—
+	—	+	—	—	+	—	—
(6)	—	(2)	—	—	(5)	—	—
+	—	+	—	—	tot	—	—
(5)	—	(15)	—	—	—	—	—
—	+	—	—	—	—	—	—
—	(3)	—	—	—	—	—	—
—	+	—	—	—	—	tot	—
—	(2)	—	—	—	—	—	—
+	—	—	—	—	—	—	—
(17)	—	—	—	—	—	—	—
tot	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	+ w
—	—	—	—	—	—	—	+
—	—	—	—	—	—	—	(5)
—	—	—	—	—	—	—	tot
—	—	+	+ w	—	—	—	—
—	—	(1)	—	—	—	—	—
—	—	—	+	—	—	—	—
—	—	—	(1)	—	—	—	—

Spiroch.-frei bis 31. Tag, am 31. ausunbekanntem Grunde tot.

Spiroch.-frei bis 37. Tag.

am 25. Tage sehr wenig Spiroch., bis 37. Tag spirochäten frei.

Tabelle II.

Maus	Nr. Körpergew. Vorbehandlung mit Salvarsan Datum Dose pro 20 g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	20 g 2/III (1:400)	20 g 2/III (1:400)	20 g 2/III (1:400)	20 g 6/III (1:600)	18 g 6/III (1:600)	18 g 8/III (1:800)	19 g 8/III (1:800)	17 g 14/III (1:900)	17 g 14/III (1:600)	18 g 14/III (1:800)	18 g	20 g	17 g
Infektion: 15./III. Je 0,2 cem pro 20 g einer Maus von einer Blutverdünnung (Spirochätenzahl 1/6 : 1) intraperitoneal injiziert.													
1. Tag		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. Tag		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. Tag		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
4. Tag		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
5. Tag		+	-	+	+	-	+	+	+	+	+		
6. Tag		+	-	+	+	-	-	+	+	+	+		
7. Tag		tot	-	-	+	+	+	+	+	-	+		
8. Tag		-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	
9. Tag		-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
10. Tag		-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
11. Tag		-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	
12. Tag		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	
13. Tag		-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	

16. Tag







Maus. Wenn durch diese Dosis eine sichere Heilung zu erzielen ist, so muß, um die eventuelle Mitwirkung einer Immunität beurteilen zu können, eine kleinere Dosis genommen werden, und zwar wählte ich die Dosis 1:900 oder 1:1000 pro 20 g Körpergewicht der Maus.

Die infizierten und behandelten Mäuse wurden genau beobachtet und insbesondere täglich Untersuchungen auf Spirochäten im Blute ausgeführt. Die Resultate sind aus Tabelle I ersichtlich. (S. 4—5).

Mit Deutlichkeit kann man aus derselben ersehen, daß die frühzeitig injizierten Tiere im allgemeinen leichter heilbar sind als die später behandelten, wenn es auch große individuelle Verschiedenheiten zu geben scheint.

Die Virulenz der Spirochäten dieses Versuches war aber eine so große, daß sehr viel Tiere schnell eingingen, und es schien daher vielleicht besser, einen weniger virulenten Stamm zu verwenden; ich versuchte es daher, die Virulenz durch vorherige Anlegung eines Salvarsandepots herabzusetzen.

So habe ich normale Mäuse in einer Dosis (pro 20 g Körpergewicht) von 1:400, 1:600, 1:800 vorbehandelt und nach einer bestimmten Zeit — 1 bis 14 Tage — mit Recurrens infiziert. Wie aus der nachstehenden Tabelle II zu ersehen ist, erscheint bei den vorbehandelten Tieren der Verlauf der Erkrankung günstiger. Tabelle II (Seite 6—7).

Nun habe ich meine Versuche dahin erweitert, daß ich die schon vorbehandelten und später infizierten Tiere aufs neue mit Salvarsan möglichst bald am Anfange des ersten Anfalles behandelte. Das Ergebnis war, daß die vorbehandelten Tiere schwächer erkrankten als die nicht vorbehandelten und gar nicht behandelten. Es gibt aber auch von der Individualität abhängige Ausnahmen (Nr. 1 und Nr. 10). Bemerkenswert ist auch, daß der Verlauf der Krankheit um so günstiger ist, je weniger Spirochäten im Blut nachgewiesen werden können.

Jetzt stellte ich vergleichende Versuche zwischen Früh- und Spättherapie bei Tieren an, welche mit Salvarsan vorbehandelt waren. Bei den an Recurrens erkrankten Tieren habe ich am Anfang der Infektion und am Ende des ersten Anfalles oder am Anfang des ersten Rezidives eine kleine Dosis zu Heilzwecken angewandt. Tabelle III (Seite 8—9).

Es wurden im ganzen 10 Tiere zum Versuche verwendet. 5 Tiere erhielten die erste Salvarsandosis unmittelbar nach dem ersten

Auftreten der Spirochäten im Blut (3 Tage post infectionem). 5 andere wurden erst viel später, nachdem eine reichliche Vermehrung der Spirochäten stattgefunden hatte, behandelt (8—9 Tage post infectionem). Es ergab sich hierbei, daß die frühzeitig behandelten Tiere einen günstigeren Verlauf der Erkrankung zeigten, als die spät behandelten Tiere. Insbesondere ist bei einer der frühbehandelten Mäuse sofort Heilung erzielt worden.

Das Resultat der hier wiedergegebenen Versuche beweist, daß die Heilwirkung eines therapeutischen Agens bei der Recurrenserkrankung von einer im ersten Anfalle oder ersten Rezidiv sich entwickelnden Immunität in keiner Weise beeinflußt wird.

Wir brauchen daher nicht, wie man dies früher bei Lues tat, mit der Behandlung zu warten, bis sich etwaige Immunitätsvorgänge (nach Ausbruch der Allgemeinerscheinungen) abgespielt haben, die, wie wir glaubten, die Wirksamkeit der Behandlung vielleicht verstärken könnten, sondern wir müssen, wie es von Neisser und vielen anderen Autoren für die Syphilis immer wieder betont wird, auch bei der Lues, ebenso wie beim Recurrenstieber so zeitig wie irgend möglich mit der Behandlung beginnen.

## Literatur.

1. Schilling, Zentralbl. f. Bakteriol. (Referate), Bd. 36, S. 648.
2. Spitzer, Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 31.
3. Derselbe, Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 45.
4. Derselbe, Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 38.
5. Kraus, Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 41.
6. Volk, Verhandl. d. Deutschen dermatol. Gesellsch. 1907, 9. Kongreß S. 242.
7. Finger, Ebenda, S. 251.
8. Blaschko, Ebenda S. 263.
9. Breinl, Kinghorn, Zentralbl. f. Bakteriol. (Ref.), Bd. 39, 1907, S. 350.
10. Uhlenhuth und Haendel, Zentralbl. f. Bakteriol. 1908, Bd. 41, S. 418.
11. Landsteiner, Zentralbl. f. Bakteriol. (Ref.) 1908, Bd. 41, S. 785.
12. Manteufel, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. 27, H. 2.
13. Derselbe, Ebenda, Bd. 29, H. 2.
14. Derselbe, Ebenda 1909, Bd. 33, H. 1.
15. Ehrlich und Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen, 1910.
16. Mathis und Leger, Zentralbl. f. Bakteriol. (Ref.) 1911, Bd. 49, S. 379.

17. Blaschko, Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1911, Bd. 106, S. 65.
  18. Arning, Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 39.
  19. Neisser, Über moderne Syphilistherapie mit besonderer Berücksichtigung des Salvarsans, Halle 1911.
  20. Derselbe, Beiträge zur Pathologie und Therapie der Syphilia. 1911.
  21. Derselbe, Allgemeine Prinzipien der Syphilistherapie. Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung 1911.
  22. Stühmer, Münchener med. Wochenschr. 1911, Nr. 17.
  23. Gennerich, Münchener med. Wochenschr. 1911, Nr. 43.
  24. Vofs, Münchener med. Wochenschr. 1912, Nr. 10.
  25. Uhlenhuth, Experimentelle Grundlagen der Spirochätenkrankheiten, 1911.
  26. Nattan und Larrier, Annal. de l'Institut Pasteur 1911, Bd. 25, S. 737 und Bd. 30.
  27. Jadassohn, Deutsche med. Wochenschr. 1910, Nr. 51.
  28. Kreibich, Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 1.
  29. Ehrlich, Zentralbl. f. Bakteriol. (Ref.), Bd. 50, Beilage zur Abteilung I, S. 94.
  30. Finger, Archiv f. Dermatol. u. Syph. 1912, Bd. 112, H. 3.
  31. Schilling, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 1.
  32. Bettmann, Dermatol. Wochenschr. 1912, Bd. 54, Nr. 8.
  33. Mulzer, P., Archiv f. Dermatol. u. Syph. 1912, Bd. 111, H. 2.
  34. Pawlow, Dermatol. Zeitschr. 1912, Nr. 2.
  35. Ehrlich, Abhandlungen über Salvarsan. 1911 und 1912.
  36. Teichmann und Braun, Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 34. — Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 3.
-

## Therapeutische Versuche am Hunde als experimentellem Typhusbazillenträger.

Von  
Dr. A. Marxer.

Forster u. Kayser<sup>1)</sup> hatten die Gallenblase als Hauptbildungsstätte der Typhusbazillen bei Bazillenträgern erkannt und deren Behandlung in den Vordergrund gerückt. Sie schlugen neben den chirurgischen Eingriffen die Anwendung von gallentreibenden Mitteln vor, die eine Durchspülung der Gallenwege bewirken sollten. Die Stärke der Durchspülung sollte die Wachstumsgeschwindigkeit der Typhusbazillen überwiegen, so daß diese mit der Zeit ausgeschwemmt würden. Auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Dresden gab dann Forster<sup>2)</sup> bekannt, daß sich Versuche in Vorbereitung befinden, bakterizide Körper mit den Gallensäuren zu kuppeln, die dann, mit diesen als Vehikeln in die Gallenwege gebracht, dort ihre keimtötende Wirkung entfalten sollten.

Vor der Anwendung beim Menschen mußten solche Präparate nun zunächst im Tierexperiment auf ihre Wirksamkeit geprüft werden. Ich versuchte daher Tiere zu Typhusbazillenträgern zu machen. Auf Anregung meines früheren Chefs weiland Prof. Forsters brachte ich in die Gallenblase von Kaninchen Bimssteine, die in Typhusbazillenbouillon gelegen hatten. Dadurch wurden die Kaninchen Dauerausscheider. Später ging ich zu Hunden über. Die Hunde wurden unter den üblichen Kautelen laparotomiert und die Gallenblase mit der Bauchwand in der Weise vernäht, daß dieselbe etwas über die Bauchdecke hervorstand. Nach Abheilung der Wunde wurde die Gallenblase geöffnet und so eine Gallenfistel hergestellt. Nach Verlauf von einigen Tagen wurden sterile Korkstückchen mit Typhusbazillenbouillon getränkt. Je 3 solcher Korkstückchen impfte ich

---

<sup>1)</sup> Forster und Kayser, Münchner med. Wochenschrift, 1905.

<sup>2)</sup> Forster, Ber. deutscher Naturforscher und Ärzte, 1907.

in die Gallenblase. Vom darauffolgenden Tage wurden dann jeden zweiten Tag Endoplatten mit einer bestimmten Menge Galle bestrichen. Als nach Ablauf von einem Monat beide Hunde noch Typhusbazillen in ihrer Galle beherbergten, wurde mit den therapeutischen Versuchen begonnen.

Neuerdings konnten Hailer und Ungermann<sup>1)</sup> sowie Uhlenhuth und Messerschmidt<sup>2)</sup> bei Kaninchen die Galle zum dauernden Bildungsort von Typhusbazillen machen, indem sie die Typhusbazillen direkt in die Gallenblase injizierten.

Hund 1 hat folgende chemischen Präparate erhalten, die ich der Reihe nach, wie sie verbraucht wurden, aufzählen werde:

Präparat:	Behandlungsdauer:	Menge
Chloracetyl-Salol . . . . .	21 Tage	23 g
Gallensäureglycolmentholester . . . . .	32 "	43 g
Methylenhippursäure . . . . .	31 "	144 g
Jodölsaures Natron in Alkohol . . . . .	23 "	66 ccm
Jodoxyvitinsäure . . . . .	4 "	2 g
Jodol . . . . .	6 "	9 g
Erythrosin . . . . .	22 "	10 g
Jodphenylchinolincarbonsäure . . . . .	4 "	16 g
Dijodsalicylsäure . . . . .	24 "	12 g

Die Präparate wurden alle per os verabreicht.

Gleich beim ersten Präparat glaubte ich am neunten Tage eine Beeinflussung der Typhusbazillen zu bemerken; es waren nur vereinzelte Kolonien auf der Platte aufgegangen. Dieses spärliche Wachstum hielt einige Tage an. Doch trotz weiterer Eingaben des Chloracetyl-Salols verschwanden die Typhusbazillen nicht nur nicht, sondern die Zahl der Kolonien erreichte wieder ihre ursprüngliche Größe wie vor Beginn des Versuches. Vorübergehende Einwirkung auf die Typhusbazillen in der Galle des Hundes hatten noch die Jodpräparate. Zum Verschwinden brachte jedoch keines die Typhusbazillen.

Der zweite Hund, den ich zum Typhusbazillenträger gemacht hatte, erhielt zum Teil dieselben Präparate außer zahlreichen anderen. Auch dieser Hund hat alle chemischen Mittel per os bekommen.

<sup>1)</sup> Hailer und Ungermann, Deutsche med. Wochenschrift, 1912.

<sup>2)</sup> Uhlenhuth und Messerschmidt, ebenda.

Präparat:	Behandlungs- dauer:	Menge:
Salicylglycolsäurementholester . . . . .	30 Tage	52 g
Thymoalkohol . . . . .	37 "	31 g
Hexamethylentetraminrhodanat . . . . .	41 "	82 g
Methylenoxyvitinsäure . . . . .	22 "	88 g
Methoxymethylmenthol . . . . .	32 "	99 g
Jodsalicylsäure . . . . .	15 "	14 g
Salicylsäure . . . . .	5 "	6 g
Jodölsaures Natron . . . . .	10 "	8 g
Jodoxyvitinsäure . . . . .	4 "	2 g
Sajodin . . . . .	7 "	10 g
Jodolum . . . . .	6 "	9 g
Tetrajodphtalsäure . . . . .	8 "	12 g
Jodnaphtol . . . . .	23 "	36 g

Von den Präparaten hatte bei diesem Hunde nur die Jodsali-  
cylsäure eine entwicklungshemmende Wirkung, die auf einige Tage  
die Bazillen fast ganz zum Verschwinden brachte. Alle anderen  
Mittel erwiesen sich als wirkungslos, da man auf die Verminderung  
der Kolonien auf den Platten, die hier und da einmal beobachtet  
wurde, nicht so viel Gewicht legen kann, weil dies auch ohne jede  
Behandlung bisweilen vorkommt.

Bessere Resultate hatten mit chemotherapeutischen Versuchen  
andere Autoren beim Kaninchen zu verzeichnen. So konnte Con-  
radi<sup>1)</sup> durch mindestens fünfmalige rektale Gabe von 0,5 Chloroform  
die Galle sowie Organe beim Kaninchen keimfrei machen. Auch  
Hailer und Rimpau<sup>2)</sup> beobachteten einen deutlichen Einfluß des  
Chloroforms, doch trat dieser nicht bei allen Kaninchen zutage.  
Vereinzelt erfolgreich erwies sich diesen Autoren auch eine ge-  
sättigte Lösung von Jodoform in Chloroform und Bromoform. Die-  
selben Forscher fanden noch einige chemische Stoffe, die in zahlreichen  
Fällen eine Beeinflussung der Typhusbazillen im Kaninchenorganismus,  
ohne zu giftig zu sein, erkennen ließen, so das meta-Xylenol, Thymol,  
Pyrogallol, Pinen, Eukalyptol, Terpinhydrat und Sandelöl. Außer  
dem Natriumsalicylat, das auch im Tierexperiment eine Wirkung  
entfaltete, hat wohl keines der Präparate bisher beim Menschen  
bemerkenswerte Resultate erzielt. Hilgermann sah bei länger

<sup>1)</sup> Conradi, Ber. über die 4. Tagung der Ver. f. Mikrobiologie, 1910.

<sup>2)</sup> Hailer und Rimpau, ebenda, 1911 und Arbeiten aus dem Kaiserl. Ge-  
sundheitsamt, Bd. 36.

fortgesetzter Behandlung mit salicylsaurem Natron bei einer von 3 Typhusbazillenträgerinnen die Bazillen verschwinden, bei den beiden anderen einen starken Rückgang der Bazillenausscheidung.

Uhlenhuth und Messerschmidt verwandten eine ganze Reihe von Präparaten beim Kaninchen ohne Erfolg.

Von verschiedenen Seiten (Koch, Metschnikoff) wurde auch die Vakzination zur Abtötung der Typhusbazillen bei Bazillenträgern in Vorschlag gebracht, womit in einigen Fällen günstige Beobachtungen gemacht werden konnten (Petruschky<sup>1)</sup>). Forster und Kayser erhofften deshalb nicht viel von einer aktiven Immunisierung, weil die bakterizide Kraft der Galle selbst bei hochimmunisierten Tieren meistens nur minimal war. Metchnikoff und Besredka<sup>2)</sup> fanden die Immunisierung mit lebenden, abgetöteten und extrahierten Typhusbazillen beim experimentell infizierten Affen unwirksam, obwohl im Meerschweinerversuch gute Ergebnisse festgestellt werden konnten. Ferner konnten Uhlenhuth und Messerschmidt weder mit der Pfeiffer-Kolleschen Methode Kaninchen prophylaktisch gegen eine Wucherung der Typhusbazillen bei Gallenblasenimpfung schützen, noch auf diese Weise zu Bazillenträgern gemachte Kaninchen durch Vakzination mit Typhusimpfstoff nach Wright heilen.

Neben der Chemotherapie hatte ich ebenfalls die Schutzimpfung zur Vertreibung der Typhusbazillen aus der Galle meiner Versuchshunde angewandt. Ich versuchte dies durch Immunisierung vom Darm aus und durch subkutane Einverleibung von galaktosierten Typhusbazillen, die nach der Methode von Levy, Blumenthal und Marxer durch Schütteln in 25% Galaktoselösung abgetötet waren, darauf im Vacuum bei niedriger Temperatur eingedampft und gepulvert worden waren.

Hund 1 erhielt am 22. VI. eine Geloduratkapsel mit 5 mg galaktosierter Typhusbazillen, am 11. VII. eine Kapsel mit 20 mg Inhalt, auf Bazillen berechnet, und am 16. VIII. 2 Geloduratkapseln mit gleichen Mengen. Bis zum 17. XI. wurde keinerlei Einwirkung auf die Bazillen in der Gallenblase beobachtet.

Demselben Hunde injizierte ich am 17. XI. 200 mg galaktosierter toter Bazillen. Aber auch nach dieser Injektion konnte ich eine Abnahme der Typhusbazillen nicht konstatieren.

---

<sup>1)</sup> Petruschky, Deutsche med. Wochenschrift, 1912.

<sup>2)</sup> Metschnikoff und Besredka, Ann. Pasteur, 1911.

Einen anderen Hund versuchte ich durch passive Immunisierung von seinen Typhusbazillen zu befreien. Vom 16. VIII. bis 21. VIII. 1909 spritzte ich diesem täglich subkutan 50 ccm eines hochbaktericiden Typhusserums ein. Am 27. VIII. erhielt er dann noch eine Einzeldosis von 100 ccm desselben Serums. Dieser Hund hatte also im ganzen 400 ccm Typhusserum erhalten. Eine Wirkung sah ich jedoch nicht.

### **Zusammenfassung.**

1. Es gelingt leicht, durch Einimpfung von mit Typhusbazillenbouillon getränkten Korkstückchen in die Gallenblase von Hunden diese zu Bazillenträgern zu machen.
  2. Zwei auf diese Weise behandelte Hunde beherbergten 4 Jahre lang Typhusbazillen in ihrer Gallenblase.
  3. Mit den in der Arbeit angeführten chemischen Präparaten war wohl teilweise eine Keimverminderung, nie aber eine völlige Entkeimung der Gallenblase möglich.
  4. Die aktive und passive Immunisierung waren in meinen Versuchen nicht geeignet, die Typhusbazillen aus der Galle zu vertreiben.
-

# The resistance of various Bacteria to the disinfecting action of Toluol, and the allied bodies Benzol, and Xylol.

By

**T. H. C. Benians**, MRC.S (Eng.) LRCD (Lond.),  
Junior Assistant Inoculation Department, London Hospital.

## **The nature of the research:**

The nature of the research:

The aim of this investigation is to demonstrate the varying degrees of resistance which different bacteria are able to oppose to the bactericidal action of a given disinfectant. Two other closely allied bodies have also been to some extent examined. The disinfectants under examination possess very definite and peculiar physical and chemical properties, and are therefore likely to throw some light on the nature of the organisms they attack. In investigating the resistance of the various bacteria against the disinfectant power of toluol we shall obviously, at the same time, arrive at a conclusion as to the true value of this substance as a general disinfectant.

That the same organism may prove more resistant to the action of some disinfectants than to others has long been known, and on this basis has been reared the system still in vogue of estimating the relative strengths of those disinfectants. Of late it has been repeatedly pointed out that a disinfectant which is relatively more potent than another when tested against one particular organism may prove to be relatively the weaker of the two when a different organism is used as the test agent.

Bechhold<sup>1</sup> has contributed greatly to our knowledge in this direction. He showed that kresol acted strongly on diphtheria bacilli and relatively weakly on *B. coli*; whilst *B-naphthol* with only half the potency of kresol against Diphtheria was ten times stronger

against *B. Coli*. He also showed that kresol as compared with tri and tetrabrom B-naphthol was relatively powerful against the tubercle bacillus and weak in its action on the staphylococcus. Cooper<sup>4</sup> has shown that whereas the resistance of staphylococcus and *B. typhosus* were about equal when they were opposed to phenol, the staphylococcus was much the more resistant when they were opposed to some of the higher tar acids. The results obtained with these oily coal tar disinfectants are very significant in the light of the results shortly to be given in connection with the action of toluol. These differences in the action of a disinfectant toward various forms of bacteria arise in the susceptability or, looking at it as a chemical reaction, (Chick<sup>3</sup>), in the affinity of the different bacteria for the various chemical bodies; the variability thus depends on the constitution of the bacterial organism. As a general rule the oily coal tar disinfectants act through their affinity for the lipid bodies of the cell. Toluol is a very good example of this class of disinfectants. Others, however, have the capacity to attach to both colloid and lipid constituents of the bacteria. Phenol is a body of this class; it has a moderate degree of solubility in water, and it will combine with both albuminous and fatty substances, but of the two it much prefers the fats. A disinfectant of this class thus has a wider application than one whose affinities are mainly concerned with the lipid bacterial moiety.

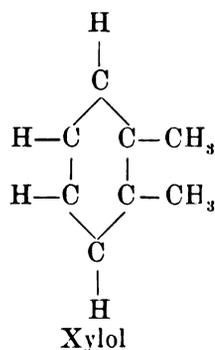
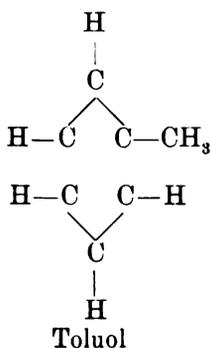
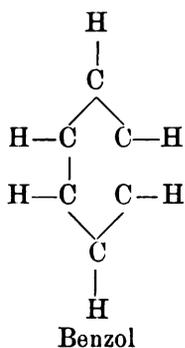
It thus comes about that phenol has obtained as a tolerably representative disinfectant for the judgement, in a general way, of which organisms are resistant, and which are easily destroyed. In ordinary use the oily coal tar derivatives, which are insoluble in water, are used in an emulsified form; in this state they can readily attach to both albuminous and fatty matter, and any specificity resultant on their original physical properties is cloaked.

#### Chemical and physical properties of toluol:

Some slight account of the substances under consideration may be given here.

Benzol, toluol and xylol together constitute the greater part of the „light oils“ derived in the fractional distillation of coal tar. They distill over at temperatures below 170° C, and they are known as light oils from the fact that they float on water. The „heavy oils“ including phenol, kresol etc., distill over at temperatures round about 270° C. The accompanying formulæ show at a glance

the relationship to each other of the three substances under discussion here. Toluol is seen to be a monomethyl benzene and accordingly has no isomeric modifications. Xylol is dimethylbenzene and has thus three modifications.



Toluol is the last stable of these three bodies. It boils at  $111^\circ \text{C}$  and has a specific gravity of 0.86. It possesses the property of rendering oxygen active in the same way as does oil of turpentine. It dissolves sulphur, phosphorus and iodine, and has a very marked solvent action on fatty substances. Toluol is readily absorbed by indiarubber, and this renders the use of rubber inadmissible in experiments that are to be carried out with this substance. Toluol is almost entirely insoluble in water, it however imparts a distinct, though faint, smell to water in which it has been shaken up. As a disinfectant and antiseptic toluol has been in use many years. It was used by Ehrlich as a means for killing diphtheria cultures in 1894.

At this time also a throat spraying medium containing toluol was first advocated by Löffler<sup>6</sup> for clearing this organism out of the throat in cases of diphtherial infection. Toluol has, however, not attained to use as a general disinfectant, even in those cases where as insoluble substance would be advantageous, partly no doubt on account of the apparent unreliability of its disinfectant action.

#### Technique of the experiments:

The essential factors concerned in these experiments were,

1. A bacterial suspension.
2. A measure of toluol.

These two were thoroughly mixed by rapidly shaking on a machine especially devised for this purpose. It was considered important that the shaking should be as thorough as possible so as to allow of every living organism coming into contact with the finely divided toluol. It was however found that this was not absolutely essential; because where the mixture was shaken by hand, and only occasionally, the results were much the same as where vigorous shaking was carried out. After shaking, the bottles containing the mixture were stood vertically for one or two minutes to allow the toluol to rise to the surface. The sample for subculture (about  $\frac{1}{4}$  c. c. as a rule) was then taken with a sterile Pasteur pipette from below the toluol layer. The bottles used were of the capacity and shape of the average test-tube, and were fitted with glass stoppers. In some experiments 10 c. c. vaccine bulbs were used, these were scaled before putting into the shaking machine.

#### The bacterial emulsion:

In the four so-called fundamental experiments given here first, counted emulsions were used so that the number of bacteria might be made exactly the same in each. The cultures were in each case of the same age — i. e. a 24 hour's growth of a strain recently isolated from the body — and were grown on the same medium; the importance of these points is well known. As a general rule in the comparative experiments following a 24 hour's growth on one agar slope was washed off into 10 c. c. of 0.9 NaCl solution. 9 c. c. of this emulsion was then used with 1 c. c. of toluol. In working with those bacteria with which it was clear from earlier experiments that the resistance to toluol was slight, much more dilute emulsions were used, with relatively very small amounts of toluol. The object of this was to make the reaction more delicate. These experiments concern chiefly the coli-typhoid group and other Gram negative organisms.

The salt factor: The presence of dissolved NaCl increases the disinfectant power of phenol, but whether it has the same effect on toluol was not here investigated. Saline emulsions were used throughout these experiments because the phenol comparison was a secondary consideration, and because many of the experiments lasted over several weeks or months. The comparison aimed at was not a contrast of different disinfectants, but different bacteria with the one disinfectant.

### The toluol:

The substance used was Merck's pure toluol; it was used in its natural form, that is, it was not emulsified in any way. In most of the experiments an amount equal to 10% of the whole mixture was used. In the more delicate experiments very small amounts were used 0.1% or less in some cases, in 10 c. c. of emulsion, that is about 0.01 c. c. of toluol. These very small quantities were measured by the method devised by R. Donald<sup>5</sup> in which a capillary pipette of known external diameter is used for delivering drops of known and equal size.

### The subcultures:

As already stated about  $\frac{1}{4}$  c. c. of the treated emulsion was taken up in a sterile Pasteur pipette from below the layer of toluol. This was withdrawn into the pipette, the adherent toluol flamed off and after cooling the pipette, the emulsion was discharged into the medium.

As a rule agar slopes have been used for the subcultures in these experiments because the amount of growth on the agar usually shows at a glance the degree of attenuation the bacterial emulsion has arrived at. This is indicated by the relative number of + signs in the experiments detailed below.

Where there was only a slight growth it occurred in the water of condensation at the bottom of the tube, and by flowing this over a free growth was obtained after a further 12 hours incubation. This method was found to produce growth with a greater certainty than when tubes of broth were used as a medium for subcultures.

In the experiments on the coli-typhoid group of organisms a special litmus glucose peptone water medium was used.

### Latency:

This point will be referred to in special instances; it was noted in some cases where bacteria had been treated with toluol for some weeks that no growth occurred until after 24 or in some instances 48 hours incubation. This was most marked with the staphylococcus group. It was not found in connection with spores; even after 12 months treatment of spores with toluol a free growth was obtained after 18 hours incubation of the subculture.

### Controls:

The experiments with toluol have the advantage that none of the disinfectant substance need be carried over with the subculture into the new medium. This is of great importance as it has shown in connection with anthrax spores that when these have been weakened, but not killed, by treatment with mercury perchloride, they will fail to grow if there is the merest trace (one part in two million) of this substance present in the subculturing medium. Bechhold thinks it probable that sufficient absorbed disinfectant may be given up to the subculture medium by the treated bacteria to inhibit their growth, in that medium, and that many disinfection test experiments are failures, or give faulty results, from this cause. In the case of toluol the inhibitory power of this substance in the medium was fully tested in connection with *B. coli* by adding a quantity of toluol ( $\frac{1}{2}$  c. c.) to the surface of the inoculated broth. The toluol evaporated and free growth had taken place after 24 hours incubation. Thus any toluol carried by faulty technique in these experiments, or any liberated in the medium from the added bacteria must have been rapidly evaporated, and would in no way vitiate the results of the experiments. In many of the experiments to be described a control was effected by taking a subculture after the addition of the toluol, but before it had been shaken with the bacterial emulsion.

### Temperature of the reaction:

The experiments were carried out during various months of the year at ordinary laboratory temperature varying between about 15° C and 20° C.

### The immediate object of the experiments:

As already stated it was sought to show in these experiments the great variation exhibited by different bacteria in relation to this disinfectant. Experiments designed to show this ought naturally to have a common basis of comparison. This is not easy to provide. It would not be sufficient to obtain in each case the carbohc coefficient. This would give a comparison of the two disinfectants when opposed to various bacteria; it would not however give an absolute comparison of resistance of the various organisms to the one disinfectant. No one of the three factors would be constant. The dis-

infectants being of a different nature, one soluble and the other insoluble, would act differently on the different bacteria. Alterations in the action of the standard would then diminish or accentuate the action of the substance to be compared with it. Moreover the differences between the action of toluol and carbolic acid in respect of some organisms are so great as to be beyond the limits of reasonable comparison. Probably the results will be as nearly comparative as possible when the emulsions to be tested contain the same number of bacteria, of the same age and derived from the same medium.

In the first so-called „fundamental“ experiments this was carried out and the comparative results are very striking. The succeeding experiments are not comparable in the same way but they serve to amplify the more accurate experiments first given. In some cases a comparison with phenol has been carried out as well as was possible and this helps to a further standard of comparison as between disinfectants.

### Fundamental Experiments.

#### Staphylococcus aureus.

A culture isolated two weeks previously was grown for 24 hours on agar, washed off into normal saline, counted, and made up to a strength of 1,000 million per c. c. 9 c. c. of the emulsion with 1 c. c. of toluol were placed in a flask, sealed, and shaken vigorously by machine at intervals for two weeks. Cultures on agar were made at the times, and with the results shown below.

Before shaking	shaking 1 hour	3 hours	24 hours	3 days	10 days	14 days	17 days
+++	+++	+++	+++	++	+	+	—

#### B. coli. Recently isolated.

A 24 hours growth on agar was made up into an emulsion in saline of a strength of 1,000 million per c. c.

9 c. c. of emulsion and 1 c. c. of toluol were sealed in a flask, shaken and cultured on agar slopes as in the previous experiment.

Before shaking	20 minutes shaking	1 hour	2 hours	4 hours	8 hours
+++	++	+	+ in water of condensation	-	--

*Micrococcus catarrhalis*. Recently isolated.

An emulsion in saline of a 24 hours culture was made of a strength of 1,000 million per c. c. and treated with 10% of toluol as before.

Before shaking	1 hour shaking	2 hours	4 hours	8 hours	24 hours
++++	++	+	+ in water of condensation	-	-

*Streptococcus pyogenes*. Recently isolated from the blood.

An emulsion of 1,000 million per c. c. was treated with 10% toluol.

Before shaking	1 hour shaking	3 hours	5 hours	24 hours	48 hours
++++	++++	+++	++	+ in water of condensation	-

From these experiments it is clear that toluol is 120 times more rapid in its effect on the *B. coli* than it is on the staphylococcus. A similar ratio prevails in respect of *M. cartarrhalis* and staphylococcus. The streptococcus occupies an intermediate position.

**Series of routine Experiments.**

Sporing bacteria.

1. *B. mycoides*. A 24 hours growth on one agar slope was washed off into 10 c. c. of normal saline forming a thick emulsion. 9 c. c. of the emulsion were sealed up in a bulb with 1 c. c. of toluol and shaken at intervals by machine. Cultures taken and planted on agar at intervals up to the end of the 12th. month still grew freely after 24 hour's incubation.

2. A delicate rod shaped organism, Gram negative and freely motile showing drumstick spores in cultures over 24 hours old.

An emulsion was made from one slope of 24 hours growth in 10 c. c. of saline. 9 c. c. of saline and 1 c. c. of toluol were sealed up in a glass bulb and shaken at intervals. Cultures taken after 2 months still grew freely on agar after 24 hours incubation.

### 3. *B. subtilis*.

A standard emulsion was made and treated with 10% of toluol as above and after one week subcultures grew freely. The experiment was not continued.

It will be noticed that growth was not delayed, even when the spores had been treated with toluol for many months. (c. f. *Staphylococcus*.)

### *Staphylococcus aureus*.

A standard emulsion was made as with the sporing bacteria from a 24 hours growth on one agar slope suspended in 10 c. c. of normal saline. 10% by volume of pure toluol was added to the emulsion in a glass stoppered bottle. The bottle was shaken by machine occasionally; subcultures were taken at weekly intervals and planted on agar slopes.

Using a similar emulsion a comparative test was made with  $\frac{1}{2}$ % phenol.

	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks	7 weeks
10% Toluol	++++	+++	+++	++	+	+	-
	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
$\frac{1}{2}$ % Carbolic	++++	+++	++	+	+	-	-

In this experiment  $\frac{1}{2}$ % carbolic acid solution exerts an action on *staphylococcus* about eight times as powerful as does 10% by volume of toluol.

### *S. albus*.

This organism was tested against toluol in the same way as the previous one. Cultures grew freely after two weeks. The experiment was not continued.

*Micrococcus ureae.*

This was tested in the way just described. Subcultures grew freely after three weeks treatment with 10% toluol. The experiment was then discontinued.

*Sarcina lutea.*

The usual standard emulsion made from a 24 hours growth was treated with 10% of toluol.

Cultures taken at intervals until the end of the fourth month grew freely. After five months the emulsion remained sterile on culturing. With this organism as with the staphylococcus a considerable latency of 24 or 48 hours was noticed before growth commenced in the later subcultures.

*Streptococci.*

The usual standard emulsion of a 24 hours growth on one agar slope, was made up with 10 c. c. of normal saline, 1 c. c. of toluol was added to 9 c. c. of the bacterial emulsion and the mixture shaken in a stoppered bottle.

The source of the cultures, the times of culturing and the results are given in the subjoined table.

Nature of disease and Source of organism	Time of culturing					
	1 hr.	3 hrs.	6 hrs.	18 hrs.	24 hrs.	48 hrs.
Acute septicaemia . . . blood	+	+	+	+	+	-
Bronchitis (Pneumococc) sputum	+	+	+	+	+	-
Erysipelas . . . . . skin bleb	+	+	+	-	-	-
Puerperal sepsis . . . . . uterus	+	+	+	-	-	-
Acute Carbuncle . . . . . abscess	+	+	+	-	-	-
Puerperal sepsis . . . . . blood	+	+	+	-	-	-
Chronic septicaemia . . . . . blood	+	-	-	-	-	-
Chronic tuberculo-sepsis . . . . . bone lesion	+	-	-	-	-	-
Chronic cystitis . . . . . bladder	+	-	-	-	-	-

The variability in resistance of these different strains of streptococci to the action of toluol may be in part explained by the difficulty often experienced in getting streptococci to grow in subculture. Even however allowing for this, it is evident that a considerable difference in the susceptability of these strains to the action of toluol exists.

No streptococcus was found which was successfully subcultured after 48 hours treatment with toluol. The organism showing the greatest resistance was a typical long chained streptococcus pyogenes derived from the blood in a virulent case of septicaemia. The least resistant was a small conglomerate organism derived from a case of chronic cystitis; and a somewhat similar organism derived from the blood in a case of chronic septicaemia with localised abscesses. It may be here stated that the more virulent organisms were as a rule more delicate and slowly growing than those at the bottom of the table which occurred in chronic diseases, and which showed less resistance to the action of toluol. This is pointed out to make it clear that the relative resistance was not dependant on a relatively thicker emulsion due to a more vigorous growth.

### Gram Positive Bacilli.

#### Diphtheria bacillus.

A 24 hours growth on one slope of Löffler's blood serum was made up into the standard emulsion with 10 c. c. of saline. 1 c. c. of toluol was added to 9 c. c. of the emulsion and the mixture shaken in a stoppered bottle.

Subcultures were made into serum slopes.

Before shaking	5 minutes shaking	15 minutes	30 minutes
++	-	-	-

The experiment was repeated as follows. A 48 hours growth one serum slope was emulsified in 5 c. c. of saline forming a thick opalescent emulsion. 2 c. c. of this emulsion was added to 8 c. c. of saline in each of two glass stoppered bottles. Toluol was then added in the proportion of 1% and 0.25% respectively.

Amount of Toluol added	Culture taken before shaking	1/4 hour shaking	1 hour shaking
1%	+	-	-
0.25%	+	+	-

The subcultures were made on the usual serum slopes, and examined after 24 and 48 hours incubation.

### Diphtheroid bacilli.

In each case the standard emulsion was made up from a 24 hours growth on one agar slope, these bacteria varied in rate of growth and therefore in strength of emulsion formed; this point is noted in each case.

1. Bacillus isolated from a chronic ulcer of the eye, growing slowly on agar.

Cultures taken after 1, 2, and 3 hours failed to grow.

2. Short fat bacillus isolated from stomach washings, in case of „toxic arthritis“ associated with gastritis. This organism grew slowly and feebly on agar.

Cultures after 6 hours treatment produced a fairly free growth and even after 24 hours treatment one or two colonies grew in subculture.

3. Large bacillus isolated from a case of acute nasal catarrh; grew very freely on agar and formed a thick emulsion.

Cultures after 1, 2, and 3 hours treatment were sterile.

4. A short, fat diphtheroid bacillus isolated from a comedo and growing slowly on ordinary agar.

Cultures taken up to the end of 48 hours treatment with toluol still grew; the experiment was not continued.

5. Bacillus isolated from a freely secreting sebaceous gland, grew freely on ordinary agar.

Cultures were positive until the 5<sup>th</sup> day.

These two last mentioned varieties were presumably not the ordinary variety of acne bacillus since although they were isolated from sebaceous matter they both grew on ordinary agar.

### Acne bacillus.

1. A large protean bacillus obtained in pure culture from a deep abscess of the cheek. The deposit from a two weeks old broth culture was emulsified in 9 c. c. of saline and 1 c. c. of toluol added. Subcultures were made in the ordinary neutral broth. A subculture taken after 2 hours grew; after 24 hours the subculture remained sterile.

2. Bacillus isolated from a blackhead growing feebly on acid agar. An emulsion was made up from a broth culture as before.

The results of the subcultures were precisely the same as in the case just described.

3. Short bacillus grown anaerobically in broth with an admixture of about 10% staphylococcus albus.

An emulsion was made as above. Acne bacilli grew in cultures taken up to one hour. Cultures taken after one hour's treatment grew only cocci; after 48 hours the cultures were sterile.

4. A mixed emulsion similar to the above, but of a different strain was used. Cultures up to the end of 48 hour's treatment produced an abundant growth of both bacilli and cocci. (At this point an untimely accident closed the experiment.)

The broth cultures of the acne bacillus were incubated for two weeks to allow abundant time for growth to take place.

#### Tubercle bacillus.

A rapidly growing culture, 4 weeks old, on Dorset's egg medium was washed off and made up into a thickish opalescent emulsion with 10 c. c. of saline. 1 c. c. of toluol was added to 9 c. c. of the emulsion, the mixture sealed up in a bulb and shaken for 50 minutes. After standing for 10 minutes to allow the toluol to rise to the surface,  $\frac{1}{2}$  c. c. of the bacterial emulsion was withdrawn, and injected intraperitoneally into a guinea-pig.

After 24 hours further treatment with the toluol a second guinea-pig was injected in the same way; and a third one at the end of one week. The emulsion contained about 1,000 million bacilli per c. c. and showed in films masses of acid fast organisms, associated with a certain amount of amorphous non acid fast substance.

The injected animals all showed a steady increase in weight. At the end of five weeks all three were killed and examined; no trace of tuberculosis was discovered in any one of them.

#### Gram Negative Organisms.

It has been shown in the experiments described at the beginning of this paper that the bacteria belonging to this class are relatively very susceptible to the action of toluol. This allows of more accurate and delicate testing and to ensure this a more dilute standard emulsion was adopted and very much smaller quantities of the disinfectant were used. In some cases a comparison with carbolic acid was effected at the same time.

With one or two exceptions the technique was similar in all the experiments now to be described. A four hours growth of the

organism on one agar slope (a 24 hours growth on hydrocele agar, in the case of the gonococcus, on account of its slow growth) was emulsified in 10 c. c. of normal saline; 0.25 c. c. of this emulsion was then added to 9.75 c. c. of saline in the glass stoppered bottles. The toluol was then added in the required proportions by means of a capillary dropping pipette. Shaking was carried out by machine as in the previously described experiments.

### Gram Negative Cocci.

#### Gonococcus.

A culture some weeks out of the body was used, growing freely on hydrocele agar. The subcultures were planted on hydrocele agar slopes.

The final readings were made after 48 hours incubation.

% of Toluol	Time of treatment-shaking		
	15 minutes	30 minutes	60 minutes
$\frac{1}{4}$	—	—	—
$\frac{1}{8}$	+	—	—
$\frac{1}{14}$	++	+	—

#### M. catarrhalis.

Isolated 48 hours from body. Growing rapidly on agar. Growth in the subcultures was slight in the first 24 hours except in the lower dilutions with shorter time of treatment with toluol, in these it was abundant.

% of Toluol	Time shaking with Toluol			
	5 minutes	15 minutes	30 minutes	60 minutes
$\frac{1}{2}$	++	—	—	—
$\frac{1}{4}$	+	+	+	+
$\frac{1}{8}$	+	+	+	+
$\frac{1}{120}$ Phenol	+++	+	+	++

### Gram Negative Bacilli.

The following organisms in this group were treated with small quantities of toluol. B. coli, B. typhosus, (B. dysenteriae Flexner) B. proteus, B. pyocyaneus, B. prodigiosus.

*B. coli.*

The subcultures were planted in a special glucose peptone litmus medium and were incubated 48 hours.

% of Toluol	Time shaking with Toluol			
	5 minutes	20 minutes	60 minutes	120 minutes
$\frac{1}{4}$	—	—	—	—
$\frac{1}{8}$	+	—	—	—
$\frac{1}{14}$	+	+	+	—
$\frac{1}{120}$ Phenol	+	—	—	—

*B. typhosus.*

% of Toluol	Time shaking with Toluol		
	5 minutes	20 minutes	60 minutes
$\frac{1}{4}$	—	—	—
$\frac{1}{8}$	+	—	—
$\frac{1}{14}$	+	+	+

A control tube was inoculated with the dilute emulsion as used in the experiment and  $\frac{1}{8}$  % of toluol added. The toluol evaporated and the culture grew freely in 48 hours.

*Bacillus dysenteriae* of Flexner.

A laboratory culture was used here. The subcultures were made into the glucose peptone medium, and incubated for 48 hours.

% of Toluol	Time shaking with Toluol		
	5 minutes	20 minutes	60 minutes
$\frac{1}{2}$	+	—	—
$\frac{1}{4}$	+	—	—
$\frac{1}{8}$	+	+	—
$\frac{1}{14}$	+	+	+

*B. pyocyaneus.* Recently isolated from body.

Subcultures were made on agar slopes, and incubated 48 hours.

% of Toluol	Time shaking with Toluol		
	5 minutes	20 minutes	60 minutes
$\frac{1}{2}$	+	—	—
$\frac{1}{4}$	+	—	—
$\frac{1}{8}$	+	—	—
$\frac{1}{120}$ Phenol	++	—	—

*B. proteus.*

A stock laboratory culture was used; the bacillus was negative to Gram's stain. Subcultures on agar slopes — 48 hours incubation.

% of Toluol	Time shaking with Toluol		
	5 minutes	20 minutes	60 minutes
$\frac{1}{4}$	—	—	—
$\frac{1}{8}$	—	—	—
$\frac{1}{16}$	—	—	—

*B. prodigiosus.* Laboratory culture.

Subcultures on agar slopes — 48 hours incubation.

% of Toluol	Time shaking with Toluol		
	5 minutes	20 minutes	60 minutes
$\frac{1}{2}$	—	—	—
$\frac{1}{4}$	—	+	—
$\frac{1}{8}$	—	+	—

### Comparison of the action of Benzol and Xylol with that of Toluol.

For purposes of a rough comparative study experiments were carried out with benzol and xylol on lines similar to those already described in connection with toluol.

These two members of the aromatic group possess chemical and physical properties very similar to those of toluol; and they are situated respectively immediately above and below toluol in the aromatic series. *Staphylococcus aureus* was chosen as representative of the class of bacteria showing the least marked action of toluol as a bactericidal agent (exclusive of sporing bacteria). *B. coli* was taken as representative of a class on which the action of toluol was found to be well marked.

*Staphylococcus* — Benzol.

A 24 hours growth of a recently isolated culture on one agar slope was emulsified in 10 c. c. of saline; 9 c. c. of this emulsion was added to 1 c. c. of benzol and sealed in a glass bulb. The mixture was shaken rapidly by machine for  $\frac{1}{2}$  hour on the first

day, and occasionally on the later days of the experiment. Subcultures (of  $\frac{1}{4}$  c. c.) were planted on agar slopes at intervals and with results as follows.

1 day	3 days	6 days	9 days	12 days
++++	+++	++	+	—

#### Staphylococcus — Xylol.

An emulsion similar to the above with 10% of xylol was sealed in a bulb, and cultures as in the previous experiment.

1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
++++	+++	++	+	—

#### B. coli — Benzol.

A 24 hours growth on one agar slope was washed off into 10 c. c. of saline. 9 c. c. of the emulsion with 1 c. c. of benzol were placed in a bulb, sealed up and shaken as in previous experiments. A control subculture was taken after the addition of the benzol but before shaking up. Further cultures were taken at intervals, and planted on agar slopes.

Before shaking	Shaken 1 hour	3 hours	5 hours
++++	--	—	—

#### B. coli -- Xylol.

The experiment was carried out precisely in the same manner as the previous one, xylol being substituted for benzol.

Before shaking	Shaken 1 hour	3 hours	5 hours
++++	++	+	—

#### Carbolic Coefficient of Benzol and Xylol.

The carbolic coefficients of benzol and xylol to B. coli were then worked out in the same way as was done with toluol. 0.25 c. c. of coli emulsion was added to 9.75 c. c. of saline in each of five bottles. Benzol or xylol respectively were

now added to the first four in proportions of  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$  +  $\frac{1}{14}$  0%, the fifth bottle was made up to a strength of  $\frac{1}{120}$  carbolic. Cultures were taken as in the previously described experiments and planted in a glucose peptone litmus medium.

0% of Benzol	5 minutes	30 minutes	60 minutes
$\frac{1}{2}$	—	—	—
$\frac{1}{4}$	—	—	—
$\frac{1}{8}$	+	+	—
$\frac{1}{14}$	+	+	+
$\frac{1}{120}$ Carbolic	+	—	—

0% of Xylol	5 minutes	30 minutes	60 minutes
1	+	—	—
$\frac{1}{4}$	+	+	—
$\frac{1}{8}$	+	+	—
$\frac{1}{14}$	+	+	+
$\frac{1}{120}$ Carbolic	—	+	—

### Yeasts.

Baker's yeast. This was taken in the resting condition; films showed large discrete cells, there were also a few Gram positive bacilli to be seen.

A thick opaque emulsion was made up in saline. 9 c. c. of this emulsion was added to 1 c. c. of toluol in a stoppered bottle and shaken by machine. Cultures were taken at intervals and put into a glucose medium and incubated 56 hours.

Before shaking	5 minutes	20 minutes	60 minutes
+	—	—	—

Yeast isolated from sputum and growing freely on agar. A 24 hours growth on one slope was made up into an emulsion with 10 c. c. of saline. 9 c. c. of emulsion were treated with 1 c. c. of toluol as above. Subcultures were made into agar slopes at intervals.

Before shaking	5 minutes	20 minutes	60 minutes
+++	+	—	—

Yeast from throat culture growing freely on agar.

A thick emulsion from a 24 hours growth was made up in 10 c. c. of saline and was treated with 10% toluol. Cultures were made on agar slopes.

5 minutes	20 minutes	60 minutes	24 hours	2 days	3 days
++++	+++	++	+	+	-

### Summary of Results of disinfection Experiments.

A summary of the results of the experiments described above brings out some points with clearness; in other respects the results appear to be indefinite. Owing to the unusual nature of the technique this may in part be ascribed to experimental error; it is, however, probable that many of the variable results, for instance those obtained with the streptococci, diphtheroid bacilli and the yeasts, point to a greatly varying degree of susceptibility, or affinity in the bacteria, for the disinfectant. The outstanding features then of the action of toluol as a disinfectant on various organisms are.

1. A very great resistance to this disinfectant on the part of sporing bacteria.

2. A considerable resistance on the part of the organisms constituting the staphylococcal group.

In these two groups, so far as they have been tested here, it may be said that the disinfectant power of toluol is practically nil.

3. A very variable but usually slight degree of resistance of the streptococcal group; the resistance appears to be greater in the more virulent strains.

4. A definite susceptibility of the tubercle bacillus.

5. A marked susceptibility of the diphtheria bacillus and some of the diphtheroid bacilli.

6. A marked susceptibility on the part of all those Gram negative organisms, whether cocci or bacilli, that are included in the above investigation (sporing bacteria excepted).

### Inhibitory Effect of various substances on the action of Toluol.

Various substances were tested in respect of their power of inhibiting the disinfectant action of toluol. *Bacillus coli* was used as the test organism. The different fatty, albuminous and carbo-

hydrate substances were dissolved or suspended in the bacterial emulsions; a proportion of 5% by weight in the case of solids and by volume of liquids was used.

Toluol was added in the proportion of 1% by volume. The disinfecting and subculturing process was carried out as in the previously described experiments.

The substances tested were olive oil, liquid paraffin, blood serum, hydrocele fluid, blood corpuscles, pus, starch, and dextrose.

No inhibitory effect on the disinfectant action was noticed from the presence of dextrose or starch.

The various albuminous bodies exerted a slight inhibitory action. Olive oil and liquid paraffin both showed a very marked inhibitory action.

The effect of the oil was tested further and it was found that one part of oil was sufficient to exert a most pronounced inhibitory action over 50 parts of toluol, when the disinfectant and oil were mixed before use.

Fatty substances then are those which possess the greatest affinity for toluol. Albuminous substances on the other hand have a very much less affinity towards it.

Since the differences in the behaviour of various bacteria towards toluol as a disinfectant are so great we are justified in arguing marked differences in structure and composition. It is a question how far the results of the disinfection experiments on bacteria are to be compared with the conclusions just stated on the affinity of toluol for fatty and albuminous substances. For the present it seems fair to assume the presence of an available lipid moiety in those bacteria which are readily destroyed by toluol, and the absence of this moiety in those which escape its action.

### **The Effect of the prolonged treatment of Bacterial Emulsions with Toluol.**

The bacterial emulsions tested with 10% toluol in the preceding experiments were in most cases retained in contact with the disinfectant in sealed vessels for several months. Stained films were then examined. The condition of the bacteria observed varied greatly, and the effects were not to be brought into comparison with the results of the disinfectant experiments. That is to say it was not found that the organisms most readily killed by toluol, or in fact by other means, were those that most readily disinte-

grated. On the contrary the organism most completely destroyed after three months in the toluolised saline was the staphylococcus aureus; that least affected was a sarcina an organism with morphological and tinctorial characteristics somewhat similar to the Staphylococcus.

The exact conditions found after various lengths of time are set down below.

Gram stain with a counter stain of neutral red was used in judging the condition of bacteria normally retaining Gram's stain, since it has been shown by the present writer<sup>2</sup> that this stain is only retained by the intact bacterial cell. Dilute carbol fuchsin and methylene blue stains were used for normally Gram negative bacteria.

#### Diphtheria bacillus — two months treatment.

There was no bacterial disintegration and no alteration of the normal disposition of these bacteria in the films. Granule staining by Neisser's method failed. Gram staining was patchy and granular. These two stains were both quite normal in their effect on this emulsion when it was first put up.

Diphtheroid bacilli (3 varieties).	3 months.	Nearly all the bacilli were Gram positive and intact.
Acne bacillus.	3 months.	Practically all bacilli intact and Gram positive.
B. coli.	2 months.	Mostly intact bacteria, a little degenerate substance.
B. coli.	6 months.	Entirely degenerate and amorphous.
Staph. aureus.	2 months.	Mostly amorphous, Gram neg. substance, a few intact cocci.
Staph. aureus.	6 months.	Practically all amorphous substance.
Sarcina.	6 months.	Practically all intact and Gram positive.
Streptoc. longus.	2 months.	Mostly amorphous Gram neg. substance. Those bacteria which were intact showed only a central spot of stain. (Babes-Ernstkörnchen).
Pneumococcus.	3 months.	No Gram positive substance or intact cocci seen.

- Bacill. mycoides. 12 months. Occasional large oval spores embedded in amorphous substance. No integrate vegetative bacterial forms visible. The spores took the fuchsin stain rather more readily than normal.
- Tubercle bacillus. 2 months. Numerous acid fast bacilli. Some amorphous non acid fast substance.
- Tubercle bacillus. 6 months. No acid fast substance or intact bacilli to be seen.

### Conclusions.

1. Toluol has no effect on spores and very little on the staphylococcal group of organisms.

2. It readily destroys all organisms of the Gram negative class.

3. It has a marked action on the tubercle bacillus and on the diphtheria and many diphtheroid bacilli.

4. It has a moderately well marked destructive action on the streptococcal organisms.

5. Disintegration and lysis of bacteria in emulsions exposed to the action of toluol does not readily take place whether they have been killed by the toluol or have resisted its action.

6. The action of toluol is markedly inhibited by the presence of fatty substances.

7. Albuminous substances have a relatively slight inhibitory effect on toluol.

8. Benzol and Xylol show peculiarities in their disinfectant action similar to those observed in connection with Toluol.

Benzol is apparently the most potent as a disinfectant.

In conclusion I wish to express my thanks to Professor Bulloch for advice and assistance in connection with this work; also to Dr. Paul Fildes and Dr. Robert Donald of this hospital. My thanks are further due to The London Hospital Research Committee for financial assistance received in connection with the carrying out of this research.

### References.

1. Bechhold, *Die Kolloide in Biologie und Medizin*. Dresden 1912, S. 373.
2. Benians, *Journal of Path. and Bact.* 1912, Vol. XVII, p. 199.
3. Chick, *Journal of Hygiene* 1908, Vol. VIII, p. 92.
4. Cooper, *Brit. med. Journ.* 1912, Vol. I, p. 1234.
5. Donald, *Proc. Roy. Soc. B.* 1913, Vol. LXXXVI, p. 198
6. Löffler, *Deutsche med. Wochenschr.* 1894, Nr. 42, S. 221.

## Über die Jarisch-Herxheimersche Reaktion der Gummata auf die Salvarsanbehandlung.

Von

Privatdozent **A. Hitrowo.**

Die Beobachtungen zeigen, daß die sogenannte Jarisch-Herxheimersche Reaktion bei der Salvarsanbehandlung in früheren Perioden der Syphilis öfter und in intensiverer Form konstatiert wird, als bei der gewöhnlichen Quecksilberkur. Daß dieses Phänomen auch manchmal in syphilitischen Gummata beobachtet werden kann, unterliegt keinem Zweifel. Da diese Reaktion bei der Salvarsanbehandlung der Gummata ein hervorragendes Interesse und praktische Wichtigkeit darstellt, so halte ich es für notwendig, meine Beobachtungen in betreff dieser Frage mitzuteilen.

### Fall 1.

Patient Sch., 28 Jahre alt, Musiker, erkrankte an Syphilis vor 7 Jahren. Trotz der sorgfältigen und energischen spezifischen Behandlung, verlief die Krankheit sehr bösartig. Schnell aufeinander folgende Rezidive äußerten sich hauptsächlich in pustulösem Ausschlage. Im Verlauf der Krankheit erhielt der Kranke ungefähr 300 (vielleicht auch mehr) Quecksilberinjektionen, und nicht weniger als 300 Quecksilbereinreibungen, Kal. jod. wurde auch vielfach gebraucht. Vor 3 Jahren unterwarf sich der Kranke einer plastischen Operation der Nase; die Operation ist mißlungen, da bald auf der Stelle derselben ein Zerfall eingetreten ist. Am 15. September 1910 wurde der Kranke in die Klinik aufgenommen. Status praesens: Der Kranke ist entkräftet, Gewicht 56 kg. Die Haut des Kopfes, des Körpers und der Extremitäten ist bedeckt mit einer Menge von Narben des pustulösen Syphilids. Die Narben sind verschiedenen Alters und Tiefe. Meistenteils besitzen die Narben die Größe eines Talers, sind rund oder oval, teilweise schmelzen sie mit den nebengelegenen zusammen, und erhalten einen deutlichen wallartigen Rand. Was die Farbe der Narben anbetrifft, so variiert dieselbe stark: neben perlmutterweißen Narben sind auch pigmentierte zu sehen, wobei die Intensität der Pigmentation in der Richtung zu den unteren Extremitäten allmählich zunimmt. Auf der Stirn, im Bereiche der Glabella, sind gommaartige Wunden vorhanden, ziemlich tief,

zusammenfließend, serpiginiierenden Charakters. Die Wunden besitzen eine unregelmäßig runde Form, unreinen Boden und infiltrierte Ränder. Die Konfiguration der Nase ist infolge des Defekts der Nasenspitze und eines Teiles der Knorpelzwischenwand verletzt. Eine fast ebensolche Narbe, bloß mehr an der Oberfläche ihren Sitz nehmend, ist auf dem Rücken vorhanden, doch besitzt sie die Größe eines Talers, eine rundliche Form, und weniger infiltrierte Ränder. In der Gesäßgegend sind eingezogene Narben und tief in der Tela subcutanea, teilweise auch in Muskeln, sitzende Gummata, stark ausgeprägt, rundlicher Form, in der Größe von einer Erbse bis zu einer Haselnuß, vorhanden. In den inneren Organen ist, abgesehen von einer kleinen Tondämpfung in der Spitze der linken Lunge, nichts besonderes zu bemerken. Eine wiederholte Untersuchung des Sputums auf Tuberkelbazillen ergab negative Resultate. Die Spirochaete pallida im Blute nicht vorhanden. Die Wassermannsche Reaktion positiv. Ergebnisse der Blutuntersuchung: Rote Blutkörperchen 4800000, weiße 6100. Eine starke Störung des Verhältnisses zwischen verschiedenen Formen der weißen Blutkörperchen ist nicht zu bemerken. Im Harn nichts pathologisches.

In den ersten 2 Wochen des Aufenthaltes in der Klinik wurde der Kranke nicht spezifisch behandelt und hat bloß einmal täglich 0,3 Chinin eingenommen. Die Wunden wurden mit Borvaseline bedeckt und verbunden. Die Abendtemperatur ist beständig erhöht (Maximum 39,3°), das Gewicht des Kranken wechselnd; die Wunden sind reiner, der weitere Zerfall an den Rändern hat augenscheinlich aufgehört, die Stirnwunden äußern eine Neigung zur Vernarbung, die Gummata auf dem Gesäß in Statu quo.

Am 1. Oktober um 1/24 Uhr nachmittags wurde in der linken Gesäßgegend eine intramuskuläre Injektion des Präparates „606“ in der Dosis von 0,5 nach dem Verfahren von Blaschko gemacht. Die Injektion hat der Kranke gut vertragen. Die gewöhnliche Abendsteigerung der Temperatur fehlte.

2. Oktober. Die Reaktion auf der Stelle der Injektion fehlt fast ganz, bloß ein kleines Infiltrat vorhanden. An den Rändern der Stirn- und Rückenwunden ist starke Rötung und kleine Wassergeschwulst zu konstatieren, die Wunden sind trockener.

3. Oktober. Die Rötung der Stirn um die Wunden herum hat sich vermindert; die Peripherie der Rückenwunde stark gerötet. Die Gesäßgummata sind weicher.

4. Oktober. Die Rötung der Peripherie der Rückenwunde stark ausgeprägt. Die tiefsitzenden Gummata des linken und rechten Gesäßes öffneten sich mit einer großen Eiterabsonderung.

5. Oktober. Die Herxheimersche Reaktion um die Rückenwunde ist noch immer deutlich, um die Stirnwunde vermindert. Der Eiter aus den zerfallenen Gummata scheidet sich weniger aus.

6. Oktober. Sehr spärliche Eiterabsonderung. Herxheimers Reaktion um die Rückenwunde herum noch vorhanden, die Wunde selber auf dem Wege zur Genesung.

8. Oktober. Die Rötung in der Peripherie der Rückenwunde verschwunden.

10. Oktober. Die Rückenwunde ist vernarbt, die Gummata im linken Gesäß verschwunden. Die Wunde im rechten Gesäß sondert eine serös-eiterige Flüssigkeit ab. Wassermannsche Reaktion schwach positiv.

12. Oktober. Die Stirnwunde fast geheilt, die Kruste auf ihr ist noch nicht abgefallen. Die Öffnung des Gumma auf dem rechten Gesäß ist zugewachsen. Arthralgia. Periostitis incipiens tibiae dextrae.

25. Oktober. Die Gummata des linken Gesäßes sind gänzlich geheilt. Auf dem rechten Gesäß ist von neuem eine winzige Ausscheidung einer serös-eiterigen Flüssigkeit aus der Gruppe der tiefliegenden noch nicht resorbierten gummösen Knoten zu bemerken.

30. Oktober. Neuer Zerfall auf der Stirn.

2. November. Wassermannsche Reaktion schwach positiv. Resultate der Blutuntersuchung: Rote Blutkörperchen 5000000, weiße 4600.

9. November. Die Stirnwunde dehnt sich auf die Nase aus. Auf dem Rücken in der Peripherie der gewesenen Wunde ist eine neue erschienen. Die Eiterabsonderung aus der rechten Gesäßwunde hat sich verstärkt.

20. November. Zweite intramuskuläre Injektion des Präparates „606“ in der Dosis 0,6 nach dem Verfahren von Duhot. Während des weiteren Verlaufes der Krankheit ist dieses Mal keine Herxheimersche Reaktion eingetreten, die Wunden heilten allmählich, die Gummata resorbierten; die Temperatur blieb normal.

Am 21. Dezember verließ der Kranke die Klinik.

Wie wir aus der Krankengeschichte ersehen, litt der 28jährige Patient bereits 7 Jahre an einer schweren, trotz der energischen Kur fortwährend rezidivierender Syphilis. Bei dem Eintritt des Kranken in die Klinik konnten wir folgende Erscheinungen der aktiven Syphilis konstatieren: gummöse Wunden auf dem Gesichte und dem Rücken und gummöse Knoten in den weichen Gesäßteilen. Nach der Injektion des Ehrlichschen Präparates trat eine toxische Jarisch-Herxheimersche Reaktion zutage, welche sich in starker Rötung und Schwellung der Gummataränder äußerte. Die ersten Merkmale der Reaktion traten 19 Stunden nach der Injektion auf. Beinahe zur gleichen Zeit (24 Stunden später) fingen die gummösen Knoten an zu zerfallen. Es liegt klar auf der Hand, daß wir es in beiden Fällen, wie bei den gummösen Wunden, so auch bei den gummösen Knoten, mit einem und demselben, bloß in verschiedenem Grade ausgeprägten Phänomen zu tun haben. In den gummösen Wunden waren verhältnismäßig leichte Entzündungserscheinungen — Rötung, Schwellung — zu beobachten, dagegen in den gummösen Knoten eine intensivere Form derselben Entzündung, welche zum Zerfall geführt hat. Das Anfangsstadium der Entwicklung der Herxheimerschen Reaktion in den gummösen Knoten konnte man nicht infolge des tiefen Sitzes der Gummata unter der Haut deutlich genug verspüren.

Fall 2.

Kranker Sch., Bauer, 33 Jahre alt, wurde in die Klinik am 13. September 1910 aufgenommen. Behauptet 10 Jahre krank zu sein. Die Nase ist vor ungefähr 7 Jahren eingefallen. Die Wunde auf der Lippe kam ungefähr vor 2 Jahren zum Vorschein. Hat sich sehr wenig kuriert. 1909 hat er 8 wöchentliche und 30 tägliche Quecksilberinjektionen erhalten; vor diesem hat er sich nicht mit Quecksilber kuriert, sondern bloß Jk. eingenommen.

Status praesens. Der Kranke befindet sich in leidlichem Ernährungszustand; das Gewicht 60,9 kg. Die Nase ist deformiert: Der Nasenrücken ist in seinem mittleren Teile eingefallen; die Alae nasi sind dermaßen eingezogen, daß sie beiderseits tiefe Furchen bilden, welche vermittelt einer engen ritzartigen Öffnung in die Nasenhöhle münden. Bei dem Sondieren einer der Ritzen wird ein leichtes Durchgehen der Sonde in die Ritze der anderen Seite konstatiert; aus den Ritzen fließt ein eiteriges stinkendes Sekret heraus. Die obere Lippe ist der ganzen Länge nach infiltrierte; in vielen Stellen läßt sich ein aktiver Wundprozeß aufweisen, welcher zur Usur des Lippenrandes geführt hat, und dadurch das Zuschließen des Mundes unmöglich macht. Eine typische und die größte Wunde befindet sich links neben dem Mundwinkel, ihre Größe steigt bis 2 cm im Diameter. Die Wunde ist sehr tief, unregelmäßig geformt, besitzt erhöhte, von unten eingerissene Ränder und ungleichen Boden mit einem schmutzigen, eiterigen Belag. Perforatio palati duri et mollis. Wassermannsche Reaktion positiv. Resultate der Blutuntersuchung: die Zahl der roten Blutkörperchen beträgt 5040000, der weißen 6900. Das Verhältnis zwischen verschiedenen Formen der Leukocyten ist nicht gestört. Die inneren Organe sind gesund, der Harn enthält nichts Pathologisches. In der Ausscheidung der Ränder der Lippenwunde sind typische bleiche Spirochäten gefunden worden.

1. Oktober 1910. Um 3 Uhr nachmittags ist in die linke Gesäßgegend eine intramuskuläre Injektion des Ehrlichschen Präparates in der Dosis von 0,5 nach dem Verfahren von Kromayer gemacht worden. Abends ist die Temperatur normal.

3. Oktober. Der Boden der Wunde ist reiner; an der Peripherie der Wunde ist eine intensive Rötung und Schwellung bemerkbar.

4. Oktober. Die Wunde ist durch eine eigenartige Rötung stark umschlungen, die Infiltration der Ränder ist eine viel weichere als vor der Injektion.

5. Oktober. Die Wunde hat sich etwas ausgedehnt, die Peripherie der Wunde scheidet reichlich Eiter ab.

6. Oktober. Die Eiterung ist ziemlich stark. Die Infiltration der Ränder nicht vermindert, doch viel weicher.

9. Oktober. Die gummösen Wunden sind reiner und vermindern sich im Umfange. Die Blutuntersuchung konnte eine bedeutende Leukocytose aufweisen.

12. Oktober. Die Wunden eitern fortwährend stark. Die Wassermannsche Reaktion positiv.

15. Oktober. Die Eiterabsonderung vermindert, gleich wie das Volum der Wunden.

20. Oktober. Die Wunden narben..

22. Oktober. Die Narbung geht gut weiter. Die Wassermannsche Reaktion ist negativ.

2. November. Die Wassermannsche Reaktion neigt zur positiven. Die gummöse Infiltration der Ränder der Wunden wächst zu, und wieder tritt der Zerfall auf.

17. November. Die Wassermannsche Reaktion ist positiv. Die Wunden erhalten wieder einen typischen gummösen Charakter; ihre Ränder sind auseinander gebracht und der Boden mit einem schmutzigen Talgbelage bedeckt.

20. November. Eine zweite intramuskuläre Injektion des Ehrlichschen Präparates in der Dosis von 0,6 nach dem Verfahren von Duhot in die rechte Gesäßgegend.

22. November. Eine schwach ausgeprägte reaktive Rötung der Ränder der Wunde und Saftigkeit des gummösen Gewebes ist zu bemerken.

25. November. Die reaktive Rötung der Ränder der Wunde ist bereits verschwunden.

27. November. Die Wassergeschwulst der Ränder der Wunde ist auch nicht mehr aufzuweisen. Die Wunden narben. Die Zahl der roten Blutkörperchen beträgt 6400000, der weißen 6400. Hämoglobin 14%.

30. November. Die Wassermannsche Reaktion neigt stark zur negativen. Die Ränder der Wunde sind weder infiltriert noch angeschwollen.

7. Dezember. Die Heilung der Wunden schreitet energisch vor.

10. Dezember. Wassermannsche Reaktion negativ.

18. Dezember. Alle Wunden sind vernarbt, der Kranke verließ die Klinik.

In diesem typischen Falle einer schweren wunden gummösen Syphilis der Nase und der Oberlippe ist also die Herxheimersche Reaktion nach der Injektion des Ehrlichschen Präparates nicht nur in Form einer Rötung und Schwellung aufgetreten, sondern äußerte sich außerdem noch in echter, eiteriger Entzündung mit Zerfall der Ränder der Wunde, d. h. der gummösen Masse. Nach der zweiten Injektion des Salvarsans war die Herxheimersche Reaktion auch aufgetreten, doch in sehr schwacher Form.

### Fall 3.

Tsch., Schneider, 24 Jahre alt, trat in die Klinik am 4. November 1911 ein. Meint krank seit dem 6. Lebensjahre zu sein. Übelriechender Schnupfen mit Blut enthaltender Ausscheidung, kam zum ersten Mal im Alter von 12 Jahren zum Vorschein. Wurde sehr wenig und unregelmäßig spezifisch behandelt.

Status praesens. Der Kranke ist genügend ernährt. Körpergewicht 49,4 kg. Die Konfiguration der Nase ist verändert, eingefallene Nase — „nez de mouton.“ Septum narium fehlt. Aus dem Inneren der Nasenhöhle fließt eine reichliche übelriechende eiterige Substanz heraus. Das Palatum molle ist perforiert, die Uvula aber ist intakt. Die Ränder der Perforation besitzen eine unregelmäßige Form, sind stark infiltriert und gerötet. Wassermannsche Reaktion positiv. Im Harn sind Eiweißspuren vorhanden, Nierenzylinder fehlen.

5. November. Intramuskuläre Injektion des Salvarsans in der Dosis von 0,6 in die rechte Gesäßgegend nach dem Verfahren von Duhot. Ruhe, Milchdiät.

7. November. Hyperämie und Schwellung in den Rändern des perforierten Bereiches. Temperatur 38,7°.

8. November. Im Harn sind körnige und hyaline Zylinder gefunden worden, gleichwie auch Eiweiß. Die Hyperämie und die Wasserschwellung der Ränder der Perforation ist vergrößert.

11. November. Temperatur 38,3°. Starke Verschärfung des gummösen Prozesses in der Mundhöhle; die Infiltration an den Rändern der perforierten Stelle zerfällt, scheidet sich viel Eiter aus, die Hyperämie um die Perforation herum ist sehr stark. Das Schlucken schmerzhaft.

12. November. Der Zerfall des gummösen Infiltrates geht weiter vor sich. Temperatur 38,6°.

13. November. Eiterabsonderung vermindert. Das Schlucken weniger schmerzhaft, Temperatur 36,8°. Eiweiß im Harn.

14. November. Der Eiter scheidet sich viel weniger aus.

17. November. Die Infiltration und die Rötung der Ränder der perforierten Stelle sind verschwunden, die Eiterung fehlt.

18. November. In den Rändern des perforierten Bereiches tritt eine Narbung zutage.

20. November. Die Narbung geht energisch weiter.

24. November. Die Ränder der Perforation sind vollständig vernarbt; der Kranke verließ die Klinik.

Auf diese Weise ist auch hier, in den Gummata des Palatum molle, nach der Injektion des Salvarsans eine intensive Herxheimer-Reaktion beobachtet worden, welche sich nicht nur in Form einer typischen akuten eiterigen Entzündung, sondern sogar im Zerfalle der gummösen Masse äußerte.

Die oben angeführten Beobachtungen sind meiner Meinung nach vor allem in der Hinsicht interessant, daß hier die typische Herxheimersche Reaktion auf die Injektion des Salvarsans in den Gummata ad oculos beobachtet werden konnte. Ferner haben diese Beobachtungen noch insofern eine Bedeutung, daß sie darauf aufmerksam machen, daß die Herxheimersche Reaktion in den Gummata nach der Injektion des Salvarsans manchmal dermaßen stürmisch verlaufen kann, daß ein schneller Zerfall der gummösen Masse eintreten vermag.

## **Filtrierbare Virusarten.**

Von

**Dr. Huntemüller.**

Mit 9 lithographischen Tafeln.

Die großen Entdeckungen Robert Kochs und seine geniale Methode zur Züchtung der Bakterien haben die Ätiologie einer großen Zahl von Krankheiten aufgedeckt und ihre Erreger festgestellt. Doch bei einer Reihe von sicheren Infektionskrankheiten wollte der Nachweis der spezifischen Erreger trotz vielfacher darauf hinielender Forschungen mit diesen bakteriologischen Methoden nicht gelingen. Da glückte es Löffler und Frosch<sup>1</sup> bei ihren Arbeiten über die Maul- und Klauenseuche, als sie den infektiösen Pustelinhalt zwecks Gewinnung eines bakterienfreien, aber die zur Immunisierung wirksamen Stoffwechselprodukte enthaltenden Filtrates durch Berkefeldfilter schickten, noch mit sehr geringen Mengen dieses Filtrates bei den Versuchstieren das typische Krankheitsbild auszulösen und weiterhin durch Verimpfung von Filtrat von Tier zu Tier eine endlose Reihe von spezifischen Infektionen zu erzeugen. Da sich das krankmachende Agens also im erkrankten Tier vermehrte, so konnte es sich nicht um ein unbelebtes Gift handeln, sondern in dem Filtrat mußten die fraglichen, organisierten Erreger enthalten sein. Das Virus mußte daher von so geringen Größendimensionen sein, daß es die Poren eines Filters, das die kleinsten bekannten Bakterien sicher zurückhielt, zu passieren imstande war.

In der Folgezeit wurde dann für eine ganze Reihe von Krankheiten die Filtrierbarkeit ihres Erregers nachgewiesen.

Man kam daher zu der Ansicht, daß es sich um ein invisibles Virus handeln müsse, das heißt um einen Mikroben von solcher Kleinheit, daß er selbst mit den stärksten Vergrößerungen unserer Mikroskope optisch nicht mehr darzustellen sei. Die Züchtung der fraglichen Erreger ist nur bei der Peripneumonie der Rinder durch Roux und Nocard und später von Dujardin-Beaumez in Serumbouillon einwandfrei gelungen. Die Befunde Bordets, Züchtung des Virus der Geflügeldiphtherie auf seinem Blutagar,

wurden von anderer Seite nicht bestätigt; auch die Züchtung des Hühnerpestvirus durch Marchoux ist nicht ganz einwandfrei. Auf die Züchtungsversuche bei Poliomyelitis komme ich später noch zurück.

Die Art und Weise, wie diese Virusarten übertragen werden, ist sehr verschieden und uns nur zum Teil bekannt. Bei einer Gruppe wird der Erreger nicht direkt von dem erkrankten Organismus auf einen anderen übertragen, sondern bedarf zu seiner Übertragung eines Zwischenwirtes, indem jedenfalls eine Entwicklung stattfindet. Hierher gehört das Gelbfieber, das durch die *Stegomya fasciata*, das Denguefieber, das durch die *Culex fatigans*, und das Pappataciefieber, das durch den *Phlebotomus pappataci* übertragen wird. Bei einer anderen Gruppe geschieht die Infektion durch den Magendarmkanal, wie bei der Maul- und Klauenseuche und der Schweinepest. Bei einer dritten Gruppe erfolgt die Infektion durch Verletzung der Oberhaut, so bei Lyssa, Vaccine und Molluscum.

Die Übertragungsweise ist für die Frage, ob es sich bei diesen Mikroorganismen um Protozoen oder um Bakterien handelt, von großer Bedeutung. Dort, wo die Übertragung durch Insekten geschieht, können wir die Protozoennatur als sehr wahrscheinlich annehmen, denn in den Insektenkörpern vollzieht sich ein besonderer Entwicklungsprozeß, es bildet sich eine zweite Generation, da die Mücken erst einige Zeit, nachdem sie an einem kranken Organismus gesaugt haben, zu infizieren vermögen. Das Virus hat zu seiner Entwicklung eine bestimmte Zeit und Temperatur nötig.

Die gelungene Züchtung des Virus gibt uns dagegen keinen Aufschluß über seine Protozoennatur, denn wir kennen eine ganze Reihe sehr hochentwickelter Protozoen, die sich leicht kultivieren lassen (in neuerer Zeit ist sogar die Züchtung des Malariaparasiten gelungen).

Ebensowenig wie über die Biologie sind wir über die Morphologie dieser Keime unterrichtet, was bei ihrer geringen Größe ja nicht zu verwundern ist. Hauptsächlich die Arbeiten v. Prowazeks haben das Dunkel, das diese kleinsten Infektionserreger umgibt, zu lüften gesucht. v. Prowazek konnte beim Trachom gemeinsam mit Halberstädter<sup>5</sup> in den Epithelzellen der Konjunktiva Einschlüsse nachweisen, die von einer deutlichen Hülle umgeben waren und in ihrem Innern eine große Menge distinkt gefärbter kleiner Körperchen enthielten, die er für die Erreger ansprach.

Wegen dieser die Körperchen umgebenden Hülle nannte er die Gebilde Chlamydozoen. Schon früher hatte er bei der Variola und Vaccine kleinste<sup>7, 8</sup> Körperchen beschrieben, die er später durch die sogenannte Ultrafiltration (Filtration des Berkefeldfiltrates durch Colloidfilter) darstellen konnte. Auch von anderen Autoren Paschen, Lipschütz, Borrel u. a., wurden derartige Gebilde gefunden und beschrieben, so bei Epithelioma contagiosum und Molluseum contagiosum.

Seit meinen Untersuchungen über die Poliomyelitis, die ich gemeinsam mit Lentz<sup>9, 10</sup> ausführte, habe ich mich näher mit diesen filtrierbaren Virusarten beschäftigt. Für die Kinderlähmung konnte ich zuerst die Filtrierbarkeit des Erregers nachweisen. Die Einwürfe, die besonders von Römer gegen die Übertragbarkeit des Virus auf Kaninchen, die wir zu unseren Versuchen verwandten, erhoben wurden, sind durch die Arbeiten von Flexner und Lewis<sup>11</sup> später klar widerlegt worden.

Bei Kulturversuchen mit virushaltiger Gehirnschubstanz, die im Verhältnis von 1:5 mit Bouillon versetzt und durch Berkefeldfilter geschickt war, bildete sich nach drei- und mehrtägigem Aufenthalt bei 37° in dem vorher völlig klaren Filtrat eine deutliche Trübung und später ein Niederschlag, der nicht durch bakterielle Verunreinigung hervorgerufen war. Weiterimpfung in Ascites- oder Serumbouillon war erfolglos, ebenso Impfung von Kaninchen. Im hängenden Tropfen konnte man bei starker Vergrößerung (Zeiß homog. Im. 2 mm Ok. 8 u. 12) kleine rundliche Körperchen unterscheiden, die einzeln oder in Haufen, oft aber auch zu zweien gelagert durch ganz feine Stäbchen verbunden waren und Hantelform zeigten. Die freiliegenden Körperchen zeigten eine sehr starke Molekularbewegung.

Flexner und Lewis sowie Lewaditi<sup>13</sup> haben den gleichen Befund erhoben, und besonders letzterer glaubte hiermit den gesuchten Erreger der Poliomyelitis gezüchtet zu haben. Hartmann, dem ich meine Kulturen demonstrierte, hielt die fraglichen Gebilde für Eiweiß resp. Lipoidausfällungen, wie er sie ähnlich zusammen mit Mühlens<sup>14</sup>) in Vaccinefiltraten beobachtet hatte. Diese Deutung war, wie ich schon damals zeigen konnte, sehr wahrscheinlich, denn durch leichtes Erwärmen des Filtrates erhielt man Trübungen, die mikroskopisch die gleichen Gebilde aufwiesen. Auch durch Alkoholzusatz läßt sich dieser Niederschlag erhalten. Ferner geben Filtrate von normalem Kaninchenhirn, das in gleicher Weise mit

Bouillon verdünnt ist, nach dreitägigem Aufenthalt im Brutschrank dieselben Gebilde, von denen später noch mehr die Rede sein wird.

In Schnittpräparaten, die ich in großer Anzahl von Gehirn und Rückenmark der Affen und Kaninchen anfertigte, die an Poliomyelitis zugrunde gegangen waren, konnte ich niemals diese Körperchen nachweisen (Fixierung mit Alkohol oder Sublimatalkohol, Färbung nach Lentz, Giemsa oder Heidenhain). Es fand sich bei den Affen der typische, dem menschlichen Bilde ganz ähnliche Befund: Blutungen und zellige Infiltrate in den Vorderhörnern; in früh zum Tode führenden Fällen zeigten auch die Ganglienzellen eine starke Zelleinwanderung und in späten Stadien eine völlige Degeneration. Bei den Kaninchen war das Bild nicht so ausgesprochen und auf die Vorderhörner konzentriert. Es fanden sich aber auch hier starke Blutungen, deutliche Zelleinwanderungen und Degeneration der Ganglienzellen, besonders des Gehirns.

Da mit den bakteriologischen Methoden und Kulturverfahren auf allen möglichen Nährböden aerob und anaerob nicht weiter zu kommen war, so suchte ich unter Leitung von Prof. Hartmann mit der protozoologischen Technik vielleicht bessere Resultate zu erzielen.

Auf seine Veranlassung wandte ich mich zunächst den Untersuchungen über Taubenpocken zu, bei denen zuerst Borrel<sup>15</sup> und später Lipschütz<sup>16</sup> ähnliche Gebilde wie v. Prowazek bei der Variola-Vaccine beschrieben und als die Erreger angesprochen hatten. Das Material zu meinen Versuchen wurde uns in lebenswürdiger Weise von Herrn Lipschütz zur Verfügung gestellt. Die Filtrierbarkeit des Tauben- resp. Hühnerpockenvirus wurde zuerst von Marx und Sticker<sup>17</sup> nachgewiesen und von Juliusberg<sup>18</sup> und anderen bestätigt.

Meine Impfversuche, die ich mit in Kochsalzlösung emulgiertem, durch Berkefeldfilter geschicktem Pockenmaterial anstellte, blieben erfolglos. Doch führe ich diese negativen Impfergebnisse auf die geringe Virulenz des Virus zurück, denn auch bei direkter Verimpfung von virushaltigem Material auf die gerupfte Brusthaut der Tauben bildeten sich, als ich später die Filtrationsversuche in Angriff nahm, nur einige wenige Pocken aus, während bei Beginn der Versuche die Federbälge ohne Ausnahme erkrankten, so daß man das typische reibeisenartige Bild bekam.

Vielleicht steht diese geringe Infektiosität mit gewissen Entwicklungsstadien des Virus in Verbindung; auch das Fehlen einer

Stallinfektion bei den künstlichen Übertragungsversuchen, eine Beobachtung, die auch von anderen Autoren gemacht ist, ließe sich in diesem Sinne deuten. Vielleicht bedarf es auch zur natürlichen Übertragung eines unbekanntes Zwischenwirtes. Es ist also nicht unmöglich, daß das Virus durch Bakterien, die später stets in den älteren Pusteln, auch auf Schnitten, nachzuweisen waren (auch Lipschütz hat diese Kokken beobachtet), geschädigt und in der Infektiosität herabgesetzt wird. Dies alles sind Fragen, die von großem Interesse sind und noch ihrer Beantwortung harren.

Auf Züchtungsversuche, die Bordet<sup>19</sup> auf seinem Blutagar ausführte, deren Ergebnisse aber von anderer Seite nicht bestätigt wurden, habe ich wegen der negativen Filtrationsversuche verzichten müssen, denn diese Versuche mit unfiltriertem, bakterienreichem Material anzustellen, verspricht wenig Erfolg.

In Tupfpräparaten und in Ausstrichpräparaten, die mit einer Emulsion des virushaltigen Pockenmaterials angefertigt waren, ließen sich besonders gut nach der Löfflerschen Geißelfärbemethode die von Borrel und Lipschütz beschriebenen kleinen rundlichen Körperchen darstellen. Auch nach Romanowsky und Heidenhain färben sich diese Körperchen, wenn auch nur schwach. In frischen ungefärbten Feuchtpräparaten einer Emulsion des Pockenmaterials sieht man sie bei starker Vergrößerung neben größeren und kleineren Detritusmassen in großer Anzahl und in starker Molekularbewegung.

In Schnitten war es Lipschütz nicht gelungen, diese Elementarkörperchen wie beim *Molluscum contagiosum* in den Zellen nachzuweisen, ebensowenig wie anderen Untersuchern (Schuberg und Schubotz<sup>20</sup>). In Anbetracht der großen Menge, die sich von diesen Körperchen in den Tupfpräparaten und in der Emulsion fand, mußten sie sich auch in Schnittpräparaten darstellen lassen.

Es wurde daher von den infizierten Tauben ein, zwei, drei usw. Tage nach der Infektion, sowie entsprechend nach dem Auftreten der Pockenpusteln Material mit der Schere entnommen und in Sublimatalkohol nach Schaudinn oder in Flemmingscher Lösung fixiert. In den nach Heidenhain und der feuchten Giemsa-methode gefärbten Schnitten (die Löfflersche Geißelfärbemethode ist für Schnitte völlig unbrauchbar) fanden sich die bekannten Pockenkörper, die zuerst für die Erreger, jetzt aber wohl allgemein als Reaktionsprodukte der Zellen angesprochen werden. In frühen Stadien, wo der Pockenkörper klein oder überhaupt noch nicht

vorhanden war, ließ sich neben dem gut erhaltenen Kern in den Zellen nichts nachweisen. Ein anderes Bild geben die älteren Stadien mit gut ausgebildetem Pockenkörper und an die Zellwand gedrücktem Kern. Hier finden sich, dem Pockenkörper wie eine Haube aufsitzend oder ihn rings umgebend, eine große Menge kleiner Körperchen, häufig zu zweien liegend in einer heller gefärbten Grundsubstanz (s. Abbild.). Besonders gute Bilder gibt die Heidenhainfärbung, wobei die kleinen Körperchen schwarz erscheinen in der heller, grau gefärbten Grundsubstanz. Nach Giemsa färben sich die Gebilde dunkelblau, resp. hellblau. In der Grundsubstanz kann man besonders gut bei dieser Färbung eine deutliche Maschenstruktur wahrnehmen, die dunklen Körperchen liegen dann in dem Schnittpunkt der Maschen, häufig sind sie rund und von gleicher Größe, so daß man sie wohl für etwas Parasitisches halten kann. Betrachtet man dann andere Zellen ganz in der Nähe, so sieht man darin regellose Körperchen von der verschiedensten Größe und Form. In nach Giemsa gefärbten Präparaten kann man auch häufig erkennen, daß diese verschieden großen Körper die Residuen von zugrunde gegangenen Leukozyten und besonders eosinophilen Leukozyten sind. Man findet nämlich in einigen Zellen noch gut erhaltene Leukozyten und in anderen wieder degenerierte und in Auflösung befindliche in allen Stadien; Befunde, wie ich sie ebenso wie andere Untersucher auch bei anderen Erkrankungen, besonders bei der Poliomyelitis erheben konnte.

Meiner Meinung nach handelt es sich dort, wo man degenerierte Leukozyten ausschließen kann, um Eiweißausfällungen. Man gewinnt, wie auch aus den beigegebenen Abbildungen ersichtlich ist, den Eindruck, als ob das Zellprotoplasma geschrumpft ist, sich von den Zellwänden zurückgezogen und bei der Ausfällung um den Pockenkörper niedergeschlagen hat; auf diese Weise sind dann die Hauben- resp. Ringformen entstanden.

Zu dieser skeptischen Auffassung bin ich hauptsächlich durch Befunde gebracht, die ich bei meinen Untersuchungen über die Maul- und Klauenseuche erhoben habe. Wie ich<sup>20</sup> schon mitteilte, konnte ich in ganz frischem Aphteninhalte bei maul- und klauenseuchekranken Rindern kleine Körperchen von Kokkengröße und daneben kleinste kugelige Gebilde an der Grenze der Sichtbarkeit, die meist zu zweien lagen und durch ein feines Stäbchen verbunden waren, nachweisen. Die größeren Kügelchen zeigten in ihrem Innern oft ein stärker lichtbrechendes Korn, das sich in der Kugel

deutlich herumbewegte. Bei Benutzung eines heizbaren Objektisches konnte ich beobachten, wie dieses Korn nach kurzer Zeit in zwei Teile zerfiel, die sich ihrerseits wieder teilten. Man konnte so nach einiger Zeit einzelne, sowie zwei, drei, vier und zuweilen auch mehr stark lichtbrechende Punkte in ständiger Bewegung umeinander, von einem hellen Hof umschlossen sehen. Wenn diese Körperchen sich losrissen, ließen sie sich von den oben erwähnten, kleinsten Gebilden nicht unterscheiden.

Eine feuchte Fixierung dieser Körperchen mit Sublimatalkohol nach Schaudinn wollte mir zunächst nicht gelingen. Von einer Trockenfixierung nach den bakteriologischen Methoden sah ich ab, da sie für diese Zwecke sehr wenig einwandfreie Resultate ergibt. Später konnte ich mit einer kombinierten Methode bessere Erfolge erzielen. Ich strich den Aphteninhalte nicht, wie es die Schaudinnsche Methode erfordert, in dünner Schicht auf die Deckgläschen aus, sondern machte einen dickeren Tropfen und ließ ihn eine Zeitlang an der Luft stehen, so daß ein Teil der Flüssigkeit verdunstete. Die eingedickte Masse fixierte ich dann, bevor sie ganz eintrocknete, mit heißem Sublimatalkohol. Auf diese Weise konnte ich die kleinen Kügelchen auch in gefärbten Präparaten gut darstellen. Nach Heidenhain gefärbt erschienen sie gelb mit scharf abgesetztem, dunklerem Rand, desgl. die darin eingeschlossenen kleinen Pünktchen, die häufig eine deutliche hantelförmige Teilung zeigen. Man kann bei größeren Kügelchen hin und wieder eine Einschnürung wahrnehmen, die ich nach meinen Beobachtungen auf dem heizbaren Objektisch als Teilung deuten möchte. Man sieht dann zwischen den beiden im Innern liegenden Körnchen ein deutliches Verbindungsstäbchen, ähnlich einer Zentrodese, das auch oft nach völliger Teilung erhalten bleibt. Bei der Teilung schnüren sich nicht immer gleich große Stücke ab, man sieht vielmehr sehr häufig ein größeres und ein kleineres Kügelchen durch ein feines Fädchen zusammenhängen.

Diese Befunde konnte ich sowohl bei frischem Aphtenmaterial als auch bei Berkefeldfiltraten erheben, die mehrere Tage bei höherer Temperatur (24°) gestanden hatten. Anfangs ließen sich in dem Filtrate durch die Ultrafiltration (Kolloidfilter nach v. Pro-wazek) nur die kleinen Gebilde nachweisen, erst später traten auch die größeren Kügelchen mit dem stark lichtbrechendem Korn im Innern auf.

Die Filtrate wurden in der Weise hergestellt, daß ein Teil

Aphteninhalte mit etwa 5 Teilen Bouillon vermischt durch ein vorher auf Bakteriendurchlässigkeit geprüftes Berkefeldfilter Nr. V geschickt und in Reagenzgläschen steril abgefüllt wurde. Die Röhrechen waren anfangs völlig klar und zeigten erst nach mehreren Tagen eine leichte Trübung, die nicht von Bakterienwachstum herrührte. In Rinderserumbouillon (1 Teil Serum auf 5 Teile Bouillon), die mit einer Öse des Filtratröhrechens geimpft und bei 37° gehalten waren, erschienen die Trübungen gleichfalls nach einigen Tagen, doch auch die Kontrollröhrechen zeigten gleiche Trübungen. In ihnen konnte ich auch in vielfach wiederholten Versuchen ganz ähnliche Gebilde nachweisen, wie ich sie aus dem Aphteninhalte bei Maul- und Klauenseuche beschrieben habe. Auch aus Pferde-, Schweine- und menschlichem Serum lassen sich die gleichen Gebilde erhalten.

Es handelt sich hierbei aber nicht um Fettkügelchen, wie Müller<sup>22</sup> nachgewiesen zu haben glaubt, denn sie werden durch Zusatz von Osmiumsäure nicht geschwärzt, was ich schon bei meinen Maul- und Klauenseucheuntersuchungen festgestellt hatte, sondern sie verhalten sich färberisch ganz so, wie es v. Prowazek für seine Erreger der Variola-Vaccine und Lipschütz für die Erreger des Molluscum und Epithelioma contagiosum angibt.

Besonders gut färben sich diese Kolloidgranula, denn als solche möchte ich sie ansprechen, da sie auch durch Erwärmen und Alkoholzusatz usw. aus der Serumbouillon zu erhalten sind, nur nach Löfflers Geißelfärbemethode (s. Abb.). Man bekommt damit oft Bilder, die den von Prowazek und Lipschütz für die Erreger der Variola-Vaccine resp. Molluscum und Epithelioma contagiosum angegebenen sehr ähnlich sind.

Nach Romanowsky resp. Giemsa färben sich die Körperchen schlecht und auch bei längerer Färbedauer nur schwach rot, etwas besser färbbar sind sie mit konzentrierter Fuchsinlösung nach Ziehl und, wie oben erwähnt, nach Heidenhain. Nach Gram sind sie nicht darstellbar; mit Thionin sind sie bei längerer Färbedauer färbbar, dagegen nicht mit Neutralrot und Brillanteresylblau.

Ich bin daher zu der Ansicht gekommen, daß es sich bei meinen oben erwähnten Befunden bei der Maul- und Klauenseuche, sowie auch bei den angeblichen Erregern der Variola-Vaccine resp. des Molluscum und Epithelioma contagiosum nicht um die langgesuchten Erreger, sondern um Kolloide handelt, die infolge der durch das Virus bedingten Zellzerstörung in dieser Form zur Ausfällung ge-

langt sind. Auch die erst kürzlich veröffentlichten Befunde A. Lebers<sup>23</sup> beim *Molluscum contagiosum* möchte ich in diesem Sinne deuten.

Es ist jedoch keineswegs unmöglich, daß der organisierte Erreger, wenigstens in einem Entwicklungsstadium, diesen kolloidalen Ausfällungen morphologisch sehr ähnelt, und daß auch seine Vermehrung resp. Teilung in ähnlicher Weise von statten geht, wie ich es bei den Kolloidgranula beobachten konnte, und es ist auch anzunehmen, daß er sich darunter befindet, nur können wir ihn bisher nicht davon unterscheiden.

Bei der Maul- und Klauenseuche habe ich ferner runde Scheiben von der Größe eines roten Blutkörperchens beschrieben, in denen auf dem heizbaren Objektisch unter meinen Augen stark lichtbrechende Körperchen auftraten, die sich schnell teilten und daher meist zu zweien gelagert erschienen. Durch Drehen der Mikrometerschraube konnte man dann erkennen, daß es sich nicht um Scheiben, sondern um Kugeln handelte, die an ihrer Oberfläche eine große Menge kleinster, runder, meist zu zweien liegender Körperchen, ähnlich kleinen Kapseldiplokokken, trugen, die munter auf der Kugeloberfläche herumschwammen. Auch in Schnittpräparaten konnte ich ähnliche Gebilde nachweisen, die ich mit den im frischen Präparate beobachteten für identisch hielt.

Ganz ähnliche Kugeln, auf denen sich auf dem heizbaren Objektisch zum Teil unter meinen Augen die oben beschriebenen kleinen Körperchen bildeten, habe ich in frisch aus dem Ileum von Mäusen entnommenen Darminhalt nachweisen können, an einer Stelle, wo eine starke Einschmelzung von Eiweißstoffen stattfindet. Ich möchte daher auch diese Scheiben resp. Kugeln für kolloidale Gebilde halten. Auf Schnitten durch drüsige Organe, z. B. menschlichen Thymus, konnte ich ganz ähnliche Gebilde in Kugel- und Margueritenformen auffinden, wie ich sie auf Tafel 2, Figur 5 abgebildet habe; hier wie bei der Maul- und Klauenseuche lassen sich diese Befunde sehr gut als kolloidale Sekretmassen in den Drüsenzellen erklären, die in dieser Form fixiert sind. Vielleicht sind auch die Malloryschen Körperchen bei Scharlach ähnlichen Ursprungs. Nur für die kleinen, einzeln und zu mehreren von einem hellen Hof umgeben in Leukozyten und Epithelzellen (s. Abb.) liegenden Körperchen an der Grenze der Einschmelzungszone habe ich keine Erklärung. Es kann sich auch hier sehr wohl um kolloidale

Gebilde handeln, die durch Einschmelzung von chromatischer Substanz entstanden sind; auch ihre intrazelluläre Lagerung ist nicht von ausschlaggebender Bedeutung, da wir auch bei Epithelzellen häufig Phagozytose beobachten können. Doch scheinen mir diese Gebilde von allen bisher bei der Maul- und Klauenseuche beschriebenen noch die beachtenswertesten zu sein.

Mein sehr skeptischer Standpunkt gegenüber diesen bisher erwähnten und für die mutmaßlichen Krankheitserreger angesprochenen Gebilden wurde noch durch Beobachtungen von Trachomaterial resp. dem Trachom sehr ähnlichem Chlamydozoenmaterial gestützt. Während meine bisher geschilderten Befunde nur Tatsachen zutage gefördert haben, die gegen die organische Natur der fraglichen Körperchen sprachen, haben mich meine Beobachtungen<sup>24</sup> bei der Schwimmbadkonjunktivitis und bei echtem Trachom immer mehr von der belebten und parasitären Natur der dort gefundenen Chlamydozoen überzeugt.

Bisher waren die nach Romanowsky resp. Giemsa dunkelblau gefärbten und von Herzog als Initialelemente bezeichneten birnenförmigen Körperchen der dunkle Punkt in der Auffassung von der Entwicklung der Chlamydozoen Prowazeks. Schon Herzog<sup>25</sup> vermutete im Innern der dunkelblau gefärbten Initialkörperchen einen Chromatinkern, nur gelang es ihm nicht, denselben darzustellen, ebensowenig Lindner<sup>26</sup>, der sich besonders mit dem Studium der Initialstadien beschäftigte. Auch die anderen Autoren, die sich bei ihren Untersuchungen meist der Trockenpräparate bedienten, haben keine besseren Resultate erzielt. Hartmann<sup>27</sup> hat zuerst bei seinen Arbeiten zusammen mit A. Leber die feuchte Fixation angewandt. In nach Heidenhain gefärbten Präparaten sind diese Initialstadien aber sehr schwer aufzufinden und leicht mit anderen nicht spezifischen Zelleinschlüssen zu verwechseln. Es brachten daher diese Untersuchungen über die Initialkörperchen auch keine weiteren Aufschlüsse.

Ich habe mich bei meinen Untersuchungen, wie oben schon gesagt, auch stets der feuchten Fixierung bedient und Trockenpräparate nur zu Kontrolluntersuchungen herangezogen. Es fanden sich nun bei der Schwimmbadkonjunktivitis in den feucht fixierten, nach Romanowsky gefärbten und gut differenzierten Präparaten eine große Menge typischer Prowazekseher Einschlüsse. Es war mir aber nicht möglich, die von Herzog und anderen Autoren beschriebenen, dunkelblau gefärbten birnenförmigen Initialkörperchen

darin nachzuweisen. Ich sah dagegen Gebilde, die ich als die frühesten Entwicklungsstadien der Chlamydozoen ansprechen möchte. Bei geeigneter Färbung und genügender Differenzierung finden sich nämlich in den Epithelzellen Einschlüsse, die in einer heller gefärbten Grundsubstanz ein oder mehrere kleine, dunkelrot gefärbte Körperchen erkennen lassen, die meist deutlich durch feine Fäden verbunden sind und die bekannte Hantelform zeigen. Man kann so eine lückenlose Serie von einem bis zu einer großen Menge der sogenannten Elementarkörperchen auffinden. Aber auch in den größeren Einschlüssen habe ich bei feuchter Fixierung nie Initialkörperchen oder einen Restkörper nachweisen können, wie sie v. Prowazek und andere Autoren bei Verwendung von trocken fixierten Trachompräparaten beschrieben haben. Ich neigte daher zunächst zu der Ansicht, daß es sich bei der Schwimmbadkonjunktivitis um eine Erkrankung sui generis und nicht um Trachom handele. Erst als ich in trocken fixierten Parallelausstrichen die typischen Initialelemente nach Herzog und vice versa in feucht fixierten Präparaten von echtem Trachom die von mir bei der Schwimmbadkonjunktivitis gesehenen Frühstadien fand, konnte ich mich für die Identität der beiden Erkrankungen entscheiden. Die beigegebenen Abbildungen geben ein gutes Bild von den erhobenen Befunden.

Auch bei Trockenfixierung gelingt es manchmal bei den Frühstadien die hantelförmigen, nach Romanowsky rot gefärbten Elementarkörperchen heraus zu differenzieren, meistens lassen sie sich aber auch auf diese Weise selbst bei stärkster Differenzierung nicht darstellen. Dies ist nicht verwunderlich, denn auch bei größeren protozoologischen Objekten fließt der Kern bei trockener Fixierung auseinander, während er in feuchtfixierten Präparaten gut erhalten bleibt. Es sind daher alle in Trockenpräparaten an der Kernstruktur erhobenen Befunde ungenau und daher hinfällig geworden.

v. Prowazek glaubt, daß die blauen, amorphen Massen der Einschlüsse wegen ihrer Avidität zu der blauen Komponente des Romanowsky-Farbstoffes mit dem Platin identisch sind. Mag es sich hier nun um Platin oder einen andern Stoff handeln, jedenfalls enthalten die Frühstadien ihn in größerer Konzentration, so daß die in geringer Zahl vorhandenen Chromatinkörnchen bei unzureichender Differenzierung auch in feuchtfixierten Präparaten verdeckt werden können und so den Autoren bisher entgangen sind.

Sind nun diese platinartigen Massen Reaktionsprodukte der

Epithelzellen auf das Eindringen des Erregers, oder sind sie vielmehr parasitärer Natur? In letzterem Falle muß man wieder zwei Unterscheidungen treffen: einmal, sie gehören zum Parasitenkörper und bilden seinen protoplasmatischen Bestandteil, oder aber sie sind Sekretionsprodukte des Parasiten, eine bisher noch nicht vertretene Ansicht, die mir aber viel Wahrscheinlichkeit zu haben scheint.

Aber noch eine andere sehr wichtige Frage ist mir beim Studium dieser platinartigen Substanz aufgestoßen. Ich glaube nämlich, daß sich in feucht fixierten und gut differenzierten Präparaten die Einschlüsse bei Trachom und Säuglingsblennorrhoe unterscheiden lassen und zwar auf Grund der Verschiedenheit ihrer platinartigen Substanz.

Meine Untersuchungen über diesen Gegenstand sind noch nicht abgeschlossen und sollen später mitgeteilt werden. Sollte aber eine derartige Unterscheidung zutreffen, so wären wir einen großen Schritt weitergekommen, denn dann wären die mutmaßlichen Erreger von Trachom und Säuglingsblennorrhoe auch morphologisch voneinander geschieden, und so die Einwürfe, die besonders Heymann gegen die parasitäre Natur der Einschlüsse erhebt, zurückgewiesen.

Auch das Fehlen der Einschlüsse in Abstrichpräparaten von der Konjunktiva bei sicherem Trachom, besonders bei alten Fällen, wurde gegen die Erregernatur der Chlamydozoen ins Feld geführt. Ich verfüge nicht über ein großes Trachommaterial, doch konnte ich bei zwei Trachomrezidiven, wo die wiederholte Untersuchung von Abstrichpräparaten ein negatives Resultat ergeben hatte, die Einschlüsse in großer Menge in Gewebsschnitten nachweisen, eine Beobachtung, die auch andere Autoren, Di Santo, Radziejewski<sup>28, 29</sup> vor mir gemacht haben.

Das Vorkommen der Chlamydozoen im Bindegewebe stimmt auch mit dem klinischen resp. pathologischen Bilde des Trachoms sehr gut überein, und Adario<sup>30</sup> legt mit Recht hierauf besonderen Nachdruck; denn fänden sich die Chlamydozoen nur in Epithelzellen, wie v. Prowazek und neuerdings besonders Lipschütz annehmen, so wären die späteren Stadien des Trachoms, besonders die typische Narbenbildung, nicht erklärlich.

Die beigegebenen Abbildungen illustrieren sehr gut diese Auffassung.

Nach meiner Ansicht gelangen die Chlamydozoen bei einer

frischen Infektion zunächst in die Epithelzellen und können hier, oft in großer Menge, nachgewiesen werden. Später kommen sie in die tieferen Schichten des Gewebes und können bei alten Fällen aus den Epithelzellen völlig geschwunden sein, während sie sich in den Bindegewebszellen noch halten und die Veranlassung fortwährender Rezidive sind.

### Schlußsätze.

Meine Untersuchungen bei Trachom haben also eine Reihe von Tatsachen beigebracht, die für die Erregernatur der Einschlüsse sprechen, während ich bei den zuerst beschriebenen Krankheiten nur Beobachtungen mitteilen konnte, die gegen die parasitäre Natur der fraglichen, als die Erreger angesprochenen Körperchen sprechen. Auch der Vergleich dieser Gebilde mit den Einschlüssen beim Trachom fällt sehr zu ihrem Nachteil aus. v. Prowazek rechnet alle diese Gebilde in die von ihm aufgestellte Klasse der Chlamydozoen (Lipschütz: Strongyloplasmen). Sie müßten sich daher auch färberisch ähnlich verhalten. Das ist nun, wie aus meinen Beobachtungen hervorgeht, ganz und gar nicht der Fall. Die Elementarkörperchen beim Trachom haben zu der roten Komponente des Romanowsky-Farbstoffes eine so starke Avidität, daß sie selbst bei stärkster Differenzierung, wenn die Zellkerne schon ihren Farbstoff abzugeben beginnen, noch distinkt rot gefärbt erscheinen, während die Körperchen bei Variola-Vaccine, Epithelioma und Molluscum contagiosum, sowie bei Poliomyelitis sich auch bei längerer Färbedauer nur schwach rosa färben. Auch von den anderen Farbstoffen werden sie nur wenig oder gar nicht beeinflusst. Sie färben sich einzig und allein gut nach der Löfflerschen Geißelfärbmethode, aber diese Färbung ist so roh und zur Färbung derartiger zarter Gebilde so ungeeignet, daß ich nicht verstehen kann, wie v. Prowazek und Lipschütz diese Färbung so empfehlen und darauf so großes Gewicht legen können; denn wie ich oben schon zeigte, nehmen auch die Eiweißgranula nach dieser Methode in gleicher Weise die Farbe an, und eine Unterscheidung dieser Gebilde auf diese Weise ist unmöglich.

## Literatur.

1. Löffler u. Frosch, Deutsche med. Wochenschr. 1898.
  2. Löffler, Referat auf der Tagung des Vereins für Mikrobiologie. Zentralbl. f. Bakteriologie. II. Abt. Referate 1911.
  3. Doerr, desgleichen.
  4. Halberstädter u. v. Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt 1907.
  5. Halberstädter, in v. Prowazeks Handbuch der pathogenen Protozoen. Leipzig 1911.
  6. v. Prowazek, Archiv für Protistenkunde 1907.
  7. v. Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt 1905, 1906, 1907.
  8. v. Prowazek u. de Beaupaire, Arago, Memoires do Instituto Oswaldo Cruz 1909, Tomo I, Fasciculo II.
  9. Lentz u. Huntemüller, Auf d. Tag. der Vereinigung für Mikrobiologie. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt., Ref. 1910.
  10. Lentz u. Huntemüller, Zeitschr. f. Hygiene u. Inf.-Krankheiten, Bd. 66, 1910.
  11. Flexner u. Lewis, Journal of the Amer. med. assoc. 1909.
  12. Flexner u. Lewis, ebenda. 1910, No. 1.
  13. Levaditi, La presse médicale 1910, No. 6.
  14. Mühlens u. Hartmann, Zentralbl. f. Bakt. Bd. XLI, 1906.
  15. Borrel, Comptes rendus de la Soc. de Biologie 1904.
  16. Lipschütz, Zentralbl. f. Bakt. 1908, Bd. 46.  
Lipschütz, in v. Prowazeks Handbuch der pathogenen Protozoen 1911.
  17. Marx u. Sticker, Deutsche med. Wochenschr. 1902.
  18. Juliusberg, ebenda 1904.
  19. Bordet u. Gengou, Annal. de l'Institut Pasteur 1906.
  20. Schuberg u. Schubotz, Zentralbl. f. Bakt. 1909.
  21. Huntemüller, ebenda. Bd. 61, 1911.
  22. Müller, ebenda. Bd. 66, 1912.
  23. Leber, A., Ebenda. Bd. 67, 1912.
  24. Huntemüller u. Paderstein, Deutsche med. Wochenschr. 1913.
  25. Herzog, Szemesret ophthalmologia 1909.
  26. Lindner, Wiener klin. Wochensch. 1909.
  27. Leber, A. u. Hartmaun, Klinisches Jahrbuch 1909.
  28. Di Santo, Archiv für Augenheilkunde, Bd. 61, Nr. 4.
  29. Radziejewski, Wochenschr. f. Ther. u. Hyg. d. Aug. 1909.
  30. Adario, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 66, 1912.
-

### Tafelerklärung.

#### Schnitte durch die Zunge eines jungen Ferkels bei Maul- u. Klauenseuche.

Tafel 1 u. 2. Färbung nach Heidenhain. Zeiss homog. Immers. 2 mm. Ok. 12.

Fig. 1. Einschlüsse in Epithelzellen mit hellem Hof.

Fig. 2. Einschlüsse in Epithelien u. Leukocyten.

Fig. 3. Freiliegende Körperchen mit deutlicher Hülle.

Fig. 4. Einschlüsse, die deutlich Hantelform zeigen.

Fig. 5. Margueritenförmige Einschlüsse.

Die Einschlusskörperchen haben den Kernfarbstoff selbst bei starker Differenzierung gehalten, während die Zellkerne schon entfärbt sind.

#### Schnitte durch Pockenpusteln bei Epithelioma contagiosum der Tauben.

Tafel 3 Früh-, Tafel 4 u. 5 Spätstadien.

Fig. 6. Ringförmige den Pockenkörper umlagernde Einschlüsse, bestehend aus vielen kleinen dunkelgefärbten Körperchen in einer helleren Grundsubstanz.

a Kern. b Pockenkörper. c Einschluß.

Färbung nach Heidenhain. Zeiss Immers. 2 mm. Ok. 12.

Fig. 7. Hantelförmige Einschlüsse in einer Epithelzelle, die den Kern zur Seite gedrängt haben.

Färbung nach Heidenhain. Zeiss Immers. 2 mm. Ok. 18.

Fig. 8. Bakterien in einer Kapsel liegend.

Färbung nach Romanowski. Zeiss homog. Immers. 2 mm. Ok. 12.

#### Tafel 6. Fig. 9. Eiweißausfällungen aus einer sterilen Serumbouillonkultur.

Deutliche Hantelform der meist zu zweien liegenden Gebilde.

Löfflers Geißelfärbung. Zeiss homog. Immers. 2 mm. Ok. 12.

#### Einschlüsse (Chlamydozoen) bei Schwimmbadconjunctivitis und Trachom.

Tafel 7—9. Färbung nach Romanowski (Schillings Modifikation). Zeiss homog. Immers. 2 mm. Ok. 12.

Tafel 7. Abstriche von der Conjunctiva trocken fixiert.

Fig. 10—13. Initialkörperchen bei Schwimmbadconjunctivitis.

Fig. 14—16. Desgl. bei Trachom.

Tafel 8. Abstriche von der Conjunctiva feucht fixiert.

Fig. 17—20. Einschlüsse bei der Schwimmbadconjunctivitis beim Menschen. Die gut differenzierten Präparate lassen auch in den Frühstadien (Initialkörperchen) deutliche, meist zu zweien liegende Elementarkörperchen erkennen.

Fig. 21—22. Desgl. von der Affenconjunctiva Tafel 9.

#### Schnitte durch die Conjunctiva bei altem Trachom. Abstriche ergaben negativen Befund.

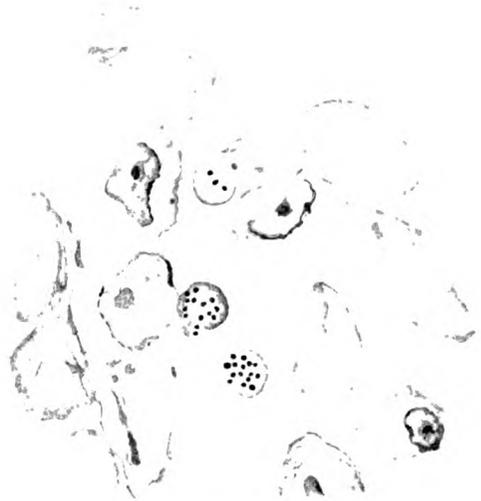
In den Bindegewebszellen Einschlüsse in großer Zahl, zum Teil Fig. 23 diffus über das benachbarte Gewebe zerstreut, zum Teil Fig. 24 noch deutlich in einer Kapsel zusammengehalten.







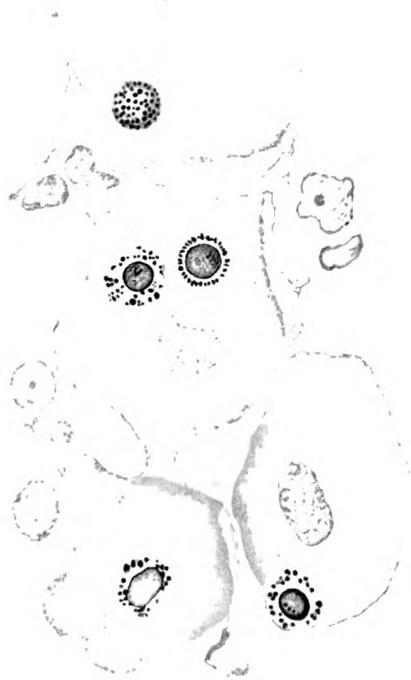
2.



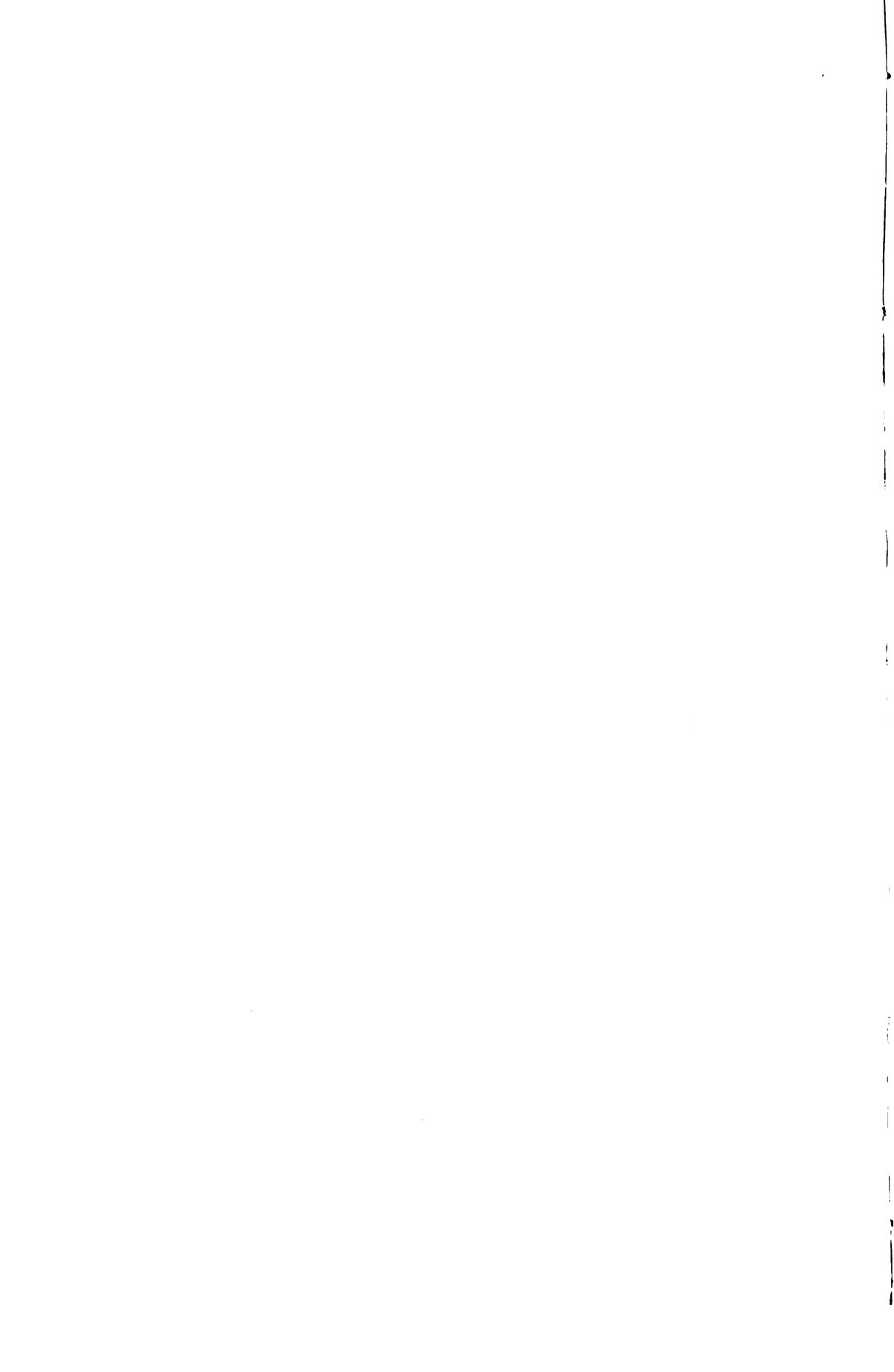
3.



4.

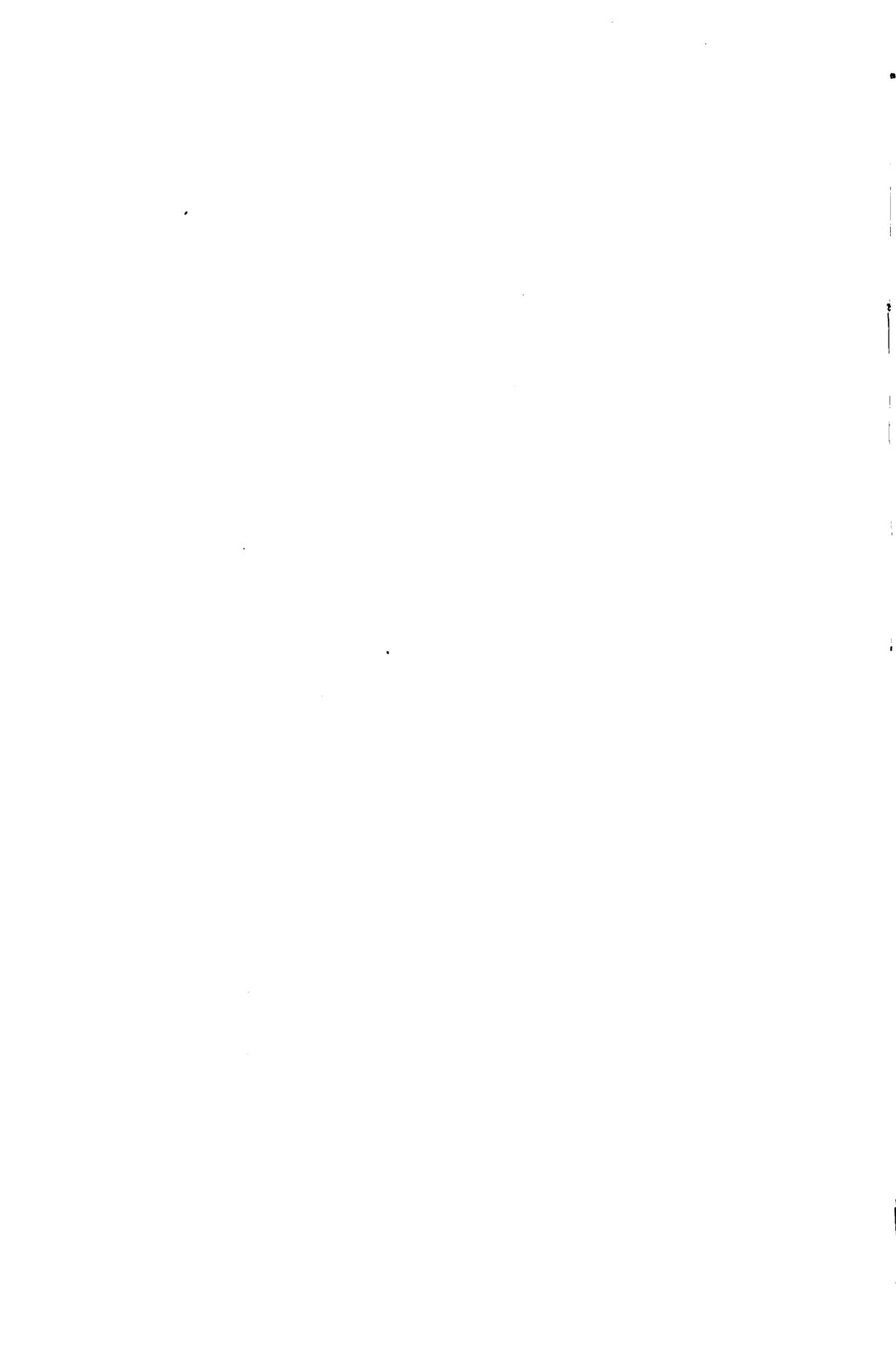


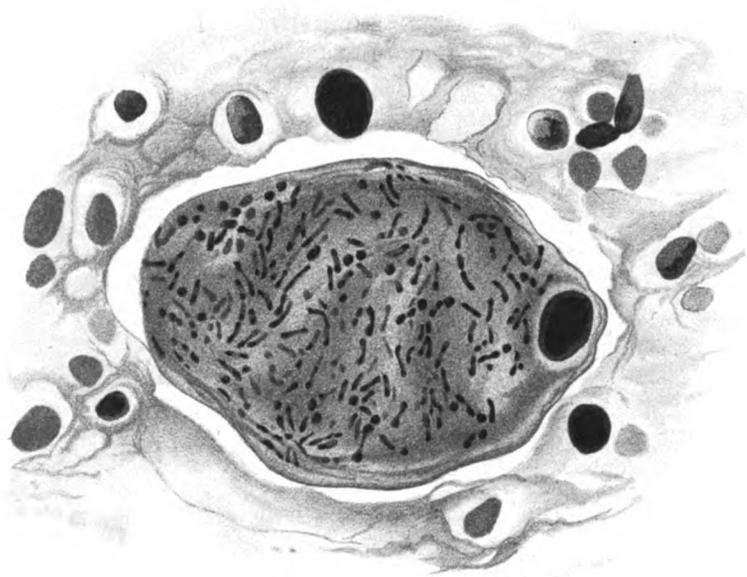
5.



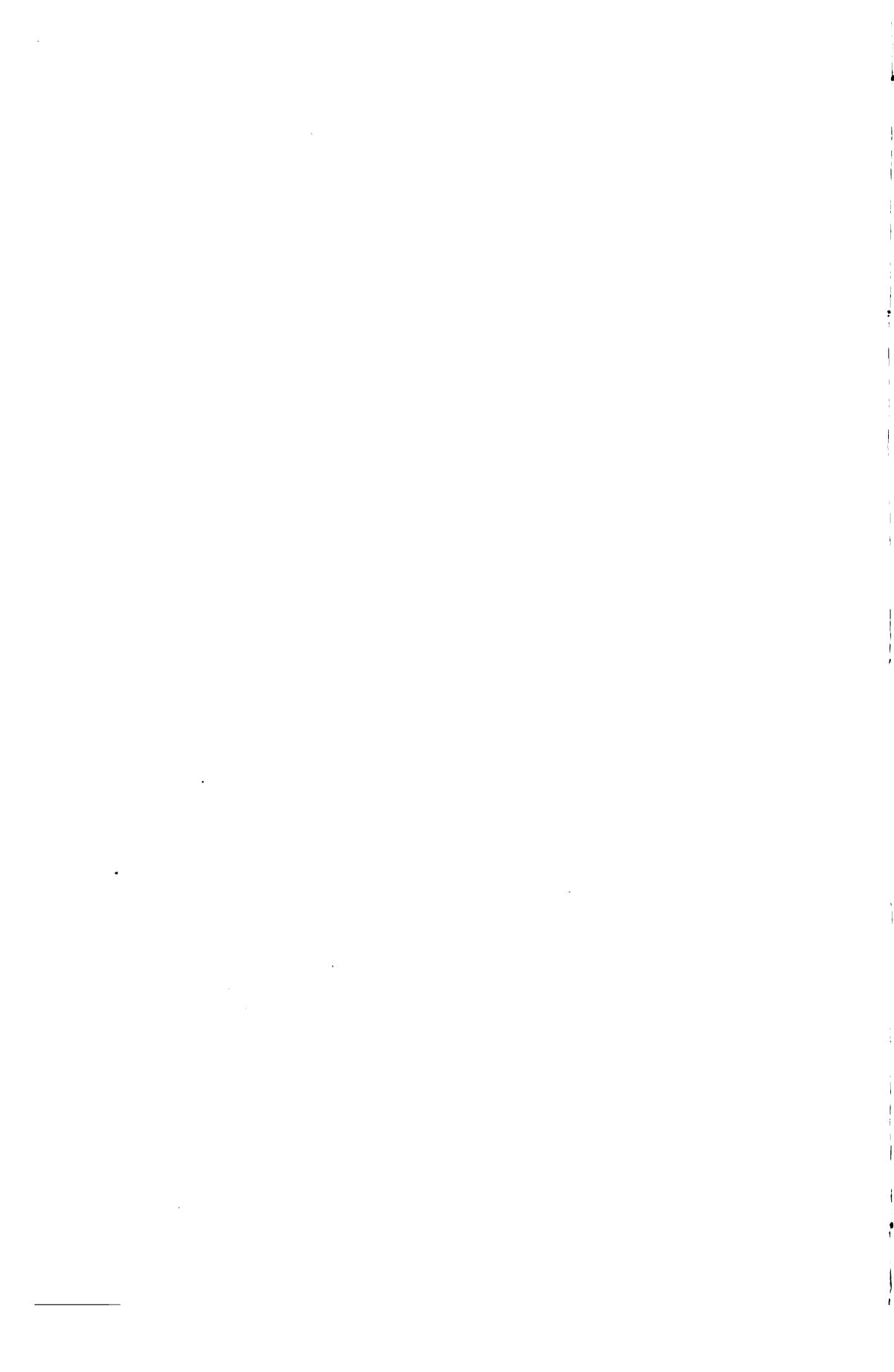


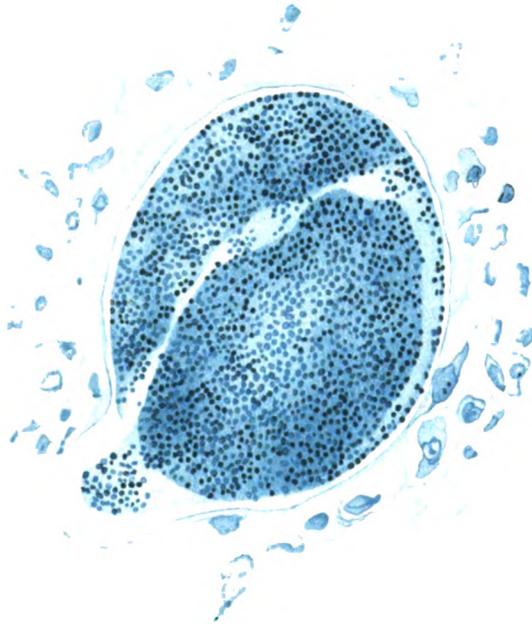
6.





7.





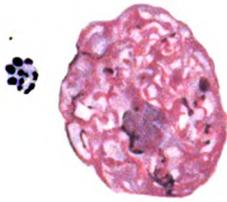
8.



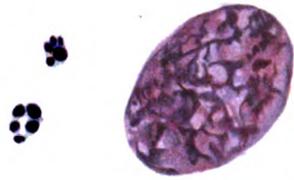


9.

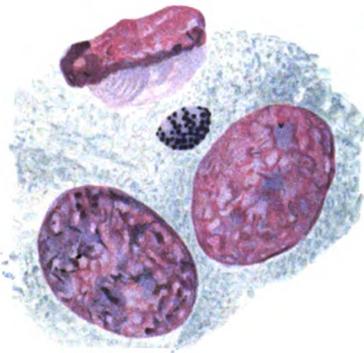




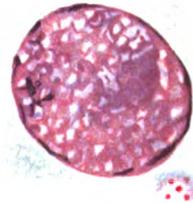
10.



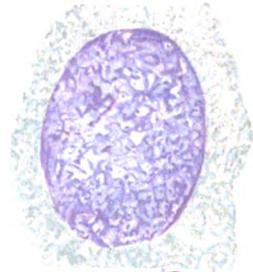
11.



12.



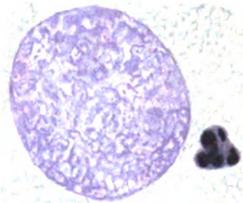
13.



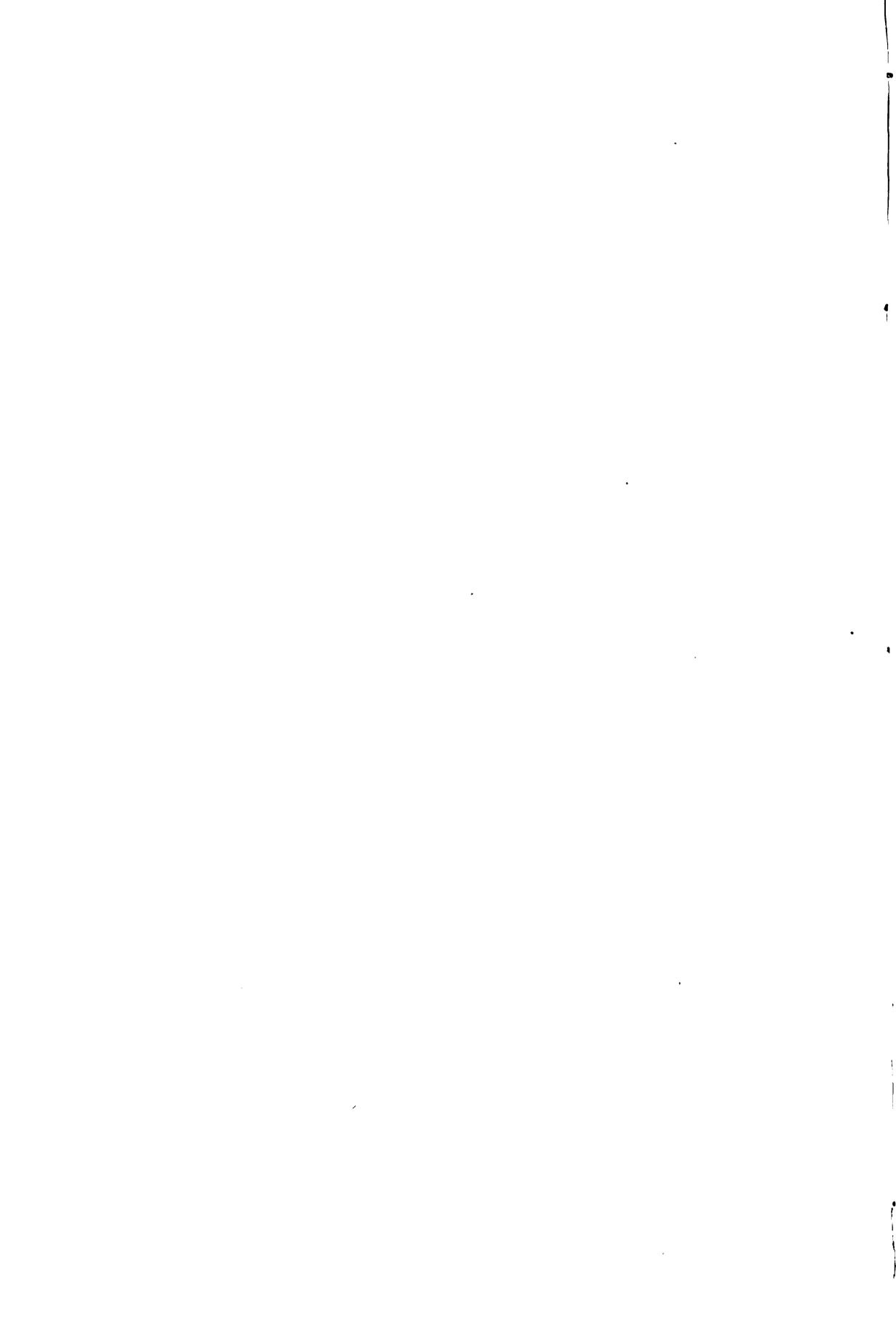
15.



14.

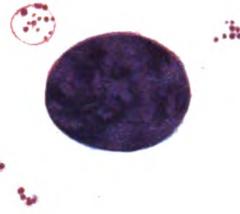


16.

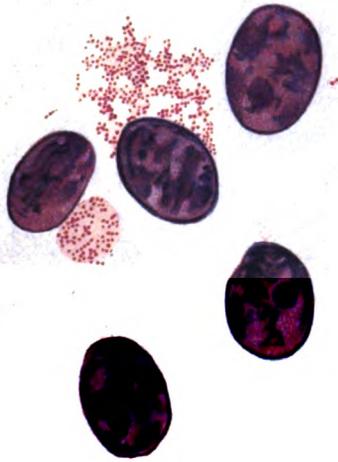




17.



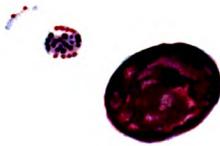
18.



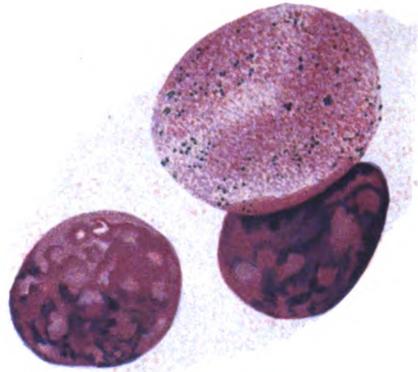
19.



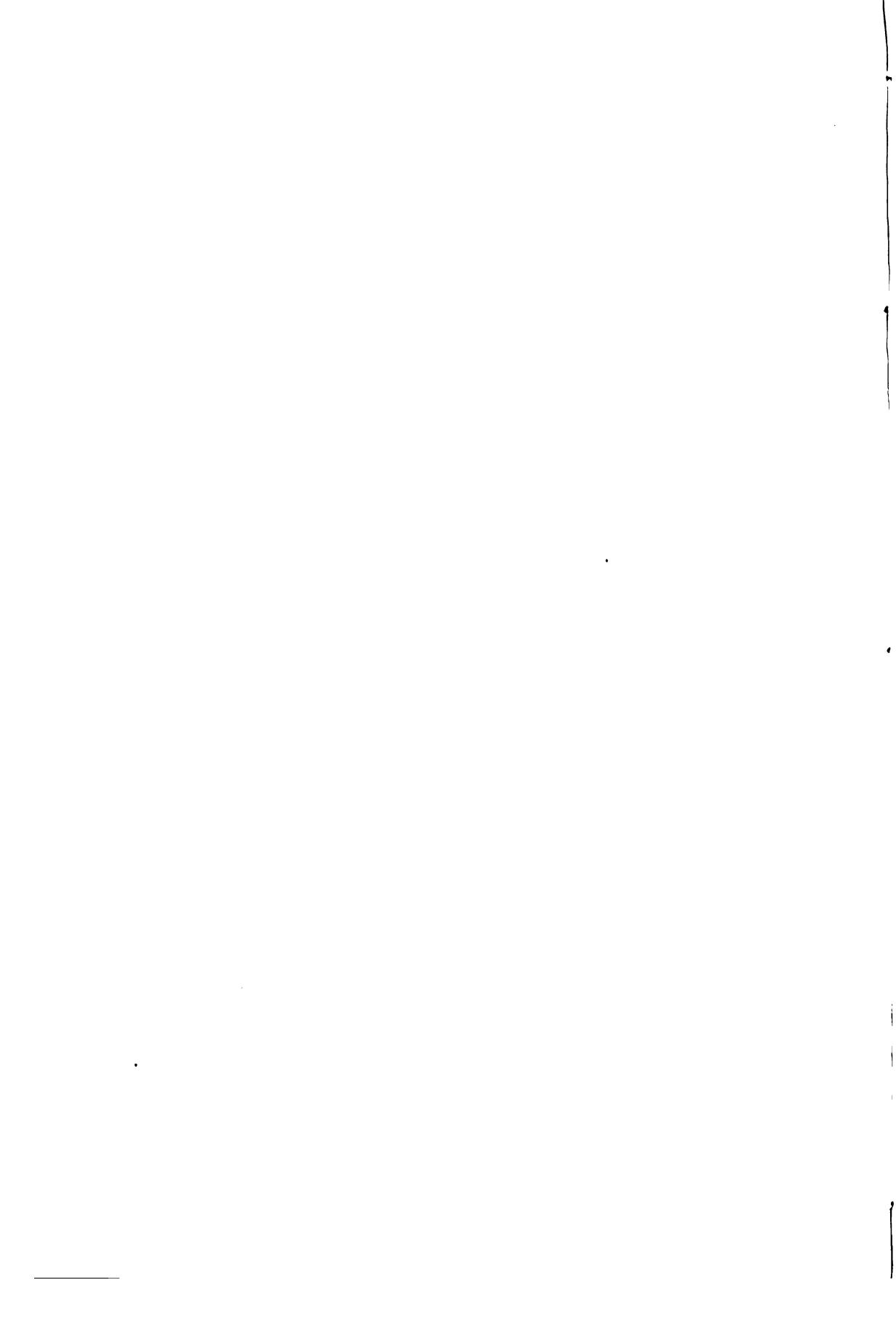
20.

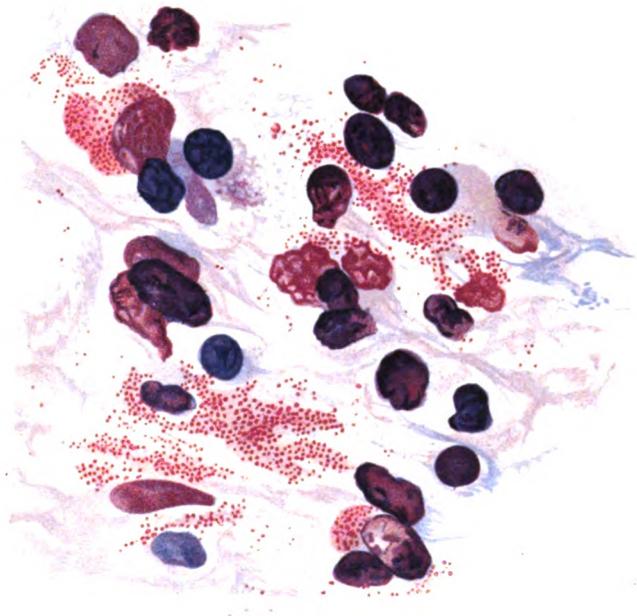


21.

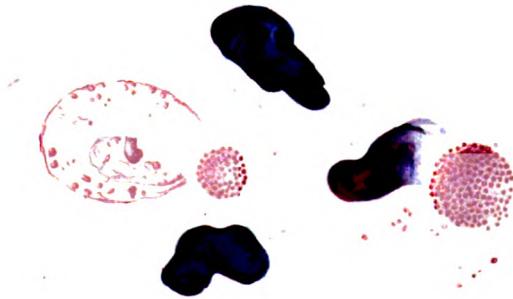


22.





23.



24.

Lisbeth Krause gez.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.



# Toxikologische und therapeutische Untersuchungen über quecksilberhaltige Farbstoffe.

Von

Dr. **Benno Hahn**, Sekundärarzt der Abteilung  
und

Dr. rer. nat. **Erwin Kostenbader**.

Mit 22 Tabellen und 4 Kurven.

Die Einführung des Salvarsans durch Ehrlich ist in mehr als einer Beziehung ein bedeutsamer Markstein für die moderne Therapie geworden.

In seiner „Chemotherapie der Spirillosen“ hat uns der Begründer der Chemotherapie ein Vorbild für zielbewußte synthetische chemische Arbeit unter steter Kontrolle durch den Heilversuch gegeben, und gerade die klinischen Erfolge des Salvarsans und die Überzeugung, daß eine Kombination von Salvarsan mit wirksamen, aber ungiftigen Quecksilberpräparaten das Erstrebenswerte sei, sind der Anstoß geworden zum Aufbau und zur pharmakologischen und therapeutischen Prüfung einer Reihe neuer Quecksilberverbindungen.

So sind zum Beispiel von Kollé und seinen Mitarbeitern unter Benutzung der Hühnerspirillose als Testobjekt zunächst die schon als Antisyphilitika bekannten anorganischen und organischen Quecksilberverbindungen im Tierversuch auf Giftigkeit und therapeutische Wirkung hin untersucht worden. Kollé ist dann durch Einführung des Quecksilbers in den Stickstoffrest des Antipyrinkerns zu wirksamen Präparaten gelangt und glaubt speziell im Dimethylphenyl-pyrazolon-Quecksilbersulfat ein Präparat gefunden zu haben, das im Tierversuch alle Voraussetzungen eines guten Therapeutikums erfüllte. Dieses, „Argulan“ benannte Präparat, eine wasserunlösliche, deshalb in Emulsion injizierte Verbindung, welche man den komplexen Quecksilberverbindungen nicht zurechnen kann, da das Metallatom nicht an Kohlenstoff, sondern an Stickstoff gebunden ist, gibt schon mit Natronlauge in der Kälte einen Niederschlag. Es erwies sich aber bemerkenswerter Weise im Tierversuch

als außerordentlich wenig giftig und erzielte bei intramuskulärer Anwendung den sehr günstigen therapeutischen Koeffizienten  $C:T = 1 > 100$ .

Schöllner und Schrauth glauben die wirksamsten und dabei relativ wenig giftigen Hg-Verbindungen in dem Gebiete der sogen. „Halbkomplexen“ suchen zu müssen und sind dabei vom Asurool und dessen Analogon, deren Prototyp das bekannte Hydrargyrum salicylicum ist, ausgegangen.

Ferdinand Blumenthal hat auf Grund des Verteilungsprinzipes des Quecksilbers im Organismus Quecksilberverbindungen der aromatischen Reihe untersucht, von denen er das 48% Hg enthaltende acetaminobenzoesaure Natrium unter dem Namen Toxynon zu klinischen Versuchen empfiehlt.

So sind in den letzten Jahren eine ganze Anzahl von Quecksilberverbindungen, deren Aufzählung hier zu weit führen würde, mit mehr oder weniger ausgesprochenem Erfolge ausgeprobt worden.

Wir haben uns der Untersuchung einer bisher noch nicht geprüften und auch chemisch kaum studierten Klasse von Substanzen zugewandt, welche man zweckmäßig unter dem Kollektivnamen der „quecksilberhaltigen Farbstoffe“ zusammenfaßt. Es sind dies komplexe Quecksilberverbindungen der aromatischen Reihe, welche Farbstoffcharakter besitzen.

Wir ließen uns dabei von folgendem Gedanken leiten:

Bekanntlich beruht das Färbevermögen eines organischen Farbstoffes auf dem Zusammenwirken zweier bestimmter Faktoren im Molekül, und zwar in erster Linie auf der Anwesenheit einer sogenannten „chromophoren“ Gruppe, wie es z. B. die Azogruppe  $-N=N-$  und die Nitrogruppe  $NO_2$  ist. Wird in ein solches Molekül noch eine Amidogruppe ( $NH_2$ ) oder Hydroxylgruppe (OH) als zweiter Faktor eingeführt, so ist damit der Farbstoffcharakter der Substanz gegeben. Es erhält das Molekül die Fähigkeit, sich direkt mit der Pflanzen- oder Tierfaser (Seide, Wolle) zu einer salzartigen Verbindung zu vereinigen.

Der Gedanke lag nahe, diese Affinität der Farbstoffe — speziell zur tierischen Faser — therapeutisch nutzbar zu machen, indem man Farbstoffe mit einem therapeutisch wirksamen Agens, z. B. Quecksilber belastete, ohne sonst am Molekül und folglich auch an dessen chemischen Eigenschaften etwas zu ändern, so daß gewissermaßen der Farbstoff als Vehikel oder Leitschiene im Sinne Wassermanns für das wirksame Agens dienen würde.

Da einigen dieser Farbstoffe schon allein eine gewisse parasitotrope Wirkung eigen zu sein schien, hofften wir eine Art Kombinationstherapie treiben zu können. Es leitete uns dabei die Vorstellung, daß beide wirksamen Bestandteile in ihrer Wirkung auf die Spirillen sich konzentrieren, in ihrer Wirkung auf den Körper dagegen sich auf verschiedene Organe verteilen sollten. So glaubten wir zu Präparaten mit hohem therapeutischen Index bei geringer Giftigkeit gelangen zu können.

Bei der experimentellen Prüfung dieser Frage konnten wir eine spirilloicide Wirkung bei Anwendung des Fluoresceins allein, das wir aus äußeren Gründen aus der Reihe der zum Aufbau der Quecksilberverbindungen verwendeten Farbstoffe herausgriffen, allerdings nicht feststellen. Dagegen zeigten uns schon die ersten Tastversuche, daß quecksilberhaltige Fluoresceine kräftige spirilloicide Wirkungen ausübten.

### Fluorescein.

**Tabelle 1.** Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
					1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	21	500 mg	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	23	500 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	22	250 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	23	250 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	19	125 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	23	125 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: > 500 mg Präp.

**Tabelle 2.** Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1040	1/10	5 mg	i. v.	—	20	50	100	100	†										
2	1250	1/5	5 "	i. v.	—	15	20	50	75	†										
3	1350	1/4	10 "	i. v.	—	15	†													
4	1300	1/4	} Kontrollen, unbehandelt.	i. v.	—	25	50	100	100	neg.	usw.									
5	1000	neg.			—	10	50	50	100	100	†									

Heilung in 0%.

1) geballt.

Aus diesen Erwägungen heraus ist die Dartellung einer Anzahl quecksilberhaltiger Farbstoffe von der Saccharinfabrik-A.-G., vorm. Fahlberg, List & Co. in Magdeburg-Südost in Angriff genommen worden, und die nachstehend untersuchten Verbindungen sind nur zum größten Teil von dieser Fabrik zur Verfügung gestellt worden. Hergestellt wurden diese Substanzen teils durch Behandeln bereits fertiger Farbstoffe mit Quecksilbersalzen nach der Methode von Dimroth, teils wurden sie auch synthetisch aus mercurierten Substanzen gewonnen. Das gilt besonders für die Gruppe der quecksilberhaltigen Azofarbstoffe, als deren eine Komponente in vielen Fällen die Quecksilbersalicylsäure benutzt wurde.

Von quecksilberhaltigen Farbstoffen ist bisher nur ein einziges Präparat, das Fluoresceinquecksilber (Nr. 2) näher untersucht worden. Diese Substanz war von Pauly und Traumann bereits vor Jahren für Färbereizwecke hergestellt worden, hatte aber keine weitere Beachtung gefunden. Auf dem letzten Mikrobiologentage, als unsere Versuche bereits abgeschlossen waren, berichteten Titze und Wedemann über einige pharmakologische Eigenschaften dieses Präparats und die Möglichkeit, es bei bakteriellen Infektionen zu verwenden. Sie glauben bei Anwendung per os im Tierversuch eine starke Verminderung der gesamten Bakterienflora des Dünndarms festgestellt zu haben. Doch sind dies vorläufig nur tastende Versuche gewesen.

19 dieser neu hergestellten Präparate, die als geeignet ausgewählt wurden, wurden genauer von uns untersucht.

Über pharmakologische, physiologische und therapeutische Wirkungen dieser Verbindungen soll im folgenden ausführlich berichtet werden.

Ihrer chemischen Zusammensetzung nach lassen sich die untersuchten mercurierten Farbstoffe in 3 Hauptgruppen einteilen:

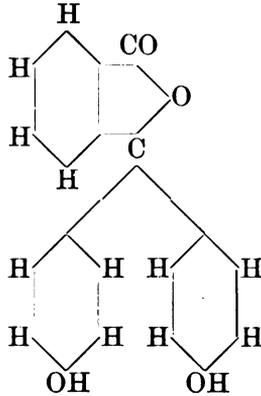
1. Quecksilberphtaleine;
2. Quecksilberanthrachinonfarbstoffe;
3. Quecksilberazofarbstoffe.

### 1. Gruppe. **Quecksilberphtaleine.**

Die Phtaleine repräsentieren eine große Gruppe von Farbstoffen, die eine erhebliche Affinität zur tierischen Faser besitzen und Seide direkt anfärben. Sie nehmen ein, zwei oder auch mehr Atome Quecksilber in das Molekül auf. Der Farbstoffcharakter und die Affinität zur Faser nimmt mit dem Eintritt von Quecksilber

in das Molekül zu, die Löslichkeit in Alkali, also ihr Säurecharakter dagegen etwas ab.

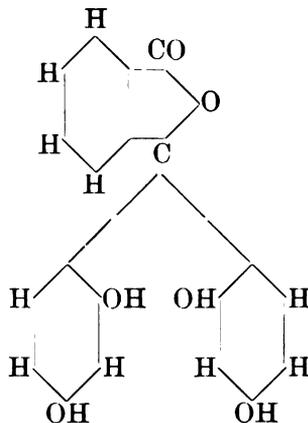
Der einfachste Vertreter der Gruppe ist Nr. 1, das Phenolphthaleïnquecksilber, dessen Grundsubstanz, das Phenolphthaleïn, folgende Strukturformel hat:



Das Phenolphthaleïn selbst färbt Seide nicht, während seine komplexe Quecksilberverbindung in alkalischer Lösung Seide violett anfärbt.

Werden in den beiden Phenolkernen 4 Wasserstoffatome durch Jod substituiert, so entsteht das Tetrajodphenolphthaleïn oder das Nosophen  $C_{20}H_{10}J_4O_4$ , welches sich zu Nosophenquecksilber (Nr. 7) merkurieren läßt.

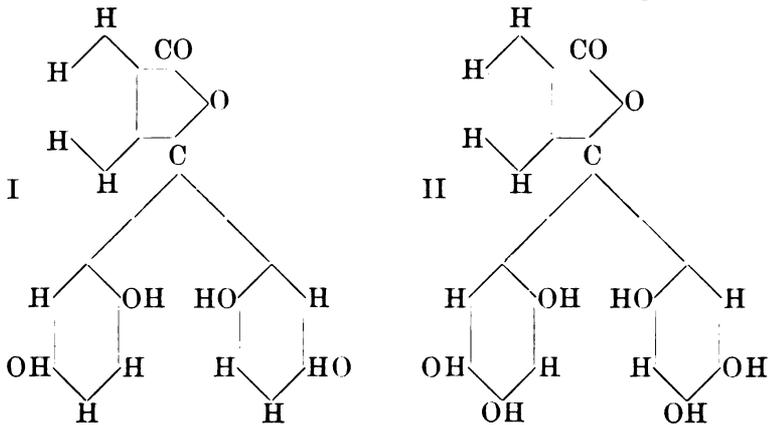
Die beiden Fluoresceïnquecksilber (Nr. 2a und 2b) entstehen durch Eintritt von einem bzw. zwei Atomen Quecksilber in das Molekül des Fluoresceïns:



Die komplexe Quecksilbergruppe ist mit großer Wahrscheinlichkeit substituierend in den Resorcinrest des Farbstoffes eingetreten.

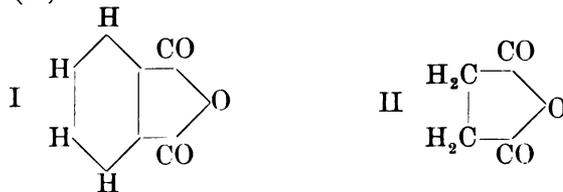
Dibromfluoresceïn  $C_{20}H_{10}O_6Br_2$ , Tetrabromfluoresceïn, auch Eosin  $C_{20}H_8O_6Br_4$  genannt und Dijodfluoresceïn (Erythrosin)  $C_{20}H_{10}O_6J_2$  entstehen durch Substitution von 2 resp. 4 Wasserstoffatomen im Fluoresceïn durch die betreffenden Halogene Jod bzw. Brom; diese Verbindungen wurden durch Merkurieren in die entsprechenden Quecksilberfarbstoffe Nr. 5, Nr. 6 und Nr. 8 übergeführt.

Das Kresorcinphtaleïn oder Methylfluoresceïn, welches dem Präparat 4 zugrunde liegt, unterscheidet sich vom Fluoresceïn selbst nur durch Eintritt einer Methylgruppe ( $-CH_3$ ) in den Kern. Das Hydrochinonphtaleïn (I) und Oxyhydrochinonphtaleïn (II)

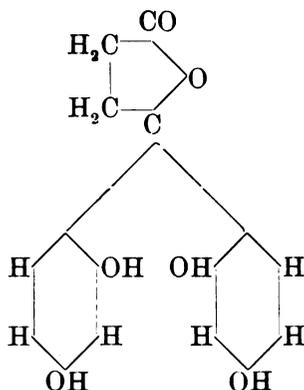


sind die Grundsubstanzen der Präparate Nr. 9 und Nr. 10. Die Lösung von Hydrochinonphtaleïnquecksilber oxydiert sich an der Luft nach einigem Stehen, dabei schlägt die ursprüngliche violette Färbung in eine braune um, ohne daß jedoch in dem gesamten Verhalten der Substanz eine erhebliche Änderung eintritt.

Das Succineïnquecksilber (Präparat Nr. 11) gehört seiner Konstitution und seinem Farbstoffcharakter nach ebenfalls in diese Gruppe. Während alle Phtaleine Derivate des Phtalsäureanhydrids (I) sind, stammen die Succineïne von Bernsteinsäureanhydrid (II)



ab, und zwar ist das unserem Präparat Nr. 11 zugrunde liegende ein Resorcinsuccineïn von folgender Konstitution:



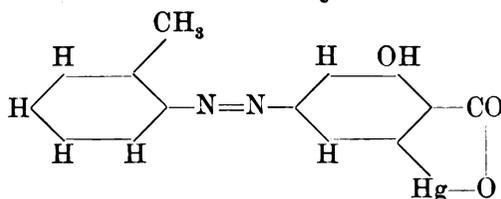
**2. Gruppe. Quecksilberanthrachinonfarbstoffe.**

Der bekannteste Vertreter aus der Gruppe der Anthrachinonfarbstoffe ist das Alizarin, ein Dioxyanthrachinon, während der einzige komplexe Quecksilberfarbstoff, den wir aus der 2. Gruppe mit aufnehmen konnten, Nr. 12, durch Merkurieren eines Oxyanthrachinons erhalten wurde.

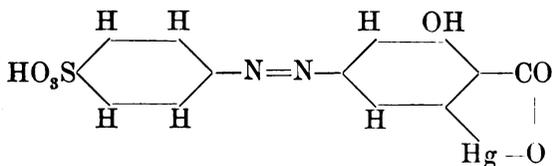
**3. Gruppe. Quecksilberazofarbstoffe.**

Bei den Azofarbstoffen, die den Atomkomplex -N=N- (die Azogruppe) als Charakteristikum enthalten, mußten wir uns aus äußeren Gründen auf wenige Vertreter beschränken. Die von uns untersuchten Substanzen resultierten durch Kuppelung von Quecksilbersalicylsäure mit den entsprechenden diazotierten Aminen. Die 3 einfachsten haben folgende Strukturformeln:

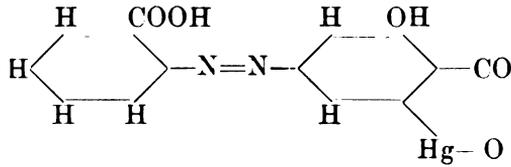
Präparat Nr. 13 = Toluol-azo-Quecksilbersalicylsäure



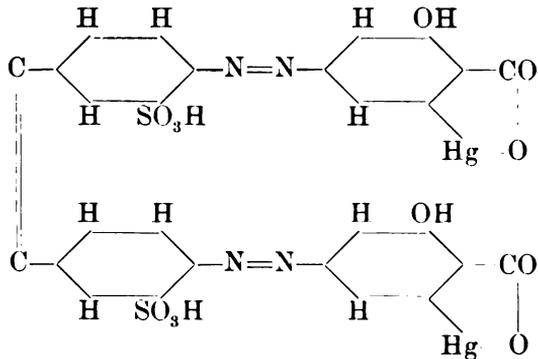
Präparat Nr. 14 = Benzolsulfosäure-azo-Quecksilbersalicylsäure



Präparat Nr. 15 = Benzoësäure-azo-Quecksilbersalicylsäure

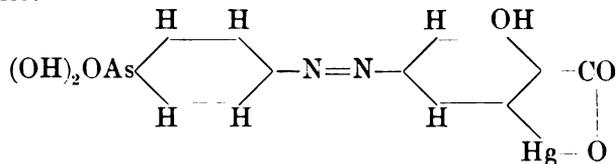


Präparat Nr. 16, die Diamidostilbendisulfosäureazo-quecksilbersalicylsäure ist eine sogenannte Tetrazoverbindung, welche durch Kuppeln von Diazostilbendisulfosäure mit Quecksilbersalicylsäure erhalten wurde.



Das Trypanblauquecksilber (Präparat Nr. 17) ist dem kompliziert gebauten Molekül des Trypanblaus nachgebildet.

Die Atoxylquecksilberazosalicylsäure (Präparat Nr. 18) nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als sie außer Quecksilber noch Arsen im Molekül enthält, wie aus ihrer Strukturformel zu ersehen ist:



Bei den von uns untersuchten Gruppen ist das Quecksilber mit einer Valenz an den Kohlenstoff gebunden, während die zweite einen negativen Rest wie das Chloratom, die Hydroxylgruppe oder den Acetylrest trägt. Trotz dieser Gleichartigkeit zeigen die Substanzen untereinander recht beträchtliche Unterschiede in ihrem Verhalten gegen Ammoniumsulfid. Wir haben dabei die verschiedenen Stufen der Zersetzung, wie sie von Müller, Schöller

und Schrauth unterschieden werden, außer acht gelassen, da nach unserer Ansicht nur der Beginn der Quecksilbersulfidabscheidung einwandfrei festgestellt werden kann, während die „Tiefbraun-“ und „Schwarzfärbung“ zu sehr vom subjektiven Empfinden abhängig ist. Während wir bei manchen Präparaten schon nach wenigen Minuten (bei 16° C) den Beginn der Quecksilbersulfidausflockung feststellen konnten, unterblieb sie bei anderen bei gewöhnlicher Temperatur vollkommen und war erst nach längerem Kochen oder garricht hervorzurufen<sup>1)</sup>.

Entsprechend diesem Verhalten wurde auch von keinem dieser Präparate Eiweiß gefällt.

Die Präparate der 1. und 2. Gruppe und auch einige der 3. Gruppe haben den Charakter schwacher Säuren und sind als solche in destilliertem Wasser unlöslich, dagegen lösen sich ihre Natriumsalze, die durch Zusatz molekularer Mengen Soda entstehen, in destilliertem Wasser. Doch zeigen sich in der Löslichkeit dieser Natriumsalze recht beträchtliche Unterschiede (von 1:10 bis 1:150).

Bezüglich des pharmakologischen Verhaltens dieser Verbindungen wurde durch Herrn Dr. Lénárd die Deponierung des Quecksilbers in der Leber untersucht; es wird an anderer Stelle darüber berichtet werden. Es sei hier nur kurz hervorgehoben, daß sich bei 13 von 19 Präparaten Quecksilber in größeren oder kleineren Mengen 24 und 48 Stunden nach intravenöser Injektion des Präparates in der Kaninchenleber nachweisen ließ. Irgendeine konstante Beziehung zwischen positivem Quecksilbernachweis in der Leber einerseits, und Löslichkeit, Abspaltbarkeit des Hg durch Ammoniumsulfid, Quecksilbergehalt, Toxizität andererseits, war nicht festzustellen.

Nur bei einem Vergleiche der Leberdeponierung des Metalls mit der therapeutischen Wirksamkeit des Präparates ergaben sich Resultate, die auf Beziehungen zwischen beiden Eigenschaften im Sinne Blumenthals hinzudeuten schienen.

Den toxischen und therapeutischen Versuchen seien einige technische Bemerkungen vorausgeschickt:

---

<sup>1)</sup> Wir wollen nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß die Abscheidung des Schwefelquecksilbers bei Anwesenheit von viel freiem Ammoniak in Schwefelammonium stark verzögert wird. Auch freies Alkali wirkt in dieser Richtung.

Die Dosis tolerata wurde in Vorversuchen zunächst an Mäusen, dann an Hühnern ausgewertet, und zwar wurde der intravenösen Einführung der Vorzug gegeben, um von Resorptionsverschiedenheiten, wie sie bei subkutaner und intramuskulärer Injektion nicht auszuschalten sind, unabhängig zu sein. Bei Mäusen wurden die seitlichen Schwanzvenen, beim Huhn die Flügelvenen benutzt. Als Flüssigkeitsmenge wählten wir 0,5 ccm pro 20 g Maus und 12,5 ccm pro 1000 g Huhn. Wir vermieden so einerseits die Überlastung des Kreislaufs durch zu große Flüssigkeitsquanten, andererseits die Chokwirkung durch zu konzentrierte Lösung. Beides bedeutet besonders bei der so empfindlichen Maus eine Fehlerquelle, die zu ganz falschen Resultaten führen kann.

Die Auswertung an Mäusen allein halten wir für ungenügend, da schon geringe Unregelmäßigkeiten im Futter und leichte Stallinfektionen zur Schwächung der Resistenz Anlaß geben können. Das sehr widerstandsfähige und relativ quecksilbertolerante Huhn gab uns dagegen stets gleichmäßige Resultate. Wir konnten hier die akut wie chronisch tödlichen Dosen genau ermitteln. Die Beobachtungszeit betrug mindestens 10 Tage, und nur die Dosis, bei der während dieser Zeit kein Tier an den Folgen der Injektion zugrunde ging, wurde als Dosis tolerata angesehen.

Als Testobjekt bei unseren therapeutischen Versuchen diente die Hühnerspirillose, bei der Rezidive nach Überstehen des Anfalls im allgemeinen ausbleiben scheinen. Versuche mit Mäuserecurrens wurden wegen der schweren Beeinflussung durch Quecksilberpräparate und wegen der verschiedenen und geringen Widerstandsfähigkeit der Mäuse bald aufgegeben.

Der uns durch die Liebenswürdigkeit von Exz. Ehrlich überlassene Stamm von Hühnerspirillose war äußerst virulent. Die Mortalität der gleichmäßig geimpften, unbehandelten Hühner (Kontrollhühner, Stammhühner) betrug 61,7%. Die künstliche Infektion erfolgte intramuskulär (i. m.) in den Brustmuskel mit einer Blutverdünnung, die durchschnittlich 10 Spirillen im Gesichtsfeld ( $\frac{10}{1}$  Spirillen) im Dunkelfelddeckglaspräparat aufwies. Die Behandlung erfolgte durchschnittlich nach 40—48 Stunden, sobald Spirillen nachgewiesen waren.

Eine natürliche Immunität wurde nur in ganz vereinzelt Fällen (unter 1%) festgestellt.

Bemerkt sei, daß während einer eingeschleppten Epidemie mit Hühnerdiphtherie plötzlich die Zahl der nicht mit *Spirochaeta gallinarum* zu infizierenden Hühner anstieg, doch ist uns nicht bekannt, ob die Immunität eine dauernde oder nur temporäre war.

Bei den unbehandelten, aber mit Spirillen infizierten Kontrolltieren war entgegen der allgemein herrschenden Ansicht einer dauernden Immunität in 25% nach 43—59 Tagen ein Reinfektionsversuch von Erfolg begleitet. Von den mit Quecksilberpräparaten behandelten Spirillenhühnern konnten 77,5% nach 32—111 Tagen reinfiziert werden.

Um eine Schädigung der Versuchstiere durch etwa in den Lösungen vorhandene überschüssige Soda auszuschließen, wurden einige dahingehende Vorversuche vorgenommen.

**Tabelle 3.**

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion									
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
1	11	500 mg		i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	12	150 „		i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	15	125 „		i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Soda erwies sich also selbst in starker Konzentration für Mäuse als unschädlich.

Dosis tolerata pro kg Maus: > 500 mg Präp.

**Präparat Nr. 1 = Phenolphthaleinquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 39%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:100

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen noch nicht erfolgt.

**Tabelle 4.**

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion									
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
1	1150	25 mg	9,8 mg	i. v.	0	0	†								
2	1110	21 „	8,2 „	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 21 mg Präp. = 8,2 mg Hg.

## Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1340	100	13 mg	5,1 mg	i. v.	—	neg.	neg.	usw.											
2	1500	100	13 "	5,1 "	i. v.	—	neg.	neg.	usw.											
3	1200	75	13 "	5,1 "	i. v.	—	neg.	neg.	usw.											
4	1450	50	13 "	5,1 "	i. v.	—	neg.	neg.	usw.											
5	1350	75	} Kontrollen, unbehandelt.			—	200	300	†											
6	1500	5				—	geb.	25	20	neg.	usw.									

Heilung in 100%.

## Präparat Nr. 2a = Fluoresceinquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 25%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:10

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 4 Stunden.

Tabelle 5.  
Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	13	250 mg	62,5 mg	i. v.	†															
2	12	250 "	62,5 "	i. v.	0	†														
3	12	100 "	25 "	i. v.	0	0	†													
4	15	100 "	25 "	i. v.	0	0	†													
5	15	63 "	15,8 "	i. v.	0	0	0	†												
6	13	63 "	15,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	†								
7	15	50 "	12,5 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	14	50 "	12,5 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 50 mg Präp. = 12,5 mg Hg.

## Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1490	63 mg	15,8 mg	i. v.	—	†														
2	1210	50 "	12,5 "	i. v.	—	0	0	†												
3	1000	33 "	8,3 "	i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 33 mg Präp. = 8,3 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1340	1/3	28 mg	7 mg	i. v.	—	1/10	neg.	†											
2	1280	1/10	28 "	7 "	i. v.	—	neg.	neg.	neg.	usw.										
3	1200	1/3	21 "	5,3 "	i. v.	—	8	3	neg.	usw.										
4	1050	1/3	21 "	5,3 "	i. v.	—	80	25	100	neg.	usw.									
5	1600	1/5	16 "	4 "	i. v.	—	25	50	†											
6	1700	1/3	16 "	4 "	i. v.	—	1/5	1/2	neg.	usw.										
7	1500	1/10				—	5	25	200	neg.	usw.									
8	1380	1/3				—	15	100	150	neg.	usw.									
9	1190	1/3				—	20	50	200	150	neg.	usw.								
10	1140	1/3				—	10	150	150	neg.	usw.									
11	1220	1/20				—	5	100	200	neg.	usw.									

Heilung in 80%.

Präparat Nr. 2b = Fluoresceinquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 50%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:10

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1/2 Stunde.

Tabelle 6.

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	17	36 mg	18 mg	i. v.	†															
2	18	36 "	18 "	i. v.	†															
3	14	31 "	15,5 "	i. v.	0	†														
4	17	31 "	15,5 "	i. v.	0	†														
5	21	28 "	14 "	i. v.	0	0	0	†												
6	27	28 "	14 "	i. v.	0	0	0	0	†											
7	17	25 "	12,5 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	22	25 "	12,5 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 25 mg Präp. = 12,5 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1880	25 mg	12,5 mg	i. v.	†															
2	1800	21 "	10,5 "	i. v.	0	†														
3	1200	18 "	9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 18 mg Präp. = 9 mg Hg.

## Heilversuch.

Ihuh Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	2190	3	10 mg	5 mg	i. m.	—	6	neg.	usw.											
2	1760	$\frac{3}{2}$	10 "	5 "	i. m.	—	9	10	2	neg.	usw.									
3	1820	$\frac{3}{2}$	10 "	5 "	i. m.	—	2	neg.	usw.											
4	2330	$\frac{1}{2}$	10 "	5 "	i. m.	—	4	neg.	usw.											
5	1310	2	10 "	5 "	i. v.	—	neg.	neg.	neg.	†										
6	1350	1	10 "	5 "	i. v.	—	neg.	usw.												
7	1270	$\frac{1}{4}$	10 "	5 "	i. v.	—	neg.	usw.												
8	750	$\frac{1}{30}$	8 "	4 "	i. v.	—	neg.	usw.												
9	1150	$\frac{1}{10}$	8 "	4 "	i. v.	—	neg.	usw.												
10	1700	$\frac{1}{30}$	8 "	4 "	i. v.	—	neg.	usw.												
11	1550	1				—	7	20	neg.	usw.										
12	1480	1				—	10	50	neg.	usw.										
18	1390	2				—	10	25	neg.	usw.										
14	1260	4				—	25	50	50	neg.	usw.									
15	1740	2				—	20	50	75	neg.	usw.									
16	1930	$\frac{1}{4}$				—	5	10	neg.	usw.										

Heilung (intravenös) in 100%.

Heilung (intramuskulär) in 75%.

**Präparat Nr. 3 = Fluoresceïnquecksilberacetat.**  
 Quecksilbergehalt . . . . . 44,9%  
 Löslichkeit . . . . . ca. 1:100  
 Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1 Stunde.

Tabelle 7.

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	20	31 mg	14,9 mg	i. v.	†															
2	19	31 "	14,9 "	i. v.	†															
3	20	21 "	9,4 "	i. v.	†															
4	21	21 "	9,4 "	i. v.	0	0	†													
5	18	16 "	7,2 "	i. v.	0	0	0	†												
6	18	16 "	7,2 "	i. v.	0	0	0	0	†											
7	18	13 "	5,8 "	i. v.	0	0	0	0	†											
8	18	13 "	5,8 "	i. v.	0	0	0	0	†											
9	19	11 "	4,9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	14	11 "	4,9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 11 mg Präp. = 4,9 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1500	14 mg	6,3 mg	i. v.	0	0	0	+												
2	1000	13 "	5,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 13 mg Präp. = 4,9 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung																	
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.								
1	500	2	8 mg	3,6 mg	i. v.	—	1/3	2	neg.	usw.														
2	630	2	8 "	3,6 "	i. v.	—	50	100	neg.	usw.														
3	670	2	8 "	3,6 "	i. v.	—	neg.	usw.																
4	470	5	6 "	2,7 "	i. v.	—	50	+																
5	580	2/3	6 "	2,7 "	i. v.	—	10	100	neg.	usw.														
6	1750	1/25	6 "	2,7 "	i. v.	—	neg.	usw.																
7	570	1/2	} Kontrollen, unbehandelt.			—	20	15	neg.	usw.														
8	550	4					20	20	neg.	usw.														
9	780	1/3					20	10	neg.	usw.														
10	2050	1/20					3	50	50	+														
11	2100	1/10	5	25	10	neg.	usw.																	

Heilung in 40%.

Präparat Nr. 4 = Kresorcinnphthaläinquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 48%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:20

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1 Stunde.

Tabelle 8.

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	17	42 mg	20,2 mg	i. v.	+															
2	16	42 "	20,2 "	i. v.	+															
3	16	17 "	8,2 "	i. v.	0	0	+													
4	20	17 "	8,2 "	i. v.	0	0	+													
5	14	12 "	5,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	19	12 "	5,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 12 mg Präp. = 5,8 mg Hg.

## Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1850	16 mg	7,7 mg	i. v.	0	0	0	†												
2	1600	14 „	6,7 „	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 14 mg Präp. = 6,7 mg Hg.

## Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1650	1/5	8 mg	3,8 mg	i. v.	—	neg.	usw.												
2	1465	1/3	8 „	3,8 „	i. v.	—	1/4	1	neg.	usw.										
3	1150	1/3	8 „	3,8 „	i. v.	—	neg.	usw.												
4	1700	1/10	4 „	1,9 „	i. v.	—	neg.	usw.												
5	1275	1/3	4 „	1,9 „	i. v.	—	neg.	neg.	†											
6	1000	1	4 „	1,9 „	i. v.	—	2	8	15	neg.	usw.									
7	700	1/3				—	8	20	20	neg.	usw.									
8	1120	1/4				—	10	50	50	neg.	usw.									
9	1450	2				—	10	100	100	†										

Heilung in 83%.

## Präparat Nr. 5 = Dibromfluoresceinquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 35%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:50.

Tabelle 9.

## Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	20	63 mg	22,1 mg	i. v.	†															
2	20	63 „	22,1 „	i. v.	†															
3	26	50 „	18 „	i. v.	0	†														
4	17	50 „	18 „	i. v.	0	†														
5	22	36 „	12,6 „	i. v.	0	0	0	†												
6	16	36 „	12,6 „	i. v.	0	0	0	†												
7	15	31 „	11 „	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	22	31 „	11 „	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 31 mg Präp. = 11 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1090	42 mg	14,7 mg	i. v.	†															
2	1530	31 "	11 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 31 mg Präp. = 11 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	750	1/10	21 mg	7,4 mg	i. v.	—	neg.	usw.												
2	1000	1/5	21 "	7,4 "	i. v.	—	neg.	usw.												
3	1400	1/5	21 "	7,4 "	i. v.	—	neg.	usw.												
4	650	1/5	16 "	5,6 "	i. v.	—	50	100	50	4	neg.	usw.								
5	1310	1/30	16 "	5,6 "	i. v.	—	neg.	usw.												
6	1000	1/20	16 "	5,6 "	i. v.	—	neg.	usw.												
7	1550	1/4				—	5	20	15	neg.	usw.									
8	2150	1/10				—	4	25	10	neg.	usw.									
9	2050	1/20				—	3	50	50	†										
10	2100	1/10				—	5	25	50	neg.	usw.									

Heilung in 83%.

Präparat Nr. 6 = Tetrabromfluoresceinquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 33%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:50

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1 Stunde.

Tabelle 10.

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	18	50 mg	16,5 mg	i. v.	†															
2	21	50 "	16,5 "	i. v.	0	0	0	†												
3	15	34 "	11,2 "	i. v.	0	0	0	†												
4	18	34 "	11,2 "	i. v.	0	0	0	†												
5	18	25 "	8,3 "	i. v.	0	0	0	†												
6	20	25 "	8,3 "	i. v.	0	0	0	†												
7	24	20 "	6,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	15	20 "	6,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	22	17 "	5,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	16	17 "	5,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 17 mg Präp. = 5,6 mg Hg.

## Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1540	42 mg	13,9 mg	i. v.	†															
2	1300	31 "	10,2 "	i. v.	†															
3	1250	21 "	7 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 21 mg Präp. = 7 mg Hg.

## Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung														
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1280	75	21 mg	7 mg	i. v.	—	75	neg.	usw.												
2	1250	10	21 "	7 "	i. v.	—	5	neg.	usw.												
3	1410	25	21 "	7 "	i. v.	—	neg.	usw.													
4	1500	$\frac{1}{10}$	14 "	4,6 "	i. v.	—	neg.	usw.													
5	1150	$\frac{1}{10}$	14 "	4,6 "	i. v.	—	neg.	usw.													
6	1350	$\frac{1}{30}$	14 "	4,6 "	i. v.	—	neg.	usw.													
7	1350	75				—	200	300	†												
8	1800	$\frac{1}{30}$	} Kontrollen, unbehandelt.			—	geb.														
9	1900	$\frac{1}{30}$					—	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{2}$												
9	1900	$\frac{1}{30}$					—	$\frac{1}{10}$	1												
10	1400	$\frac{1}{30}$					—	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{2}$												

Heilung in 100%.

## Präparat Nr. 7 = Nosopenquecksilber.

Quecksilbergehalt . . . . . 17%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:100.

Tabelle 11.

## Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	12	36 mg	6,1 mg	i. v.	0	†														
2	13	36 "	6,1 "	i. v.	0	†														
3	25	31 "	5,3 "	i. v.	0	0	†													
4	16	31 "	5,3 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	†									
5	12	25 "	4,2 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	20	25 "	4,2 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 25 mg Präp. = 4,2 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion													
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1250	63 mg	10,7 mg	i. v.	0	0	†												
2	1550	50 „	9 „	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 50 mg Präp. -- 9 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung												
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.			
1	1450	1/10	13 mg	2,2 mg	i. m.	—	15	10	neg.	usw.									
2	1400	1/5	13 „	2,2 „	i. m.	—	10	25	neg.	usw.									
3	1500	1/10	13 „	2,2 „	i. m.	—	10	30	neg.	usw.									
4	1550	1/4	25 „	4,2 „	i. m.	—	10	neg.	usw.										
5	1450	1/6	25 „	4,2 „	i. m.	—	10	neg.	usw.										
6	1450	1/5	25 „	4,2 „	i. m.	—	1/10	neg.	usw.										
7	1400	1/10	38 „	6,5 „	i. m.	—	5	2	neg.	usw.									
8	1450	1/4	38 „	6,5 „	i. m.	—	50	100	neg.	usw.									
									geb.										
9	1300	1/6	38 „	6,5 „	i. m.	—	20	50	neg.	usw.									
10	990	2	50 „	8,5 „	i. m.	—	25	40	neg.	usw.									
11	1300	1/4	50 „	8,5 „	i. m.	—	25	10	neg.	usw.									
12	1200	1/2	50 „	8,5 „	i. m.	—	25	neg.	usw.										
13	900	1/2	21 „	3,6 „	i. v.	—	6	100	neg.	usw.									
									geb.										
14	1250	1	21 „	3,6 „	i. v.	—	10	50	neg.	usw.									
									geb.										
15	1460	3/4	18 „	3,1 „	i. v.	—	neg.	usw.											
16	1100	3/5	18 „	3,1 „	i. v.	—	neg.	usw.											
17	1660	1/1	18 „	3,1 „	i. v.	—	10	20	neg.	usw.									
18	1660	1/10	18 „	3,1 „	i. v.	—	1/10	2	neg.	usw.									
19	1420	1/30	18 „	3,1 „	i. v.	—	3/2	6	neg.	usw.									
20	1280	1/20	18 „	3,1 „	i. v.	—	2	5	neg.	usw.									
21	1420	1/15	18 „	3,1 „	i. v.	—	1	5	neg.	usw.									
22	1350	1/30				—	2	15	200	†									
23	1300	1/30				—	1/2	10	200	†									
24	1500	4				—	25	50	50	†									
25	1550	1/4				—	3	10	100	neg.	neg.	†							
26	1950	1/3				—	6	20	80	neg.	usw.								

Kontrollen, unbehandelt.

Heilung (intravenös) in 100%.

Heilung (intramuskulär) in 100%.

**Präparat Nr. 8 = Erythrosinquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 30%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:20

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach  $\frac{1}{2}$  Stunde.**Tabelle 12. Toxitätsbestimmung an Mäusen.**

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	17	63 mg	18,9 mg	i. v.	0	0	†													
2	19	63	18,9	i. v.	0	0	†													
3	20	42	12,6	i. v.	0	0	0	0	†											
4	21	42	12,6	i. v.	0	0	0	0	†											
5	12	31	9,3	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	12	31	9,3	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 31 mg Präp. = 9,3 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1120	42 mg	12,6 mg	i. v.	0	†														
2	1230	31	9,3	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 31 mg Präp. = 9,3 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirlen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1640	$\frac{1}{10}$	21 mg	6,3 mg	i. m.	—	10	30	20	neg.	usw.									
2	1940	$\frac{1}{5}$	21	6,3	i. m.	—	geb. $\frac{1}{10}$	geb. 4	geb. 30	†										
3	1690	$\frac{1}{25}$	21	6,3	i. m.	—	3	3	neg.	usw.										
4	1360	$\frac{1}{25}$	13	3,9	i. v.	—	4	50	†											
5	1630	$\frac{1}{7}$	13	3,9	i. v.	—	neg.	usw.												
6	1690	$\frac{1}{7}$	13	3,9	i. v.	—	5	50	100	3	neg.	usw.								
7	1710	$\frac{1}{7}$	21	6,3	i. v.	—	geb. $\frac{1}{7}$	geb. neg.	geb. usw.											
8	1450	$\frac{1}{20}$	21	6,3	i. v.	—	neg.	†												
9	1450	$\frac{1}{10}$	21	6,3	i. v.	—	neg.	usw.												
10	1070	$\frac{1}{10}$				—	25	100	100	†										
11	1340	$\frac{1}{2}$	Kontrollen, unbehandelt.			—	50	100	100	20	neg.	usw.								
12	1230	$\frac{1}{5}$				—	15	†	geb.	geb.										

Heilung (intravenös) in 83%.

Heilung (intramuskulär) in 100%.

**Präparat Nr. 9 = Hydrochinonphtaleinquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 44%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:60—100

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1 Stunde.

**Tabelle 13.**

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	19	125 mg	55 mg	i. v.	+															
2	20	125 "	55 "	i. v.	+															
3	20	63 "	27,7 "	i. v.	0	0	0	+												
4	18	63 "	27,7 "	i. v.	0	0	0	+												
5	20	42 "	18,5 "	i. v.	0	0	0	0	+											
6	19	42 "	18,5 "	i. v.	0	0	0	+												
7	22	31 "	13,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	+								
8	20	31 "	13,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	+									
9	21	25 "	11 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	22	25 "	11 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 25 mg Präp. = 11 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1		63 mg	27,7 mg	i. v.	0	+														
2	1580	42 "	18,5 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 42 mg Präp. = 18,5 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung															
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.						
1	1640	1/10	28 mg	12,3 mg	i. v.	—	neg.	usw.														
2	1660	1/10	28 "	12,3 "	i. v.	—	neg.	usw.														
3	1900	1/5	28 "	12,3 "	i. v.	—	neg.	usw.														
4	1180	1/15	14 "	6,2 "	i. v.	—	neg.	neg.	neg.	neg.	+											
5	1190	1/10	14 "	6,2 "	i. v.	—	1/2	10	150	+												
6	1000	1/10	14 "	6,2 "	i. v.	—	neg.	usw.														
7	700	1/3	Kontrollen, unbehandelt.			—	8	20	20	neg.	usw.											
8	1120	1/4				—	10	50	50	neg.	usw.											
9	1450	2				—	10	100	100	+												

Heilung in 83%.

**Präparat Nr. 10 = Oxyhydrochinonphtaleinquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 44%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:60-100

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 1 Stunde.

**Tabelle 14.****Toxitätsbestimmung an Mäusen.**

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	19	63 mg	27,7 mg	i. v.	0	0	0	0	+											
2	14	63	27,7	i. v.	0	0	+													
3	15	42	18,5	i. v.	0	0	0	0	+											
4	14	42	18,5	i. v.	0	0	0	0	0											
5	19	31	13,6	i. v.	0	0	0	0	0	+										
6	13	31	13,6	i. v.	0	0	0	0	0	0	+									
7	16	25	11	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	11	25	11	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 25 mg Präp. = 11 mg Hg.

**Toxitätsbestimmung an Hühnern.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1		63 mg	27,7 mg	i. v.	0	+														
2	1390	42	18,5	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 42 mg Präp. = 18,5 mg Hg.

**Heilversuch.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	700	1/10	28 mg	12,3 mg	i. v.	—	neg.	+												
2	550	1/10	28	12,3	i. v.	—	2	neg.	usw.											
3	540	1/10	28	12,3	i. v.	—	1	neg.	usw.											
4	1250	1/20	21	9,2	i. v.	—	5	50	neg.	usw.										
5	640	1/3	21	9,2	i. v.	—	1	20	5	neg.	usw.									
6	1300	1/10	21	9,2	i. v.	—	neg.	usw.												
7	1550	1/4				—	5	20	15	neg.	usw.									
8	2150	1/10				—	4	25	10	neg.	usw.									
9	2050	1/20				—	3	50	50	+										
10	2100	1/10				—	5	25	10	neg.	usw.									

Heilung in 83%.

**Präparat Nr. 11 = Succinmerquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 53%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:20

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 2½ Stunden.

**Tabelle 15.**  
Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion													
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
1	16	125 mg	66,3 mg	i. v.	+														
2	12	125 "	66,3 "	i. v.	+														
3	17	31 "	16,4 "	i. v.	0	0	0	+											
4	26	31 "	16,4 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	+						
5	26	25 "	13,3 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	15	25 "	13,3 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 25 mg Präp. = 13,3 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion													
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
1	1390	42 mg	22,3 mg	i. v.	0	+													
2	1690	31 "	16,4 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 31 mg Präp. = 16,4 mg Hg.

**Heilversuch.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung												
							1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	810	3/2	21 mg	11,1 mg	i. v.	—	neg.	+											
2	1220	1/2	21 "	11,1 "	i. v.	—	neg.	+											
3	1000	1/20	21 "	11,1 "	i. v.	—	1/1	neg.	usw.										
4	1500	1/4	10 "	5,3 "	i. v.	—	1/2	2	+										
5	1110	1/4	10 "	5,3 "	i. v.	—	4	20	150	50	+								
6	1830	1/3	10 "	5,3 "	i. v.	—	neg.	usw.											
7	1220	1/4				—	10	50	50	neg.	usw.								
8	1450	1/3				—	10	100	100	+									
9	700	2				—	8	20	20	neg.	usw.								
10	2050	1/20				—	3	50	50	+									
11	2100	1/10				—	5	25	10	neg.	usw.								

Heilung in 80%.

**Präparat Nr. 12 - Oxyanthrachinonquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 51,6%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:150

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 10 Minuten.

**Tabelle 16.**  
Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	17	125 mg	65 mg	i. v.	+															
2	15	125 "	65 "	i. v.	+															
3	20	42 "	21,8 "	i. v.	0	+														
4	26	42 "	21,8 "	i. v.	0	0	+													
5	15	25 "	13 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+						
6	17	25 "	13 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+						
7	11	21 "	10,9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	20	21 "	10,9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 21 mg Präp. = 10,9 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1500	25 mg	13 mg	i. v.	0	0	+													
2	1600	21 "	10,9 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 21 mg Präp. = 10,9 mg Hg.

## Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spizillen Z. % der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1300	1/4	14 mg	7,3 mg	i. v.	—	neg.	neg.	+											
2	1000	1/5	14 "	7,3 "	i. v.	—	neg.	usw.												
3	1100	1/4	14 "	7,3 "	i. v.	—	neg.	usw.												
4	750	1/4	10 "	5,2 "	i. v.	—	neg.	usw.												
5	1850	1/10	10 "	5,2 "	i. v.	—	neg.	usw.												
6	850	1/20	10 "	5,2 "	i. v.	—	4	neg.	usw.											
7	1550	1/4				—	6	20	15	neg.	usw.									
8	2150	1/10				—	4	25	10	neg.	usw.									
9	2050	1/20				—	3	50	50	+										
10	2100	1/10				—	5	25	10	neg.	usw.									

Heilung in 100%.

**Präparat Nr. 13 = Toluolazoquecksilbersalicylat.**

Quecksilbergehalt . . . . . 23%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:200

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen noch nicht erfolgt.

**Tabelle 17.**

**Toxitätsbestimmung an Mäusen.**

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion													
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	19	42 mg	9,7 mg	i. v.	+														
2	17	42 "	9,7 "	i. v.	+														
3	14	31 "	7,2 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	17	31 "	7,2 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 31 mg Präp. = 7,2 mg Hg.

**Toxitätsbestimmung an Hühnern.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion													
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1830	42 mg	9,7 mg	i. v.	+														
2	1075	28 "	6,4 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 28 mg Präp. = 6,4 mg Hg.

**Heilversuch.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung												
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.			
1	600	1/2	14 mg	3,2 mg	i. v.	—	5	neg.	usw.										
2	650	1/2	14 "	3,2 "	i. v.	—	50	5	neg.	usw.									
3	750	1/50	14 "	3,2 "	i. v.	—	3	neg.	usw.										
4	560	3/4	19 "	4,4 "	i. v.	—	4	2	neg.	usw.									
5	550	3/4	19 "	4,4 "	i. v.	—	100	3	neg.	usw.									
6	650	3/4	19 "	4,4 "	i. v.	—	25	25	neg.	usw.									
7	570	1/2				—	20	15	neg.	usw.									
8	550	4				—	20	20	neg.	usw.									
9	780	1/3	Kontrollen, unbehandelt.			—	20	10	neg.	usw.									
10	1650	1/10				—	10	25	†										

Heilung in 34%.

**Präparat Nr. 14 = Benzolsulfosäureazoquecksilbersalicylat.**  
 Quecksilbergehalt . . . . . 42,5%  
 Löslichkeit . . . . . ca. 1:10  
 Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen noch nicht erfolgt.

Tabelle 18.

## Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	17	125 mg	53,8 mg	i. v.	+															
2	17	125	53,8	i. v.	+															
3	16	63	27,1	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	21	63	27,1	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 63 mg Präp. = 27,1 mg Hg.

## Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1575	63 mg	27,1 mg	i. v.	0	+														
2	1650	42	18,1	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 42 mg Präp. = 18,1 mg Hg.

## Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1100	1/4	28 mg	12 mg	i. v.	—	15	100	150	4	neg.	usw.								
2	800	1/10	28	12	i. v.	—	4	50	50	neg.	usw.									
3	800	1/10	28	12	i. v.	—	15	75	100	150	neg.	usw.								
4	1650	1/2	21	9	i. v.	—	neg.	+												
5	1650	1/2	21	9	i. v.	—	neg.	usw.												
6	1700	6	21	9	i. v.	—	neg.	usw.												
7	1500	1/3				—	5	30	20	10	neg.	usw.								
8	2200	1/3				—	10	50	50	neg.	usw.									
9	2050	1/20				—	3	50	50	+										
10	2100	1/10				—	5	25	10	neg.	usw.									

Heilung in 50%.

**Präparat Nr. 15 = Benzoësäureazoquecksilbersalicylat.**

Quecksilbergehalt . . . . . 41,3%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:150

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen noch nicht erfolgt.

**Tabelle 19.**

Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	18	63 mg	25,8 mg	i. v.	++															
2	21	63	25,8	i. v.	++															
3	15	31	12,7	i. v.	0	0	0	0	+											
4	13	31	12,7	i. v.	0	0	0	+												
5	15	21	8,6	i. v.	0	0	+													
6	18	21	8,6	i. v.	0	0	0	+												
7	18	18	7,4	i. v.	0	0	0	+												
8	21	18	7,4	i. v.	0	0	0	0	0	0	+									
9	11	16	6,6	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	12	16	6,6	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 16 mg Präp. = 6,6 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1880	18 mg	7,4 mg	i. v.	0	0	+													
2	1275	16 "	6,6 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 16 mg Präp. = 6,6 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektionsmodus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1550	1/10	10 mg	4,1 mg	i. v.	—	neg.	usw.												
2	1750	1/10	10 "	4,1 "	i. v.	—	neg.	+												
3	1000	1/4	10 "	4,1 "	i. v.	—	20	50	10	neg.	usw.									
4	1300	2	8 "	3,3 "	i. v.	—	1/10	neg.	usw.											
5	800	1/30	8 "	3,3 "	i. v.	—	1/3	1/5	neg.	usw.										
6	800	1/6	8 "	3,3 "	i. v.	—	10	25	50	20	neg.	usw.								
7	1550	1/4				—	5	20	15	neg.	usw.									
8	2150	1/10				—	4	25	10	neg.	usw.									
9	2050	1/50				—	3	50	50	+										
10	2100	1/10				—	5	25	10	neg.	usw.									

Kontrollen, unbehandelt.

Heilung in 66%.

**Präparat Nr. 16 = Stilbenquecksilber.**

Quecksilbergehalt . . . . . 35%

Löslichkeit . . . . . ca. 1:100

Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen  
noch nicht erfolgt.**Tabelle 20.****Toxizitätsbestimmung an Mäusen.**

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	16	125 mg	43,8 mg	i. v.	+															
2	18	125 "	43,8 "	i. v.	+															
3	18	10 "	3,5 "	i. v.	0	0	+													
4	16	10 "	3,5 "	i. v.	0	0	0	+												
5	14	8 "	2,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	18	8 "	2,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 8 mg Präp. = 2,8 mg Hg.

**Toxizitätsbestimmung an Hühnern.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1570	31 mg	10,9 mg	i. v.	0	+														
2	1760	25 "	8,8 "	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 25 mg Präp. = 8,8 mg Hg.

**Heilversuch.**

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	2000	1/10	25 mg	8,8 mg	i. v.	—	neg.	+												
2	2100	1/10	25 "	8,8 "	i. v.	—	neg.	usw.												
3	2050	3/3	25 "	8,8 "	i. v.	—	neg.	usw.												
4	1750	1/10	25 "	8,8 "	i. v.	—	neg.	+												
5	1850	1/5	25 "	8,8 "	i. v.	—	neg.	+												
6	870	1/10	25 "	8,8 "	i. v.	—	1/10	1/5	1/5	neg.	usw.									
7	1550	1/10			—	—	5	30	20	10	neg.	usw.								
8	2200	1/5			—	—	10	50	50	50	neg.	usw.								
9	2050	1/20			—	—	3	50	50	50	+									
10	2100	1/10			—	—	5	25	10	neg.	usw.									

Heilung in 83%.

**Präparat Nr. 17 = Trypanblauquecksilber.**  
 Quecksilbergehalt . . . . . 12%  
 Löslichkeit . . . . . ca. 1:50  
 Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 3 Tagen  
 noch nicht erfolgt.

**Tabelle 21.**  
 Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion											
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.		
1	26	250 mg	30 mg	i. v.	+												
2	16	250	30	i. v.	+												
3	17	125	15	i. v.	0	0	0	0	0	+							
4	14	125	15	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	20	94	11	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	13	94	11	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 125 mg Präp. = 15 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion											
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.		
1	1250	250 mg	30 mg	i. v.	0	+											
2	850	125	15	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 125 mg Präp. = 15 mg Hg.

Heilversuch.

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung												
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.			
1	650	1/2	420 mg	50 mg	i. v.	—	neg.	usw.											
2	480	3	420	50	i. v.	—	3	10	50	neg.	usw.								
3	630	1	420	50	i. v.	—	neg.	usw.											
4	500	2	420	50	i. v.	—	neg.	usw.											
5	640	1/10	420	50	i. v.	—	neg.	usw.											
6	1250	1/30	420	50	i. v.	—	1/10	3	5	neg.	usw.								
7	570	1/2	Kontrollen, unbehandelt.			—	20	15	neg.	usw.									
8	550	4					20	20	neg.	usw.									
9	780	1/3					20	10	neg.	usw.									

Heilung in 66%.

**Präparat Nr. 18 = Atoxylyquecksilbersalicylat.**  
 Quecksilbergehalt . . . . . 37%  
 Löslichkeit . . . . . ca. 1:50  
 Abspaltung durch Ammoniumsulfid nach 8 Tagen  
 noch nicht erfolgt.

**Tabelle 22.**  
 Toxitätsbestimmung an Mäusen.

Maus Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Maus	Hg. Menge pro 1000 g Maus	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	12	125 mg	46,3 mg	i. v.	+															
2	10	125	46,3	i. v.	+															
3	19	83	80,7	i. v.	—	0	0	0	+											
4	11	82	80,7	i. v.	—	0	0	0	0	+										
5	18	63	23,3	i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	15	63	23,3	i. v.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Maus: 63 mg Präp. = 23,3 mg Hg.

Toxitätsbestimmung an Hühnern.

Huhn Nr.	Gewicht g	Präp. Menge pro 1000 g Huhn	Hg. Menge pro 1000 g Huhn	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Injektion														
						1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.					
1	1450	60 mg	22,2 mg	i. v.	+															
2	1570	42	15,6	i. v.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis tolerata pro kg Huhn: 42 mg Präp. = 15,6 mg Hg.

**Heilversuch**

Huhn Nr.	Gewicht g	Spirillen z. Z. der Behandlung	Präp. Menge pro 1000 g	Hg. Menge pro 1000 g	Injektions- modus	Injektionstag	Tag nach der Behandlung													
							1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.				
1	1000	1	50 mg	18,5 mg	i. v.	—	neg.	usw.												
2	1120	1/10	50	18,5	i. v.	—	neg.	+												
3	870	3	50	18,5	i. v.	—	neg.	usw.												
4	1650	1/3	50	18,5	i. v.	—	neg.	usw.												
5	1700	1/20	25	9,3	i. v.	—	neg.	usw.												
6	1350	1/30	25	9,3	i. v.	—	neg.	usw.												
7	1250	1/10	25	9,3	i. v.	—	neg.	usw.												
8	1350	1/30				—	2	15	200	+										
9	1300	1/30				—	1/2	10	200	+										
10	1800	1/30	Kontrollen, unbehandelt.			—	1/20	1/2	20	neg.	usw.									
11	1900	1/30				—	1/10	1	25	neg.	usw.									
12	1400	1/30				—	1/10	1/2	18	neg.	usw.									

Heilung in 100%.

Wir haben also mit sämtlichen Präparaten meist in einem recht hohen Prozentsatze die Hühnerspirillose zu heilen vermocht, und zwar hatten wir bei intramuskulärer Anwendung der Präparate, die wir in einzelnen Fällen zum Vergleiche heranzogen, dieselben Erfolge wie bei der intravenösen Darreichung.

Die *Dosis minima therapeutica* und den therapeutischen Koeffizienten auszuwerten, hielten wir im Gegensatz zu Kollé und seinen Mitarbeitern für überflüssig, weil unserer Meinung nach letzten Endes doch die Klinik über die bessere oder schlechtere Wirksamkeit des Präparates zu richten haben wird: Die prompte Wirkung bei Hühnerspirillose scheint durchaus nicht immer mit der gleich guten antisypilitischen Wirkung parallel zu gehen. So konnten wir z. B. beim Nosopheuquecksilber bei ausgezeichneter Wirksamkeit bei Hühnerspirillose nur eine relativ geringe und langsame Beeinflussung der manifesten sypilitischen Symptome und der Wassermannschen Reaktion feststellen.

Das ebengenannte Präparat ist übrigens gleichzeitig eine Stütze für die von Lesser verfochtene Behauptung, daß Jod bei sekundärer Lues die Wirksamkeit des Quecksilbers verringere.

Ein Vergleich der Giftigkeit unserer Präparate und der von anderen Autoren untersuchten ist im allgemeinen bei der verschiedenen Applikationsart nicht angängig und würde bei einer einfachen Gegenüberstellung der Resultate sehr zuungunsten der unsrigen ausfallen. Denn da bei intravenöser Injektion die gesamte Präparatmenge auf einmal die Blutbahn überschwemmt, während bei intramuskulärer Anwendung die Resorption eine ganz allmähliche ist und die Hauptmenge des Präparates schon längst wieder ausgeschieden ist, ehe der Rest des Präparates aus dem Depot in die Zirkulation übergegangen ist, so ist der Unterschied der gefundenen Tolerata bei beiden Applikationsarten natürlich ein recht beträchtlicher. Dies zeigt ein mit dem bimerkurierten Fluorescein angestellter Vergleich: Hier fanden wir bei intravenöser Applikation eine Dosis tolerata von **18 mg** pro kg Huhn, während wir bei intramuskulärer Injektion des Präparates in Paraffinemulsion mit **1 g** pro kg die letale Dosis noch nicht erreichten. Es wurde also bei intramuskulärer Applikation das 50fache der bei intravenöser Injektion nach einem Tage tödlichen Dosis noch anstandslos vertragen.

Da 10 mg des Präparates, intramuskulär injiziert, die Spirillenhühner heilte, so erreichten wir bei diesem Präparat schon, ohne

die Dosis minima therapeutica einerseits, die Dosis tolerata andererseits voll auszuwerten, den therapeutischen Koeffizienten

$$\frac{C}{T} = 1 > 100.$$

Ein weiterer Vorzug der von uns untersuchten Quecksilberfarbstoffe vor den bisher bekannten Quecksilberverbindungen ist die noch prompte Wirkung bei schon voll ausgebildeter Infektion. Während im allgemeinen das Quecksilber nur zu Beginn der Krankheit appliziert (+ w bis +) die Krankheit zu heilen vermag (Kolle), dagegen die Krankheit auf ihrem Höhestadium nicht mehr kupiert oder ihren Verlauf in günstigem Sinne beeinflusst, heilten zwei unserer Präparate (Nr. 1 und 6) die Infektion noch bei

75  
1 Spirillen!

Durch einen Vergleich der durch unsere Untersuchungen gewonnenen Resultate und Zahlen suchten wir weiterhin Richtlinien für die Auswahl neuer, bezüglich Toxität und Heilwirkung besonders günstig gestellter Quecksilberverbindungen zu gewinnen. Zu diesem Zwecke haben wir im folgenden die verschiedenen gewonnenen physikalischen, chemischen, pharmakologischen und therapeutischen Resultate in Kurvenform in Beziehung gesetzt.

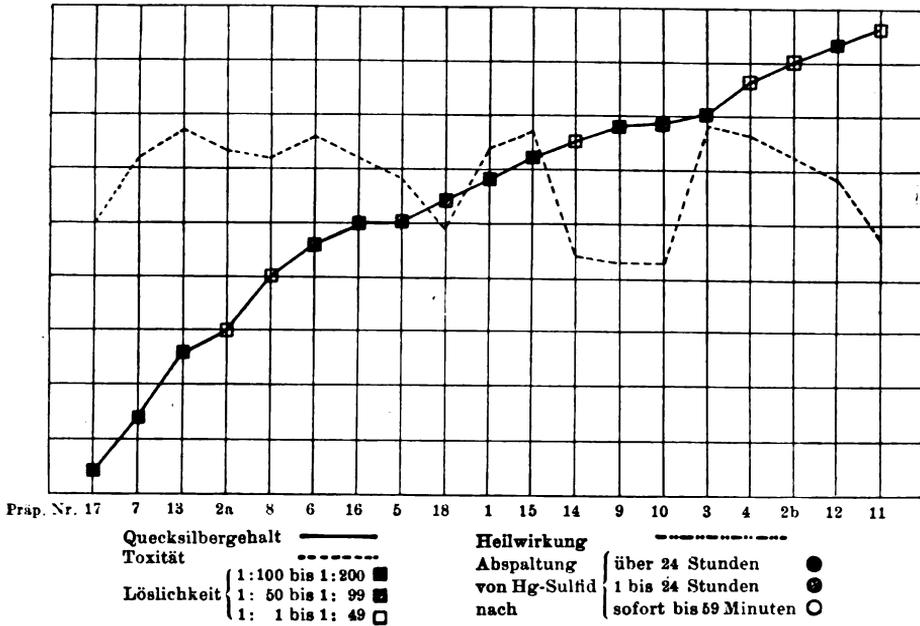
Ein Blick auf die Kurven zeigt ohne weitere Erklärungen, daß irgendwelche Parallelen zwischen Toxität einerseits und Quecksilbergehalt, Löslichkeit, Ionisierbarkeit und Heilwirkung andererseits nicht bestehen und ebensowenig irgendwelche Beziehungen zwischen Heilwirkung und den anderen von uns untersuchten Eigenschaften der merkuriierten Farbstoffe.

Die Frage, ob es möglich sei, schon auf Grund der oben festgestellten physikalischen und chemischen Eigenschaften eine Auswahl möglichst atoxischer und dabei spirillotroper Verbindungen zu treffen, muß also auf Grund unserer Untersuchungen verneint werden.

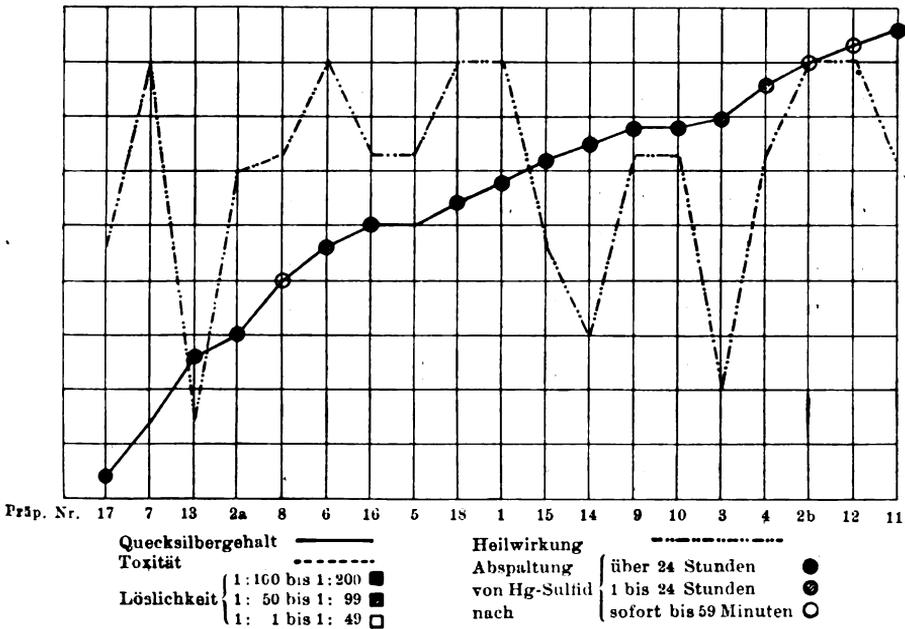
Die Giftigkeit und Heilwirkung ist nur durch Momente bedingt, die wir in der feineren Konstitution suchen müssen.

Glauben wir auch in dem einen oder anderen Falle durch die Stellung des Metalls im Molekül, durch Einschaltung und Stellung gewisser Gruppen am Benzolkern oder durch Einführung anderer Elemente in das Molekül eine gewisse Schwächung oder Verstärkung der Toxität und therapeutischen Wirkung erreicht zu haben, so konnten wir auf Grund unserer Untersuchungen doch sichere

**Kurve 1.**  
Vergleich zwischen Quecksilbergehalt, Toxität, Löslichkeit.

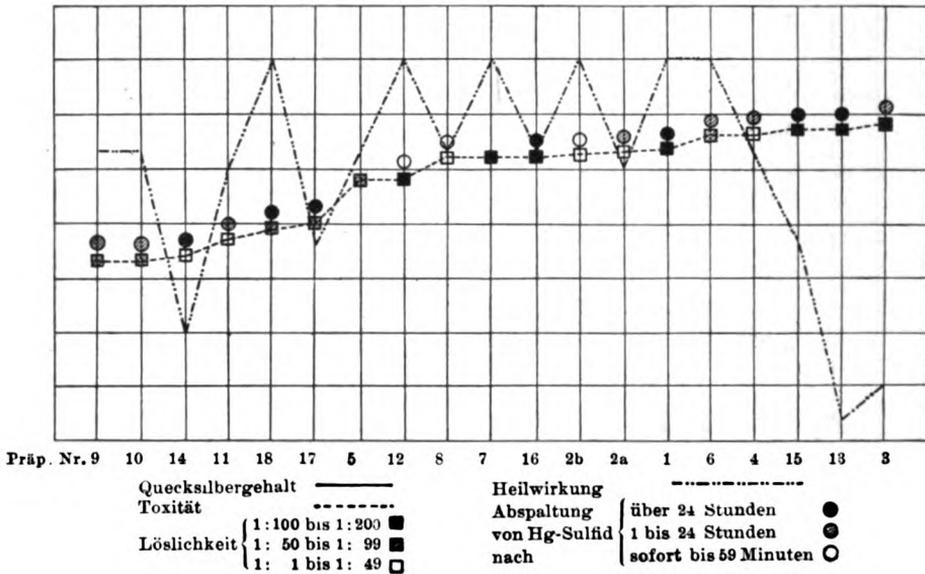


**Kurve 2.**  
Vergleich zwischen Quecksilbergehalt, Heilwirkung, Ionisierbarkeit.



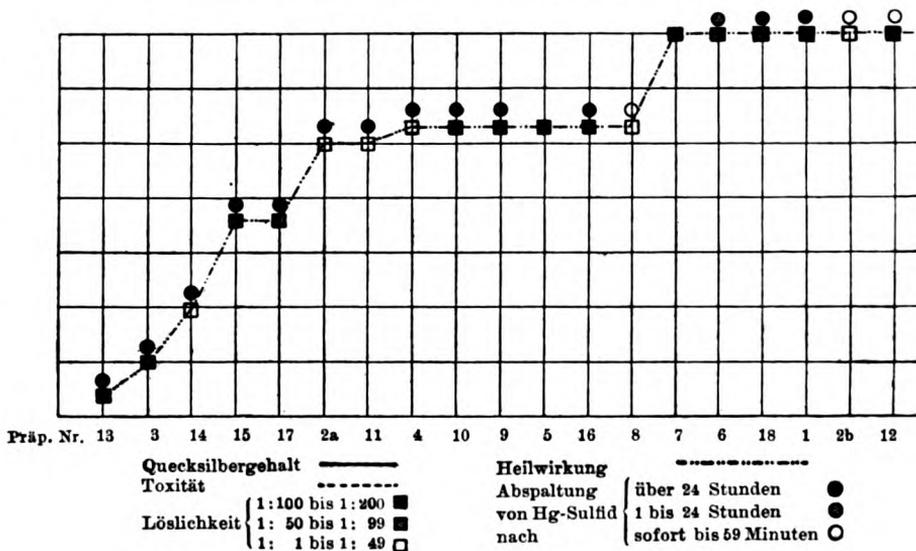
**Kurve 3.**

Vergleich zwischen Toxität, Heilwirkung, Ionisierbarkeit, Löslichkeit.



**Kurve 4.**

Vergleich zwischen Heilwirkung, Löslichkeit, Ionisierbarkeit.



Leitlinien für den Aufbau neuer günstiger Präparate nicht aufstellen und wir sehen uns nach wie vor darauf angewiesen, durch systematische Prüfung ganzer quecksilberhaltiger Gruppen zu klinisch besseren Präparaten zu gelangen.

Es ist uns auf diese Weise gelungen, ausgehend von der Wassermannschen Arbeitshypothese, eine Reihe bei der Hühnerspirillose wirksamer, quecksilberhaltiger Farbstoffverbindungen aufzufinden, die auch zum Teil schon bei der menschlichen Syphilis das Experimentum crucis bestanden haben.

## Literatur.

- Abelin, Deutsche med. Wochenschr. 39, S. 1822—1825. 1912.  
Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr. 58, S. 548—545. 1912.  
Blumenthal u. Oppenheim, Biochem. Zeitschr. 39, S. 50—58. 1912.  
Dimroth, Chem. Zentralbl. 1901, I, S. 449.  
Ehrlich u. Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen.  
Kolle u. Rothermund, Med. Klinik, Jg. 9, Nr. 21, S. 835—837. 1913.  
Kolle, Rothermund, Peschié, Deutsche med. Wochenschr. 38, S. 1582 bis 1585. 1912.  
Kolle, Rothermund, Hartoch, Schürmann, Deutsche med. Wochenschrift 39, Nr. 18, S. 825—828. 1913.  
Kolle, Rothermund, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 54, Ref., S. 29.  
Müller, Schöller, Schrauth, Biochem. Zeitschr. 1911, S. 381.  
Pauly, Chem. Zentralbl. 1908, S. 1807.  
Rothermund, Dale, Peschié, Zeitschrift f. Immunitätsforsch., Bd. 16, S. 224.  
Schrauth, Schöller, Biochem. Zeitschr., Bd. 32, H. 5 u. 6 und Bd. 37, H. 5 u. 6.  
Schöller u. Schrauth, Therap. Monatshefte, Dez. 1909.  
Titze u. Wedemann, Referiert Zentralblatt f. Bakt., Referate, Bd. 57, Nr. 14—22, S. 179.

# Über den Nachweis von Quecksilber in der Leber und im Blut von Kaninchen nach Injektion farbstoffhaltiger Quecksilber- verbindungen.

Von

Dr. Lénard.

In verschiedenen Arbeiten konnte Blumenthal zeigen, daß bestimmte Quecksilberverbindungen in den tierischen Organen, besonders in der Leber, abgelagert werden, während sich im Blut nur ganz wenig Quecksilberverbindungen wiederfinden. Und zwar hängt dies Verhalten wesentlich von dem chemischen Aufbau der aromatischen Quecksilberverbindungen ab. (Biochem. Zeitschr. Bd. 39, S. 50.)

Es war daher interessant, auch die in der vorstehenden Arbeit genannten Quecksilberpräparate auf ihre Affinität zur Leber und zum Blut zu untersuchen. Der Einfachheit halber führe ich die Ergebnisse dieser Untersuchungen in der nachfolgenden Tabelle auf. Ich möchte vorausschicken, daß wir das Quecksilber in unseren Fällen stets intravenös injiziert haben. Es ist nicht unmöglich, daß sich die Verhältnisse ändern werden, sobald ein anderer Injektionsmodus gewählt wird. Als Untersuchungsmethode habe ich die Salkowskische angewandt. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 72, 387 u. 73, 401).

Aus der angeführten Tabelle ergibt sich ohne weiteres, daß zwar der größere Teil der bei Spirillose der Hühner gut wirkenden Quecksilberverbindungen von der Leber zurückgehalten wird. Von den von der Leber zurückgehaltenen Präparaten geben nur 2, nämlich das Präparat 11 (Succinein) mit 80% Heilung und 14 (Benzosulfosäureazosalicylsäure) mit 50% weniger günstigen Heilerfolg. Dieser Betrachtung haben wir den Befund von Quecksilber der Leber nach 48 Stunden zugrunde gelegt. Wenn man dagegen das Resultat der Untersuchung nach 24 Stunden heranzieht, dann ergibt

sich, daß das Präparat 8 (Erythrosin), 9 (Hydrochinonphtaleïn), 10 (Oxyhydrochinonphtaleïn), 17 (Trypanblau), 15 (Benzoessäureazo-

Präparat	Menge Hg mg	Blut n.	Leber n.	Blut n.	Leber n.	Heilungs- prozent b. spirillen- kranken Hühnera
		24 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	48 Stdn.	
1. Phenolphtaleïn	15	—	+	—	++	100
6. Tetrabromfluoresceïn	12,5	Spur.	—	—	+++	100
18. Atoxylquecksilber-salicylsäure	50,0	—	—	—	++	100
7. Nosophen	17,5	—	—	—	—+	100
2a. Fluoresceïn	8,0	—	—	—	—	80
2b. Fluoresceïn	5,2	min. Spur.	++	—	++	100
8. Erythrosin	10,4	—	min. Spur.	—	—	83
5. Dibromfluoresceïn	8,0	Spur.	—	Spur.	—	83
9. Hydrochinonphtaleïn	10,1	Spur.	deutl. Spur.	—	—	83
10. Oxyhydrochinonphtaleïn	10,1	Spur.	deutl. Spur.	—	—	83
4. Kresoreïnphtaleïn	4,1	—	—	—	—	83
11. Succineïn	8,0	min. Spur.	+++	—	++	80
12. Oxyanthrachinon	7,0	min. Spur.	+++	—	++	100
3. Fluoresceïn (Acet.)	4,2	Spur. +	—	—	—	40
17. Trypanblauquecksilber	20,8	Spur.	++	—	—	66
13. Toluolazosalicylsäure	4,6	—	—	—	—	34
14. Benzosulfosäure-azosalicylsäure	13,5	—	+ Spur.	—	+	50
15. Benzoessäure-azosalicylsäure	12,4	—	min. Spur.	—	—	66
16. Diamidostilbendisulfosäure	5,2	min. Spur.	min. Spur.	—	—	83

salicylsäure) und 16 (Diamidostilbensulfosäure), die nur geringe Ablagerung in der Leber aufweisen, ebenfalls schwächere Heilungseffekte zeigen. Dabei muß man aber berücksichtigen, daß die Prozent-

zahlen der Heilresultate keine absolute Gültigkeit beanspruchen können, da die im Versuch verwandte Zahl von Hühnern aus äußeren Gründen nur gering sein konnte, und bei größeren Versuchsreihen sich die Resultate in der einen oder anderen Richtung verschieben könnten. Auffallend ist jedoch, daß die Präparate 3 (Fluoresceïn-Acet.) und 13 (Toluolazosalicylsäure), die den geringsten Heilungseffekt hervorriefen, weder nach 48 Stunden noch nach 24 Stunden in der Leber nachgewiesen werden konnten, und daß umgekehrt kein Präparat, das günstige Heilungsergebnisse lieferte, die Leber glatt passierte. Es sind dies beachtenswerte Tatsachen, die sich sehr wohl im Sinne Blumenthals verwenden lassen. Die Ausnahmen sprechen keineswegs dagegen, denn dadurch, daß das Präparat bei spirillosenkranken Hühnern wirksam ist, ist noch nicht ohne weiteres bewiesen, daß es auch eine Heilwirkung gegen die Syphilis entfaltet, darüber werden uns weitere Beobachtungen an Menschen Aufschluß geben können.

Ferner liefern unsere Versuche durchaus eine Bestätigung der Auffassung Blumenthals, daß die Affinität des Quecksilbers zur Leber zweifellos von dem chemischen Aufbau der Präparate abhängt. Eine Abhängigkeit der Affinität zur Leber von der Toxizität konnten wir nicht feststellen, sehr toxische Präparate wurden nicht zurückgehalten, und wenig giftige wurden zurückgehalten in regelloser Wahl. Ebenso haben wir bei unseren Untersuchungen eine Beobachtung gemacht, die vollkommen im Sinne Blumenthals ausfiel, nämlich der Einfluß des Jods auf die Affinität des Quecksilbers zur Leber. Blumenthal konnte durch gleichzeitige Darreichung einer geeigneten Menge Jodkali die Ablagerung von Quecksilber in der Leber verhindern. (Biochemische Zeitschr. Bd. 36, S. 291.) Übrigens ist diese Tatsache ja allgemein medizinisch anerkannt, wird doch das Jod zur Heilung der Quecksilbervergiftung herangezogen. Unsere Präparate, welche Jod enthalten, wurden von der Leber nicht zurückgehalten, jedoch spielt auch da wieder die Konstitution sicher eine Rolle. Das Präparat Hg1 Phenolphtaleïn-Quecksilber ist z. B. jodfrei und wird in der Leber deponiert, dagegen wurde bei dem Präparat 7 (Nosophen), das stark jodhaltig ist, nur in einem Versuch Spuren von Quecksilber in der Leber gefunden, in anderen nicht. Ebenso wird das Präparat 2b, ein Fluoresceïn-di-quecksilber, zurückgehalten, nicht aber das Tetrajodfluoresceïn-di-quecksilber (Hg8).

Ferner fiel uns auf, daß sich die bromhaltigen Präparate genau so verhalten, wie die jodhaltigen, z. B. wird das Präparat 2b (Fluo-

rescein) zurückgehalten, dagegen das bromhaltige Hg5 (Dibromfluorescein) nicht. Auch dabei ist die Stellung der Bromatome von ausschlaggebender Bedeutung. Dibromfluorescein-di-quecksilber (Hg 5), welches ziemlich beständig ist, passiert die Leber, Tetrabromfluorescein-di-quecksilber (Hg 6), das leicht zersetzlich ist, wird deponiert.

Blumenthal hat auch schon darauf hingewiesen, daß die Stellung des eingetretenen Hg-Restes von Bedeutung ist. Wir können das bestätigen und weisen auf den Unterschied zwischen Fluorescein-mono-quecksilber (2a) und Fluorescein-di-quecksilber (2b) hin.

Die Untersuchungen der Leber nach 24 Stunden ergab bei den Präparaten ein durchaus verschiedenes Resultat gegenüber dem nach 48 Stunden. Das Präparat 1 (Phenolphthalein) ergab z. B. nach 24 Stunden nur eine schwache Reaktion, eine wesentlich deutlichere nach 48 Stunden. Die Präparate 6 (Tetrabromfluorescein), 18 (Atoxylsalicylsäure) und 7 (Nosophen) ließen sich nach 24 Stunden nicht nachweisen, wohl aber nach 48 Stunden, zum Teil gaben sie sogar eine ziemlich kräftige Reaktion. Das Präparat 2b (Fluorescein) wurde sowohl nach 24 Stunden wie nach 48 Stunden in der Leber gefunden. In anderen Fällen wieder, wie z. B. bei dem Präparat 11 (Succinein) und 12 (Oxyanthrachinon) zeigt sich ein umgekehrtes Verhalten. Bei diesen Präparaten war der Befund nach 48 Stunden geringer als nach 24 Stunden, beim Präparat 17 (Trypanblau) wurde nach 48 Stunden überhaupt nichts mehr gefunden. Auch dies Verhalten hängt zweifellos mit der Konstitution der Präparate zusammen, ohne daß wir eine Gesetzmäßigkeit dafür angeben könnten. Ich kann mich des Eindrucks nicht erwehren, daß aus den Präparaten im Organismus durch Abbau andere Verbindungen geschaffen werden, die dann natürlich auch eine andere Affinität zur Leber haben.

Auch aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die Affinität des Quecksilbers zum Blut nur eine recht geringe ist. Zwar finden wir bei einzelnen Präparaten im Blut nach 24 Stunden kleinste Mengen Quecksilber, dagegen fand sich nach 48 Stunden nur bei einem Präparat, dem Dibromfluorescein (5), noch eine Spur Quecksilber, sonst wurde das Blut immer frei gefunden.

Wenn ich mir auch bewußt bin, hier nur einen geringen Beitrag zur Frage der Affinität des Quecksilbers zur Leber und zum Blut gebracht zu haben, so glaube ich doch, damit gezeigt zu haben, daß diesem Studium noch mehr Interesse gewidmet werden muß, als dies bisher geschehen ist.

## Studies on the Chemotherapy of Tuberculosis.<sup>1)</sup>

By

**H. Gideon Wells, Lydia M. De Witt and H. J. Corper.**

Mit 6 Tabellen.

The principles of chemotherapy, as laid down by Ehrlich, are of so fundamental a character that there is no limit to their application in infectious diseases, and possibly in other conditions, notably cancer. With the spirilloses and trypanosome infections, in which most of the work has so far been done, the conditions are favorable for the meeting of the drug and the germ, since with most forms of these diseases the germ lives chiefly or entirely in the circulating fluid. It is noteworthy that the only disease in which "Therapia Magna sterilisans" has been practiced successfully on an empirical basis is also a blood infection, malaria. The consideration of tuberculosis from the standpoint of chemotherapy brings in distinctly new problems owing to the fact that the bacteria are, in large part, located at points specifically removed from the circulation by proliferating tissues. The avascularity of the tubercle must of necessity have a large influence on the meeting of the drug and the germ, and this condition has perhaps been responsible for the lack of success of the innumerable empirical attempts at chemotherapy which have been made with the disease in the past. Avascularity of an infected tissue may, perhaps, make for either assistance or hindrance in chemotherapy, for we can imagine that the drug might accumulate in the avascular area, just as, for instance, calcium salts do, or, entering avascular and vascular tissues alike, it might remain longer where there is no circulation. Absence of living cells may also make a difference in that certain drugs may be either destroyed or activated by living cells, and hence have

---

<sup>1)</sup> The original articles giving the details of the work done in this laboratory, of which the following is a summary, will be found in recent and following numbers of the *Journal of Infectious Diseases*.

either a greater or less effect in the necrotic portions of the tubercle than elsewhere in the body. These and other points present themselves, and to attack the problem of tuberculosis chemotherapy, it would seem to be necessary to learn first to just what extent different classes of chemical substances enter tubercles, both early and advanced, how much they tend to accumulate specifically in the tissues, and how long they remain there. For a chemical which is to destroy the tubercle bacillus, it would seem, should be one that will enter readily into the avascular tuberculous lesions, and, if possible, enter or accumulate in such tissues more than in normal tissues.

The problem is further complicated by the chemical composition of the tubercle bacillus itself, with its large proportion of resistant fatty and waxy material, which must, it would seem, make its permeation and destruction a very different matter from the attack upon the naked and delicate trypanosomes, spirillae, and spirochaetes. Hence the permeability of the tubercle bacillus for chemicals of different classes becomes a fundamental question in connection with the main problem. In the investigation of the subject the fatty matter of the tubercle bacillus, while perhaps an obstacle to chemotherapy, makes the attack of the problem appear somewhat easier, since the permeability of the bacteria would seem to be largely determined by this substance, which can be extracted from them in large amounts and rendered available for experimental work in vitro, without, at the beginning, calling for the extensive animal experimentation which is essential in the study of the chemotherapy of protozoan infections. The influence of the fatty constituents of the cells upon the permeability of tissue cells to drugs and dyes has already been extensively investigated, and we have, therefore, many clues for investigation of the permeability of *B. tuberculosis*.

In planning a systematic investigation on the chemotherapy of tuberculosis, therefore, it would seem desirable first to determine the entrance of various classes of substances into the tubercle and into the bacteria, since the effective tuberculocide must be, theoretically, one which enters freely and, if possible, selectively into the avascular tubercle, and with like facility passes through the fatty sheath of the bacillus. We have found it possible to attack directly some of the problems involved, while others have called for preliminary studies of certain fundamental questions.

A study of the permeability of tuberculous lesions demonstrated that they behave like any simple colloid in this respect, permitting crystalloids to diffuse readily through them, but being little if at all permeable to colloidal molecules.<sup>1)</sup> These facts were determined in the following way: Guinea pigs and rabbits with tuberculous lesions were injected with various iodine compounds (chiefly KI, but also iodoform, iodipin, and ethyl-iodid) and after varying periods of time the animals were bled to death, and the blood and tissues analyzed for iodine. The main results obtained were as follows: The blood practically always contains more iodine, no matter in what compound it is given, than any tissue or organ, whether normal or tuberculous. For example, the liver usually contains about one third as much iodine per gram as the blood of the same animal, the spleen about the same as the liver, the lungs a little less, while the muscle contains but about one-eighth to one-tenth as much as the blood. The kidney, however, as a rule has as large a proportion as the blood, and sometimes considerably more during active secretion.

The effects of pathological changes upon the tissues were very definite. Tuberculous lymph glands do, as Oswald Loeb first showed, take up in general relatively more iodine from the blood than do the liver, spleen, and lungs of the same animal. Thus, in 9 of 11 experiments the tuberculous lymph glands contained more iodine than the liver, and in the best experiments with KI the amount approaches that in the blood.

It is especially noticeable when the caseous material was abundant enough to permit of separation from the rest of the gland substance, it contained much more iodine than did the non-caseous portion of the glands, as seen in experiments Nos. 4, 5 and 14, where the figures are:

	4	5	14
Gland substance	0.295	0.285	0.007
Caseous contents	0.481	0.790	0.013.

Tuberculous lesions in the eye show, as was also found by Loeb and Michaud in four experiments, an increased capacity for taking up iodine, as shown by the following summary:

---

<sup>1)</sup> For details see Wells & Hedenburg, Journ. Infect. Dis., 1913, XI, 349.

**Table 1.**  
Iodin in tuberculous and normal eyes.

	Weight of eye		Total iodin		Mg. iodin per gr.		Form of Iodin injected
	Normal	Tuber- culous	Normal	Tuber- culous	Normal	Tuber- culous	
1.	2.2	4.5	0.48	1.7	0.220	0.381	KI, 4 hours
2.	2.7	3.6	0.49	0.54	0.182	0.150	KI, 6 hours
3.	3.2	4.0	0.25	0.76	0.078	0.166	KI, 8 hours
4.	2.8	4.8	0.0	0.0	0.0	0.0	KI, 12 hours
5.	4.0	4.8	0.15	1.38	0.038	0.267	Iodoform
6.	3.0	4.8	0.28	0.58	0.093	0.117	Iodoform
7.	2.0	5.2	0.015	0.033	0.0075	0.006	Iodipin
8.	2.2	5.8	0.062	0.86	0.028	0.148	Ethyl iodid
Average	2.76	4.7	0.216	0.720	0.081	0.154	

Of these eight experiments, without exception the amount of iodine is greater in the tuberculous eye than in the normal eye, although in two (2 and 7) the proportion of iodine is slightly greater in the normal eye. Taken altogether, there is over three times as much iodine in the tuberculous eyes, and nearly twice as large a proportion. The low figure for iodipin (No. 7) corresponds entirely with the proportion of iodipin in the liver of the same animal (0.008), and it is evident that after injections of iodoform and ethyl iodide the iodine readily enters the eyes, especially the tuberculous eyes, although whether as organic or inorganic compounds we have not ascertained.

That the entrance of iodine into tuberculous tissue is not characteristic of tuberculosis is established by the analyses of the tissues of animals in which necrosis and exudates were produced experimentally. In 10 rabbits which had the left kidney rendered totally necrotic by ligation of all the blood vessels, there is found to result a great increase in the size of the organ, from an average of 7.2 gms. to 15.3 gms., because of hemorrhage and edema. In spite of the avascularity of these kidneys, iodine permeates them rapidly, so that six hours after injection there is found to be, on the average, almost identically the same proportion of iodine in the avascular necrotic kidney and in the normal kidney, a proportion which, as pointed out previously, approximates that of the iodine content of the blood more closely than in any other organ. These facts are shown in Table 2. Therefore, it seems evident that in a

short time, the iodine in the blood will penetrate even so large an avascular area as an entire kidney, and reach practically the same concentration as in the blood itself.

**Table 2.**  
Iodine in normal and necrotic kidneys.

	Gms. Weight of Kidneys		Total Mg. Iodine in Kidneys		Mg. Iodine per Gm. of		
	Necrotic	Normal	Necrotic	Normal	Blood	Necrotic kidney	Normal kidney
1.	23.2	11.4	15.7	4.8	.812	.679	.420
2.	11.2	5.2	5.4	2.6	.530	.487	.500
3.	14.2	9.0	6.7	3.5	.425	.539	.389
4.	9.7	6.6	2.6	2.1	.391	.267	.319
5.	30.5	8.2	12.3	4.4	.305	.403	.530
6.	11.9	6.9	0.2	0.1	.019	.028	.011
7.	12.8	6.9	12.6	4.7	.072	.099	.069
8.	12.1	5.1	10.8	1.3	.168	.066	.266
9.	14.8	6.2	0.4	0.8	.130	.026	.120
Total	140.4	65.5	66.7	24.3	2.852	2.856	2.614
Average	15.6	7.3	7.4	2.7	.317	.287	.290

Of all the tissues, however, the normal kidney alone seems to be so permeable for iodine that it comes to contain the same proportion as the blood, a fact which is presumably related to the functional activity of the organ. If we take another tissue which is not normally so permeable for iodine, such as the muscle, we find the interesting fact that necrotic areas in this tissue also tend to contain approximately as much iodine as the blood of the same animal, while the normal muscle tissue, in spite of its much greater blood supply, contains much less iodine. This fact is shown in Table 3.

In the above series the necrosis was produced by injection of strong formalin (except No. 3, in which trauma during operation probably caused the injury). In removing the tissues at autopsy, the necrosis not being sharply circumscribed, more or less normal tissue was probably always included with the necrotic muscle; if only completely necrotic muscle had been present in these samples, it is probable that the proportion of iodine would have been still higher.

Table 3.

Iodin in normal and necrotic muscle.

	Blood	Normal Muscle	Necrotic Muscle
1.	.488	.087	—
2.	.812	.139	—
3.	.530	.095	.352
4.	.425	.061	—
5.	.305	.030	.300
6.	.019	.004	.017
7.	—	.001	.091
8.	.072	.013	.100
9.	.006	.000	.001
10.	.165	.018	.052
Average of analyses where all three figures were obtained . . .	.136	.012	—
	.433	.040	.064
	.219	.029	.126

The explanation of these results, it seems to us, must be as follows: The partial impermeability of living cells, which presumably differs in all organs and cells, is destroyed when the cell is killed. Therefore, the readily diffusible iodine compounds present in the blood and tissue fluids will diffuse into the necrosed tissue elements just as they would into any inert water-filled colloidal mass, with the resulting tendency, as shown by our figures, to approach osmotic equilibrium of iodine in blood and necrotic tissue. The large amount of iodine present in necrotic tissues, whether tuberculous or otherwise, is, therefore, dependent on purely physical conditions, i. e., the destruction of the semi-permeability of the cells. That it does not depend upon any chemical attraction, or even a specific physical "absorption", is shown by the fact that if some time is allowed for the iodine to be excreted in part from the body after injection, it leaves the necrotic tissues, the blood and the normal tissues *pari passu*. Support is given to this interpretation by the results of implantation of agar into the subcutaneous tissue, followed by injection of iodine compounds at various intervals. The agar was introduced at a temperature of about 50° C., and solidified in a lump which soon became encapsulated, and after a time permeated by invading strands

of granulation tissue. The results of analyses from several such experiments are given in Table 4.

**Table 4.**  
Iodin in agar.

	Blood	Liver	Agar
1.	.488	.101	.265
2.	—	.089	.100
3.	.680	.580	.280
4.	.812	.500	.485
5.	—	.007	.020
6.	.005	.004	.022
7.	—	.014	.012
8.	.072	.082	.077
9.	.006	.002	.010
10.	.168	.056	.072
11.	.018	.040	.024
12.	.488	.100	.283

These experiments seem to show a marked permeability of agar for iodine. In experiment No. 4, for example, although the tissues were examined only one hour after injection of the iodine, yet even thus quickly the avascular agar contained as much iodine as the liver, which in this case gives an abnormally high figure because the animal could not be bled. In eight of 12 experiments, the agar contains a larger proportion of iodine than the liver, in only one is it considerably less. In this series as in all the other experiments, the form in which the iodine is introduced seems to make little difference in its distribution.

As is to be expected, inflammatory exudates are prone to approach the blood in iodine content. Table 5 shows no evidence of any selective tendency of iodine to enter the inflammatory exudate, however, there nearly always being somewhat less iodine in the exudate than in the blood. The presence of iodine in the exudate would seem in all cases to be dependent entirely on simple diffusion, as in the case of necrotic tissues and implanted agar.

The high iodine content of the tuberculous eyes is presumably to be explained, therefore, as due in part to the inflammatory exudate present in those eyes, and probably in less degree, to the necrosis and tuberculous tissues.

**Table 5.**  
Iodin in exudates.

No.	Blood	Liver	Exudate	Character of exudate
1.	.488	.101	.221	Edema about agar
2.	.812	.500	.503	Subcutaneous abscess
3.	.425	.125	.159	Serofibrinous, pleural
4.	.391	.720?	.343	" "
5.	.305	.100	.310	Edema, subcutaneous
			.361	Pleural fluid
			.461	Pleural fibrin
6.	.019	.007	.020	Aleuronat, subcutaneously
			.014	Edema, subcutaneous
7.	.072	.032	.078	Serofibrinous pleuritis
8.	.006	.002	.0035	" "
			.0025	Edema, subcutaneous
9.	.165	.059	.180	" "
			.105	Aleuronat, intraperitoneal
10.	.130	.040	.090	Pleural fluid
			.067	Pleural fibrin
11.	.433	.100	.336	Serofibrinous pleuritis

Similarly, compression atelectasis of the lung, produced by pleural exudates, with the resulting greater or less edema and inflammatory exudate in the alveoli, is associated with a corresponding slight increase of iodine in the injured lung, as shown in Table 6.

**Table 6.**  
Iodin in normal and collapsed lungs.

No.	Blood	Normal Lung	Collapsed Lung
1.	.425	.147	.040?
2.	.305	.189	.326
3.	.072	.071	.088
4.	.013	.020	.019
5.	.433	.230	.320

These observations would seem to explain entirely, and on a simple physical basis, the observation of Bondi and Jacoby, Fillipi and Nesti, and O. Loeb, that drugs tend to enter inflammatory exudates. They enter simply because there is present an

exudate which offers no resistance to their permeation to establish an osmotic equilibrium with the blood, and not because there is a specific affinity between pathological tissues and blood. Therefore, we are led to the conclusion that the supposed affinity of certain drugs for certain pathological tissues merely depends on a decrease in the normal impermeability of the diseased cells, or diffusion into inflammatory exudates present in the diseased area, or both. If this is the case, we might expect a non-diffusible colloidal substance to be unable to penetrate avascular diseased areas which are highly permeable for crystalloids, and this was found to be true. Tubercles, where there is no blood supply, are relatively or absolutely impermeable to foreign proteins present in the blood.

This was shown by injecting egg white intravenously into guinea pigs with well-defined tuberculous lesions, and bleeding the animals to death three hours later. Carefully prepared extracts of the different tissues were injected in varying sized doses into normal guinea pigs, and three weeks later these animals received intraperitoneal injections of egg albumen. All the animals gave severe anaphylaxis reactions except those which had received the caseous material removed from the centers of tuberculous areas. As the sensitizing dose of egg albumen is less than one-millionth of a gram, it is evident that during three hours no appreciable quantity of this foreign colloid had diffused into the center of the tubercle, whereas in the same period of time crystalloid KI penetrates such areas thoroughly. Hence we conclude that necrotic tissues, whether tubercles or other lesions, behave like any non-living colloidal mass into and from which crystalloids diffuse readily and rapidly, while colloids enter very slowly or not at all. The bearing of this fact upon the chemotherapy of tuberculosis is obvious, for it indicates that the avascularity of the tubercle is no barrier to the entrance of chemical agents, provided these be crystalloids, but that in all probability all colloidal agents will have difficulty in coming in contact with the bacilli. Whether a crystalloid coming from the blood will tend to accumulate in the tubercle apparently depends upon whether it is made insoluble in the tubercle, as is the case with calcium entering from the blood. Such is not the case with iodine compounds, nor, according to experiments to be mentioned later, with copper compounds. Possibly bactericidal substances may be found, which, like calcium, will tend to accumulate

in tuberculous areas and keep the fluids of the tubercle saturated with their soluble derivatives.

In view of the abundance of fatty granules present in tubercles and the fatty character of the tubercle bacillus itself, the entrance of fat-soluble substances into tubercles was also investigated by Dr. H. J. Corper, the fat-soluble dyes being used for reasons of convenience.<sup>1)</sup> Corper's experiments showed that, no matter how completely the fat of an animal might be saturated with fat stains, such as Sudan III, Scarlet R, and many others, no trace of the dye ever appeared in the tubercle, either in the fat droplets of the tubercle or in the tubercle bacilli themselves. From this it would appear that the fats microscopically visible or chemically demonstrable in tubercles are derived chiefly or solely from the pre-existing fats and lipoids of the disintegrating cells, and not by deposition from the fats in the blood. Fat dyes fed to animals are absorbed with the fats, circulate and are deposited with them, and seem never to leave these fats to enter the intracellular fats or the lipoids of the brain, etc. These observations therefore indicate that fat solubility is scarcely a property which can be used to cause the entrance of a chemotherapeutic agent into tubercles, although, a priori, fat soluble substances might be expected to enter tubercles.

The behavior of the tubercle bacilli themselves to fat soluble dyes has been studied by Miss Hope Sherman<sup>2)</sup>, for, in view of the fatty or waxy content of tubercle bacilli it might be expected that the fat-solubility of a chemical would be an important factor in determining its bactericidal action, especially for this organism. There is, indeed, a little literature on the staining of bacteria by fat dyes, and a prevalent belief that acid-fastness depends largely or solely on the "wax" of the bacteria of the acid-fast group. Tubercle bacilli are known to stain with osmic acid (Unna) and, according to most but not all observers they do not stain with Sudan III or Scarlet R. Miss Sherman investigated the behavior of many sorts of fat-soluble and fat-insoluble dyes, and found that in cultures of tubercle bacilli there is a considerable amount of fatty material free between the bacteria which is readily stained by almost any fat-soluble dye, but these dyes do not stain the bacilli themselves readily if at all. Such potent fat stains as Sudan III,

<sup>1)</sup> See Corper, Journ. Infect. Dis., 1912, XI, 373.

<sup>2)</sup> See Journ. Infect. Dis., 1913, XII, 249.

and Scarlet R, for example, do not stain tubercle bacilli distinctly even after soaking in the dye solution 24 hours in the incubator. On the other hand many dyes which are insoluble in fats, such as fuchsin, methylene blue and eosin, stain tubercle bacilli rapidly and intensely. These observations evidently determine that the chief factor in the staining of tubercle bacilli is not the fatty content, as commonly believed. On the other hand, the characteristic acid-fastness, and perhaps the Gram-staining, is a function of the sheath or capsule of the bacilli, for Miss Sherman has confirmed the observation of Benians<sup>1)</sup> that when tubercle bacilli are crushed they lose their acid-fastness and become Gram-negative. She found that simply crushing tubercle bacilli by rubbing them between cover-slip and slide, not only deprives the bacilli of their acid-fastness, but also makes them permeable to the fat-soluble dyes, to which intact bacilli are impermeable. Hence the influence of the fatty content of tubercle bacilli seems to be definitely excluded as the determining factor in the permeability of the bacilli by dissolved substances — this is dependent upon a sheath or capsule of some sort, possibly chitinous, and the waxy material plays at most a secondary role in the staining and general permeability. The bearing and importance of these facts in the study of a rational chemotherapy of tuberculosis is evident.<sup>2)</sup> Evidently fat-solubility is not a necessary quality in a substance which is to penetrate the tubercle or the tubercle bacillus, but, apparently, quite the opposite.

The fact that water-soluble dyes can penetrate tubercle bacilli adds much interest to the investigation of the behavior of tuberculous lesions, as well as of the bacteria, when the injected animals are subjected to the vital stains, which have been so actively developed and studied in recent years in connection with both cytology and chemotherapy, largely through the influence of Ehrlich and Goldmann.

Goldmann<sup>3)</sup> reported in 1909 an exhaustive investigation of the effect on the tissues of the normal body of a group of dyes,

---

<sup>1)</sup> Journ. Pathol. and Bacteriol., 1912, XVII, 199.

<sup>2)</sup> It may be mentioned that Dr. Corper observed no evident therapeutic effect from fat dyes given to tuberculous guinea pigs, and also that they have no considerable bactericidal effects, for tubercle bacilli grow well in culture media in the presence of many of these dyes.

<sup>3)</sup> Beitr. z. klin. Chir., 1909, 64, p. 192.

including the trypan red and the trypan blue already mentioned by Ehrlich and his workers, and comparing with them two other dyes which act in a similar way — isamine blue and pyrrhol blue. All these dyes have the common property of vitally staining granules in certain interstitial cells very deeply and permanently and thus giving a general and lasting stain to the body. After Goldmann's introduction of these dyes, a considerable number of workers investigated by means of these stains various physiologic and pathologic processes in the animal body, and during 1912 several communications from Goldmann have appeared as well as two from Schülemann<sup>1)</sup>, one from Lewis<sup>2)</sup>, one from Bowman, Winternitz and Evans<sup>3)</sup>, and one from MacCurdy and Evans as well as several others which do not so especially have to do with tuberculosis work and which may therefore remain unmentioned.

Among all these workers, it is natural that some should be interested in the relation of these dyes to tuberculosis. Goldmann<sup>4)</sup> himself in several of his later papers reports the results of his investigations on tuberculosis in mice, especially in regard to the origin and histogenesis of the tubercle. Bowman, Winternitz and Evans, using rabbits, endeavored by means of the trypan blue dye to ascertain the histogenesis of the liver tubercle. Lewis showed that trypan red and isamine blue injected, intravenously or intraperitoneally, into tuberculous rabbits penetrated the pulmonary tubercles in the few cases which he reports.

Beyond suggesting the possibility that these results may some time be of use in the treatment of tuberculosis, none of these workers has taken up the chemotherapeutic value of vital stains in tuberculosis. Very recently, however, a series of papers has appeared dealing with the so-called "Finkler's Heilverfahren", the several papers being by Gräfin v. Linden<sup>5)</sup>, Meissen<sup>6)</sup>, Strauss<sup>7)</sup>

<sup>1)</sup> Berl. klin. Wochenschr., 1912, 49, p. 497; Beitr. z. Vitalfärbung, Arch. f. mikr. Anat., 1912, 79, p. 223; Zeitschr. f. exp. Path., 1912, 11, p. 307.

<sup>2)</sup> Arch. of Int. Med., 1912, 10, p. 68.

<sup>3)</sup> Centralbl. f. Bakt., I, Orig., 1912, 65, p. 403.

<sup>4)</sup> Verhandl. deut. path. Gesellsch., 1910, 14, p. 138; Beitr. z. klin. Chir., 1912, 78, p. 1; Lancet, 1912, 182, p. 1183; Berl. kl. Wochenschr., 1912, 49, p. 1689.

<sup>5)</sup> Beitr. z. Klin. der Tuberk., 1912, 23, p. 201; Münchn. med. Wochenschr., 1912, 59, p. 2560.

<sup>6)</sup> Beitr. z. Klin. der Tuberk. 1912, 23, p. 215.

<sup>7)</sup> Ibid., p. 223.

and Selter<sup>1</sup>). The method uses either methylene blue (chlorid or iodid), or copper compounds or both together. More or less favorable results were reported in the few experimental animals tested with the methylene blue treatment and also in a number of human tuberculous patients.

Dr. Lydia M. De Witt<sup>2</sup>) has been engaged in an investigation of vital stains in this laboratory, and has published certain preliminary observations. She has found a considerable number of dyes which penetrate tubercles with greater or less readiness and are well borne by the animal; some of these dyes also penetrate the tubercle bacilli themselves, and some have a bactericidal power on tubercle bacilli in vitro. Not to consider at length all the numerous dyes investigated by Dr. De Witt, it may be said that trypan blue and trypan red have been found interesting because of the fact that they penetrate the tubercle very easily and are retained there for considerable time. They do not, however, stain the individual tubercle bacilli very strongly and they have practically no bactericidal power. A number of methylene blues and several of the new methylene blues had been tested before the appearance of v. Linden's reports and the investigation has been carried farther since the publication of her report and that of Strauss, v. Meissen and Selter. It was found that all the methylene blues and new methylene blues tested had the power to penetrate the tubercle and were reduced in the tubercle, but could be reoxydized to the blue dye, provided the tissue was obtained within a few days after the administration of the dye. It was also found that the dye could be fed in the form of pills and thus larger doses could be given and the administration could be continued for a longer time than was possible with subcutaneous administration, since all these dyes tend to cause necrosis and ulceration of the skin, when large doses are injected or when small doses are given for a long time. These dyes, if well purified, seem to have very little if any general toxic action. In addition to their power to penetrate the tubercle, all the methylene blues and new methylene blues tested penetrate the individual tubercle bacillus easily and stain it strongly and they all have considerable bactericidal power; they absolutely inhibit the growth of the human tubercle bacillus on glycerine agar to which the dye has been added in strength of one to seventy five hundred. Animals inoculated with

<sup>1</sup>) Beitr. z. Klin. der Tuberk. 1912, 23, p. 261.

<sup>2</sup>) Journ. Infect. Dis., 1913, XII, 68.

material which had been exposed to the dye were all very slow in developing tubercles and several never developed the disease. In addition to these dyes, pyronin, neutral red and congo red were found to penetrate the tubercle. Since the publication of this report attempts have been made to modify some of these dyes in such a way as to increase their bactericidal power, without increasing their toxicity for the animal or altering their penetrating power. Because trypan blue had been found to penetrate the tubercle so easily and to remain in it so long, it was thought possible that its bactericidal power might be increased by replacing the three sodium groups by other metals which were more strongly bactericidal than sodium. In this way dyes were made containing in each molecule three atoms of silver, three of copper, three of mercury and three of iron. These new dye salts were all fairly stable, were all water-soluble and with the exception of the mercury salts could be kept in the crystalline form and dissolved as needed. The mercury salts could be kept only in suspension and were therefore not so usable for inoculation. The results of this investigation, as well as the method of preparation of the dyes will be published in an early number of the *Journal of Infectious Diseases*, but in general it may be stated that only the mercury salts showed any increase in the bactericidal power; that the silver and iron salts penetrated the tubercle as easily as the trypan blue and somewhat more specifically; that the copper salt apparently failed to penetrate the tubercle, had no effect on the progress of the disease and caused bad necroses of the skin.

On account of the previous findings with methylene blue, some modifications of that dye were next attempted. Since Belfanti<sup>1)</sup>, in his report on Gosio's vital reaction with tellurium and selenium salts on the tubercle bacillus, states that "these salts have a pronounced bacteriotropic power over the tubercle bacillus and could therefore be used as the starting point for new medicamentous preparations in this disease in the sense of Ehrlich", Dr. De Witt succeeded, with the help of Dr. Walter Fraenkel in forming two new dyes, in one of which the sulphur atom within the methylene blue molecule was replaced by selenium and in the other by tellurium. These were therefore called selenium blue and tellurium blue. The tellurium blue dye was far from stable and could not even be

---

<sup>1)</sup> *Zeitschr. f. Chemotherapie*, 1912, I, 113.

dried without decomposing. It was therefore necessary to use it fresh. The selenium blue was much more stable than the tellurium blue, but not so stable as methylene blue. Both dyes were well tolerated by the animal, especially when made up in pills and fed. Both dyes penetrated the tubercle, were reduced in it and could be reoxydized. They did not, however, stain the tubercle bacillus very well and had, if anything, even less bactericidal power than the methylene blues. These experiments will be reported in detail together with the method of preparation of the dye in an early number of the *Journal of Infectious Diseases*.

In connection with this work on selenium and tellurium, it may be stated that Dr. Corper has been testing the toxic and bactericidal properties of the sodium salts of selenium and tellurium and found 1—500000 per gramme wright tolerated by mice, while 1—250000 was fatal. 1—150000 and 1—750000 dilutions failed to prevent growth of human tubercle bacilli on glycerine agar, the old transplant turning slowly greyish black, but the new growth remaining uncolored. He also found that a dilution of 1 to 15000 of sodium tellurite at 37° failed to kill human tubercle bacilli in 48 hours, so that they would not infect guinea pigs. He also found these salts unreliable even as indicators of the life of the human tubercle bacillus. He therefore concludes that the toxic dose of these salts is so far below the reducing dose and so very far below the bactericidal dose, that it seems hardly practicable to consider these salts as new medicamentous agents, as suggested by Belfanti, and not even practically useful as indicators of the life of the virulent organism.

It may be added that, in spite of the statements of the Gräfin von Linden and her associates, Dr. De Witt did not find any definite curative effects from methylene blue or from any of the other dyes in infected tuberculous guinea pigs.<sup>1)</sup>

### **Copper in the chemotherapy of tuberculosis.**

Copper, in view of its reputed germicidal action and its relatively low degree of toxicity for higher mammals, would seem to have possibilities as yet unrealized in the therapeutics of infectious

---

<sup>1)</sup> Le waschew (*Münchn. med. Wochenschr.*, 1912, LIX, 1372) has reported favorable effects on advanced cases of pulmonary tuberculosis with a chloride of parafuchsin ("tryparosan"), but no animal experiments are described and the data offered are too meagre to permit of critical consideration.

diseases. There is considerable literature of one sort and another on the use of copper salts for the treatment of infectious diseases, but most of it is sporadic in character, and apparently the results described have not been such as to lead to any very general adoption of copper in chemical therapeutics. In recent years perhaps the most satisfactory results have been obtained with copper in the treatment of diseases due to higher fungi, such as oidiomycosis, actinomycosis and sporotrichosis, as recommended especially by Bevan. With the introduction of the principles of chemotherapy by Ehrlich, it seemed possible to us that organic compounds of copper might be successfully developed which would have distinct advantages in the treatment of bacterial and fungous infections, over the arsenic compounds which have been so successful in protozoan infections, in view of the supposed high bactericidal and low toxic properties of copper in comparison with arsenic. For some time experiments have been conducted in this laboratory with the object of testing thoroughly and, if possible, developing this hypothesis with particular reference to the treatment of tuberculosis.

While we were engaged in this work there appeared the rather spectacular series of papers of the Gräfin von Linden, Profs. E. Meissen and A. Strauss, already quoted, in which it was stated that copper salts of various sorts have a striking therapeutic effect on tuberculosis of both man and experimental animals. Copper chloride, copper-potassium tartrate, and especially a "copper-lecithin" compound, were chiefly used, and the best results are attributed to the last named, although the nature and method of preparation of this potent agent are nowhere described. We have reviewed this work critically elsewhere<sup>1</sup>), and found many unsatisfactory features, at least in its presentation, which compel a feeling of scepticism concerning the true merits, despite the later enthusiastic reports of Dr. Strauss concerning the clinical achievements in lupus. In any event, the results of their animal experimentation are totally in disagreement with our own experimental results with copper compounds of varying sorts, including particularly copper salts of the amino-acids, copper acetate, copper sulphate and copper oleate. In large numbers of experiments on both rabbits and guinea pigs, using various compounds and dosages of copper at various stages of the infection, we have never observed the slightest bene-

---

<sup>1</sup>) Corper, De Witt and Wells, Journ. Amer. Med. Assoc., 1914, LX, 887.

ficial effects. Since publishing the afore-mentioned paper we have completed many more experiments with copper, but all, unfortunately, with the same negative results. Furthermore, direct experiments, which will be reported more fully elsewhere, have indicated that the bactericidal power of copper salts is much lower than is commonly believed. For example, Dr. De Witt has found that tubercle bacilli can be suspended for days in a 1% solution of copper chloride without evident decrease in their virulence for guinea pigs, and staphylococci can be exposed for 15 minutes to a 10% solution of copper sulphate without being killed. Nor have we found that other copper compounds have any greater bactericidal effects. It does not seem probable that so inert an element will give striking therapeutic results — certainly we have been able to obtain no encouragement from our own experiments. To be sure, there are favorable clinical reports on the treatment of actinomycosis and blastomycosis with copper compounds, but there are also clinicians who state that they have had equally good results with other methods.

In view of the facts that a chemotherapeutic agent to be of service in tuberculosis must, in the first place, enter the diseased tissue; in the second place enter in sufficient concentration (remaining for a sufficient length of time) to act as a tuberculocide; and third, in concentrations necessary for this action it must not materially injure the recipient, Drs. H. J. Corper and Aaron Arkin have been carrying on a series of experiments (to be reported later) in which the bactericidal action and entrance into the diseased tuberculous tissues of various arsenic compounds and sulphocyanides were studied. The results thus far obtained are summarized briefly in the following statements:

Of the arsenic compounds thus far studied sodium arsenate (0.1% As., 24 hrs.), sodium cacodylate (2%, 24 hrs.), atoxyl (1%, 24 hrs.), arsacetin (1%, 24 hrs.), and neosalvarsan (1%, 24 hrs.) are not bactericidal toward the tubercle bacillus *in vitro* (at 37°) but readily enter the tuberculous tissues. Sodium sulphocyanide, which is relatively non-toxic toward experimental animals, had no appreciable bactericidal action (even 0.1% for 7 days at 37° C did not kill the tubercle bacillus) but readily entered the tubercle. The results obtained with arsenic compounds and sodium sulphocyanide bear evidence in favor of the findings of Wells and Hedenburg with *in vivo* studies, in that being crystalloids, and the tubercle acting as

a colloidal mass of dead tissue, they should enter with ease and in concentrations not far from that found in the blood. Another point of significance, brought out especially by the experimental work on copper in tuberculosis, is the fact that when considering the class of substances which are available for use, especially on account of their power to enter the tubercle, we have at our service, first — simple crystalloids which may be mixed with the body fluids and in a general way are not materially changed but remain as crystalloids; in this class we may place the iodides, simple sulphocyanides and such arsenic compounds as those above mentioned (sodium arsenate, sodium cacodylate, etc.). This class appears to be best suited as entrants for the tubercle. Another class, as brought out and considered by Wells and Hedenburg, are the colloids (such as egg albumin) which if they enter at all can only do so slowly and in very minute amounts. A third and intermediate class between the above two classes are such substances which, though crystalloids, when brought in contact with the body fluids combine with certain constituents in these and become colloids and, therefore, cannot appreciably enter the colloidal tuberculous mass. In this class belong especially the heavy metals, and of these copper was studied and found not to appreciably (if at all) enter the tuberculous tissues. In favor of the view that copper is carried in the colloidal form throughout the body rather than in crystalloid form, is the fact that the distribution of copper in the animal organism after administration of copper salts is identical with that after the administration of colloidal copper, which, by the way, we have also found does not enter tuberculous tissues in appreciable amounts.

---

# Über die Anwendung der Morgenrothschen Kombinationstherapie (Salvarsan, Äthyl- hydrocuprein und Natrium salicylicum) bei der Syphilis.

Von

Dr. **Starke**,  
Assistenzarzt der Klinik.  
Mit 4 Tabellen.

Obleich uns die Chemotherapie eine bedeutende Anzahl von Mitteln geliefert hat, deren trypanozide Wirkung wir im Experiment einwandfrei feststellen können, so hat sich doch in den meisten Versuchen gezeigt, daß wir bei Anwendung eines einzigen Mittels vielfach nur Resultate erzielen, die im Hinblick auf einen dauernden Heilerfolg nicht anders als negativ bewertet werden können. Es gelingt nun wohl in gewissen Fällen, in denen man mit einem Heilstoff allein nicht auskommt, mit Hilfe einer rationellen Kombination mehrerer chemotherapeutisch wirksamer Substanzen einen besseren Effekt, selbst eine volle Heilung zu erzielen — eine Therapie, die zwar von dem ursprünglichen Wege unserer chemotherapeutischen Bestrebungen gewissermaßen abzweigt, auf deren Bedeutung aber, speziell in letzter Zeit, immer wieder hingewiesen worden ist<sup>1, 2, 3</sup>. Freilich muß auch hierbei betont werden, daß die Erfolge — vielleicht in Anbetracht einer noch nicht zweckentsprechenden Kombination — nicht immer befriedigend ausgefallen sind. Der Vorteil einer kombinierten Behandlung liegt darin, daß wir mit mehreren Mitteln gleichzeitig gegen eine Krankheit vorgehen, die Erreger gewissermaßen von verschiedenen Seiten zu gleicher Zeit angreifen können, und daß wir in Anbetracht einer Potenzierung der Wirkung bei gleichzeitiger Anwendung verschiedener Substanzen gefahrbringende Dosen der einzelnen Medikamente auf unschädliche Quantitäten zu reduzieren vermögen.

Auch die neuerdings von Morgenroth und Tugendreich<sup>1</sup>

veröffentlichten eklatanten Erfolge bei trypanosomen-infizierten Mäusen beruhen auf dem Prinzip einer derartigen Kombinationstherapie, und zwar einer Kombination, welcher sie in erster Linie die „hervorragende Wirkung des Salvarsans“ zugrunde legten und in der sie als eine ganz besonders geeignet erscheinende Verbindung das Äthylhydrocuprein und die Salizylsäure als Adjuvantien verwendeten.

Was die Wirkung des Äthylhydrocupreins anbetrifft, so hatten Morgenroth und Halberstädter<sup>4</sup> bereits in ihren früheren systematischen Untersuchungen über die chemotherapeutische Wirksamkeit des Chinins und seiner Derivate den Nachweis erbringen können, daß in dem Hydrochinin und speziell in seinen nächsten höheren Homologen Verbindungen vorliegen, die sich sowohl im Präventivversuch als therapeutisch gegenüber dem Chinin, dem selbst nur eine außerordentlich schlechte Wirkung zukommt, als entschieden überlegen erwiesen. Als das wirksamste Präparat in der Reihe dieser Chininderivate stellte sich ihnen mit ganz erheblicher Überlegenheit das Äthylhydrocuprein dar. Die Wirkung des Äthylhydrocupreins an sich bleibt aber trotz seiner Überlegenheit gegenüber dem Chinin noch weit hinter der trypanoziden Wirkung des Salvarsans zurück. Die Salizylsäure, in Form von Natr. salicyl., übt, wie Morgenroth und Rosenthals Versuche<sup>5</sup> zeigen, eine zweifellose Wirkung auf Trypanosomeninfektionen aus; doch ist diese Wirkung nur eine äußerst geringfügige. „Relativ gute Resultate lieferte erst eine Kombination von Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum; während aber in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle Erfolge in Form einer Dauerheilung noch fehlten, änderte sich das Bild vollkommen bei der Einführung des Salvarsans als dritte Komponente in die Kombination, und zwar in Dosen, die an und für sich niemals Dauerheilungen bewirkten, sondern lediglich eine Verzögerung der Infektion hervorzubringen vermochten oder in vereinzelten Fällen die Trypanosomen nur vorübergehend zum Schwinden brachten. Es konnte nun durch derartige unwirksame resp. nicht mehr wirksame Dosen von Salvarsan mit unwirksamen Mengen von Äthylhydrocuprein und dem an sich für Trypanosomen so gut wie unwirksamen Natr. salicyl. fast allgemein eine Dauerheilung, selbst bei weit fortgeschrittener Infektion, erzielt werden.“ Eine Verbindung von Natr. salicyl. mit Salvarsan wies in den Morgenrothschen Versuchen keine besseren Resultate auf, als das Salvarsan allein. Äthylhydrocuprein plus Salvarsan wirkten zwar

erheblich günstiger, doch konnte auch hier in keinem Falle eine Dauerheilung erzielt werden<sup>1</sup>.

Begreiflicherweise gaben diese Resultate den Anstoß, die Kombination jener drei Substanzen auf die menschliche Therapie, speziell auf die Syphilis, zu übertragen. Die Chininderivate als Adjuvantien des Salvarsans bei der Syphilisbehandlung zu verwenden, erschien sowohl nach der bekannten von Lenzmann<sup>6</sup> seinerzeit propagierten Chininbehandlung der Lues als auch nach dem von Morgenroth in der Gesellschaft der Charité-Ärzte im Januar d. J. — wenn auch für die Syphilis mit ganz besonderer Reserve — erwähnten Versuchen berechtigt, in denen das Eintreten der Rezidive bei trypanosomen-infizierten Tieren nach ungenügender Salvarsanbehandlung durch wiederholte Injektionen von relativ geringen Dosen von Äthylhydrocuprein verhütet werden konnte. Morgenroth schließt seine letzte Veröffentlichung<sup>1</sup> über die Erfolge der Kombinationstherapie bei trypanosomen-infizierten Mäusen mit den Worten: „Daß man selbst für ein so mächtiges Heilmittel, wie es das Salvarsan ist, wirksame Adjuvantien nicht ohne weiteres ablehnen kann, die es gestatten, von gefahrdrohenden Dosen des Arsenikale möglichst weit abzurücken, ist ohne weiteres klar. Es dürfte erlaubt und geboten sein, die Kombination von Salvarsan, Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum in dem Indikationsgebiet des Salvarsans anzuwenden.“

Bevor wir die Morgenrothsche Kombination auf die Therapie der menschlichen Syphilis übertragen, erschien es mir angebracht, zunächst ihre Wirkung am spirilleninfizierten Tier zu prüfen. In der Erwartung, möglichst deutliche Fingerzeige zu erhalten, habe ich mich zunächst eines etwas schwer zu beeinflussenden Testobjektes, der Recurrensinfektion der Mäuse bedient. Um in dem Versuch zu einigermaßen vergleichbaren Resultaten zu gelangen, war mir daran gelegen, eine Infektion zu erzielen, die imstande war, in der betreffenden Versuchsreihe sämtliche Tiere zu töten; denn die häufig bei der Recurrensinfektion der Mäuse auftretenden Unregelmäßigkeiten bedingen natürlich stets Schwierigkeiten für eine korrekte Beurteilung der Wirksamkeit des verwendeten Mittels. Bei einer intraperitonealen und täglichen Weiterimpfung konnten wir unseren Laboratoriumsstamm — wenigstens innerhalb einer Beobachtungszeit von 14 Tagen — auf einer Virulenz erhalten, die in allen Passagen konstant blieb. Die Weiterimpfung des Stammes wurde nach den ersten 24 Stunden vorgenommen, weil sich eine genauere

Dosierung der Spirochäten (Anzahl pro Gesichtsfeld) später kaum mehr durchführen ließ; denn am zweiten Tage bereits waren die Spirochäten zu mehr oder minder dichten Knäueln zusammengeballt.

Am ersten Tage nach der Infektion verhielten sich die Tiere noch vollkommen munter; die Anzahl der Spirochäten betrug pro Gesichtsfeld (1 Tropfen Blut auf etwa 2 Tropfen Natrium-Zitratbouillon) durchschnittlich nicht mehr als 10 bis 20. Am zweiten Tage waren die Tiere gewöhnlich schon recht matt und wiesen eine intensive Schwellung des Gesichts, besonders der Augen auf. Die Spirochäten waren zu kleinen bis größeren Knäueln zusammengeballt. Am dritten und vierten Tage stieg die Spirochätenzahl weiter an, so daß überall dicht beieinander liegende Spirochätenknäuel zu finden waren. Der Tod erfolgte am vierten bis fünften Tage und zwar ausnahmslos.

Am siebenten Überimpfungstage wurden von diesem Originalstamm 24 normale Mäuse infiziert (0,3 ccm einer Mischung von Natrium-Zitratbouillon mit dem Gesamtblut zweier Passagemäuse, deren Infektion ebenfalls nur 24 Stunden zurücklag). Die Anzahl der Spirochäten in der injizierten Aufschwemmung betrug 5 bis 10 Spirochäten pro Gesichtsfeld. Vier Tiere blieben als Kontrollen unbehandelt und starben, wie die Tiere des Originalstammes, am vierten Tage.

Die übrigen 20 Mäuse wurden mit Salvarsan (in Form von Neosalvarsan), Äthylhydrocupreinum hydrochloricum 2 % und Natrium salicylicum 2 % (je 0,3 ccm pro 20 g Maus) 24 Stunden nach der Infektion subkutan behandelt (in Tabelle I erster Tag), nachdem bei jedem Tier schon reichlich Spirochäten im Blute nachgewiesen werden konnten. Die Injektionen erfolgten an verschiedenen Stellen in kurzen Pausen nacheinander. Zu der hier verwendeten Salvarsandosierung möchte ich bemerken, daß ich gegenüber den Versuchen Morgenroths nur mit sehr kleinen, auf die Recurrensinfektion vollkommen unwirksamen Salvarsandosierungen gearbeitet habe, während Morgenroth — wie aus Tabelle XIII seiner Arbeit mit Tugendreich ersichtlich ist — relativ höhere Salvarsanmengen verwendete, die allein schon eine gewisse Wirkung auf den von ihm benutzten, gegen Arsenikalien besonders empfindlichen Trypanosomenstamm ausüben. Die von Morgenroth angegebene Dosis tolerata des Äthylhydrocupreins bezieht sich auf die in Öl gelöste Alkaloidbase. Sie betrug bei einer 2<sup>o</sup>igen Lösung 0,5 ccm pro

Tabelle I.

Tag	Äthylhydrocuprein 2% Natrium salicyl. 2% Salvarsan 1:5000 je 0,3 cc pro 20 g Maus								Äthylhydrocuprein Salvarsan				Natrium salicyl. Salvarsan				Salvarsan				Unbehandelt			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
2.	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
4.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Anmerkung. + bis +++ positiver Spirochätenbefund. 0 negativer Spirochätenbefund. † tot.

20 g Maus. Für die hier verwendete wäßrige Lösung des Äthylhydrocuprein. hydrochlor. lag die letale Dosis zwischen 0,5 bis 0,6 pro 20 g Maus.

Nach den Morgenroth'schen Angaben sind die hier in den beiden Recurrensversuchen verwendeten Dosen Äthylhydrocuprein außerordentlich hoch, wie sie höchstens von einer kleinen Anzahl Individuen vertragen werden. — Die ölige Lösung der Base wird in gleicher Dosis glatt vertragen.

Die Tabelle wird nun auch dadurch beeinträchtigt, daß 7 Tiere bereits am 1. Tage der Behandlung erliegen — wahrscheinlich infolge einer Vergiftung mit Äthylhydrocuprein. Der Spirochätenbefund bei den überlebenden Tieren ist bis zum 6. Tage aus der Tabelle ersichtlich und war im weiteren Verlauf folgender:

Nr. 1 und 7 erlagen einem Rezidiv am 9. Tage; 8 und 9 sowie 13 und 14 überstanden das erste Rezidiv und starben erst an späteren Rezidiven: 8, 9 und 13 etwa nach 3 Wochen. 14 erlag einer interkurrenten Erkrankung am 18. Tage, nachdem der Spirochätenbefund mehrere Tage negativ gewesen war. Die unbehandelten Kontrollen sowie die mit einer unwirksamen Salvarsandosis allein behandelten Tiere erlagen sämt-

lich der Infektion am 3. und 4. Tage.  $\frac{2}{3}$  der Tiere überstanden also die Infektion und wurden vorübergehend spirochätenfrei. Freilich spricht nun dieses Resultat keineswegs zugunsten der dreifachen Kombination; die Kombination von Äthylhydrocuprein mit Salvarsan, sowie die Kombination von Natrium salicylicum mit Salvarsan ergeben allein schon vorübergehende Heilungen.

In Anbetracht der hier verwendeten sehr niedrigen Salvarsandosis lassen die Versuche der Tab. I schließlich immer noch die Möglichkeit zu, daß bei einer größeren, an und für sich aber immer noch unwirksamen Salvarsandosis der Erfolg ein eklatanterer gewesen wäre. Um so auffallender ist es, daß in Tab. I Äthylhydrocuprein und Natr. salicyl. jedes für sich schon einige Tiere heilen wenn sie mit Salvarsan gegeben werden, und daß auch die Kombination beider bei der starken Infektion noch in 3 Fällen vorübergehenden Erfolg hatte.

Auf die Morgenrothschen Versuche übertragen, der die beiden Präparate Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum ausdrücklich nur als Adjuvantien des Salvarsans bezeichnet, um keinen Zweifel zu lassen, daß dem Salvarsan immer der Hauptteil an der Wirkung der Kombination gebührt, ließe sich also aus diesen mit nur sehr geringen Salvarsanmengen angestellten Versuchen herauslesen, daß man noch bei einer völlig ungenügenden Salvarsandosis bei Kombination mit den beiden Mitteln Erfolge erzielen kann, daß dazu allerdings Dosen von Äthylhydrocuprein nötig sind, wie sie nur in Ausnahmefällen vertragen werden, und daß mitunter die Kombination mit Salizylsäure allein zu einem vorübergehenden Erfolg genügen kann.

Da sich gegen diesen Versuch nun einwenden ließ, daß die Infektion bereits zu weit fortgeschritten war, als daß eine wirklich günstige Beeinflussung des Medikaments noch erkannt werden konnte, wurden in einem zweiten Versuch 10 Mäuse — Infektion vom 11. Überimpfungstag des Originalstammes — noch am gleichen Tage der Infektion behandelt (Tabelle II 1. Tag).

Bei der intraperitonealen Infektion waren die Spirillen schon kurze Zeit nach der Infektion im Blute nachzuweisen. Die kombinierte Behandlung setzte 6 Stunden nach der Infektion ein, nachdem bei jedem Tier 3—5 Spirillen pro 10 Gesichtsfelder nachgewiesen waren. Die Behandlung erfolgte wieder in den oben angeführten Dosierungen, jedoch mit dem Unterschied, daß hier

5 Tiere nur mit 0,2 ccm Äthylhydrocuprein behandelt wurden. Von den 10 behandelten Tieren starben wiederum 5 im Anschluß an die Behandlung, diesmal schon nach wenigen Stunden.

Tabelle II.

Tag	Äthylhydrocuprein 2% 0,2 cc Natrium salicyl. 2% Salvarsan 1:5000					Äthylhydrocuprein 2% 0,3 cc Natrium salicyl. Salvarsan					Unbehandelt			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	++	†	++	†	++	++	†	†	†	++	++	++	++	++
3.	+++		+++		+++	+++				+++	+++	+++	+++	+++
4.	+++		+++		+++	+++				+++	+++	+++	†	+++
5.	†		†		†	†				†	†	†		†

Merkwürdigerweise läßt sich nun in diesem Versuch nicht der geringste Einfluß einer Wirksamkeit der Kombination erkennen: Bei den 5 die Behandlung überlebenden Tieren fand sich 24 Stunden nach der Infektion eine Vermehrung der Spirochäten über das Zehnfache, am 2. Tage stieg die Spirochätenzahl auf 50 und mehr pro Gesichtsfeld — dichte Spirochätenknäuel —, am 3. Tage weitere Zunahme und am 4. Tage Exitus sämtlicher behandelten Tiere sowie der Kontrollen. Die Therapie war also hier nicht imstande, eine Vermehrung der Spirochäten aufzuhalten, während andererseits in Tabelle I ein therapeutischer Effekt bei den die kombinierte Behandlung überlebenden Tieren nicht ohne weiteres zu leugnen sein dürfte. Eine Spontanheilung war bei der oben geschilderten Weiterimpfung des Originalstammes weder vor noch nach der Infizierung der 24 Versuchstiere beobachtet worden, dürfte also kaum zu einer Erklärung heranzuziehen sein.

Derartig foudroyante, in kürzester Zeit tödlich verlaufende Infektionen haben natürlich stets den Nachteil, daß die entscheidenden therapeutischen Schläge sich eventuell auf ein Minimum von Stunden zusammendrängen müssen, und ich habe nach diesen Resultaten von weiteren Versuchen Abstand genommen und bin zu einem etwas besser kontrollierbaren Testobjekt, der Kaninchensyphilis, übergegangen.

Bei Feststellung der Toxizitätsgrenze des Äthylhydrocupreins für Kaninchen ergab sich, daß den Tieren subkutan Mengen bis zu 0,1 pro Kilo ohne jede Schädigung verabfolgt werden konnten. Bei Dosen von 0,15 bis 0,2 traten bereits Nebenerscheinungen auf, die sich in einer Art spastischer Lähmung der Extremitäten äußerten,

welcher eine 2 bis 3 Stunden anhaltende Mattigkeit folgte. Die Tiere erholten sich gewöhnlich ziemlich rasch, starben aber meist im Verlaufe der Woche, ohne daß eine Todesursache festgestellt werden konnte. Dosen von 0,3 und mehr riefen einen akut eintretenden, sich rasch verschlechternden Schwächezustand hervor, der ebenfalls mit spastisch-paretischen Erscheinungen der Extremitäten einsetzte. Nach 2 bis 3 Stunden wurden die Tiere mit maximal erweiterten Pupillen und Dyspnoe in Seitenlage aufgefunden; der Tod erfolgte bei einer Dosis von 0,5 innerhalb weniger Stunden.

Bei intravenöser Applikation einer einprozentigen Lösung konnten bis zu einer Dosis von 0,01 pro Kilo keine Störungen beobachtet werden; bei 0,015 und darüber trat sofort unter maximaler Pupillenerweiterung, plötzlichem Aussetzen der Herztätigkeit und Dyspnoe innerhalb weniger Minuten der Exitus ein. Während also die Dosis bene tolerata subkutan bei 0,1 pro Kilo festgelegt werden konnte, betrug sie bei intravenöser Verabreichung des Mittels nur den 10. Teil = 0,01.

Zur Prüfung der therapeutischen Wirkung wurden 7 Kaninchen mit möglichst gleichgroßen Primäraffekten und zwar möglichst auf der Höhe des Wachstums gewählt. Die subkutane Gewebsimplantation lag etwa 1 Monat zurück. Die drei Medikamente wurden wieder so kombiniert, daß neben einer an und für sich unwirksamen Menge Salvarsan Äthylhydrocuprein in der oben als Dosis bene tolerata bezeichneten Menge sowie Natrium salicylicum in der Dosis 0,05 bis 0,1 pro Kilo Tier gegeben wurde. Salvarsan und Salicyl wurden stets intravenös injiziert, das Äthylhydrocuprein subkutan oder intravenös, da es mir gleichzeitig darauf ankam, eventuelle Unterschiede bei einer intravenösen Applikation aller drei Mittel festzustellen. Nach den Angaben von Wechselmann<sup>7</sup> genügt bei der Kaninchensyphilis eine einmalige intravenöse Injektion von 0,015 Salvarsan zu einer sofortigen Sterilisation. Selbst bei noch kleineren Dosen bis zu 0,005 pro Kilo läßt sich endlich noch die Heilung erzielen. Erst bei Dosen, die unterhalb von 0,004 und 0,003 liegen, ist es nicht mehr möglich, mit einer einmaligen Injektion die Tiere zu heilen; die Spirochäten waren in diesen Fällen noch nach 30 Tagen nachzuweisen. Somit wurde für die Behandlung eine Dosis von 0,004 Salvarsan pro Kilo Tier gewählt, und zwar in Form von Neosalvarsan. Zwei Tiere dienten als Kontrolle und wurden nur mit Salvarsan behandelt. Die Injektionen der drei Mittel erfolgten in kurzen Pausen nacheinander.

Tabelle III.

Nr.	Gew.	Salvarsan 0,2% pro Kilo	Äthylhydro- cuprein pro Kilo	Natr. salicyl. 10% pro Kilo	Spirochätenkontrolle nach der Injektion
14	2500	2 cc = 0,004 intravenös	10% 1/2 cc = 0,05 subkutan	1/2 cc = 0,05 intravenös	Anfangs geringe Verminderung der Spirochäten. Stets positiv bis zum 30. Tage. Primäraffekte fast unverändert.
34	2300	2 cc = 0,004 intravenös	10% 1 cc = 0,1 subkutan	1 cc = 0,1 intravenös	Anfangs deutliche Verminderung der Spirochäten. Stets positiv bis zum 30. Tage. Primäraffekte fast unverändert.
421	2150	2 cc = 0,004 intravenös	5% 2 cc = 0,1 subkutan	1/2 cc = 0,05 intravenös	Keine wesentliche Verminderung der Spirochäten in den ersten Tagen. Stets positiv. Primäraffekte nach 21 Tagen vollkommen abgeheilt.
16	2600	2 cc = 0,004 intravenös	1% 1/2 cc = 0,005 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Auffallende Verminderung der Spirochäten: sehr spärlicher, dann negativer Befund. Primäraffekte am 3. Tage weicher und wesentlich kleiner, nach 14 Tagen vollkommen abgeheilt.
345	3000	2 cc = 0,004 intravenös	1% 1 cc = 0,01 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Nur sehr spärlicher, vom 2. Tage an negativer Befund. Primäraffekte nach wenigen Tagen kleiner und weicher, nach 14 Tagen vollkommen abgeheilt.
13	2100	2 cc = 0,004 intravenös	—	—	Vom dritten Tage an negativer Befund, nach wenigen Tagen kleiner, weich, vollkommen abgeheilt nach 14 Tagen.
26	2350	2 cc = 0,004 intravenös	—	—	Anfangs geringe Verminderung der Spirochätenzahl. Stets positiv bis zum 30. Tage. Primäraffekte fast unverändert.

Die Resultate sind nun durchaus nicht glänzend zu nennen und lassen gegenüber einer ungenügenden Salvarsanbehandlung eigentlich keinen Unterschied erkennen. Auffällig ist vielleicht nur das rasche Abheilen bei den beiden mit allen drei Substanzen intravenös behandelten Tieren, doch steht diesem scheinbar besseren Erfolg der gleich günstige Erfolg bei einem der Kontrolltiere zur Seite, als

Beweis, daß ein Primäraffekt mit der hier verwendeten Salvarsanmenge von 4 mg auch ohne Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum zum Abheilen kommen kann. Immerhin wäre es denkbar gewesen, daß bei einer intravenösen und damit vielleicht rascheren und gleichmäßigeren Überschwemmung des Blutes mit den drei Medikamenten auch eine bessere Wirkung erzielt werden kann. Doch spricht ein Parallelversuch, der lediglich in diesem Sinne angestellt wurde, durchaus dagegen. Die Salvarsandosis wurde in diesem zweiten Versuch auf 0,003 reduziert; neben Neosalvarsan kam auch Altsalvarsan zur Verwendung.

Tabelle IV.

Nr.	Gew.	Salvarsan pro Kilo	Äthylhydrocuprein pro Kilo	Natr. salicyl. 10% pro Kilo	Spirochätenkontrolle nach der Injektion.
28	2000	<b>Alt-</b> 0,3 ‰ 1 cc = 0,003 intravenös	5 ‰ 2 cc = 0,1 subkutan	1 cc = 0,1 intravenös	Allmähliche Verminderung der Spirochäten. Vom 7. Tage an negativer Befund. Primäraffekte nach 14 Tagen linsengroß, nach 20 Tagen abgeheilt.
12	1950	<b>Neo-</b> 0,45 ‰ (0,3 ‰) 1 cc = 0,0045 (0,003) intravenös	5 ‰ 2 cc = 0,1 subkutan	1 cc = 0,1 intravenös	Keine Verminderung der Spirochäten. Stets positiver Befund bis zum 30. Tage. Primäraffekte fast unverändert.
9	2820	<b>Alt-</b> 0,3 ‰ 1 cc = 0,003 intravenös	0,5 ‰ 2 cc = 0,01 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Keine wesentliche Verminderung der Spirochäten. Stets positiver Befund bis zum 30. Tage. Primäraffekte etwa 1/2 kleiner.
44	2050	<b>Alt-</b> 0,3 ‰ 1 cc = 0,003 intravenös	0,5 ‰ 2 cc = 0,01 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Keine Verminderung der Spirochäten. Stets positiver Befund bis zum 19. Tage. R. Primäraffekt unverändert. L. etwa 1/2 kleiner. † am 19. Tage.
43	2500	<b>Neo-</b> 0,45 (0,3) ‰ 1 cc = 0,0045 (0,003) intravenös	0,5 ‰ 2 cc = 0,01 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Keine Verminderung der Spirochäten. Stets positiver Befund bis zum 30. Tage. Primäraffekte etwa erbsengroß.
20	2700	<b>Alt-</b> 0,3 ‰ 1 cc = 0,003 intravenös	0,5 ‰ 2 cc = 0,01 intravenös	1 cc = 0,1 intravenös	Keine Verminderung der Spirochäten. Stets positiver Befund. † am 9. Tage.

Hier läßt sich auch nicht der geringste Einfluß dieser kombinierten Behandlung erkennen. Die Resultate sind, wahrscheinlich in Anbetracht der geringeren Salvarsandosis, noch schlechter als in Tabelle III. —

Was nun die Anwendung dieser Kombination auf die menschliche Lues betrifft, so haben wir trotz dieser wenig befriedigenden Resultate im Tierversuch — speziell bei der Kaninchensyphilis — einige Fälle der kombinierten Behandlung unterworfen.

Bekanntlich hat sich schon Lenzmann<sup>6</sup> in zwei Arbeiten aus den Jahren 1908 und 1909 sehr energisch für eine intravenöse Chininbehandlung der Syphilis ausgesprochen. Auf seine Empfehlung hin hat dann Napp<sup>8</sup> weitere Versuche angestellt und die Lenzmannschen Befunde bestätigen können, dahingehend, daß dem Chinin sicherlich eine Wirkung bei Lues zukommt, wenngleich, wie Lenzmann ausdrücklich betont, diese Wirkung durchaus nicht mit einer Quecksilberwirkung in Parallele zu setzen ist. Jedoch gelang es ihm in einer größeren Anzahl von Fällen lediglich durch Chininbehandlung, ohne irgendwelche spezifische Lokaltherapie, die syphilitischen Erscheinungen zum Schwinden zu bringen, wenn es auch, wie er besonders hervorhebt, selten war, sämtliche Symptome mit Chinin rasch zu beseitigen. Lenzmann ist dann später ebenfalls zu einer Verwendung mehrerer Mittel übergegangen, indem er das Chinin mit Arsen (Arsacetin) und Quecksilber kombinierte, und hat damit noch schwere Symptome der Lues schwinden sehen, die durch eine alleinige Hg-Jodkali-Therapie nicht beseitigt werden konnten. (Über Heil- und Präventivversuche mit Chinin bei Kaninchensyphilis vgl. Neisser, Beiträge zur Pathologie und Therapie der Syphilis, S. 309.)

Ich möchte schon hier erwähnen, daß die Resultate, die wir mit der von Morgenroth propagierten Kombination bei der menschlichen Lues erzielt haben, im großen ganzen durchaus keine schlechten zu nennen sind; doch ist es natürlich von vornherein klar, daß bei einer gleichzeitigen Anwendung von Salvarsan eine einwandfreie Beurteilung ihren Schwierigkeiten begegnet. Eine Grenzosis für Salvarsan läßt sich wohl im Tierexperiment ziemlich genau bestimmen; dagegen ist eine Feststellung, welche Salvarsanmenge eben nicht mehr wirksam ist, beim Menschen nur sehr schwer möglich. Immerhin glaubten wir, daß man die Verhältnisse, wie sie in den Morgenrothschen Tierversuchen vorliegen,

am besten dadurch imitieren würde, wenn die Hälfte — eventuell noch weniger — der sonst üblichen Salvarsanmenge injiziert und gleichzeitig Natrium salicylicum in hohen Dosen sowie Äthylhydrocuprein in mittleren Quantitäten verabfolgt würde. Über das Äthylhydrocuprein lagen beim Menschen bereits einige Erfahrungen vor. Am bequemsten erwies sich die Verwendung des Aethylhydrocupreinum hydrochloricum, das außerordentlich gut wasserlöslich ist.

Der ursprüngliche Plan unserer kombinierten Behandlung war also anfangs folgender: Eine kleine Salvarsanmenge von 0,1 bis 0,2 intravenös, gleichzeitig etwa 0,5 Äthylhydrocuprein subkutan oder 1,0 per os und etwa 5,0 Natrium salicylicum per os oder rektal. Diese Kombination sollte nach einigen Tagen wiederholt werden. Erst im Laufe der Behandlung hat dann die Applikation der drei Mittel teilweise ihre Änderungen erfahren.

Bezüglich des Äthylhydrocupreins sei zunächst erwähnt, daß wir damit angefangen haben, dasselbe per os zu geben. Nach den Veröffentlichungen von Rosenthal<sup>9</sup> kommt die toxische Nebenwirkung des Präparates, ähnlich wie bei der einfachen Chininvergiftung, in dem Auftreten von Amblyopien zum Ausdruck. So wurden in 21 mit Äthylhydrocuprein behandelten Fällen Fränkels<sup>10</sup> dreimal Amblyopien beobachtet, ebenso hat Wright zwei Amblyopien gesehen. Die Fränkelschen Amblyopien sind nach dem sofort erfolgten Aussetzen des Mittels innerhalb von zwei Tagen zurückgegangen; dagegen ist nichts über den Ausgang der zwei Fälle von Wright bekannt. Diese beiden Fälle sind überhaupt etwas zweifelhaft. Wright schreibt im Lancet vom 21. Dez. 1912, S. 1704 Anmerkung, daß zwei andere Fälle von Amblyopie ohne Anwendung des Mittels vorgekommen seien, und daß die Möglichkeit besteht, daß auch diese beiden Fälle nicht in Zusammenhang mit dem Mittel standen. Die einzelnen Dosen in den Fränkelschen Pneumoniefällen betragen 0,5. Bevor die Amblyopien verursachende Wirkung des Äthylhydrocupreins bekannt war, wurden bis zu 2,5 g pro die innerlich gegeben, später erhielten die Pneumoniker nur 1,5 pro die<sup>9</sup>.

Bei 17 mit der kombinierten Therapie behandelten Luetikern haben wir in 6 Fällen 3 mal 0,5 Aethylhydrocupreinum hydrochloricum gegeben (einmal 4 mal 0,25 per os plus 0,5 subkutan) und zwar je dreimal mit durchschnittlich 4—5 tägigen Pausen. Nebenerscheinungen haben wir dabei nie beobachtet. Die Verabreichung erfolgte bei der innerlichen Medikation in Geloduratkapseln. In den übrigen 10 Fällen wurde das Mittel, wie von Wright<sup>11</sup> und Parkinson<sup>12</sup>

zuerst mitgeteilt, subkutan gegeben, und zwar in Tagesdosen von 2mal 0,25, 1mal 0,5 oder 1,0. Anfangs kamen subkutan nur Konzentrationen von 2,5% zur Verwendung, die wir jedoch später mit der Erhöhung der Dosis auf 1 g — um nicht allzu große Flüssigkeitsmengen injizieren zu müssen — bis zu 10% Konzentrationen gesteigert haben. Die Lösungen wurden größtenteils in Aqua dest. hergestellt, da sich ein Unterschied in der Verträglichkeit gegenüber NaCl-Lösungen nicht herausstellte. Als geeignetste Stelle für die subkutane Applikation erwies sich die Regio coxae. Auch bei den hochprozentigen Lösungen traten — mit Ausnahme der ersten Injektionen, die infraklavikular unter die Brusthaut gegeben wurden — nie nennenswerte Schmerzen auf, wie schließlich bei der anästhesierenden Wirkung des Mittels zu erwarten stand. Außer einer lokalen Verdickung des subkutanen Gewebes, ohne entzündliche Rötung, die nur wenige Tage andauerte, wurden keine störenden Erscheinungen an der Injektionsstelle beobachtet, und es scheint mir, daß hochprozentige Lösungen subkutan noch besser vertragen wurden, als die anfangs injizierten 2,5%igen.

Anders stand es mit der Frage, ob die stärker konzentrierten Lösungen ebensogut ihre Wirkung entfalten können wie die schwachprozentigen. Es wäre analog den Versuchen, die mit subkutanen Chinininjektionen angestellt wurden<sup>18</sup> — worüber allerdings einheitliche Resultate keineswegs vorliegen —, immerhin denkbar gewesen, daß bei einer höheren Konzentration infolge Ausfällung des Alkaloids und einer durch das geringere Flüssigkeitsquantum bedingten schlechteren Verteilung der Ausfällung an der Injektionsstelle die Resorption eine Verzögerung erleiden könnte, die bei dieser Kombinationstherapie vielleicht weniger erwünscht gewesen wäre.

Um das Maß der Resorption eines subkutan gegebenen Mittels zu bestimmen, sind wir gezwungen, aus der mit dem Harne wieder ausgeschiedenen Menge des Medikaments unsere Schlüsse zu ziehen. Ich habe mich jedoch bei diesen vergleichenden Versuchen lediglich auf den qualitativen Nachweis beschränkt — unter Berücksichtigung des ersten Auftretens des Medikaments im Urin und der Beendigung der Ausscheidung. Der Nachweis wurde mit einem Gruppenreagenz, mit der von Giemsa als zweckmäßigstes Reagenz für den Chininnachweis im Harn empfohlenen sauern Kaliumquecksilberjodidlösung, geführt. Die Grenze dieses Gruppenreagenz liegt für Chinin bei einer Verdünnung des Chinins von 1:200 000<sup>19</sup>. Für das Äthylhydrocuprein fand sich bei einer Lösung von

1:1000000 noch eine deutlich positive Reaktion. Andere Alkaloide, auf deren Anwesenheit eine positive Reaktion im Harn hätte zurückgeführt werden können, kamen praktisch nicht in Frage. Ein Bestandteil des Harns, der mit der Kaliumquecksilberjodidreaktion ebenfalls eine Fällung gibt, ist das Eiweiß. Es war also lediglich nötig, die zu untersuchenden Fälle vorher auf Albumen zu prüfen.

Die vergleichenden Versuche haben nun keinerlei Unterschiede bei subkutaner Injektion der verschiedenen Konzentrationen ergeben: Es wurden stets 0,5 Äthylhydrocuprein injiziert, und zwar vergleichsweise in 20 ccm Aq. dest. (2,5%), in 10 ccm (5%) und in 5 ccm (10%). Die Ausscheidung mit dem Urin begann durchschnittlich nach einer Stunde — das Maximum der Ausscheidung fiel auf die 2. bis 5. Stunde —, nach 24, spätestens 30 Stunden war die Ausscheidung in sämtlichen Fällen beendet. Ein nennenswerter Unterschied bei diesen drei Konzentrationen ließ sich weder an ein und derselben Person noch bei einem Vergleich der an verschiedenen Patienten gewonnenen Resultate erkennen. Ähnlich lagen die Verhältnisse auch in einem Tierversuch, in dem eine eben letal wirkende Dosis in verschiedenen Konzentrationen subkutan gegeben wurde. Diesem Versuch lag theoretisch die Annahme zugrunde, daß bei einer subkutanen Ausfällung des Medikaments, infolge einer Depotbildung an der Injektionsstelle, bei höheren Konzentrationen eine nur allmähliche, verlangsamte Resorption hätte zustande kommen können, so daß die Tiere bei Injektion einer hochprozentigen Lösung hätten länger am Leben bleiben müssen als bei schwach konzentrierten Lösungen. Die eben noch sicher letal wirkende Dosis einer 2,5%igen Lösung betrug 4 ccm = 0,1 Äthylhydrocuprein pro 100 g Meerschweinchen. Der Versuch wurde so angestellt, daß 9 Tiere von 500 g Gewicht gewählt wurden. Die Dosis Äthylhydrocuprein betrug für jedes Tier 0,1 pro 100 g, und zwar als 2,5%, 10 und 25% Lösung. Von 3 Tieren, denen eine 2,5% Lösung (je 20 ccm) injiziert worden war, starb eins nach 2, die beiden anderen nach 3 Stunden. Bei Injektion der 10% Lösung (je 5 ccm) erlagen 2 Tiere nach 4 und 5 Stunden, Nr. III starb nach 6 Stunden. Nach 2—3 Stunden trat bei allen 3 Tieren Seitenlage und fast vollkommene Reaktionslosigkeit ein. Nach Injektion der 25% Lösung (je 2 ccm) starben die Tiere wieder innerhalb 2—3 Stunden, also ohne Unterschied gegenüber der 2,5% Lösung.

Kurz erwähnt sei hier noch das Verhalten der einzelnen Konzentrationen gegenüber der Körperflüssigkeit sowie ihre Wirkung

auf Erythrocyten im Reagenzglas. Es wurden 0,1—20%ige Lösungen in Aqua destillata und physiologischer Kochsalzlösung gegen frisches, vollkommen klares menschliches Serum, gegen Plasma, sowie menschliche Erythrocyten, die nach Auffangen des Blutes in einer 10%igen Natriumcitratlösung (1,5 ccm auf 10 ccm Blut) durch leichtes Zentrifugieren gewonnen wurden, geprüft. Je 1 ccm der Äthylhydrocuprein-Lösungen wurde mit je 1 ccm Serum oder Plasma sowie mit 0,25 ccm roten Blutkörperchen zusammengebracht.

In den Serum- und Plasmaröhrchen entstand auch bei Zusatz der schwachen Konzentrationen — bis zu 0,25% — sofort eine Trübung, bei den konzentrierteren Lösungen eine starke flockige Ausfällung, die sich in einem Überschuß von Serum oder Plasma nicht löste. Nach 24 Stunden wiesen die mittleren Konzentrationen einen dicken weißen Niederschlag auf, die höheren Gerinnung. Die Erythrocyten blieben bis zu den 2%igen Äthylhydrocuprein-Lösungen auch nach 24 Stunden noch ziemlich intakt, doch war eine feinkörnige Ausflockung des Alkaloids stets zu beobachten. Im Dunkel-feld zeigten die Blutkörperchen noch relativ gute Formen, waren aber zu größeren Komplexen fest aneinandergelagert. Bei Konzentrationen über 5% trat sofort eine stärkere Ausfällung, nach mehreren Stunden eine grünschwarz verfärbte Gerinnung auf. Mit physiologischer Kochsalzlösung zusammengebracht trat innerhalb 24 Stunden keine Ausfällung des Alkaloids — auch in den höheren Konzentrationen — ein.

Die relativ geringsten Veränderungen machten sich also bei den Lösungen bis zu 2% geltend, während alle stärker konzentrierten Lösungen auf die Zellen entschieden eine deletäre Wirkung ausübten. Die Vermutung liegt somit nahe, daß die hochprozentigen Lösungen subkutan an der Injektionsstelle eine ähnliche Wirkung entfalten. Auch die an der Umgebung der Injektionsstelle entstehende Verdickung des subkutanen Gewebes läßt ja schon diesbezügliche Schlüsse zu: Bei den Tieren fanden sich subkutan nach Injektion von 0,5 bis 1,0 einer 10—20%igen Lösung stets in den nächsten Tagen leichte Verklebungen sowie eine starke Durchtränkung des Gewebes mit Flüssigkeit. Intramuskuläre Injektionen an Tauben mit 10%igen Lösungen ließen sowohl nach wenigen Stunden wie nach mehreren Tagen und Wochen ein stark lädiertes, graugrün verfärbtes, faseriges und bröckliges Muskelgewebe in der Umgebung der Injektionsstelle erkennen. Von intramuskulären Injektionen haben

wir daraufhin Abstand genommen. Praktisch scheinen mir die subkutan entstehenden Veränderungen keine große Rolle zu spielen.

Die injizierten Lösungen ließen bei einem Zusatz von Phenolphthalein keine alkalische Reaktion erkennen. Bei Zusatz von Lackmustinktur trat eine leichte Blaufärbung auf. Spuren eines Alkali verursachten sofort eine Ausfällung des Alkaloids.

Das Natrium salicylicum wurde anfangs per os, später rektal und schließlich intravenös gegeben<sup>14</sup>. Per os und rektal wurden große Dosen von 5,0 bis 6,0 eingeführt — intravenös nicht mehr als 2,0. Auf welche Weise man das Natr. salic. verabreicht, bleibt sich praktisch — bei der raschen Resorption vom Darm aus — wohl vollkommen gleich. Der Übergang ins Blut ist ja auch bei der internen Medikation ein sehr rascher. Unterschiede über die Dauer und Schnelligkeit der Salicylausscheidung durch die Nieren bei intravenöser und interner Verabreichung waren bei versuchsweise gegebenen Dosen von 2 g — wie auch Brugsch<sup>15</sup> seinerzeit experimentell nachgewiesen hat — nicht zu konstatieren. Nach Brugsch liegt eine Dosis von 2,0 Natr. salic. intravenös noch unter der Schädlichkeitsgrenze für die Nieren.

Für das Salvarsan wurden geringe Dosen 0,1 bis 0,2 gewählt. Das Salvarsan wurde stets intravenös und zwar in Form von Neosalvarsan (0,15—0,3) gegeben.

Da es bei den verschiedenen Applikationsweisen: subkutan, intravenös und per os (rektal) bis zu einem gewissen Grade darauf ankam, die Medikation zeitlich möglichst so zu kombinieren, daß die intravenöse Injektion etwa auf den Höhepunkt der Resorption des subkutan oder intern eingeführten Mittels fiel, wurde die Salvarsaninjektion etwa 2 Stunden nach der subkutanen Injektion des Äthylhydrocupreins gegeben, während das Natrium salicylicum per os oder rektal zwischen die beiden Injektionen eingeschaltet wurde. Die Dosierung der einzelnen Medikamente habe ich der Übersicht halber bei jedem Fall besonders erwähnt. Was den hier nur kurz skizzierten Verlauf der Erkrankung anbetrifft, so möchte ich bemerken, daß der Spirochätenbefund sowie die Veränderungen derluetischen Erscheinungen täglich kontrolliert wurden und daß hier lediglich diejenigen Tage verzeichnet sind, an denen eine deutliche Veränderung zu beobachten war.

## Fall I. Th. T., 27 J.

Infektion Mitte Januar.

Primäraffekt seit Anfang Februar.

Aufnahme 25. III. Wa. Re. +++<sup>1)</sup>

Behandlung:

26. III.	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Äthylhydrocuprein } 3 \times 0,5 \text{ per os in caps. gelodurat.} \\ \text{Neosalvarsan } 0,15 \text{ intravenös.} \\ \text{Natrium salicyl. } 5 \times 1,0 \text{ per os 2stündl.} \end{array} \right.$		
30. III.			
3. IV.			
25. III.	Oberflächlich ulcerierter Primäraffekt im Sulcus coronarius. Spiroch. pallid. negat.	Impetigin. Syphilid des behaarten Kopfes.	Maculo-papul. Syphilid des Stammes und der Extremitäten.
29. III.	Kleiner, sauberer Spiroch. stets negativ.	Krusten trocken, teilweise abgefallen.	Papul. Effloreszenzen vollkomm. abgeflacht.
1. IV.	Fast überhäutet, noch induriert.	Krusten abgefallen.	Roseola geschwunden, papul. Effloresz. vollkommen abgeflacht.
4. IV.	Vollkommen überhäutet, noch induriert.	Nur noch Pigmentationen.	Pigmentation an Stelle der papul. Effloresz.

Weitere Behandlung mit Hg und Salvarsan.

## Fall II. B. P., 25 J.

Infektion Mitte Januar.

Primäraffekt Mitte Februar.

Aufnahme 17. III. Wa. Re. +++.

Behandlung:

18. III.	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Äthylhydrocuprein } 3 \times 0,5 \text{ per os in caps. gelodurat.} \\ \text{Neosalvarsan } 0,15 \text{ intravenös.} \\ \text{Natrium salicyl. } 5 \times 1,0 \text{ per os 2stündl.} \end{array} \right.$		
23. III.			
27. III.			
17. III.	Nässende breite Papeln am Präputium. Spirochäten ++.	Entzdl. Phimose mit mäßig starker citriger Sekretion.	
22. III.	Fast trocken, Spirochäten +.	Sekretion geringer.	
24. III.	Vollkommen trocken, Präparat nicht mehr möglich.		
28. III.	Nur noch Pigmentation.	Keine Sekretion mehr. Präputium retrahierbar.	

20. IV. Wiedervorstellung: Wa. Re. +++<sup>1)</sup>. Am freien Rand des Präputiums doppelt-linsengroße Papel mit positivem Spirochätenbefund.

Salvarsan- und Hg-Behandlung.

## Fall III. E. G., 20 J.

Infektion Mitte Januar.

Primäraffekt Mitte Februar.

Aufnahme 27. III. Wa. Re. +++.

<sup>1)</sup> +++ = aktiv und inaktiv positiv.

Behandlung:

28. III.	{ Äthylhydrocuprein 3 × 0,5 per os in caps. gelodurat. Neosalvarsan 0,15 intravenös. Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.		
1. IV.			
5. IV.			
27. III.	Pfenniggroßer Primäraffekt am inneren Blatt d. Präputiums. Mäßige entzündliche Phimose. Spiroch. pall. ++	Condylomata lata an der Cutis penis und am Skrotum.	Maculo-papul. Syphilid des Stammes und der Extremitäten.
30. III.	Weicher, Spiroch. ++	Flacher, trockner.	Intensiver (Reaktion!)
2. IV.	Spiroch. +	Fast trocken.	Abgeblaßt.
7. IV.	Weicher, etwa 1/2 kleiner, gut überhäutet. Kein Präparat mehr möglich.	Trocken, schuppend.	Nur noch Pigmentation.

29. V. Wiedervorstellung: Keine Symptome für Lues. Wa. Re. ++. Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall IV. Sch. K., 18 J.

Infektion Ende Dezember 1912.

Primäraffekt seit Mitte Januar 1913.

Aufnahme 22. III. Wa. Re. ++.

Behandlung:

28. III.	{ Äthylhydrocuprein 3 × 0,5 per os in caps. gelodurat. Neosalvarsan 0,15 intravenös. Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.			
27. III.				
31. III.				
22. III.	Entzdl. Phimose, dorsal palpable Sklerose.	Nässende breite Papeln ad anum et scrotum. Spiroch. pall. ++.	Impetigin. Syphilid des behaarten Kopfes.	Maculo-papul. Exanthem.
28. III.	Unverändert, Sklerose weicher.	Unverändert, Spiroch. ++.	Unverändert, etwas trockner.	Unverändert.
29. III.	Weicher, kleiner.	Am After unverändert. Spiroch. ++. Am Hoden flach, trocken.	Krusten größtenteils abgefallen.	Blasser, flacher.
1. IV.	Vollkommen weich.	Am After noch nässend. Spiroch. +. Am Skrotum nur noch Pigmentation.	Unverändert.	Bis auf Pigmentation vollkommen geschwunden.

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall V. G. A., 56 J.

Infektion negiert.

Primäraffekt Anfang November 1912.

Aufnahme 26. III. Wa. Re. ++.

Behandlung:

27. III.	{ Äthylhydrocuprein 3 × 0,5 per os in caps. gelodurat. Neosalvarsan 0,15 intravenös. Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.	
31. III.		
5. IV.		

26. III.	Entzdl. Phimose mit stark eitriger Sekretion. Palpable Sklerose.	Trockne, schuppige Papeln am Skrotum. Nässende Papeln am Präputium. Spiroch. pall. ++.	Oberflächl. Ulceration am linken Mundwinkel, entzündlich, geschwollen.	Plaqu. muqueuses an der Zunge.
30. III.	Phimose unverändert. Sklerose weicher. Eiterung läßt nach.	Papeln am Präputium unveränd. Spiroch. ++.	Schwellung zurückgegangen.	Unverändert.
1. IV.	Keine entzündl. Erscheinungen mehr. Sklerose nur noch wenig induriert.	Am Präputium trocken, flacher, am Skrotum noch etwas schuppig.	Flacher, beginnende Überhäutung.	Unverändert.
6. IV.	Sklerose geschwunden.	Vollkomm. flach, noch etwas schuppig.	Vollkommen überhäutet.	Blasser.
10. IV.	Pigmentierte Narbe, weich.	Nur blasse Pigmentationen.	Restlos geschwunden.	Geschwunden.

22. V. Wiedervorstellung: Serpiginöses Syphilid am Hoden seit 8 Tagen. Glans und Innenfläche des Präputiums erodiert. Spiroch. ++. Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall VI. H. U., 36 J.

Infektion Mitte September 1912.

Primäraffekt Mitte Januar 1913.

Aufnahme 14. III. Wa. Re. ++.

Behandlung:

15. III. { Äthylhydrocuprein  $3 \times 0,5$  per os in caps. gelodurat.

21. III. { Neosalvarsan 0,3 intravenös.

5. IV. { Natrium salicyl.  $5 \times 1,0$  per os 2stündl.

14. III.	Schmerzhafter ulcerierter Primäraffekt am Präputium. Spiroch. pall. +, Spiroch. refring. ++.	Nässende, breite Papeln am Skrotum und After.	Mak. Exanthem.	Plaqu. muqueuses an der Wangenschleimhaut.
18. III.	Flacher, deutlich kleiner, keine Schmerzen mehr. Spiroch. pall. +, Spir. refr. +++.	Flacher, nicht mehr nässend.	Unverändert.	Unverändert.
20. III.	Weitere Abflachung, zunehmende Überhäutung. Weicher. Spiroch. pall. +, Spir. refring. ++.	Keine weitere Veränderung.	Blasser.	Blasser.
22. III.	Fast vollkommen überhäutet. Spiroch. pall. 0, Spiroch. refring. ++.	Bis auf Pigmentation geschwunden.	Spur.	Vollkommen geschwunden.
27. III.	Vollkomm. überhäutet, weich.	Pigmentation.	Geschwunden.	

22. VII. Wiedervorstellung: Plaques an Wangenschleimhaut. Papeln im Sulcus coronarius. Spiroch. ++. Wa. Re. ++.

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall VII. K. W., 20 J.

Infektion negiert.

Primäraffekt seit Mitte März.

Aufnahme 14. IV. Wa. Re. ++.

Behandlung:

- |         |   |   |
|---------|---|---|
| 15. IV. | Äthylhydrocuprein 2,5 % 10 cc subkutan am 14. IV. abends,<br>10 cc subkutan am 15. IV. vormittags.<br>Neosalvarsan 0,3 intravenös.<br>Natrium salicyl. $5 \times 1,0$ per os 2ständl. (Abendtemperatur 39,1). |   |
| 21. IV. | { Äthylhydrocuprein 5 % 10 cc = 0,5 subkutan.<br>Neosalvarsan 0,3 intravenös.   |   |
| 26. IV. |   | Natrium salicyl. $5 \times 1,0$ per os 2ständl.                                     |
| 14. IV. | Oberflächlich ulcerierter markstückgroßer Primäraffekt am inneren Blatt des Präputiums. Spiroch. pall. ++. Spiroch. refring. ++.  | Phimose mit starker eitriger Sekretion (Spülungen mit physiologischer NaCl-Lösung). |
| 16. IV. | Spiroch. pall. 0, Spiroch. refring. +.  | Eiterung hat nachgelassen.  |
| 17. IV. | Weicher, flacher. Spiroch. pall. 0, Spiroch. refring. +.  |   |
| 21. IV. | Bis auf linsengroße Stelle vollkommen überhäutet. Spiroch. pall. 0, Spiroch. refring. +.  | Gut retrahierbar.   |
| 23. IV. | Vollkommen geschlossen, weicher, aber noch deutlich zu fühlen, etwa pfenniggroß.  |   |
| 28. IV. | Spur induriert.   |   |

15. V. Wiedervorstellung: Symptomlos.

22. VI. Erosionen am inneren Blatt des Präputiums. Spiroch. pall. 0.

Spiroch. refring. ++. Wa. Re. 00.

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall VIII. J. K., 23 J.

Infektion negiert.

Primäraffekt nicht beobachtet.

Aufnahme 15. IV. Wa. Re. ++.

Behandlung:

16. IV. Äthylhydrocuprein 2,5 % 10 cc subkutan am 15. IV. abends,  
10 cc subkutan am 16. IV. vormittags.  
Neosalvarsan 0,3 intravenös.  
Natrium salicyl.  $5 \times 1,0$  per os 2ständl.

21. IV.	{ Äthylhydrocuprein 5% 10 cc = 0,5 subkutan. Neosalvarsan 0,3 intravenös. Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.	
26. IV.		
15. IV.	Erodierte nässende Papeln im Sulc. coronar. Spiroch. pall. ++++, Spiroch. refring. + (Einlagen mit physiologischer NaCl-Lösung).	Sehr intensives makul. Exanthem.
17. IV.	Spiroch. pall. 0, Spiroch. refring. 0.	
18. IV.	Papeln flach, trocken. Erosionen bis auf kleine Reste überhäutet. Spiroch. 0.	Sehr blaß.
22. IV.	Vollkommen überhäutet, trocken. Präparat nicht mehr möglich.	Spur.
25. IV.	Kaum mehr sichtbar.	Vollkommen geschwunden.
3. V. Wiedervorstellung: Symptomlos. Wa. Re. +++.		
12. V. Roseola, Erosionen im Sulcus coron. Wa. Re. +++ Spiroch. 0. Salvarsan-Hg-Behandlung.		

## Fall IX. F. H., 24 J.

Infektion negiert.

Primäraffekt seit Ende Januar.

Aufnahme 15. IV. Wa. Re. +++.

Behandlung:

16. IV.	Äthylhydrocuprein 2,5% 10 cc subkutan am 15. IV. abends, 10 cc subkutan am 16. IV. morgens.			
	Neosalvarsan 0,3 intravenös.			
	Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.			
21. IV.	{ Äthylhydrocuprein 5% 10 cc = 0,5 subkutan. Neosalvarsan 0,3 intravenös. Natrium salicyl. 5 × 1,0 per os 2stündl.			
26. IV.				
15. IV.	Primäraffekt im Sulcus coronar. palpabel (Phimose).	Nässende Papeln am Präputium, Skrotum und After. Spiroch. +++.	Oberflächl. Ulceration an der li. Tonsille. Schlingbeschwerden.	Maculo-papulöses Exanthem.
18. IV.	Weicher.	Etwas trockner. Spiroch. +.	Flacher, sauberer. Keine Beschwerden mehr.	Unverändert.
20. IV.	Fast unverändert.	Trocken, Präparat nicht mehr möglich.	Abgeheilt.	Papeln vollkommen unverändert.
22. IV.	Weicher, nur noch undeutlich begrenzt zu fühlen.	Pigmentation.		Unverändert.
27. IV.	Vollkommen weich.			Unverändert.

Da keine Beeinflussung des papul. Exanthems, Salvarsan-Hg-Behandlung: Nach Ol. ciner.  $3 \times 0,07$  Hg + 2 Neosalvarsan-Injektionen à 0,9 + 1 Altsalvarsaninjektion 0,4 ist das Exanthem nur wenig zurückgegangen. Weitere Behandlung mit Ol. ciner.

Fall X. G. H., 24 J.

Infektion Mitte Februar.  
Primäraffekt seit Anfang April.  
Aufnahme 15. IV. Wa. Re. +++.

Behandlung:

16. IV.	Äthylhydrocuprein 2,5% 10 cc subkutan am 15. IV. abends, 10 cc subkutan am 16. IV. morgens.		
	Neosalvarsan 0,3 intravenös.		
	Natrium salicyl. $5 \times 1,0$ per os 2ständl.		
21. IV.	Äthylhydrocuprein 5% 10 cc = 0,5 subkutan. Neosalvarsan 0,3 intravenös.		
26. IV.		Natrium salicyl. $5 \times 1,0$ per os 2ständl.	
15. IV.	Schmierig belegter, ulcerierter Primäraffekt am Mons Veneris. Spiroch. 0.	Ulcerierter Primäraffekt an der Innenfläche des Präputiums Spiroch. +++.	Intensives makulöses Exanthem.
17. IV.	Wenig verändert.	Spiroch. 0.	Unverändert.
18. IV.	Sauberer, beginnende Überhäutung.	Fast unverändert. Spiroch. 0.	Blasser.
22. IV.	Mit trockner Kruste bedeckt.	Etwa $\frac{1}{2}$ kleiner. Spiroch. 0.	Geschwunden.
23. IV.	Nach Entfernung der Kruste etwa $\frac{1}{2}$ kleiner.	Spiroch. 0.	
26. IV.	Bis auf kleinen Rest überhäutet.	Bis auf kleinen Rest überhäutet.	
30. IV.	Vollkommen geschlossen.	Vollkommen geschlossen.	
3. V.	Wiedervorstellung: Symptomlos.		
15. V.	Symptomlos. Wa. Re. ??.		
	Salvarsan-Hg-Behandlung.		

Fall XI. J. R., 20 J.

Infektion nicht zu eruieren.  
Primäraffekt Anfang April.  
Aufnahme am 22. IV. Wa. Re. +++.

Behandlung:

23. IV.	Äthylhydrocuprein 2,5% 20 cc = 0,5 subkutan. Neosalvarsan 0,2 intravenös.
26. IV.	
2. V.	Natrium salicyl. 6,0 rektal.

23. IV.	Primäraffekt am freien Rande des Präputiums. Spiroch. 0 (Phimose-Spülungen mit physiol. NaCl-Lösung).	Wenig nässende Papeln am Skrotum, an der Cutis penis, am After. Spiroch. pall. ++.	Intensives makulöses Exanth.	Plaque li. Tonsille zieml. starke Schwellung, Schlingbeschwerden.
25. IV.	Sauberer, flacher. Spiroch. 0.	Vollkomm. trocken, livide verfärbt. Spiroch. 0.	Blasser.	Schwellung zurückgegangen. Plaque noch deutlich, keine Schmerzen mehr.
27. IV.	Zunehmende Überhäutung. Spiroch. 0.	Nur noch blasse livide Verfärbung.		
4. V.	Bis auf linsengroßen Rest überhäutet. Spiroch. 0.		Spur.	Plaque geschwunden.
7. V.	Weich, überhäutet.	Restlos geschwunden.	Geschwunden.	

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall XII. W. A., 20 J.

Infektion Anfang April.

Primäraffekt Ende April.

Aufnahme 3. V. Wa. Re. ++.

Behandlung:

4. V. Äthylhydrocuprein 2,5% 20 cc = 0,5 subkutan.

Neosalvarsan 0,3 intravenös.

Natrium salicyl. 6,0 rektal.

3. V.	Entzündliche Phimose mit starker eitriger Sekretion. Primäraffekt palpabel.	Oberflächliche pfenniggroße Ulceration an der Cutis penis.		Condylomata lata am Präputium und Skrotum. Spir. pall. ++, Spir. refring. ++.
5. V.	Unverändert.	Sauberer, beginnende Überhäutung.		Spiroch. pall. ++, Spiroch. refring. ++.
8. V.	Sekretion hat etwas nachgelassen.	Vollkommen überhäutet.		Spiroch. pall. +, Spiroch. refring. ++. Condyl. flacher, trockener.

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall XIII. B. R., 25 J.

Infektion Ende Dezember.

Primäraffekt Ende Januar.

Aufnahme 8. V. Wa. Re. +++.

Behandlung:

9. V. { Äthylhydrocuprein 5% 10 cc subkutan = 0,5.

14. V. { Neosalvarsan 0,3 intravenös.

20. V. { Natrium salicyl. 6,0 rektal.

8. V.	Geschloss. doppelt-linsengroße Sklerose am Präputium.	Makulöses Exanthem.	Oberflächl. Ulcerationen auf beiden Tonsillen.	Plaqu. muqueuses auf beiden Wangen.
11. V.	Unverändert.	Blasser.	Gereinigter, flacher.	Blasser.
15. V.	Etwa $\frac{1}{2}$ kleiner, weicher.	.	Abgeheilt.	Geschwunden.
17. V.	Kaum mehr palpabel.	Unverändert.		

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall XIV. T. J., 20 J.

Infektion Juli 1912. 30 Hg-Friktionen. Jetzt Rezidiv.  
Aufnahme 20. V. Wa. Re. ++.

Behandlung:

21. V. { Äthylhydrocuprein 5% 20 cc = 1,0.  
26. V. { Neosalvarsan 0,3 intravenös.  
Natrium salicyl. 6,0 rektal.

20. V.	Nässende erodierte Papeln am inneren Blatt des Präputiums.	Stark nässende Condylomata lata ad anum. Spiroch. pall. ++, Spiroch. refr. ++ (Kompressen mit physiologischer NaCl-Lösung).	Plaques auf beiden Tonsillen.
23. V.	Trockner.	Nur noch wenig nässend. Spir. pall. ++, Spiroch. refring. ++.	Unverändert.
26. V.	Wenig verändert.	Wesentl. flacher, vereinzelte abgestorbene Spirochäten.	Geschwunden.
29. V.	Vollkommen abgeheilt.	Vollkommen trocken, livide Verfärbung. Präparat nicht mehr möglich.	

Salvarsan-Hg-Behandlung.

Fall XV. H. B., 30 J.

Lues maligna.

Infektion Ende Oktober 1912. 10 Hg-Injektionen und 1 Schmierkur.  
Aufnahme 11. VII. 1918. Wa. Re. 00.

Behandlung:

11. VII. An Stamm und Extremitäten pfennig- bis fünfmarkstückgroße, teils schmierig belegte, teils mit Krusten bedeckte Ulcerationen. Am Gaumen tiefe Ulceration. Starke Schlingbeschwerden.  
12. VII. Äthylhydrocuprein 10% 10 cc = 1,0 subkutan.  
Neosalvarsan 0,3 intravenös.  
Natrium salicyl. 6,0 rektal.  
14. VII. Krusten größtenteils trocken, Ulcerationen sauberer. Starke Rötung in der Umgebung der Gaumenulceration. Schlingbeschwerden wesentlich geringer.

19. VII. Äthylhydrocuprein 10% 10 cc = 1,0 subkutan.  
Neosalvarsan 0,8 intravenös.  
Natrium salicyl. 2,0 intravenös.
21. VII. Keine wesentlichen Veränderungen.  
Salvarsan-Hg-Behandlung.

## Fall XVI. M. S., 24 J.

Infektion Anfang Mai 1913.

Primäraffekt seit Anfang Juli 1913.

Behandlung:

- |          |   |
|----------|---|
| 9. VII.  | { Äthylhydrocuprein 10% 10 cc = 1,0 subkutan.<br>Neosalvarsan 0,8 intravenös.<br>Natrium salicyl. 6,0 rektal. |
| 15. VII. |   |
| 21. VII. | Äthylhydrocuprein und Neosalvarsan in den gleichen Dosen.<br>Natrium salicyl. 2,0 intravenös.                 |
| 8. VII.  | Flacher Primäraffekt im Sulcus coron.,<br>schmierig belegt. Spiroch. pall. +++.                               |
| 12. VII. | Sauberer Spirochätenbefund seit 9. VII.<br>negativ.   |
| 18. VII. | Bis auf kleine Stelle gut überhäutet.<br>Spirochätenbefund stets negativ.                                     |
| 22. VII. | Vollkommen überhäutet, weich.<br>Salvarsan- und Hg-Behandlung.  |

## Fall XVII. L. P., 28 J.

Infektion negiert.

Primäraffekt nicht beobachtet.

Aufnahme 15. VII. Wa. Re. ++.

Behandlung:

- |          |   |  |
|----------|---|--|
| 16. VII. | Äthylhydrocuprein 10% 10 cc = 1,0 subkutan.<br>Neosalvarsan 0,3 intravenös.<br>Natrium salicyl. 2,0 intravenös. |  |
| 15. VII. | Maculo-papulöses Exan-<br>them.   | Nässende breite Papeln<br>am Hoden und After.<br>Spiroch. pall. + + +,<br>Spiroch. refring. +. |
| 18. VII. | Flacher, blasser.   | Vollkommen trocken,<br>Spiroch. spärlich.  |
| 21. VII. | Stark abgebläht, voll-<br>kommen flach.   | Präparat nicht mehr<br>möglich.  |
- Salvarsan-Hg-Behandlung.

Vergleicht man die Resultate lediglich unter Berücksichtigung der Spirochätenbefunde, so ist zunächst auffallend, daß Fall II—VI (Fall I wies dauernd einen negativen Befund auf) eine ausgesprochen schlechtere Beeinflussung der Spirochäten erkennen lassen als die Mehrzahl der übrigen Fälle; die Spirochäten schwinden in keinem Falle vor dem zweiten Behandlungstage, bei Fall IV bleibt der

Befund selbst noch nach einer dritten Injektion — 9 Tage lang — positiv. Ganz anders liegen dagegen die Verhältnisse bei den Fällen VII—XVII; hier schwinden die Spirochäten prompt, teilweise auffallend rasch und schon nach einer einmaligen Behandlung. Die schlechteren Resultate in den ersten Fällen mögen einesteils vielleicht mit der internen Verabreichung des Äthylhydrocupreins in Zusammenhang zu bringen sein, während alle übrigen subkutan behandelt wurden. Anderenteils dürfte aber ebenso zu berücksichtigen sein, daß in den ersten Fällen die Salvarsandosin (0,15 Neo) um die Hälfte geringer war als in den späteren Fällen (0,3 Neo). Fall VI zeigt allerdings auch mit 0,3 Neosalvarsan, bei gleichfalls interner Verabreichung des Äthylhydrocupreins, kein rascheres Schwinden der Spirochäten. Was die subkutan behandelten Fälle anbetrifft, so weisen Fall VII und XVI die besten Erfolge auf, doch lagen die Verhältnisse hier auch insofern am günstigsten, als sich die Patienten noch in der zweiten Inkubation befanden und sekundäre Erscheinungen nicht aufwiesen. Schlecht ist das Resultat nur bei Fall XII und dem einen Fall von Lues maligna, die nach zwei Injektionen kaum irgendwelche Beeinflussung erkennen ließen. Im übrigen schwinden die Primäraffekte, ebenso die sekundären Symptome im allgemeinen ziemlich rasch: das Exanthem verliert in der Mehrzahl der Fälle schon nach der ersten kombinierten Behandlung seine charakteristische Farbe und blaßt rasch ab; langsamer schwinden die papulösen Effloreszenzen; breite Kondylome werden flach und trocken und gelangen zur Resorption; Plaques muqueuses bilden sich meist nach der ersten Wiederholung der Injektion zurück, die Epitheltrübungen stoßen sich ab und die Papeln selbst bilden sich dann rasch zurück. — Wie weit dabei das Salvarsan in den hier verwendeten Dosen eine Rolle spielt, ist selbstverständlich, wie ich eingangs bereits betont habe, nicht leicht zu entscheiden. Es erscheint mir aber immerhin recht fraglich, ob wir in all den Fällen, in denen wir ein so rasches Schwinden der Spirochäten und der Symptome konstatieren konnten, das gleiche mit einer alleinigen Salvarsanbehandlung in entsprechend kleinen Dosen erreicht hätten; die hier angewandte Salvarsanmenge betrug ja nur  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{3}$  der sonst üblichen Dosis. Ein Vergleich in bezug auf die verschiedenen Dosierungen des Äthylhydrocupreins läßt ebensowenig einen Unterschied in der Wirkung erkennen wie ein Vergleich der mit den verschiedenen Konzentrationen behandelten Fälle.

Da es uns zunächst nur darauf ankam, die Wirkung der kombinierten Behandlung auf die Spirochäten und auf sekundäre Erscheinungen festzustellen, so sind wir in der Mehrzahl der Fälle zu einer Salvarsan-Quecksilberbehandlung übergegangen, sobald der Verlauf der Erkrankung ein Urteil über die Wirkung der Therapie zuließ. Sechs Fälle, die durch die Behandlung günstig beeinflusst waren, blieben nach einer je dreimaligen kombinierten Behandlung ohne weitere therapeutische Maßnahmen in Beobachtung. Davon erkrankten vier an einem Rezidiv innerhalb von drei Wochen bis vier Monaten (II, V, VI, VIII). Nr. III blieb sieben Wochen rezidivfrei und wurde auf Grund einer noch positiven Wassermannschen Reaktion mit Salvarsan und Quecksilber weiterbehandelt. VII wies 8 Wochen nach der Behandlung eine negative Serumreaktion auf und wurde, in Anbetracht mehrerer suspekter Erosionen am Präputium, ebenfalls weiterbehandelt. Eine intensive nachhaltige Wirkung der Kombination läßt sich also — wenigstens bei nur dreimaliger Anwendung — nicht erkennen. Eine nachhaltige Wirkung würde wohl dem Salvarsan allein in den entsprechenden Fällen ebenfalls gefehlt haben. Ob und wie weit es möglich erscheint, durch eine öftere Wiederholung der Behandlung Dauererfolge zu erzielen, entzieht sich vorläufig noch meiner Kenntnis, ebenso bleibt die Frage noch offen, was für Resultate erzielbar wären, wenn man zu den üblichen hohen Dosen von Salvarsan die beiden neuen Agentien addiert, speziell in jenen verzweifelten inveterierten Fällen, in denen man mit den bisherigen Methoden nicht zum Ziele kommt.

#### Zusammenfassung:

Eine Kombination von geringen, an sich vollkommen unwirksamen Dosen Salvarsan mit Äthylhydrocuprein und Natrium salicylicum ließ bei der Recurrensinfektion der Maus einen gewissen, wenn auch unregelmäßigen und nur vorübergehenden Effekt erkennen.

Primäraffekte der Kaninchensyphilis blieben bei einer Kombination mit einer eben nicht mehr wirksamen Dosis Salvarsan in der überwiegenden Anzahl der Fälle nach einer einmaligen intravenösen Behandlung fast unbeeinflusst; kurz nach der Injektion war teilweise eine vorübergehende Verminderung der Spirochäten zu beobachten.

Bei der menschlichen Syphilis konnte mit der kombinierten Behandlung bei subkutaner Medikation des Äthylhydrocupreins und

Erhöhung der Salvarsandosis von 0,15 auf 0,3 Neosalvarsan ein relativ rasches Schwinden der Spirochäten sowie der sekundären Erscheinungen beobachtet werden.

## Literatur.

1. Morgenroth und Tugendreich, Berliner klin. Wochenschr. 1913, S. 1207.
  2. Ehrlich u. a., Beitr. zur experiment. Pathol. u. Chemotherap., Leipzig 1909, S. 111.
  3. Tsuzuki, Zeitschr. f. Hygiene 1911, S. 364.
  4. Morgenroth und Halberstädter, Berliner klin. Wochenschr. 1911, Nr. 34; dort auch Zusammenstellung früherer Mitteilungen.
  5. Morgenroth und Rosenthal, Zeitschr. f. Hygiene 1912, S. 501.
  6. Lenzmann, Deutsche med. Wochenschr. 1908, S. 404; 1909, S. 2164.
  7. Wechselmann, Die Behandlung der Syphilis mit Dioxydiamidoarsenobenzol „Ehrlich-Hata 606“, Berlin 1911, S. 7.
  8. Napp, Deutsche med. Wochenschr. 1908, S. 919.
  9. Rosenthal, Zeitschr. f. Chemotherap., Referate 1912, H. 12.
  10. Fränkel, A., Berliner klin. Wochenschr. 1912, S. 664.
  11. Wright, Berliner klin. Wochenschr. 1912, S. 665.
  12. Parkinson, Zeitschr. f. Chemotherap., Orig. 1913, Bd. II, H. 1.
  13. Giemsa und Schaubmann, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 11. Beiheft.
  14. Mendel, Therapeut. Monatsh., April 1904.
  15. Brugsch, Therapie der Gegenwart 1905, S. 63.
-

# Beitrag zur Ätiologie und Pathogenese der Pellagra.

Von

Professor **G. Alessandrini** und **A. Scala**.

Die epidemiologischen Untersuchungen, die seit 1909 von einem von uns (Alessandrini) angestellt worden sind, haben zu den Schlußfolgerungen geführt, daß die Pellagra eine geographisch streng lokalisierte Krankheit ist. Ihr Auftreten ist an bestimmte Landstriche geknüpft, in denen man beständig Wasser trinkt, das auf Tonerde entspringt oder über Tonerde rinnt, oder dort Tümpel bildet.

Aus Analogie mit anderen Parasitenkrankheiten von Haustieren und einigen zufällig übereinstimmenden Tatsachen nahm man an, daß die spezifische Ursache der Pellagra ein Tierparasit, zur Gruppe der Filarien gehörig, sein könnte. Aber die ersten Versuche, die einer von uns (Alessandrini) bei Affen angestellt hat, bestätigten zwar, daß die Ursache der Krankheit das Wasser sein müßte, schlossen aber den parasitären Ursprung aus.

Der andere (Scala) kam auf den Gedanken, daß die Pellagra auf der Wirkung einer mineralen Substanz beruhe, die man unter gewissen Umständen in den Gewässern findet, die man in Pellagra-gebieten trinkt.

Wir folgten dieser neuen chemischen Richtung und fingen die verschiedensten Versuche an, deren Resultate wir heute hier berichten wollen. Die Einzelheiten mit Protokollen werden in einer besonderen Arbeit veröffentlicht.

## Ätiologie.

Die Pellagra ist, nach unseren Forschungen, die Wirkung einer chronischen Intoxikation, deren Ursache die Kolloidallösung des Siliciumdioxyd in Gewässern, die in bestimmter Weise zusammengesetzt sind, ist; man kann sie daher auch als eine durch Mineral-kolloide bedingte Erkrankung bezeichnen.

Der Ton ist die erste Ursache der Krankheit, da das Regenwasser sowohl in den oberflächlichen als in den tiefen Schichten durch die darauf gebildete Reaktion (Ton ist ein Aluminiumsilikat) eine Hydrolyse hervorruft, wodurch Kieselsäure und Aluminiumhydrat entsteht. Durch die Art, wie die Hydrolyse vor sich geht, können beide in Kolloidalgestalt ins Wasser übergehen. Es ist bekannt, daß zwischen Kolloidal-Siliciumdioxid und Aluminiumoxyd ein Zusammenhaug besteht und daß sie sich gegenseitig niederschlagen, so daß im Wasser nur der Überschuß Siliciumdioxid bleibt, der notwendig ist, um das Aluminiumoxyd niederzuschlagen. Die kolloidale Verbindung Siliciumdioxid—Aluminiumoxyd, die nicht mit Aluminiumsilikat zu verwechseln ist, bildet ein Depot und bleibt zum Teil suspendiert. Dies ist dann die Ursache der dauernden Trübung, die man so häufig bei von Pellagrakranken getrunkenem Wasser beobachtet.

Experimentelles: Die Substanzen, mit denen wir die ersten Experimente anstellten, waren: Wasser aus einigen Pellagragebieten, das in kleinen Mengen mit dem gewöhnlichen Futter der Tiere vermengt wurde, oder Kiesel in Kolloidallösung und der gelatinöse Kiesel — alle beide wurden entweder den Tieren intraperitoneal oder subkutan eingespritzt oder per os verabreicht. Die Versuchstiere waren Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde und Affen.

Wir haben immer gleichmäßige Resultate erhalten; der einzige Unterschied war die längere oder kürzere Zeitdauer. Ein genauer Zusammenhang besteht zwischen der Geschwindigkeit der Wirkung und dem Bestand des Kiesels im Wasser, zwischen intraperitonealem, subkutanem Wege und per os.

Auf jeden Fall können die erhaltenen Resultate, sei es was die Symptomatologie, sei es was den anatomisch-pathologischen und makro- und mikroskopischen Befund anbetrifft, folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Die Tiere haben anfänglich, mit Ausnahme einiger selten schwerer Fälle, in denen die Gewichtsabnahme und der Tod in aller kürzester Zeit eintreten, augenscheinlich von den verabreichten Substanzen keine Wirkung; sie fressen mehr als gewöhnlich, sie bleiben lebhaft und nehmen öfters an Körpergewicht zu. Aber sehr rasch verliert das Fell seinen Glanz, und die Haare fallen in symmetrischen Flecken aus. Das Ausfallen beginnt meistens an der Innenseite der Hüfte, dann an der Innenseite der Vorderbeine, dann an den Seiten, auf der Brust, an beiden Seiten des Halses und

erstreckt sich auf Nacken und Schwanz, das Auge wird trübe, der Appetit nimmt ab, hört sogar ganz auf; Darmbeschwerden treten auf, die bei Hunden und Affen augenscheinlicher sind als beim Meerschweinchen und Kaninchen.

Erstere haben Diarrhoe, manchmal auch leicht blutigen Stuhl, der mit Verstopfung abwechselt; bei den andern wechseln Perioden von normalem Stuhlgang mit Perioden von kleinem, hartem Stuhlgang ab, die mit weißem, dickem Schleim bedeckt sind, manchmal auch mit Blutstrichen.

Dann beginnen die nervösen Beschwerden, die verschiedenartig sind; manchmal kann man eine starke Übererregung wahrnehmen; besonders die Meerschweinchen, die meist so ruhig sind, regen sich um ein Nichts auf, fahren bei dem kleinsten Lärm zusammen und laufen wie wahnsinnig hin und her und stoßen sich, wenn sie auf Hindernisse treffen.

Auf diesen Aufregungszustand folgt ein Depressionsstadium, während dessen der Körper von einem allgemeinen Zittern befallen wird und das Tier wie betäubt hinfällt; erst nach Verlauf einiger Zeit wird es wieder normal, und es bleibt nur etwas Hyperästhesie zurück. Manchmal kommt eine wirkliche nervöse Depression vor, das Tierchen sitzt in sich versunken in dem dunkelsten Teil des Käfigs, unter der Krippe, läßt den Kopf hängen und ist für kein Anrufen und Anlocken empfänglich.

Bei den schwersten Fällen gibt es einen sehr deutlichen paraparetisch-spastischen Gang mit Neigung zur Retropulsion, völlige Lähmung des Hinterteils, die sich auch auf das Vorderteil erstrecken kann. Oft kann man eine Detrusorlähmung beobachten und manchmal auch des Sphincter vesicae, wodurch die Tiere den Urin nicht mehr halten und willkürlich ausfließen lassen können. Das Körpergewicht nimmt ab, die Magerkeit wird erschreckend und bildet einen scharfen Kontrast zu dem großen Umfang des stark geblähten und meteoristischen Leibes.

Das so reduzierte Tier kann an tonischen und klonischen Krämpfen sterben.

Es kommen aber auch Fälle vor, wo der Tod ohne vorher wahrzunehmende Beschwerden eintritt und das Tier ganz gesund zu sein scheint.

Die anatomisch-pathologischen Veränderungen können sich auf folgende beschränken:

Makroskopische Veränderungen der Cutis. An den

Stellen, wo die Haare ausgefallen waren, konnten wir ein mehr oder minder starkes Erythem wahrnehmen und ebenfalls eine starke Desquamation der Epidermis, die in Gestalt von weißglänzenden, mehr oder minder großen und feinen Lamellen auftraten. Die darunter befindliche Cutis war glatt, weißlich, leicht atrophisch und hängt weniger am subkutanen Gewebe, das atrophisch wird, so daß die Haut wie abgehoben aussieht und sich in Falten erhebt. Manchmal, an den Stellen, wo die Haut zarter ist, kommen entzündliche Prozesse und oberflächliche Wunden vor; letzteren gehen Bläschenbildungen voraus, die dann eine mehr oder weniger große Blase bilden (Affen). Auch Fälle, bei denen man telangiectatische Flecken beobachten kann, kommen vor.

Die kutanen Veränderungen kommen häufiger bei Tieren mit weißem Fell und an den Stellen vor, wo die Haut am dünnsten ist (Brust, Innenseite der Hüfte). Sie kommen meist bei den Hunden nicht vor, die in geschlossenen Zimmern oder Käfigen gehalten wurden, in die das spärliche Licht nur von oben drang.

Subkutanen Gewebe und Muskeln. Das Fettgewebe ist spärlich, die Muskeln blaß, ersteres schlaff, trocken, angeklebt. Die Trockenheit der Gewebe kommt auch in den Serosen vor, die meist trübe sind, ganz vereinzelt kommt peritoneale oder perikarditische Flüssigkeit vor.

Innere Organe. Das Herz ist schlaff und enthält gewöhnlich ungeronnenes, klares Blut.

Die Lungen sind normal.

Die Leber sieht manchmal normal aus, häufig ist sie hyperämisch und auch kongestioniert, zerfällt leicht, und dabei kommt reichlich Blut geflossen.

Die Milz ist manchmal hyperämisch, mit verdickter Kapsel und Pulpa, die leicht zerfällt; häufiger ist nichts Anormales an ihnen wahrzunehmen.

Die Nieren sind kongestioniert und sehen manchmal wie Nieren mit trüber Schwellung aus.

Die Nebennieren sind beinahe immer hyperämisch, häufig finden sich in der Kapsel Blutungen.

Die größten Veränderungen findet man im Verdauungsapparat. Die Zunge ist ganz trocken, die Speiseröhre normal, der Magen ist auch ohne Speisen wegen der darin enthaltenen Gase außergewöhnlich gespannt. Die Gase sind auch im Magen vorhanden, wenn man die Obduktion sofort nach dem Tode anstellt.

Die Wände sind meist dünner, und manchmal so, daß sie durchsichtig erscheinen und leicht bei der kleinsten Bewegung zerreißen. Die Schleimhäute sind manchmal nur hyperämisch, manchmal findet man mehr oder minder ausgebreitete Blutungen, sei es die vor langer Zeit, sei es die vor kurzer Zeit aufgetreten sein mußten. Sie nehmen nicht selten die ganze Dicke der Wand ein. Das Ostium pyloricum bildet nicht selten durch seine Verdickung einen Kontrast mit den dünnen Wänden des übrigen Magens.

Auch die Därme und der Dickdarm sind manchmal in ihrer ganzen Länge dünner und so durchsichtig, daß man in ihrem Innern die gelbliche Flüssigkeit, die sie enthalten, sieht. Manchmal sieht man mehr oder minder große Teile verdünnt, durchsichtig und ausgedehnt auf die normalen und auch zusammengezogenen folgen, so daß der ganze Darm wie kettenartig aussieht, was bei den Kontrolltieren nicht vorkommt.

Der Darminhalt ist breiig-schaumig, flüssig, von weißlicher oder gelblicher Farbe. Die Schleimhaut ist zum großen Teil abgeschilfert und man kann hyperämische, kongestionierte und blutige Flecken oder Stellen beobachten.

Manchmal kann man sowohl im Magen wie im Dünndarm wirkliche, verschieden große Geschwüre wahrnehmen mit verdicktem Rand.

Das Kolon ist oft ausgestreckt und voller Gase und weist hyperämische Stellen auf, die blutig punktiert sind.

Nervensystem. Das Nervensystem weist oft keine Veränderung auf, aber in einigen Fällen, besonders wenn die Krankheit lange Zeit gedauert hat, sieht man in der Hirnhaut und in der Hirnsubstanz Gefäßhyperämie oder Kongestionen; in letzterer kommen auch kleine blutunterlaufene Stellen vor.

Die Meningen des Rückenmarks und das Rückenmark selbst sehen hyperämisch und kongestioniert aus.

Das Mark der langen Knochen ist von rotbrauner Farbe.

Mikroskopische Veränderungen. Wir sind nicht weiter auf das mikroskopische Studium der Verletzungen eingegangen, da uns die nötige Fachkenntnis fehlt, wir haben das von uns gesammelte Material Sachverständigeren überlassen.

Auf jeden Fall können wir nach oberflächlicher Untersuchung sagen, daß man in der Haut an der Hornschicht bemerkenswerte Abschuppung wahrnehmen kann mit leukocytären Infiltrationen und zahlreichen Eosinophilen unterhalb des Rete Malpighi, daß man im

Magen mehr oder weniger ausgedehnte Hyperämien und Blutungen mit nekrotischen Stellen wahrnehmen kann, und daß man im Darm intensive Hyperämie der Gefäße und Abschuppung des Epithels, bemerkt, auch wenn das anatomische Stück einem eigens zu dem Zwecke geopferten Tiere angehört; auch hier sieht man wie im Magen mehr oder minder ausgedehnte nekrotische Teile und Blutungen.

Das ist die Symptomatologie, das die makro- und mikroskopischen Veränderungen, die man bei den Versuchstieren beobachtet, die, wenn sie einzeln genommen nichts Charakteristisches und Eigentümliches haben und auch bei anderen Intoxikationen wahrgenommen werden können, doch das klassische Bild der Pellagra wiedergeben, wie es von allen Autoren geschildert wird, wenn man, wie in unserem Falle, die drei charakteristischen Merkmale zusammenfaßt.

Man könnte uns erwidern: Kieselsäure findet man in jedem Trinkwasser in größerer oder geringer Quantität, trotzdem ist dies keine Pellagraursache, sonst müßte die ganze Welt an der Krankheit leiden.

Wir können darauf antworten, daß nicht alle Wasser Pellagra hervorrufen, obgleich sie Kieselsäure enthalten, wie nicht alle Wasser, die Sauerstoff enthalten, Blei auflösen, obgleich Sauerstoff die hauptsächlichste Ursache der Lösung dieses Metalls ist. In einem Falle befinden wir uns vor einer Kolloidalsubstanz, die sich schon im Wasser befindet: Kieselsäure, im anderen vor einer Kolloidalsubstanz, die erst ins Wasser übergeben muß: Bleihydroxyd. Beide können auf die eine oder die andere Art von neutralen Salzen oder einer Mischung von neutralen Salzen in Lösung im Wasser beeinflußt werden. Diese halten im zweiten Falle die Lösung des Bleies auf oder befördern sie dadurch, daß sie den Übergang ins Wasser der Kolloidalhydroxyde, die von der Lösung selbst herrühren, verhindern oder befördern; im ersteren Falle verhindern sie oder einfacher schwächen sie die schädliche Wirkung der Kieselsäure ab oder sie befördern sie. Die Salze, die eine ziemliche Wirkung ausüben (mit Ausnahme derjenigen, deren Wirkung wenig bekannt ist), sind die kohlen-sauren Alkalien im allgemeinen und kohlen-saurer Kalk im besonderen, die im Trinkwasser enthalten sind oder enthalten sein können, sei es allein, sei es mit anderen in verschiedenen Verhältnissen vereint.

Daher haben wir, nachdem wir bei Tieren über drei Wochen mit Kolloidalkiesel in destilliertem Wasser Versuche angestellt haben, Versuche über die Wirkung der Kieselsäure mit kohlen-saurem Natron

oder kohlsaurem Kalk in Kohlensäure gelöst oder mit Kochsalz oder Chlorkalk und mit gelatinösem Aluminiumoxyd ausgeführt. Diese Substanzen sind mit der Kiesellösung gemischt, wenn sie nicht koagulierten, einzeln eingepfht worden, aber gleichzeitig, wenn sie koagulierten.

Bei der zweiten Versuchsserie haben wir die hier zusammengefaßten Resultate erzielt:

Chlorkalk und gelatinöses Aluminiumoxyd scheinen auch in ganz geringen Dosen die Wirkung der Kieselsäure zu erhöhen, besonders bei Meerschweinchen und Kaninchen, dadurch, daß die Symptome der Krankheit rascher erschienen, und dadurch, daß sie den Lauf der Krankheit verkürzten; Kochsalz scheint die Wirkung zu verlangsamen; kohlsaures Natron und kohlsaure Kalk neutralisieren hingegen die schädliche Wirkung der Kieselsäure vollständig. Versuchstiere, denen Siliciumdioxyd und kohlsaure Lösungen eingepfht wurden, hatten nicht nur keine Krankheitserscheinungen oder Beschwerden, sondern wenn sie nach vielen Einspritzungen getötet wurden, hatten sie bei der Obduktion keine der oben beschriebenen charakteristischen Veränderungen.

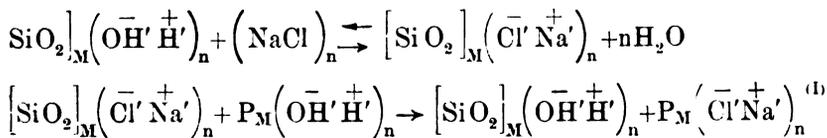
### Pathogenese.

Die kolloidale SiliciumdioxydLösung, die einem Hunde, der nur mit gewöhnlichem Brot und Acqua Macia ernährt wurde, und dessen Urine alle 48 Stunden untersucht wurde, subkutan eingespritzt worden ist, war die Ursache einer wirklichen Zurückhaltung des Kochsalzes. Tatsächlich sank nach 5 Einspritzungen von 1 ccm, die 0,007114 g  $\text{SiO}_2$  enthielten, das Salz in dem Urin von einem mittleren Prozentsatz von 4,79 auf 1,348 und nach weiteren 4 Einspritzungen auf 0,638 und in der Menge der 48 Stunden von 0,798 sank sie einmal auf 0,167 und dann auf 0,051. Gleichzeitig stiegen die Gesamtsubstanzen in Lösung von einem mittleren Prozentsatz von 39,66 nach 5 Einspritzungen auf 96,98 und nach weiteren 4 auf 144,90 und in der ganzen Urinmenge der 48 Stunden von 6,852 auf 12,025 und 11,592. Diese Zahlen, die wir aus den nicht wenigen Analysen herausgreifen, beweisen nicht nur, daß Zurückhaltung des Kochsalzes unter der Wirkung der kolloidalen Kieselsäure eintritt, sondern auch, daß der Organismus sich durch diese Zurückhaltung nicht wenig verzehrt und sich in einer wirklich außergewöhnlichen Tätigkeit befindet.

Ob eine oder die andere der erwähnten Tatsachen direkt von

der Kieselsäure herrühren oder die eine von der anderen, können wir nicht mit Gewißheit behaupten, aber von den bekannten Tatsachen ausgehend können wir uns der Wirklichkeit nähern, wenn es uns nicht gelingt, sie genau festzustellen.

Wir glauben, daß die Zurückhaltung des Chlors und besonders des Kochsalzes die erste Wirkung der kolloidalen Kieselsäure auf die Proteinsubstanzen des Gewebes ist. In dem Falle würde der Kiesel wie eine diastatische Substanz wirken, die sich durch kolloidale Reaktion mit Kochsalz verbindet und sie auf die Proteinsubstanzen fixiert, dadurch, daß sie ein oder mehr Wassermoleküle in kolloidaler Verbindung mit ihnen ersetzt.



Daß sich tatsächlich das kolloidale Siliciumdioxid mit einer gewissen Affinität mit Kochsalz verbindet, beweist die Tatsache, daß es koaguliert, sobald Kochsalz in Lösung eine bestimmte Konzentration erreicht, oder wenn die Mischung durch Verbindung mit Kochsalz eine bestimmte Menge erreicht und verschiedene kolloidale Eigenheiten erwirbt. Solange also in den Geweben Kieselkolloid vorhanden ist und Kochsalz dazu kommt, wird die Beständigkeit und die gleiche Nachfolge der Reaktion erhalten bleiben. Die Fixierung des Kochsalzes muß eine Grenze haben, die nicht zu überschreiten ist, daher die Ausscheidung, die periodisch und wirklich durch den Urin erfolgt; dies ist bei den Pellagrakranken bekannt, und wir konnten es bei einer Hündin nachweisen, der wir gleichzeitig eine Kieselkolloidallösung und eine 0,5%ige Kochsalzlösung einspritzten. Bei der Hündin hatten wir anfänglich eine Periodizität bei Ausscheidung des Kochsalzes, die wirklich wunderbar war; nachträglich veränderte sie sich und hörte dann ganz auf. Die ausgeschiedene Kochsalzquantität stieg dann wieder bis zum Normalen, um so zu bleiben oder über normal zu steigen, wie dies bei Pellagrakranken der Fall ist. Das letztere Stadium hat man nur flüchtig beobachten können, da es nicht möglich war, Versuchstiere mit chronischer Krankheit länger als 47 Tage einzusperren. Die Hündin wurde getötet, und bei der Obduktion wurden die Veränderungen gefunden, die wir schon oben beschrieben haben.

Durch diese Tatsache, daß die Kieselsäure beim Eindringen in den Organismus eine Fixierung des Kochsalzes an die verschiedenen Gewebe bedingt, wird noch keineswegs der Grund erklärt, warum Kochsalz selbst, das doch das allbekannte wohltuende Salz ist, Störungen und die beschriebenen Veränderungen hervorrufen kann; d. h. wenn man sich die primäre Wirkung der Kieselsäure erklären kann, kann man sich die sekundäre Wirkung nicht erklären.

Trotzdem glauben wir auch dafür einen Beweis gefunden zu haben, dadurch, daß wir auf die Experimente zurückgreifen, die einer von uns (Scala) mit Margherita Tranke Mengarini angestellt hat. Wir wollen sie hier kurz anführen, um das, was wir später ausführen wollen, besser erklären zu können.

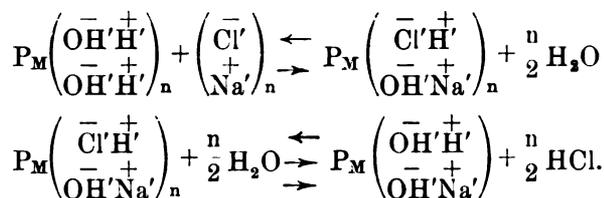
Seit 1906 konnte festgestellt werden, daß die roten Blutkörper des Blutes und die Opaline (einzellige Lebewesen ohne Mund), die in der Kloake des Frosches leben, eingreifende Veränderungen aufweisen und rasch in der isotonischen Kochsalzlösung mit destilliertem Wasser starben, und daß sie sich nicht veränderten und am Leben blieben, wenn man die isotonischen Kochsalzlösungen nicht mit destilliertem Wasser, sondern mit dem gewöhnlichen römischen Trinkwasser herstellte. Dies erweckte den Verdacht, daß Kochsalz allein, wenn es in die roten Blutkörper und die Körper der Opaline eindrang, solche chemischen Verhältnisse hervorrief, daß das Leben vernichtet wurde. Es war nicht leicht in das Geheimnis der Reaktion zwischen Kochsalz und der protoplasmatischen Zellsubstanz zu dringen, da man gewohnt ist, neutrale Salze als etwas ganz Gewöhnliches in unserem Organismus zu betrachten, die nur dazu wären, aufgenommen und wieder durch die Urine und andere Sekrete ausgeschieden zu werden.

Man achtete nicht auf die zahllosen Reaktionen, an denen es im Organismus bei der Einführung sowohl wie bei der Ausscheidung teilnimmt.

Man konnte sich die schädliche Wirkung des Kochsalzes auf das lebende Protoplasma nun dadurch erklären, daß man an die Kolloidalreaktion dachte, die zwischen Kochsalz und der protoplasmatischen Substanz stattfinden mußte. Durch Hydrolyse mußte Salzsäure oder die schädliche Substanz frei werden, die durch Neutralisierung mit den alkalischen Substanzen, die im Trinkwasser enthalten sind, entfernt werden konnten, oder mit alkalischen Kohlensäuren, die dem Kochsalz hinzugefügt werden können.

Die Bildung von Mineralen und Säuren konnte nicht nur direkt

bei den Opalinen mit mikrochemischer Reaktion bewiesen werden, sondern es konnte auch aus der Reaktionsformel, die wir hier wiedergeben, entnommen werden, daß der Kolloidalzustand der Materie aus der Verbindung der Materie selbst im Mischzustand mit ionisiertem Wasser entsteht.



Die Verbindung von Kochsalz mit den kolloidalen Mischungen wäre also nichts weiter als eine Fortdauer des kolloidalen Zustandes, in dem ein mehr oder minder großer Teil der Ionen des Wassers von den Ionen des Salzes ersetzt wird, wodurch eine wirkliche Wasserentziehung des Kolloids entsteht.

Alle Versuchstiere — dies sei hier gleich erwähnt, damit uns diese interessante Tatsache nicht entgeht — haben bei der Obduktion die charakteristischen und bekannten Zeichen der Pellagra-kranken: die Trockenheit des Fleisches.

In dieser kolloidalen Verbindung verhält sich die Gruppe Cl H bei der Hydrolyse anders als die Gruppe OH Na; die erste hydrolysiert sich mit größerer Geschwindigkeit als die zweite, wie einer von uns (Scala) dies bei der Verbindung Kupfer—Aluminiumoxyd—Sulfat hat nachweisen können, da die Neigung dieses Typus, von den salzsaurer Natriumproteiden zu den neutralen Natriumproteiden und der sauren Kupferproteide zu neutralen Kupferproteiden überzugehen, augenscheinlich war.

Mit diesen Vorkenntnissen und mit dem Tatbestand der Wirkung der Kieselsäure auf die Tiere und besonders der Fixierung des Kochsalzes auf die Gewebe glauben wir die Behauptung aufstellen zu können, daß die schädliche Wirkung der kolloidalen Kieselsäure nur sekundär sei und in Verbindung mit der Menge der Salzsäure, die durch Hydrolyse frei wird. Die Salzsäure ruft in Beziehung mit den Geweben und den Proteinsubstanzen der Gewebe eine Reaktion hervor, die wir als Verteidigung bezeichnen können, in der sich die Proteinsubstanzen spalten, um Ammoniak zu bilden, das die Säure neutralisiert. Daher die große Quantität der ausgeschiedenen Substanzen im Urin im Gegensatz zum Chlor und die größere Anzahl von Ammoniaksalzen. Diese sind von uns nur gesehen und nicht

näher bestimmt worden, um nicht die Ungenauigkeit zu begehen, bei dem ausgeschiedenen Ammoniak den der Gärung mit einzuschließen. Wir haben ihn deshalb gesehen, weil der Unterschied zwischen den Metallionen, die im Urin festgestellt worden sind, und der Asche größer in Beziehung mit der größeren Quantität der Extrakte sind.

Die Experimente Moreschis haben uns bei den Schwierigkeiten, mit Tieren derartige Versuche anzustellen, sehr geholfen. Moreschi hat bewiesen, daß ein Teil des zu fällenden Stickstoffes mit Phosphorwolframsäure leicht frei wird, und dies bei Pellagrakranken stärker als bei Gesunden ist, oder daß bei jenen eine größere Quantität Stickstoff in Gestalt von Ammoniak und Lactaminsäure vorhanden ist als bei diesen. Moreschi hat das Ammonium mit einer sauren Intoxikation in Verbindung gebracht, die er nicht hat entdecken können, aber einfach und richtig vermutet, und die wir heute beweisen können.

Das Pellagra stammt also von einer Mineralacidosis, die größer sein muß als diejenige, die im gesunden Organismus vorhanden sein muß, und die wir für die Reaktion von Kochsalz und Proteinsubstanzen als notwendig und wohltuend bezeichnen können. Die Acidosis muß größer sein, da die kolloidale Kieselsäure Kochsalz mehr als nötig auf die proteischen Substanzen der verschiedenen Gewebe fixiert, daher wird mehr Salzsäure frei und die saure Intoxikation entsteht. Dadurch erklären wir die übertriebene Ausscheidung des Kochsalzes bei Pellagrakranken, die als abnorme Ausscheidung der Mineralstoffe betrachtet wurde und die weiter nichts ist als die Ausscheidung jenes Kochsalzes, das übertrieben angehäuft worden ist und das sich fortwährend weiter anhäufen muß. Der Gleichgewichtspunkt (der auch bei der Reaktion im Gleichgewicht nicht fehlen kann) wird nach oben verlegt und wird für die Pellagrakranken normal, da die Ursachen, die das Gleichgewicht erhalten, immer weiter dauern.

Es war uns wegen eines nicht vorhandenen Platinapparates nicht möglich zu beweisen, ob das Siliciumdioxid in den Geweben bleibt und mit den Proteinsubstanzen eine nicht reversible kolloidale Verbindung eingeht, oder ob es ausgeschieden wird, nachdem es seine Wirkung ausgeübt hat, und mit anderen ersetzt wird, die mit neuem Trinkwasser zugeführt werden. Dieser Beweis wäre von größtem Interesse gewesen; denn im Falle die Kieselsäure rasch ausgeschieden wird, man demnach ernsthaft an eine fortwährende Ablenkung

der Eigenschaften der Proteinsubstanzen denken müßte, um die übertriebene Ausscheidung des Kochsalzes bei Pellagrakranken zu erklären. Man müßte annehmen, daß die Eigenschaft von der Kieselsäure hervorgerufen würde und die vorhanden bliebe, solange eine neue Ursache sie nicht wieder zum Normalen zurückkehren läßt.

Es ist nicht sicher, daß man die Ursache findet und daß der Pellagrakranke geheilt wird. Fest steht jedenfalls, daß die Hyperchlorurie der Pellagrakranken gebessert wird, wenn sie in andere Umgebung kommen und andere Nahrung zu sich nehmen; sie kommt beinahe auf den physiologischen Wert selbst bei alten Pellagrakranken zurück, wenn auch die Symptome der Krankheit, an der sie leiden, fort dauern. Auf jeden Fall muß man die frischen Fälle von den seit langem an Pellagra leidenden unterscheiden; die ersteren haben die Möglichkeit, mit einer einfachen hygienischen Behandlung geheilt zu werden, bei letzteren fällt dies fort, in dem Organismus sind die Veränderungen schon so schwerer Natur, daß sie sich nicht mehr ändern lassen, was auch bei anderen Krankheiten, wie Syphilis, eintritt.

Hier muß man unwillkürlich die Frage aufwerfen, ob die Salzverabreichung bei Pellagrakranken mehr Schaden als Vorteil anrichtet. Die Versuche bei der Hündin, über die wir schon berichtet haben, haben bewiesen, daß die Krankheit nicht beschleunigt wird und daß ein periodischer Verlauf der Zurückhaltung und der Ausscheidung bis zum pathologischen Gleichgewicht eintritt. Dahin gelangt man aber erst nach ziemlich langer und verschiedener Zeit, je nach dem Individuum und folglich nach den größeren und kleineren Verteidigungsmitteln, über die der intoxizierte Organismus verfügt.

Endlich ist die sogen. Periodizität des Pellagra nichts weiter als die Periodizität der Erscheinung; die Krankheit dauert ruhig weiter, was man sich gut erklären kann, wenn man die Ursache der Krankheit kennt.

Tatsächlich wirken die Mineralsäuren irritierender auf die der Luft und häufig den direkten Sonnenstrahlen ausgesetzten Körperteile, je höher die Temperatur der Umgebung und der Sonnenstrahlen und je größer die Konzentration der Säuren im Organismus ist. Deshalb kommen die Erytheme hauptsächlich zu Frühjahrsanfang bei den Pellagrakranken vor, in deren Geweben die Säurekonzentration am stärksten, und später bei Temperaturzunahme bei den Pellagrakranken, in deren Geweben die Säurekonzentration ge-

ringer ist. Man kann aber auch nicht ausschließen, daß die Erscheinungen unregelmäßig auftreten, denn den Temperaturmangel kann die größere Krankheitsentwicklung ersetzen, und daher die größere saure Konzentration.

### Behandlung.

Da die Pathogenese bekannt, hängt die Behandlung, wenn man von Behandlung sprechen kann, von ihr ab: eine Säure muß mit Alkalien behandelt werden, und die Behandlungsweise haben wir bei einem von uns zum Erkranken gebrachten und sehr abgemagerten Hunde angestellt dadurch, daß wir ihm eine 5%ige Trinatriumcitratlösung einspritzten. Das Tier lebte beinahe sofort wieder auf und der Urin wurde nach 16 Tagen wieder normal.

Dieselbe Behandlung haben wir bei 9 Pellagrakranken in der Gemeinde Gualdo Tadino angewandt. Die Kranken waren unter denjenigen ausgesucht worden, die in den vergangenen Jahren die schwersten Erscheinungen gehabt hatten. Die Behandlung wurde dermaßen angestellt, daß ein Irrtum ausgeschlossen war, dadurch, daß, wenn ein Vorteil erzielt werden sollte, er auf keine andere Ursache geschoben werden konnte. Die Pellagrakranken wurden nicht von ihren Behausungen entfernt, ihre Nahrung wurde nicht geändert, die Arbeit nicht vermindert. Täglich wurde ihnen 1 ccm einer 5%igen Trinatriumcitratlösung eingespritzt, später einer 10%igen Lösung.

Das Resultat war tatsächlich befriedigend: Abnahme und Verschwinden der Verdauungsbeschwerden traten ein (Sodbrennen, Aufstoßen, Druckgefühl nach Mahlzeiten), der Appetit nahm zu, der Schwindel und das Mißtrauen gegen sich selbst hörten auf, die Kräfte nahmen bedeutend zu.

Diesen subjektiven Symptomen könnte man nur einen relativen Wert zuschreiben, wenn die Besserung nicht auch am Aussehen zu beobachten und von den Gewichtszunahmen bestätigt wäre. Alle hatten merkwürdig viel zugenommen, nur einer nicht: die Dynamometriezunahme und vor allen Dingen die Tatsache, daß die kutanen Erscheinungen, die bei all denjenigen, die nicht behandelt wurden, bereits eingetreten sind, bei ihm noch nicht aufgetreten sind und auch nicht die geringsten Anzeichen für dieselben zu erkennen waren.

Bei einem von uns behandelten Pellagrakranken haben wir im Urin das Verhältnis von  $\frac{U}{\text{Rückstand}} \cdot 100$  verfolgt und haben gesehen,

daß anfänglich, als der Pellagrakranke noch nicht behandelt worden und keine Änderung in seiner Lebensführung eingetreten war, das Verhältnis 27·18 war; als er ins Krankenhaus gebracht wurde, um genauere Beobachtungen anzustellen, sank das Verhältnis auf 26·22, als er wieder nach Hause zurückgekehrt war und seine Beschäftigung wieder aufgenommen hatte, stieg das Verhältnis auf 21·65. Später, als er von uns behandelt wurde und ruhig in seiner Wohnung blieb und seiner Arbeit nachging, sank das Verhältnis auf 18·58. Das beweist, daß das ausgeschiedene Chlor abnimmt, wenn man indirekt die Menge des in 24 Stunden ausgeschiedenen Urins mit der Gesamtzahl der in Lösung befindlichen Substanzen berechnet, da man die Menge nicht direkt erhalten konnte.

### Prophylaxis.

Wir haben nunmehr noch von der Pellagraprophylaxis zu reden, vorausgesetzt, daß die Ursache der Pellagra Siliciumdioxid ist. Die Prophylaxis ergibt sich nach unseren Untersuchungen von selbst. Wenn Kieselkolloid durch die kohlen-sauren Alkalien und besonders durch kohlen-sauren Kalk unwirksam gemacht wird, würden die pellagrogenen Wasser unschädlich werden, wenn man immerwährend einen Überfluß von kohlen-saurem Kalk als Kalkstein hineintut, damit es davon gesättigt wird. Das Mittel ist wirksam, sei es, daß in dem Wasser alkalische oder alkalischerdige kohlen-saure Salze fehlen, sei es, daß die Mengen davon so klein und ungenügend sind, um die schädliche Wirkung der Kieselsäure zu neutralisieren, sei es, daß in dem Wasser Elektrolyten oder Mischungen von Elektrolyten enthalten sind, die die schädliche Wirkung des Kiesels erhöhen. In allen drei Fällen fügen wir entweder das Gegengift, das fehlt oder ungenügend ist, hinzu oder wir brechen mit dem neu hinzugekommenen die schädliche Harmonie zwischen Kieselsäure und Elektrolyten, so daß diese ihre Eigenart verlieren. Die Natur und die Kenntnis der Kolloide lehrt uns, daß das Mittel unfehlbar ist, sei es, weil die kohlen-sauren Kalk enthaltenden Wasser immer unschädlich sind, sei es, weil häufig kleine Mengen Elektrolyte oder Mischungen von Elektrolyten die Kolloide im allgemeinen merklich verändern.

Einer von uns (Alessandrini) hatte schon vorgeschlagen, Kalkstein dem in Pellagragegenden gewonnenen Wasser hinzuzufügen, um das Hervorkommen des schlammigen Grundes zu verhindern, analog dem, was in anderen meliorierten Pellagragegenden getan

worden war, ohne wirklich zu wissen, daß auf die Art eine ebenso rationelle wie wissenschaftliche Prophylaxis zustande gebracht war.

Wir hätten gern unsere Studien mit der Wasseranalyse der pellagrogenen Orte vervollkommen wollen, um einen noch sichereren und überzeugenderen Beweis und den Typus eines pellagrogenen Wassers zu liefern. Wir hatten aber keine Zeit dazu, da allein für den Teil der Arbeit eine lange und genaue Untersuchung nötig ist, den wir in nicht allzu ferner Zeit vorzunehmen gedenken.

Unterdessen wünschten wir, daß das so einfache und so billige Meliorationswerk, das wir anempfehlen, sofort angewendet würde, sei es, um zu verhindern, daß neue Individuen erkranken, sei es, um die Lage derjenigen, die schon daran leiden, zu verbessern.

Zum Schluß sprechen wir dem Direktor des Instituts, der uns veranlaßte die Pellagrafrage näher zu erforschen, unsern Dank aus. Die Resultate unserer Studien sind derartig, daß sie auch, von der Pellagra abgesehen, eine neue Eroberung auf dem Gebiete der Hygiene des Trinkwassers bezeichnen, das von jetzt ab genauer analysiert werden muß; sie bezeichnen auch einen Erfolg auf dem Gebiete der Ätiologie und Therapie gewisser Krankheiten, deren Herkunft noch dunkel ist, wie die Herkunft des Pellagra noch dunkel war.

# Kupferbehandlung der Tuberkulose und Chemotherapie.

Von

Dr. **Artur Strauß**, Barmen.

Nachdem der Begründer der Chemotherapie, Ehrlich, bei der experimentellen Erprobung der Arsenderivate gegen die Spirillosen als das vorläufig wichtigste Endglied in der Kette seiner grundlegenden Arbeiten das Salvarsan als ein bedeutsames neues Heilmittel gegen die Syphilis entdeckt hatte, setzte das natürliche Bestreben ein, auf diesem Wege auch gegen andere Infektionskrankheiten neue Heilmittel zu finden.

Es war der anfangs in Gemeinschaft mit Finkler arbeitenden Gräfin Linden vorbehalten, die ersten experimentellen Grundlagen für eine Chemotherapie der Tuberkulose zu schaffen und für das Kupfer den Beweis zu erbringen, daß es auf dem Wege der Blutbahn von dem Protoplasma der Tuberkelbazillen verankert wird und sie abzutöten oder in ihrer Vermehrungsfähigkeit zu hindern vermag, ohne eine tiefere Schädigung des Organismus der Versuchstiere herbeizuführen, also stärker bakteriotrop als organotrop zu wirken. Damit war die Grundlage zu einer systematischen Erprobung des Kupfers auch bei der Tuberkulose des Menschen gelegt. Mit dieser Aufgabe betraute noch Finkler selbst Professor Meissen, der die ersten Versuche bei der Lungentuberkulose anstellte, während er mich aufforderte, ihre Wirkung bei der äußeren Tuberkulose festzustellen.

Ohne hier im einzelnen auf die bisher gewonnenen Resultate einzugehen, die in unseren Arbeiten niedergelegt sind, scheint es mir am Platze zu sein, einmal die Frage aufzuwerfen, in welchem Maße bisher von einer Chemotherapie der Tuberkulose mit Kupferpräparaten beim Menschen gesprochen werden kann und in welchem

Umfange sie bis jetzt für die Bekämpfung der menschlichen Tuberkulose nutzbar gemacht werden konnte, und endlich, welche ferneren Aussichten die Kupfertherapie als Heilmethode gegen die Tuberkulose eröffnet.

Die Kupfertherapie der Tuberkulose steht, obwohl sie schon früher hier und da, u. a. von Luton, erfolgreich geübt wurde, noch in ihren ersten Anfängen, aber sie zeitigte bereits bemerkenswerte Ergebnisse. Ergebnisse aber stellen neue Fragen, und es dient der weiteren Entwicklung einer erfolgversprechenden Heilmethode, wenn man diese Fragen zu beantworten sucht und damit neue Ziele für die Lösung eines Problems steckt, das die Vernichtung der verheerendsten Volksseuche erschnt.

Bei keinem Leiden ist die klare Beurteilung von Heilmitteln schwieriger als bei der Lungentuberkulose. Wenn man z. B. die lange Tuberkulinära mit ihren ungefähr 60 verschiedenen Präparaten überschaute, so muß man feststellen, daß den begeisterten Lobrednern jedes einzelnen Präparates ebenso viele Skeptiker gegenüberstanden und auch noch gegenüberstehen, und daß sich endlich, nach 23-jähriger ausgiebigster Verwendung der Tuberkulinpräparate die Anschauung Bahn gebrochen hat, daß die anfangs geübte, zu starken Reaktionen führende Methodik prinzipiell falsch war, daß eine schwache Dosierung mit schwachen Reaktionen vorzuziehen ist. Und was ist schließlich von den überschwänglichen Hoffnungen, die man auf die Tuberkuline setzte, übriggeblieben? Daß sie eine sichere Heilung der Tuberkulose nicht herbeiführen, sondern nur die Naturheilung bei milder Anwendungsart zu unterstützen vermögen. Die individuellen und allgemeinen hygienischen Bedingungen, unter denen sich die Kranken befinden, sind bei der Beurteilung neuer Heilmittel von so großer Wichtigkeit, daß selbst bei Autoren, die ebensowenig von blindem Optimismus wie prinzipiellem Skeptizismus angekränkt sind, Täuschungen über ihren wahren Wert nicht sicher vermieden werden können.

Ebenso schwierig, wie bei den Tuberkulinen, ist die Beurteilung jedes chemischen Heilmittels, das gegen die Lungentuberkulose geprüft werden soll. Wenn trotzdem ein so vorsichtiger Beurteiler wie Meissen auf Grund seiner Versuche mit Kupferpräparaten zu dem Resultate gelangte, daß „der durchschnittliche Heilerfolg sehr befriedigend war, nach seinen Eindrücken wesentlich günstiger, als in ähnlichen Fällen, bei denen nur die übliche Anstaltskur gebraucht wurde, und daß, wenn auch ganz schwere progressive Fälle

versagten, mittelschwere Fälle doch einen überraschend günstigen Verlauf nahmen“, ein Ergebnis, dem im großen und ganzen auch diejenigen der zahlreichen nachprüfenden Herren entsprachen<sup>1)</sup>, so scheint es mir sicher zu stehen, daß das Kupfer einen günstigen Einfluß auf die Lungentuberkulose auszuüben vermag. Aber dieser Einfluß ist ein keineswegs sicherer und gleichmäßiger, und es wird, **um ihn genügend zu erforschen und auszugestalten**, noch vieler Untersuchungen und Prüfungen bedürfen.

Schon heute liegen einige der Gründe, warum das Kupfer in seinen bisher gebrauchten Präparaten chemotherapeutisch von der Blutbahn aus nur ungenügend und ungleichmäßig die innere Tuberkulose beeinflußt, ziemlich klar zutage. Sie sind innerer und äußerer Natur. Zu berücksichtigen ist zunächst die Ablenkung, die das Kupfer in den Zellen des Organismus erfährt, ehe es zu den kranken Geweben gelangt. Sodann seine eiweißfällende Eigenschaft, die bei subkutanen und intramuskulären Injektionen zu schmerzhaften Infiltraten und Nekrosen zu führen vermag. Diese Momente fallen um so mehr ins Gewicht, wenn wir bedenken, daß bei der experimentellen Erprobung der Kupferpräparate die injizierten Mengen 150—200 mal mehr Kupfer enthielten, als die Mengen, die bisher dem Menschen einverleibt wurden. Unter diesen Umständen versteht man auch, warum auch intravenöse Injektionen, die, obwohl sie bei richtiger Technik keine schmerzhaften Infiltrate und Nekrosen verursachen, bisher trotz der relativen Ungiftigkeit des Kupfers nicht genügen konnten. Jedenfalls aber scheint das Verhältnis zwischen Organotropie und Bakteriotropie beim Kupfer ein so günstiges zu sein, daß die Lösung der Frage im wesentlichen von der Auffindung einer Kupferverbindung abhängt, die das Metall in genügenden Mengen an die Herde heranzubringen vermag und mit starken verankerungsfähigen Gruppen versehen ist<sup>2)</sup>. Das Kupfer in seiner bisherigen Form befindet sich hier vielleicht in einem ähnlichen Verhältnis, wie seinerzeit die Vorgänger des Salvarsans zu diesem Präparat. Die Affinitätsgruppen der Tuberkelbazillen werden nicht vollständig besetzt. Die Tuberkelbazillen können daher ihre zerstörende Wirkung auf das Gewebe noch in gewissem Maße ausüben. Sie sterben nicht ab. Bei weiterer Einwirkung des Kupfers

---

<sup>1)</sup> Es liegen uns bisher etwa 60 Mitteilungen vor.

<sup>2)</sup> Ich verwende jetzt **konzentriertere intravenöse Injektionen mit einem Lecutylpräparat von kolloider Eigenschaft**. Material zur Nachprüfung steht zur Verfügung.

können nun die Tuberkelbazillen eine Verringerung ihrer Avidität erleiden. Sie können sich sogar allmählich an das Metall gewöhnen und ohne die von seinen Rezeptoren besetzten Protoplasmagruppen weiterleben, mit anderen Worten: Sie werden kupferfest. Oder aber: eine Kupferfestigkeit tritt nicht ein, und bei länger dauernder Einwirkung erfolgt schließlich doch der Tod der Tuberkelbazillen. Alle diese Fragen bedürfen noch weiterer Klärung.

Es ist nun fernerhin eine längst durch die Erfahrungen, namentlich mit den Tuberkulinen, festgestellte Tatsache, daß von der Blutbahn aus kein tuberkulöser Prozeß so schwierig zu beeinflussen und gar zu heilen ist, wie die Hauttuberkulose. Bisher ist noch kein Fall von Lupus festgestellt worden, der durch irgendeines der vielen Tuberkuline absolut geheilt worden wäre. Die Tuberkuline können in den kranken Herden nur Reaktionen auslösen, die zu gewissen Heilwirkungen führen.

Auch bei der Chemotherapie der äußeren Tuberkulose mit Kupferpräparaten beobachten wir, daß ihre Einführung in die Blutbahn an einer von dem Krankheitsherde entfernten Stelle weit langsamer zu Erfolgen führt, als wenn die die Krankheitsherde umspülenden Säfte, das Gefäßnetz der erkrankten Hautstelle, mit der wirksamen Substanz direkt gesättigt werden, wie es bei der örtlichen Behandlung geschieht. Hier gelangt das Kupfer in einer konzentrierten und weniger abgebauten Form an die kranken Herde. Mit seiner elektiven örtlichen Ätzwirkung, die sich vermöge seiner starken Affinität zu den Tuberkelbazillen zu einer spezifischen steigert, ersetzt es den Ausfall an chemotherapeutischer Kraft vom Blute her auf die äußeren Prozesse.

Die anatomischen Verhältnisse spielen bei der verschiedenen chemotherapeutischen Beeinflussung der einzelnen Formen der äußeren Tuberkulose, insbesondere der Hauttuberkulose, vom Blute aus eine gewisse Rolle. Die diffuse Form des Lupus steht noch durch ein verhältnismäßig reiches Gefäßnetz mit der Zirkulation in Verbindung. Bei ihr ist der Prozeß akuter als bei der umschriebenen, von der Umgebung isolierten Form mit ihren gefäßlosen elementaren Knötchen, in deren Zentrum die spärlichen Tuberkelbazillen, abgeschlossen von der Blutbahn, ruhen. So erklärt es sich, warum bei der diffusen Form nach Injektionen zuweilen leichte Reaktionen zu beobachten sind, während sie bei der umschriebenen fehlen oder wenigstens unter der Schwelle klinischer Wahrnehmung bleiben, und warum ein Metall wie das Kupfer, das die Tuberkelbazillen direkt abtötet,

die Lupusinfiltrate von der Blutbahn aus so schwach und so langsam beeinflußt.

Diese und andere Erwägungen veranlaßten mich, den besonderen anatomischen Verhältnissen Rechnung zu tragen und die unmittelbare Affinität des Kupfers zu den Tuberkelbazillen bei der äußeren Tuberkulose nach Kräften auszunutzen, nachdem ich mich von dem spezifischen Wert dieses Metalles für die menschliche Tuberkulose überzeugt hatte, also die örtliche Kupferchemotherapie zunächst in den Vordergrund zu stellen.

Meine Erfahrungen haben meinen Erwartungen entsprochen. In zweieinhalbjährigen Versuchen (an etwa 150 Fällen) habe ich immer wieder feststellen können, daß das Kupfer den tuberkulösen Prozeß in typischer Weise beeinflußt, und zwar um so sicherer, je unmittelbarer und nachhaltiger das Metall an die kranken Herde gebracht werden kann. Es ruft dann eine starke örtliche Reaktion hervor, welche unter Vernichtung der Bazillen von den freigewordenen Endotoxinen ausgelöst wird. Dieser Effekt des Kupfers äußert sich keineswegs in einer nur elektiven Ätzwirkung auf das kranke Gewebe. Er ist auch ein spezifischer, der nur die Tuberkelbazillen und das tuberkulöse Gewebe trifft, wie es den experimentellen Versuchen entspricht.

Er zeigt sich auch dadurch, daß das Kupfer durch die unversehrte Haut hindurch den tuberkulösen Prozeß zum Stillstand und z. B. geschlossene Skrofulodermata zur Resorption und damit zur Ausheilung bringt. Hier entfällt die zerstörende Ätzwirkung, hier tritt besonders deutlich der spezifische Unterschied dieses Mittels gegen andere sogenannte elektive hervor, z. B. die Pyrogallussäure, die die tiefen tuberkulösen Hautherde erst dann zu beeinflussen vermag, wenn das darüber liegende gesunde Gewebe zerstört ist und die auch das gesunde angreift. Die ätiotrope, d. h. die tuberkelbazillenabtötende und zur Resorption des Gewebes führende Wirkung offenbart sich auch bei der Allgemeinbehandlung von der Blutbahn aus durch den heilenden Effekt auf äußere Prozesse, z. B. bei chirurgischer Tuberkulose, bei Schleimhauttuberkulose und, wenn auch in viel geringerem Maße, bei Lupus. Selbst bei Schmierkuren mit gleichzeitiger innerer Darreichung des Kupfers sah ich (und meine Beobachtungen sind von anderen Autoren bestätigt worden) in gewissen Fällen langsame Rückbildung, einfache reaktionslose Resorption von Hauttuberkulose, auch wenn keine

örtliche Behandlung stattgefunden hatte. Dasselbe wird von anderer Seite bei ausschließlich innerer Verabreichung von Kupfer berichtet. Diese Wirkung der Schmierkuren in Gemeinschaft mit innerer Medikation beweist uns, daß auch auf diesem milden, schmerzlosen Wege der Allgemeinbehandlung die Tuberkulose vom Kupfer beeinflußt wird. Dieses entspricht auch den Resultaten, die mit Injektionen bei Meerschweinchen von Gräfin Linden gewonnen wurden, nämlich eine kräftige Resorption des Kupfers durch die Haut, die durch die Feststellung relativ großer Kupfermengen in den inneren Organen erwiesen werden konnte. Wie große Mengen beim Menschen unter dieser milden Zufuhr des Kupfers von der Haut und vom Magen her auf dem einen oder anderen Wege in den Kreislauf gelangen, ist noch nicht festgestellt worden. Vom physiologischen Standpunkt und in Analogie zu den Erfahrungen mit anderen Metallen, namentlich mit Quecksilber, darf man aber annehmen, daß die Resorption des Kupfers auf diesen beiden Wegen auch beim Menschen keine geringe ist. Es sei hier auf eine Beobachtung Marquordts, des Direktors der Lungenheilstätte Beelitz bei Berlin, hingewiesen, der mich zu ihrer Mitteilung ermächtigt hat. Marquardt behandelte mit dem Resultate völliger Heilung einen Fall von Echinokokkus der Lungen, gleichzeitig innerlich und mit Injektionen mit Lecutyl. In den ausgehusteten Membranen konnten beträchtliche Mengen von Kupfer nachgewiesen werden. Auch diese Beobachtung zeigt einwandfrei, daß auch ohne Injektionen dem Organismus Kupfer in reichlichen Mengen zugeführt werden kann.

Ich meine, daß die Nutzenanwendung dieser experimentellen und therapeutischen Erfahrungen auf der Hand liegt. Solange wir noch keine Kupferverbindung besitzen, die uns genügende Mengen schmerzlos dem Organismus durch Injektionen einzuverleiben gestattet, müssen wir den gangbaren doppelten Weg der Zufuhr von der Haut und vom Magen her wählen, der uns mit Rücksicht auf die relative Ungiftigkeit des Kupfers einen ziemlich großen Spielraum für die Allgemeinbehandlung mit diesem Metall, eine breite Resorptionsfläche bietet. Es genügt zunächst, zu wissen, daß das Kupfer lange Zeit in kleinen Dosen ohne Schaden auf diesem doppelten Wege dem menschlichen Körper einverleibt werden kann, und daß auf diese Weise sowohl die äußere wie die innere Tuberkulose günstig zu beeinflussen ist. Damit ist uns ein praktischer Weg zur Bekämpfung der Tuberkulose eröffnet, der ohne Hindernisse

langsam in nicht zu schwierigen Fällen die Kranken dem ersehnten Ziele der Heilung näherbringt, besonders, wenn man alle hygienischen Heilfaktoren zur Unterstützung herbeizieht. Es ist ein schmerzloser Weg, der selbst den schwächsten und ärmsten Kranken noch offen steht und ihnen unter den individuellen hygienischen Bedingungen, unter denen sie leben, ohne große Opfer die Heilung ihres Leidens in Aussicht stellt.

Weiterhin sollten wir, fußend auf den günstigen Erfahrungen der unmittelbaren örtlichen Einwirkung des Kupfers auf tuberkulöse Prozesse, uns bemühen, neben der allgemeinen Behandlung das Metall möglichst direkt bei allen Erscheinungsformen der Tuberkulose an die kranken Herde zu bringen, z. B. durch Injektionen in Fisteln, durch Plombierung freigelegter Knochenherde, durch Pinselung und Tamponade bei Schleimhauterkrankungen, durch Injektionen bei Urogenitaltuberkulose, durch örtliche Einreibungen und Injektionen bei Rippenfell- und Bauchfelltuberkulose, durch Inhalationen bei Kehlkopf- und Lungentuberkulose<sup>1)</sup>. Erst die gleichzeitige allgemeine und örtliche Kupferchemotherapie führte bisher zu zuverlässigen Heilerfolgen.

Eine wesentliche Vereinfachung und Vertiefung der Kupfertherapie glauben wir noch dadurch herbeigeführt zu haben, daß es uns gelang, in dem Lecutyl eine komplexe Verbindung zu finden, in der die spezifische Kraft des Kupfers gegen die Tuberkulose durch ihren hohen Lezithingehalt beträchtlich gesteigert ist. Ausgehend von den Untersuchungen, die ergaben, daß die Phosphatide lipoidlösende Eigenschaften den Tuberkelbazillen gegenüber besitzen, haben wir uns bemüht, ein möglichst ungiftiges Derivat aus dieser Gruppe für unsere Zwecke dienstbar zu machen. Und in der Tat scheint das Lecithin als Komponente des Kupfers nicht nur die spezifische Kraft dieses Metalls zu steigern, sondern auch seine Resorption zu erleichtern. Auch hier entsprechen meine therapeutischen Erfahrungen den experimentellen Versuchen der Gräfin Linden. Während das Kupferchlorid und das Kupferkaliumtartrat in einprozentigen Lösungen den Tuberkelbazillus nach 12—24 Stunden abzuschwächen vermögen, können die komplexen Kupferlecithinverbindungen die Tuberkelbazillen schon nach 5 Stunden erheblich abschwächen und nach 24 Stunden

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur:

Inhalationsversuche bei Lungentuberkulose sind inzwischen von mir eingeleitet.

abtöten, so daß damit infizierte Tiere, auch wenn es sich um eine Infektion mit stark virulenten Kulturen handelt, nicht mehr erkranken. Dazu gesellt sich noch die zur vermehrten Bildung der roten Blutkörperchen und des Hämoglobins, zur Zellenbildung, namentlich des Nervensystems, führende, also roborierende Wirkung des Lecithins. Auch der opsonische Index gegen Tuberkulose scheint durch das Lecithin erhöht zu werden (Strubell).

So glauben wir nach allen bisherigen experimentellen und therapeutischen Erfahrungen in dem Lecutyl ein wirklich brauchbares Präparat gegen die Tuberkulose gefunden zu haben, das sich für die perkutane und innere Verabreichung gut eignet. Für die subkutane, intramuskuläre und intravenöse Anwendung genügte es bisher allerdings nicht allen Ansprüchen. Aber es entfaltet auch von der Haut und vom Magendarmkanal aus eine chemotherapeutische Wirkung, die in der milden Form der Schmierkuren und der inneren Darreichung nicht nur dem alten Grundsatz „Nihil nocere“ entspricht, sondern auch einen entschieden günstigen, wenn auch langsamen Einfluß auf die innere Tuberkulose ausübt. Nicht in einigen Wochen, auch selbst nicht in einigen Monaten, sondern, entsprechend dem hartnäckigen, chronischen, schleichenden Verlaufe der Tuberkulose, wohl meist erst nach lange fortgesetzten, eventuell mehrfach zu wiederholenden Kuren. Bedeutend besser als bei der inneren Tuberkulose liegen schon heute die Verhältnisse bei der äußeren. Hier tritt der mächtige unmittelbare Einfluß des Kupfers im Lecutyl, wie ich ihn immer wieder festzustellen in der Lage war, und wie er bisher vielseitige Bestätigung fand, als ein wichtiger Heilfaktor hinzu. Dieser Faktor (die äußere Kupferchemotherapie) ersetzt bei allen Formen von äußerer Tuberkulose den Ausfall, der heute noch auf das Konto der schweren Injizierbarkeit dieses Metalls und seiner starken Verdünnung in der Blutbahn<sup>1)</sup> zu schreiben ist, und erhebt das Verfahren zu einer unseren therapeutischen Schatz bereichernden neuen Methode. Und ist es nicht auch ein sozialer Fortschritt, wenn man die bedauernswerten, meist so viel enttäuschten Kranken mit äußerer Tuberkulose von operativen Eingriffen und langwieriger, kostspieliger Finsen-

<sup>1)</sup> Durch die konzentrierteren intravenösen Injektionen in steigenden Dosen scheint auch hier ein wesentlicher Fortschritt gegeben zu sein.

behandlung immer mehr befreien kann und durch Kupfer schon in einigen Tagen eine Zerstörung der äußeren Tuberkuloseherde herbeizuführen vermag, die eine umständliche Lichtbehandlung in minutiöser Kleinarbeit erst in langen Monaten und Jahren bewirkt, abgesehen davon, daß die Lichtbehandlung auf die latente, die innere Tuberkulose, die Ausgangsherde der äußeren, überhaupt keinen Einfluß ausübt? So gestattet das Kupfer eine rationelle Behandlung der äußeren Tuberkulose, die sich auf ihrer Pathogenese aufbaut und die dazu berufen sein wird, die anderen Methoden, auch in der Chirurgie, durch eine einfache Behandlung zu ergänzen und auch häufig, selbst in schweren, alten Fällen, zu ersetzen. Als unterstützende Methode möchte ich außer den bewährten alten Verfahren die Kohlensäuregefriermethode empfehlen, mit der besonders hartnäckige Infiltrate freigelegt und für die möglichst unmittelbare Kupferwirkung zugänglicher gemacht werden können. Endlich möchte ich noch hervorheben, daß das Lecutyl bei örtlicher Anwendung (und sie ist bei äußerer Tuberkulose zunächst die wichtigste) zu auffallend schneller Zerstörung des kranken Gewebes führt, daß offene tuberkulöse Herde schneller und sicherer zu heilen sind, als geschlossene, sehr tiefe Infiltrate der Haut, daß aber auch diese unter mehrfachen Kuren geheilt werden können, besonders wenn es, bei endogener Natur des Leidens, gelingt, die Ausgangsherde zu beseitigen. Es ist auch ein nicht zu unterschätzender Vorzug der Methode, daß sie zu schneller Epithelisierung und zu schöner Narbenbildung führt.

Wie bei jeder Heilmethode, hängen auch bei der Kupferbehandlung die Erfolge von einer guten Technik und Methodik ab, wie ich sie eingehend in der Strahlentherapie beschrieben habe. Hier nur eine kurze Anleitung:

Meine Behandlung der äußeren Tuberkulose besteht:

1. aus einer örtlichen,
2. aus einer allgemeinen.

Die örtliche Behandlung wird mit einer Salbe (Lecutylsalbe<sup>1)</sup>) durchgeführt, die aus einer Verbindung von zimtsaurem Kupfer mit Lezithin besteht. Ihr Kupfergehalt beträgt 1½ %. Zur Herabsetzung der Schmerzhaftigkeit ist sie mit Cycloform versetzt

---

<sup>1)</sup> Die Präparate werden von den Farbenfabriken vorm. Fr. Bayer & Co. in Leverkusen bei Köln hergestellt.

(10%). Diese Salbe wird bei geschlossenen Infiltraten auf die erkrankten Herde mit einem Spatel aufgestrichen. Darüber wird ein die kranken Stellen gut und fest bedeckender Mullbindenverband gelegt. Manchmal genügt auch die Fixierung der mit Mull überdeckten Salbe durch Leukoplast. Der Verband wird am besten täglich<sup>1)</sup> erneuert und muß bei Tag und Nacht liegen bleiben. Bei empfindlichen Kranken kann man in den ersten Nächten abends noch Morphinum geben. Auf die zerstörten Hautherde kann man auch vor jedem neuen Verbands reines Cycloform oder Anästhesin aufstreuen. Die spezifische Reaktion, die zur elektiven Zerstörung der kranken Herde führt, vollzieht sich schon in den ersten drei Tagen. Der Vernarbungsprozeß setzt dann sofort unter einer geeigneten Salbe ein. Hierzu empfiehlt sich eine Protargolsalbe (5%). Nach dem Ablauf des Reaktionsprozesses hat man zurückbleibende Reste von neuem mit der Lecutylsalbe zu behandeln. Diese Kur ist so lange, event. auch mit stärkeren Lecutylsalben, fortzusetzen, bis die letzten Infiltrate verschwunden sind. Bei großen, flächenhaften Herden geht man am besten schrittweise vor. Während der interimistischen Behandlung mit der Protargolsalbe bedeckt man einen anderen Herd mit Lecutylsalbe. Auf die zerstörten Herde und auf geschwürige tuberkulöse Prozesse legt man mit den Salben bestrichene Mullkompressen. Stets achte man darauf, daß namentlich die Ränder gut mit den Salben bedeckt sind, weil hier am häufigsten Reste zurückbleiben.

Zur allgemeinen Behandlung durch Inunktionen benutzt man dieselbe Salbe. Dazu gibt man dragierte Pillen. Jede Pille enthält 0,005 Kupfer. Man verabreicht dreimal täglich 1—2 Stück nach den Mahlzeiten. Die Schmierkur wird so durchgeführt, wie sie bei Quecksilberkuren üblich ist. Man lasse täglich 3—6 Gramm 15—20 Minuten lang in die Haut verreiben. Eine schnellere Resorption wird dadurch erreicht, daß man energisch mit Kampferspiritus nachreibt, bis die grüne Farbe verschwunden, das heißt alles Kupfer in die Haut aufgenommen ist. Die intravenösen Injektionen macht man zweimal wöchentlich.

In der Beurteilung der endgültigen Heilung kann man nicht vorsichtig genug sein. Bei der Hauttuberkulose ist hier die örtliche

---

<sup>1)</sup> Man kann übrigens die Salbe auch einige (2—3) Tage liegen lassen. Die Behandlung wird so sparsamer und auch schmerzloser, denn jeder neue Verband ruft neue Schmerzen hervor. Oft genügt ein Verband zur Zerstörung der Herde.

Applikation von geradezu diagnostischem Werte. Denn ein spezifisch reaktionsloser Verlauf der Salbenanwendung spricht dafür, daß hyperämische und seborrhoische Flecke, wie sie häufig nach der Heilung zurückbleiben, nicht mehr als tuberkulöse Herde anzusprechen sind. Von einer absoluten Heilung kann erst die Rede sein, wenn nach mehrjähriger Beobachtung kein Rückfall auftritt. Möge es weiteren Forschungen gelingen, die Kupferchemotherapie den Zwecken der Bekämpfung der inneren Tuberkulose immer mehr, namentlich durch konzentrierte intravenöse Injektionen, dienstbar zu machen und sie zu einer kräftigen Waffe auszugestalten gegen den schleichenden Feind, der an dem Marke der Völker zehrt.

## Literatur.

„Beiträge zur Chemotherapie der Tuberkulose“ XXIII, Heft 2. Impftuberkulose (Prof. Dr. Gräfin v. Linden, Bonn). Lungentuberkulose (Prof. E. Meissen, Essen). Äußere Tuberkulose (Dr. A. Strauß, Barmen). Als Monographie erschienen im Verlage von Curt Kabitzsch-Würzburg.

Nach Vorträgen auf der internationalen Tuberkulosekonferenz und dem internationalen Tuberkulosekongreß in Rom, April 1912.

A. Strauß, Weiterer Beitrag zur Chemotherapie der äußeren Tuberkulose. (Münchener med. Wochenschr. 1912, Nr. 50.)

Derselbe, Die Kupferbehandlung der äußeren Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1913, Nr. 11.)

Derselbe, The Chemo-Therapy of External Tuberculosis. (The Urologic and Cutaneous Review, Januar 1913.)

Weitere Erfahrungen mit einer Chemotherapie der Tuberkulose. Naturforscher- und Ärzteversammlung in Münster (innere Abt.) September 1913. Verhandlungen S. 48—56.

Impftuberkulose: Gräfin v. Linden. Lungentuberkulose: Prof. Meissen. Äußere Tuberkulose: A. Strauß.

Prof. Gräfin v. Linden, Weitere Erfahrungen mit einer Chemotherapie der Tuberkulose. (Münchener med. Wochenschr., 9. November 1912.)

A. Strauß, Die äußere Tuberkulose, spez. Hauttuberkulose und ihre Behandlung mit Lezithinkupfer (Lecutyl). (Strahlentherapie Band III, Heft 2.)

Referate über die Kupferbehandlung der Tuberkulose in der 4. Lupusaus-schußsitzung des deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose. (Deutsche medizinische Wochenschrift 1913, Nr. 50. Von Generaloberarzt Dr. Marsch) und Verhandlungen, red. von Prof. Nietner (im Selbstverlag des Komitees).

A. Strauß, Weiterer Beitrag zur Lecutylbehandlung der Haut- und chirurgischen Tuberkulose. (Mediz. Klinik 1914, Nr. 2.)

Dr. H. Bodmer, Die Chemotherapie der Lungentuberkulose, spez. das Finklersche Heilverfahren. (Münchener med. Wochenschr. 1913, Nr. 32.)

Dr. K. Lautsch, Aus der Lupusheilstätte des Vaterländischen Frauenvereins in Graudenz. Naturforscherversammlung in Münster. Verhandlungen S. 56.

Dr. E. A. Oppenheim, Aus der Heilstätte Hohenlychen. Verhandlungen der IV. Sitzung des Lupusausschusses S. 79. Erfahrungen bei äußerer Tuberkulose.

Dr. H. Eggers, Erfahrungen mit der Kupferbehandlung bei innerer und äußerer Tuberkulose. Aus dem Johannishospital in Bonn. (Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. XXIX.)

Dr. J. Sellei, Behandlung des Lupus mit Kupferpräparaten. Aus der I. dermatologischen Abteilung des Instituts der Königl. ungarischen Staatseisenbahn. (Budapesti Orvosi Ujság 1913, No. 52.)

Dr. V. Mentberger, Beitrag zur Gold- und Kupferbehandlung des Lupus vulgaris. Aus der Straßburger Hautklinik. (Dermat. Wochenschrift 1914, Nr. 6.)

Prof. Dr. Meissen, Zur Chemotherapie der Tuberkulose: die Toxizität des Kupfers. (Zeitschrift für Tuberkulose, Bd. XXI, H. 5.)

Dr. G. Norman Meachen (London). Kupferbehandlung der Hauttuberkulose. (Brit. med. Journ., 18. Okt. 1913.)

## Di una particolare proprietà del Salvarsan. Suo possibile rapporto con il meccanismo d'azione<sup>1)</sup>.

Per

Dott. **Leonardo Martinotti**,  
aiuto e priv. docente.

Sul modo di agire del Salvarsan non vi sono oggi grandi divergenze di opinioni; si accetta dalla grande maggioranza degli autori il principio chemoterapico sostenuto da Ehrlich del parasitotropismo. Solo qualcuno dissente da tale concetto; per non citare che due recenti il Finger sostiene che si tratti non di un'azione diretta, ma di un'attività indiretta stimolante; il Castelli, particolarmente per il Neosalvarsan, ammette una speciale avidità dei parassiti verso il medicamento.

Ricerche da me intraprese mi hanno portato a stabilire un fatto che non mi risulta sia stato finora osservato, e che si riferisce non solo al Salvarsan ma a tutto un gruppo di sostanze chimicamente affini. Il fatto può essere formulato in questa maniera:

„Esistono particolari sostanze le quali in presenza in un agente ossidante hanno il potere di fissare e insolubilizzare in vitro i grassi dei tessuti“. Prototipo di queste sostanze è il cloridrato di diamidoazobenzolo, sostanza colorante azoica che è posta in commercio col nome di crisoidina. Su questo fatto si basa una particolare reazione microchimica dei grassi che io ho dato altrove (reazione cromo-crisoidinica). E a questo gruppo di sostanze appartiene anche il Salvarsan. L'esperimento si può fare in varie maniere: ne ricorderò due dei più semplici: si può prendere un pezzetto di cellulare sottocutaneo e immergerlo nel reattivo in questione, poi trattarlo con un agente ossidante; e infine immergerlo in un solvente dei grassi e constatare così la sua temporanea

---

<sup>1)</sup> La comunicazione preventita è stata fatta alla Riun. delle Soc. ital. di Dermatologia del 18. Dicembre 1913. Roma.

insolubilità; ancor meglio si può lavorare con sezioni di pezzi fissati in formolo e fatte al congelatore; il formolo non impedisce, anzi forse rende più evidente la reazione. Come ossidante si può prendere uno di quelli più conosciuti: il permanganato di K, la soluzione  $H_2O_2$ , ma soprattutto si prestano l'acido cromatico e il bicromato di K. Supponiamo di praticare la reazione col cloridrato di diamidoazobenzolo che è la più facile ad eseguirsi: si immerge la sezione per 10'—20' nella soluzione acquosa all'1% di crisoidina, si lava in acqua brevemente, si immerge per 30"—60" (non di più) in soluzione acquosa al 10% di ac. cromatico o di bicromato di K<sup>1)</sup>. Si lava in acqua, si passa in alcool assoluto, benzolo, balsamo. I grassi del cellulare sottocutaneo sono colorati in giallo brunastro e si mantengono così per molte ore sino ad alcuni giorni, a seconda della intensità della reazione a seconda del modo con cui essa si è effettuata cioè se totale o parziale, e via dicendo.

Quando è parziale la fissazione si verifica soprattutto alla periferia della vescicola di grasso. Ciò che accade in maniera evidentissima colle crisoidina, si verifica in maggiore o minor grado anche con altri corpi compreso il Salvarsan. Nella tabella seguente ho riunito le sostanze finora da me sperimentate e disposte in ordine crescente per riguardo all'intensità con cui danno la reazione.

Sostanza usata	Intensità della reazione
Diossiazobenzolo (Sudan G.) . . . . .	± incostante
Amidoazotoluolo orto . . . . .	± " "
" para . . . . .	± " "
" cloridrato (Spritzgelb) . . . . .	+ costante ma fuggevole
Sapraninazo - β - naftolecloridrato (Indigo-blau) . . . . .	+ " " "
Diossiamidoarsenobenzolcloridrato (Salvarsan) . . . . .	++ costante e netta
Aminoazobenzolo . . . . .	++ " " "
" cloridrato (Anilingelb) . . . . .	+++ " " "
Diaminoazobenzolo 2:4 . . . . .	++++ costante e intensa
" 3:3 . . . . .	++++ " " "
" cloridrato (Crisoidina) . . . . .	+++++ costante e intensissima

<sup>1)</sup> L'ossidazione deve essere energica e breve: si può colla crisoidina (non con le altre sostanze) usare anche ac. perocromico (ac. cromatico +  $H_2O_2$ ) oppure ac. cromatico + alcool a 95° aña. Usando gli altri bicromati si hanno particolari reazioni di cui tratto in altri lavori, a proposito della reazione cromocrisoidinica.

Come si vede queste sostanze sono quasi tutte analoghe; appartengono ai composti azoici inferiori. Dirò senz'altro che derivati superiori non danno la reazione, come non la danno i derivati sulfoconiugati; il triaminoazobenzolo (Vesuvibraun), la fenilendiamina, la danno all'incircacione lo Spritgelb. Come ho detto, la reazione è evidentissima col cloridrato di diaminoazobenzolo, e io consiglierei coloro che volessero sperimentarla di cominciare appunto colla crisoidina e poi di usare il Salvarsan perchè in questa maniera ci si convince meglio del fatto: nel primo caso, se si lavora con sezioni al congelatore i grassi del sottocutaneo sono colorati in giallo cupo, nel secondo invece i grassi non sono colorati, ma in luogo di vedere i vacuoli vuoti (che si possono constatare nei preparati di controllo non sottoposti alla reazione) i vacuoli stessi sono più o meno pieni a seconda del modo con cui è avvenuta la reazione.

Posto il risultato di tale esperimento le deduzioni e le ipotesi che se ne potrebbero trarre sarebbero molte. Anzitutto in vivo accade ciò che si osserva in vitro, oppure le cose vanno altrimenti? Nell'organismo noi sappiamo che i fenomeni ossidativi sono all'ordine del giorno e d'altra parte sappiamo ancora che i grassi esistono in gran copia sia sotto forma dei composti già conosciuti e forse anche in speciali combinazioni con altri corpi, particolarmente colle albumine (specie di lipoproteidi). Ora ammettere che anche nell'organismo si effettui questa fissazione temporanea dei corpi grassi in conseguenza dell'introduzione di Salvarsan parrebbe cosa logica.

E allora supposto che tale fenomeno avvenga realmente e che quindi in rapporto ad esso stia anche il meccanismo di azione del Salvarsan, sorge naturalmente un altro quesito, che è dato dal modo con cui si esplica l'azione del preparato arsenicale. In altre parole è l'arsenico che fissandosi direttamente sui grassi col tramite del gruppo diaminobenzolico agisce sull'agente parassitario della sifilide, oppure per effetto della fissazione (cioè della temporanea inutilizzabilità dei grassi) viene a mancare il pabulum per la nutrizione degli agenti patogeni stessi? Questa fissazione di grassi avviene a carico dei liquidi dell'organismo o piuttosto delle tossine messe in circolo dai parassiti?

Nel caso che si effettui a carico delle sostanze del corpo è possibile che produca una specie di scissione temporanea della molecola albuminica mettendo in libertà prodotti antitossici e antiparassitari? E quando invece agisse sulla molecola tossinica, è possibile che la sua azione si manifesti sul gruppo tossoforo?

Sono tutte queste solamente ipotesi che io mi limito ad enunciare, ipotesi in vero troppo spinte e che naturalmente non possono avere per ora una dimostrazione diretta; di positivo vi è il fenomeno in vitro che per me esiste, senza dubbio. Nell'organismo ho già tentato qualche esperimento, ma non sono ancora in grado di darne i risultati sicuri, per varie difficoltà che s'incontrano nel cercare di mettersi al riparo dai possibili errori di esperimento.

Comunque sia, qualora si potesse stabilire che anche nell'organismo il Salvarsan manifesta lo stesso lipotropismo, non si potrebbe far a meno di connettere a ciò la dovuta importanza nel meccanismo di azione.

Debbo ancora richiamare l'attenzione su di un altro fatto, ed è che tutte le sostanze che presentano questa capacità lipotropa, hanno anche potere cheratinizzante sulle ferite della cute. Ciò era già noto per l'amidoazotoluolo (che come si sa è il principio attivo dello Scharlach R); ora debbo soggiungere che anche le altre sostanze hanno questo potere, non solo ma che esso sembra avverarsi in maniera tanto più intensa quanto più forte è la loro capacità di insolubilizzazione dei grassi. Difatti il cloridrato di diamidoazobenzolo, applicato su una piaga della cute dà un'intensissima e rapidissima cicatrizzazione, di molto superiore a quella dello Scharlach R e dell'amidoazotoluolo<sup>1)</sup>. Essa si verifica soprattutto in superficie ed avviene meglio se usato in soluzione acquosa anziché in pomata. Non dà luogo a suppurazione, essendo provveduto di potere antisettico. Ed io lo raccomando vivamente per questo scopo<sup>2)</sup>.

Anche questo dimostra che la fissazione di grassi che si osservava in vitro cammina parallelamente a un corrispondente fenomeno in vivo, che si traduce nel caso particolare con un forte potere cheratinizzante; e che il lipotropismo vi abbia importanza, lo prova il fatto che la soluzione acquosa di crisoidina produce un essiccamento straordinario dell'epitelio neoformato. L'ipotesi che anche pel Salvarsan una corrispondente azione si estrinsechi nell'organismo è lecita, non solo, ma è anche logico il supporre che

---

<sup>1)</sup> Finora mi sono servito sempre di cloridrato di diamidoazobenzolo di Grübler di Schuchardt e di Kahlbaum.

<sup>2)</sup> Si può obiettare che lo Scharlach R che pure è cicatrizzante non dà in vitro la fissazione dei grassi: ho già detto che i derivati superiori dell'amidoazobenzolo e amidoazotoluolo non la danno. Può darsi che in vivo le cose vadano altrimenti.

altri composti analoghi in cui il principio attivo sia costituito da altri corpi combinati al gruppo diaminobenzolico possano manifestare importanti proprietà terapeutiche.

## Literatur.

P. Ehrlich e S. Hata, *La Chemoterapia sperimentale della Spirillosi*. Trad. it. di K. Rühl, Torino.

P. Ehrlich, *Abhandlungen über Salvarsan*, München 1911.

A. Wiersiorowski, *Über den Einfluß des Salvarsans auf das Blut von Syphilitikern*. Russky Wratsch 1911, Nr. 45 (Folia).

F. di Napoli, *Il „606“ nel laboratorio e nella pratica*. Napoli, Idelson, 1912.

Usuelli, *Meccanismo d'azione del 606 sullo Spirochete*. VII. Congr. intern. di Dermatologia, Roma 1912, p. 572.

Ferrannini, *Ricerche sull'azione farmacologica del Salvarsan*. Riforma medica 1911, p. 1065; 1912, p. 1290 e 1319.

Gastaldi, *Modificazioni istologiche e urobilinuria dopo le iniezioni di Salvarsan*. Folia clin. chim. e microsc. III, p. 279.

Sabrazès et Dupérié, *Note sur l'état du sang esc. dans trois cas d'hérodosyphilis traités par le 606*. Gaz. hebdom. des Sciences méd. de Bordeaux 1912.

Castelli, *Über Neosalvarsan*. Zeitschrift für Chemotherapie 1912, f. 2.

Ullmann, *Zur Frage der Parasitotropie und Toxizität des Salvarsans*. Wiener klin. Wochenschrift 1913, S. 161, 216.

—, *Zur Organotropie der Salvarsanpräparate*. Ebenda 1913, S. 929 u. 978.

Arzt und Kerl, *Zur Kenntnis der parasitotropen Wirkung des Atoxyls u. Neosalvarsans*. Wiener klin. Wochenschrift 1913, S. 12.

Finger, *Quecksilber und Salvarsan*. Wiener klin. Wochenschrift 1913, Nr. 15, S. 561.

*Aus der bakteriologisch-chemotherapeutischen Abteilung der chirurgischen Universitätsklinik zu Jena.*  
(Direktor Geh. Medizinalrat Professor Dr. E. Lexer.)

---

## Zur Chemotherapie subkutaner und in Organen infiltrierend wachsender Mäusetumoren.

Mit einem Beitrag: Methode und Technik zur Züchtung  
infiltrativer Mäusetumoren.

Mit 13 farbigen Tafeln und 3 Tabellen.

Von

**Fr. Keysser,**

Assistent der Klinik.

Die erste grundlegende Arbeit über chemotherapeutische Heilversuche an geschwulstkranken Mäusen wurde Ende 1911 von A. von Wassermann, Fr. Keysser und M. Wassermann veröffentlicht. Grundlegend vor allem, weil von diesen Autoren ein Prinzip angegeben worden ist, das wenigstens vorläufig die Arbeitshypothese für die chemotherapeutischen Versuche an Tiertumoren abgibt. In dieser Publikation wird das therapeutische Problem dahin aufgefaßt, daß es sich darum handelt, chemotherapeutische Mittel zu konstruieren, die in erster Linie die Kerne der neugebildeten Geschwulstzellen angreifen, ohne das normale Gewebe zu schädigen. Es soll mit anderen Worten dem Präparat eine organotrope und weiterhin nukleotrope Wirkung zukommen, die sich ihrerseits jedoch lediglich in einer Beeinflussung der Kerne der Tumorzellen äußern muß. Da es die Eigenschaft der Geschwülste ist, Metastasen zu bilden, da wir nicht wissen, an welchen Orten und in welchen Organen schon versprengte Keime vorhanden sind, muß ein chemotherapeutisches Mittel von der Blutbahn aus in den Organismus eingeführt werden und befähigt sein, sich den Weg zur Tumorzelle selbst zu bahnen, automatisch an die Geschwulstzellen heran-

zugehen, sowie die Kerne derselben zu zerstören, ohne irgendeine deletäre Wirkung auf die anderen Organe auszuüben.

Ein solches, speziell auf Tumorzellen wirkendes Präparat hat A. v. Wassermann in dem Eosin-Selen gefunden. In dieser Verbindung soll dem Selen die spezifisch kernzerstörende Wirkung zukommen, während das Eosin die Schienen bildet, auf denen das Metall in den Tumor gelangt. Der Heilungsvorgang der subkutanen Mäusetumoren gestaltet sich nach dem Wassermannschen Verfahren folgendermaßen:

Nach 3 intravenösen Injektionen des Eosin-Selenpräparates zeigt sich bei den subkutanen Tumoren der Mäuse eine für die Palpation wahrnehmbare Erweichung der Geschwulst, die nach weiteren Injektionen noch ausgesprochener wird und das Gefühl einer fluktuierenden Cyste bietet. Unter fortgesetzter Behandlung tritt dann eine Resorption des verflüssigten Tumordinhaltes ein, man hat bei der Palpation das Gefühl eines schlaffen Sackes. Diese Resorption geht mit Krankheitserscheinungen der Tiere einher, die meistens zum Tode führen. Darin liegt es begründet, daß der Prozentsatz geheilter Tiere, die die Behandlung überstehen, nur ein geringer sein kann, er beläuft sich auf zirka 3—5%. Daß es sich bei diesen überlebenden Tieren um eine Dauerheilung handelt geht daraus hervor, daß bei einer Beobachtungszeit von mehreren Monaten Rezidive nicht aufgetreten sind.

Die Zerstörung des Tumorgewebes geht, wie die pathologisch-anatomischen Untersuchungen von Hansemanns gezeigt haben, bei diesen Versuchen mit Eosin-Selen in der Weise vor sich, daß die Zellen ausschließlich durch Kernzerfall auf dem Wege der Pyknose zugrunde gehen.

Es sei zunächst noch auf die in der folgenden Zeit mitgeteilten Heilversuche tumorkranker Tiere von seiten anderer Autoren eingegangen. Während Uhlenhuth, Contamin, Letœuf und Thomas mit Mischungen von Eosin und Selen bei intravenöser Injektion eine Beeinflussung der subkutanen Mäusetumoren nicht beobachten konnten, bestätigte Apolant im Namen von Ehrlich auf der Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie die Wassermannschen Befunde.

Die negativen Resultate von Uhlenhuth und Contamin dürften wohl im wesentlichen darauf beruhen, daß den Autoren eine genaue Kenntnis der Darstellung des Eosin-Selenpräparates sowie die der Dosierung und Technik abgeht.

Neuberg und Caspari erzielten in ähnlicher Weise wie Wassermann Heilungen subkutaner Mäusetumoren mit komplexen organischen Metallverbindungen.

Neuberg hatte in früheren Arbeiten dargelegt, daß die normalerweise in Geschwülsten vorkommende Fermenttätigkeit in ihrer Steigerung eine Abwehrmaßregel des Organismus bedeutet. Die Heilversuche Neubergs richteten sich somit darauf, den Vorgang der Autolyse künstlich zu steigern, um dadurch eine Heilung zu erzielen. Daß die Möglichkeit, eine Steigerung des autolytischen Prozesses zu erreichen vorhanden ist, hatten die Versuche von Salkowski, ferner von Ascoli und Izar ergeben, die eine Steigerung des Fermentprozesses durch Schwermetallverbindungen resp. durch kolloidale Verbindungen erzielen konnten. Von dieser Tatsache ausgehend, konstruierte Neuberg Schwermetallverbindungen, die die Eigenschaft besitzen, die Geschwulst zu treffen ohne die Organe zu schädigen. Als solche erwiesen sich verschiedene komplexe organische Metallverbindungen. Die Prüfung dieser Präparate an Tiertumoren ergab zunächst kein greifbares Resultat, erst als sich Neuberg und Caspari der von Wassermann mitgeteilten, von Keysser ausgearbeiteten Technik bedienten, kamen sie zu Befunden, die denen Wassermanns entsprachen. Neuberg und Caspari beobachteten gleich nach der intravenösen Injektion eines solchen Präparates eine lokale Hyperämie des Tumors, während alle sichtbaren Teile der Maus ausgesprochen anämisch werden. Der Heilungsvorgang besteht ebenfalls in einer Verflüssigung und Resorption des Tumors. Dabei erweist sich der verflüssigte Tumorkern chemisch als reines Autolysat. Die Wirksamkeit der verschiedenen Metalle, die als tumoraffine bezeichnet werden, soll in dem durch Zerlegung der Metallverbindungen im Tumor selbst entstehenden kolloidalen Zustand beruhen. Es erwiesen sich die Verbindungen des Zinns, Platins, Zinks, Kupfers, Silbers und Kobalts in der oben angegebenen Form bei intravenöser Applikation als wirksam.

Werner und Szécsi erzielten ebenfalls Heilungen subkutaner Mäusegeschwülste bei intravenösen Einspritzungen von borsaurem Cholin in Kombination mit Selenvanadium. Diese Versuche beruhen auf der Vorstellung, daß unter Einwirkung von Röntgen-, Radium-, bzw. Mesothoriumstrahlen das Lecithin der Zellen zerfällt und daß die Zerfallprodukte, insbesondere das Cholin, die gleiche Wirkung auslösen wie die Strahlen selbst, indem diese Stoffe im Körper Fermente in ähnlicher Weise beeinflussen, wie dies durch Röntgen- und Radiumstrahlen geschieht. Das Cholin hat also nach Werner die Fähigkeit, bei subkutaner Einverleibung die Wirkung der Bestrahlung auf die Haut, das Blut, die Lymphdrüsen, die Milz, die männlichen Geschlechtsorgane nachzuahmen. Durch eine Verbindung mit Glykokoll, Nukleinsäure und besonders Borsaure vermochte Werner das Cholin haltbar zu machen und in letzterer Form erwies es sich geeignet, subkutane Mäusetumoren therapeutisch zu beeinflussen. Während die Heilwirkung mit diesem Borcholin allein sehr langsam vor sich ging, vermochte es Werner durch Kombination mit kolloidalen Metallen, nach dem Vorgehen von Neuberg, insbesondere mit Selenvanadium, die Wirkung beträchtlich zu beschleunigen und zu verstärken. Und mit dieser Verbindung von Selenvanadium und Borcholin erzielten Werner und Szécsi nunmehr auch konstant Heilungen an subkutanen Mäusegeschwülsten.

Izar gelang der Zerfall und die Heilung von Rattentumoren mit kolloidalem Schwefel. Hier besteht gleichfalls das Prinzip in der Steigerung der Autolyse in dem Tumorgewebe.



das Resorcin einwirkt, ohne daß Spaltung eintritt. Erhitzt man 2 Teile Resorcin mit 1 Teil Phthalsäure, so bildet sich Fluorescein, das wieder den Pyronring enthält, aber keinen Stickstoff. Dieses Fluorescein ist der Ausgangspunkt für die Darstellung der Eosine, die durch Halogensubstitution entstehen. Das Eosin speziell entsteht durch Bromieren des Fluorescein in Eisessiglösung. Dabei fällt Tetrabromfluorescein als unlösliches ziegelrotes Pulver aus und löst sich durch Zusatz von Kali- oder Natronlauge als Salz. Dieses stellt das Eosin dar.

Bezüglich der Löslichkeit der Salze des Tetrabromfluoresceins im Wasser ist zu erwähnen, daß diese abhängig ist von der mehr oder weniger vollkommenen Neutralisation des Tetrabromfluorescein, das eine Säure darstellt, die im Wasser nicht löslich ist. Dieses Tetrabromfluorescein enthält zwei Hydroxylgruppen (OH). Bei der Behandlung mit Alkalien, Kali- oder Natronlauge, wird das H-Atom der Hydroxylgruppe durch das Metallatom (K) der Kalilauge ersetzt. Wird eine genügende Menge Kalilauge zugesetzt, so findet dieser Ersatz in den beiden OH-Gruppen statt. In dem Fall ist das Tetrabromfluorescein zu einem neutralen Salz neutralisiert, also dem Dinatrium- oder Dikaliumsalz, das im Handel als Eosin bezeichnet wird. Findet die Neutralisation dagegen nur unvollständig statt, so wird nur die eine OH-Gruppe durch das Metallatom Kalium ersetzt, die zweite Hydroxylgruppe OH bleibt dann noch vorhanden.

Zur Herstellung des neutralen Salzes (Disalzes) ist eine ganz bestimmte Menge Kalilauge nötig und zur Herstellung des sauren Salzes — Monosalzes dagegen genau die Hälfte.

Die beiden verschiedenen Körper haben auch verschiedene Eigenschaften, die markant in der verschiedenen Löslichkeit sich zeigen. Das Dikaliumsalz ist im Wasser löslich und bildet das Handelseosin, das ja im Wasser löslich sein muß. Das Monokaliumsalz ist im Wasser unlöslich, jedoch tritt Lösung ein, wenn dieselbe in Alkohol vorgenommen wird.

Bezüglich der Farbtönung des Eosins sei bemerkt, daß dieselbe mit der verschiedenen Menge der zur Neutralisation verwandten Kali- resp. Natronlauge nichts zu tun hat. Vielmehr hängt sie ab von den verschiedenen Mengen der Halogene, die in den Fluoresceinkomplex eingeführt sind und weiterhin von der Verschiedenartigkeit und der Variationsmöglichkeit der Darstellung.

Läßt man Chlor, Brom oder Jod auf Fluorescein einwirken, so treten Halogenatome sukzessive in den Resorcinrest ein und es entstehen Farbstoffe von roter Farbe. Die mit Jod erhaltenen zeigen die röttesten Nuancen. In analoger Weise wirkt Salpetersäure insofern durch dieselbe Nitrogruppen in den Resorcinrest eingeführt werden. Man kennt auch Fluoresceinderivate, welche gleichzeitig Bromatome und Nitrogruppen in dem Resorcinrest enthalten.

Je mehr Halogenatome der Farbstoff in dem Resorcinrest enthält, desto röter ist seine Nuance.

Andererseits kann man Chlor- und Bromderivate des Fluoresceins auch dadurch erhalten, daß man von Chlor- oder Bromphthalsäuren ausgeht und dieselben mit Resorcin zusammenschmilzt. In der Technik wendet man hauptsächlich Di- oder Tetrachlorphthalsäure an. Die auf diesem Wege gebildeten Halogenderivate des Fluoresceins liefern bei der Einwirkung von Halogeneosine, welche noch ein blaueres Rot als die aus Phthalsäure hergestellten Farbstoffe zeigen.

Bei der fabrikmäßigen Gewinnung des Eosins läßt es sich nun, wenigstens bei Herstellung in großem Maße nicht durchführen, daß die Ausgangsprodukte vollkommen rein sind, vielmehr weisen sämtliche einen mehr oder weniger großen Überschuß von Chlor oder Brom auf. Und in dieser Tatsache liegt die Verschiedenartigkeit der von verschiedenen Seiten bezogenen Eosine begründet.

Bei einer Auswertung der verschiedenen oben angeführten Eosine im Tierversuch ergibt sich somit einmal ein verschiedenes Verhalten bezüglich der Färbungsintensität, zweitens ein verschiedenes Verhalten bezüglich der Giftigkeit der Präparate. Die bestehende Tabelle I läßt diese Unterschiede deutlich erkennen. Sie zeigt ferner, daß bei den untersuchten Eosinen dem der Firma Sandoz das größte Färbungsvermögen bei geringster Giftwirkung zukam. Nach den oben geschilderten Gesichtspunkten entsprach dieses Eosin am besten den von mir gestellten Forderungen. Es war somit das Gegebene zur Ausstellung von Mischungsversuchen mit Selen. Vergleichende Versuche mit den verschiedenen Eosinen ergaben auch, daß das Eosin Sandoz den anderen Präparaten in bezug auf die Beeinflussung subkutaner Mäusegeschwülste weit überlegen war, ja daß einige Präparate nicht die geringste Wirkung erkennen ließen.

**Tabelle I.**

Farbintensität und Maximaldosis der verschiedenen Eosine.

(Die pro g Maus ausgewertete Maximaldosis der Eosine bezieht sich auf 1% Eosinlösungen in physiolog. Kochsalzlösung.)

Eosinpräparate, benannt nach den Fabriken, von denen das Eosin bezogen wurde.	Färbungsintensität der 10fachen Maximaldosis (2% Lösung).	Färbungsintensität der Maximaldosis.	Maximaldosis pro g Maus.
Kalle . . . . .	+	±	0,04
Höchst . . . . .	+	+	0,04
Sandoz . . . . .	+++	±±	0,05
Jäger . . . . .	++	±±	0,05
Griesheim . . . . .	++	±	0,04
Cassella . . . . .	+	±	0,04
Anilinfarbwerte . . . .	±±	+	0,03
Weiler . . . . .	±±	±	0,04
± Hellrot	} Die Bestimmung der Färbungsintensität ist aus dem Vergleich mit dem am stärksten färbenden Präparat vorgenommen.		
+ Rot			
±± Dunkelrot			
+++ Tiefdunkelrot			

Bediente sich v. Wassermann bei seinen Versuchen zunächst eines fabrikmäßigen Selenzyankaliums und später eines chemisch reinen Selenzyankaliums, so wählte ich dagegen, da mir ein solches chemisch reines Selenzyankalium nicht zur Verfügung stand, ein Selenvanadium der Firma Clin, Paris, in dessen Kombination mit Borcholin Werner und Szécsi ja auch bereits Heilerfolge erzielt hatten.

Über das Verhalten der Mischung der verschiedenen Eosine mit Selenvanadium ergibt die Tabelle 2 Aufschluß, die erkennen läßt, daß eine erhöhte Giftwirkung durch die Mischung nicht eintritt, die toxische Dosis der Mischung ist vielmehr je nach dem Mischungsverhältnis ungefähr proportional der Summe der halben toxischen Dosen je der der beiden Komponenten.

Nach diesen Vorversuchen, in denen einerseits also das Eosin, dem das beste Färbungsvermögen zukam, ferner die maximale Dosis der Mischung für 1 g Gewicht der Maus bestimmt war, wurden Heilversuche mit dieser Mischung an subkutanen Mäusetumoren an gestellt.

Bevor ich die Heilversuche mit diesem Mischpräparat von Eosin-Selenvanadium beschreibe, muß ich kurz die Technik der

**Tabelle II.**

Farbintensität und Maximaldosis der Mischung Eosin-Selenvanadium.

(Maximaldosis von Selenvanadium 0,06 ccm pro g Maus.)

Herstellung der Mischung: a) 0,01 g Eosin in 0,5 physiolog. Kochsalzlösung gelöst,

b) 0,5 Selenvanadium,

a und b werden miteinander gemischt.

Eosinpräparate, benannt nach den Fabriken, von denen das Eosin bezogen wurde.	Färbungsintensität der Maximaldosis.	Maximaldosis pro g Maus.
Kalle . . . . .	±	0,02
Höchst . . . . .	+	0,04
Sandoz . . . . .	++	0,05
Jäger . . . . .	+	0,05
Griesheim . . . . .	+	0,03
Cassella . . . . .	±	0,02
Anilinfarwerke . . . . .	+	0,03
Weiler . . . . .	+	0,05

intravenösen Injektion für chemotherapeutische Versuche an Mäusetumoren, wie sie von mir im Wassermannschen Laboratorium ausgearbeitet ist, schildern.

Die bisher geübte intravenöse Injektionsmethode bei Mäusen, wie sie von Ehrlich und Uhlenhuth angegeben worden ist, besteht darin, eine Dilatation der Schwanzvenen durch Eintauchen in heißes Wasser zu erzielen und die direkte Injektion mit feinsten Kanüle in die prall gefüllte Vene auszuführen. Diese, die Assistenz eines Dieners erfordernde Methode hat den Nachteil, daß damit die Epidermis der Schwanzhaut geschädigt wird, daß ferner selten mehr als 2—3 Injektionen gelingen. Dies hat seinen Grund in einem Nachteil der Methode, der darin besteht, daß fast stets etwas von der Injektionsmasse in das paravenöse Gewebe gelangt, diese alteriert, und, wenn das Mittel an sich zu Entzündungen oder Nekrose führt, die Vene undurchgängig wird und der Schwanz abstirbt. Es müßte also bei einer systematischen intravenösen Behandlung der Mäuse ganz besonders darauf gesehen werden, daß die Schwanzvene bei der Injektion möglichst geschont wird und erhalten bleibt. Erreicht habe ich dies einmal dadurch, daß ich zur Dilatation der Schwanzvene nicht die feuchte Wärme, sondern einen Glühkörper, i. e. trockene Hitze wählte. Ich bediene mich dazu meistens einer glühenden Zigarre oder eines elektrischen Glühkörpers, der nach dem Prinzip eines elektrischen Zigarrenanzünders gebaut ist (zu beziehen bei dem

Instrumentenmacher Forster in Jena). Um andererseits die paravenöse Verdickung und Nekrose zu vermeiden, entferne ich über der dilatierten Vene die Epidermis, so daß die Vene freiliegt. Auf diese Weise läßt sich verhüten, daß ein Tropfen, entweder beim Nichttreffen der Vene oder beim Zurückfließen des Blutes zwischen Epidermis und Vene zu liegen kommt. In letzterem Falle ist nur nötig, den Tropfen hinweg zu tupfen, während bei Nichtentfernen der Epidermis das Chemikale meist zu bindegewebigen Reizungen führt.

Die Injektionen nehme ich in der Weise vor, daß die Maus zwischen den Glasdeckel und den Rand des Mäuseglases an der Schwanzwurzel eingeklemmt wird. Der Schwanz selbst wird an seiner Spitze mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand fixiert. Nach Dilatation der Vene durch trockene Hitze klemme ich mittels 3. und 4. Finger der linken Hand die Vene derart ab, daß eine Stauung eintritt und eine weitere Schwellung derselben zur Folge hat. Danach wird die Epidermis im Bereich der vorzunehmenden Injektion möglichst nahe der Schwanzspitze mittels Skalpels abgetragen, unter horizontaler und straffer Spannung des Mäuseschwanzes die haarfeine Kanüle eingestoßen. Jetzt setzt man die Kompression der Vene durch dritten und vierten Finger nicht mehr fort und injiziert in die Blutbahn möglichst langsam. Ist die Injektion beendet, so komprimieren der 3. und 4. Finger die Vene an der Einstichstelle der Kanüle und pressen den Inhalt der Vene durch Entlanggleiten unter Druck bis zur Schwanzwurzel.

Unter sorgfältigster Beobachtung dieser Regeln gelingt es, 12 bis 14 Injektionen in die Schwanzvene der Mäuse ohne jede Assistenz vorzunehmen. Es sei noch bemerkt, daß die Schwanzvenen lateral gelagert sind, daß die in der Mitte der Ober- und Unterseite des Schwanzes ziehenden dunklen Stränge Muskulatur und Sehnen darstellen.

Wurde die Behandlung nun in der von Wassermann angegebenen oben bereits kurz erwähnten Weise ausgeführt, so zeigte sich, daß der erzielte Effekt mit der Mischung von Eosin-Sandoz mit Selenvanadium ungefähr dem von Wassermann beschriebenen entsprach. Einige Minuten nach der intravenösen Injektion trat eine allgemeine Rotfärbung der sichtbaren Teile der Maus ein (besonders der Augen, Schnauze, Nasenlöcher und Pfoten), die nach etwa 10 Minuten ihren Höhepunkt erreichte, um danach wieder abzunehmen. Man kann an Urin und Kot, der rot gefärbt ist, bemer-

ken, wie die Ausscheidung vor sich geht; ist der Urin bereits nach 24 Stunden wieder klar, so dauert die Rotfärbung des Kotes noch mehrere Tage an.

Tötet man einen Tag nach der Injektion die Maus, so beobachtet man folgendes: Der Farbstoff ist bereits wieder aus fast sämtlichen Organen ausgeschieden. Am längsten hält sich der Farbstoff im Darmkanal, der auch noch rot erscheint. Während also die umgebenden Gewebe eine normale Farbe aufweisen, erscheint nun der subkutane Tumor noch schwach rosa gefärbt. Er hat also den Farbstoff länger gehalten, als die übrigen Gewebe. Auf dem Durchschnitt bemerkt man indes, daß der Farbstoff nur in den Randpartien vorhanden ist, während das Zentrum ungefärbt ist.

Bei wiederholt vorgenommenen Injektionen ändert sich bereits dieses Verhalten der Farbstoffretention. Wird z. B. nach 3—4 Injektionen eine solche Tumormaus getötet, so bemerkt man, vorausgesetzt, daß die Maus gesund war, und bei der Behandlung keine Krankheitserscheinungen auftraten, daß der Tumor jetzt eine intensivere Färbung zeigt, als nach der einmaligen Injektion, nun aber nicht nur die Randpartien rötlich gefärbt sind, sondern auch das Zentrum selbst, so daß der Tumor jetzt ein diffus rotes Aussehen hat, während die anderen Gewebe bis auf Darm und Gallenblase keinen Farbstoff mehr enthalten. Dieser Befund beweist, daß in dem Tumor eine Retention des Farbstoffes stattgefunden hat und daß somit entsprechend der Zahl der nachfolgenden Injektionen eine mehr oder weniger ausgesprochene Summation des Farbstoffes bedingt wird. Auch die Konsistenz sowie das Verhalten der Blutgefäße haben im Vergleiche zu einem unbehandelten Tumor Veränderungen erfahren. War nach der einmaligen Injektion eine Hyperämie der Tumorgefäße vorhanden, so findet man meistens nach 4 intravenösen Injektionen eine Hämorrhagie an den Randpartien des Tumors, ja häufig ist auch das Innere des Tumors von hämorrhagischen Massen durchsetzt.

Läßt man nun eine größere Pause als 48 Stunden nach der 4. Injektion, so bemerkt man, daß das Tumorgewebe wieder abblaßt. Der Farbstoff wird also allmählich wieder eliminiert. Nach 5 bis 6 Tagen ist in dem Tumor von Farbstoff dann kaum noch etwas nachweisbar.

Diese eben beschriebenen Veränderungen treten in Erscheinung, wenn man die maximale Dosis, die gerade noch von der Maus getragen wird, in die Blutbahn injiziert. Gibt man z. B. nur die halbe

Dosis, so tritt der eben geschilderte Effekt nicht ein, und das gilt auch bezüglich des therapeutischen Effektes. Hierin liegt somit ein Nachteil der Methode, daß die therapeutische Dosis an der Grenze der toxischen liegt und bislang ist es nicht geglückt, das Präparat ungiftig darzustellen, ohne seine Wirksamkeit herabzusetzen. Was den therapeutischen Effekt anbetrifft, so beschränke ich mich zunächst nur auf die Feststellung der Wirkung an ausgebildeten subkutanen Mäusetumoren, also Geschwülste, die durchschnittlich Kirschgröße, mindestens aber Kirschkernegröße besaßen.

Die Veränderungen, die im Tumor vor sich gehen, machen sich zunächst bei der Palpation bemerkbar. Nach 3 intravenösen Injektionen fühlt sich der vorher harte Tumor weich an und diese Konsistenzänderung schreitet mit der Fortführung der intravenösen Injektionen weiter. Der Tumor wird flüssig, er fühlt sich wie eine Cyste an, bei der deutlich Fluktuation auszulösen ist. Unter fortgesetzter Behandlung tritt nach diesem Stadium eine Resorption des flüssigen Tumordinhaltes ein, die anfangs prall gefüllte Cyste wird leer und bietet bei der Palpation das Gefühl des leeren Sackes, da nunmehr nur noch Reste der verdickten Kapselwandung vorhanden sind. Dieses Resultat ist günstigenfalls nach 8—10 intravenösen Injektionen zu erzielen und wenn dieses einmal erreicht ist, so tritt nunmehr eine Rezidivbildung nicht mehr auf; um dies Ziel zu erreichen, sind allerdings unter Umständen 10—14 intravenöse Injektionen nötig.

Was die Art der intravenösen Behandlung tumorkrankter Mäuse mit Eosin-Selen betrifft, so läßt sich diese schematisch dahin präzisieren, daß die für das Gewicht bestimmte Maximaldosis des Präparates intravenös in Abständen von 24—48 Stunden injiziert werden muß, bis die erforderliche Anzahl von mindestens 8, meist 10 bis 14 Injektionen erreicht ist.

In der Praxis sind indes mannigfache Abweichungen von diesem Schema erforderlich, es gilt auch bei den Tieren, die Therapie möglichst zu individualisieren. Die Grundbedingung vor jeder Injektion ist ein vollkommenes Wohlbefinden der Maus. Hiernach richtet sich der Zeitpunkt, zu dem injiziert werden darf, resp. die Menge der zu injizierenden Dosis. Beobachtet man diese Regeln nicht, so wird man nur zu bald die Erfahrung machen, daß die in Behandlung befindlichen Tiere die Kur nicht aushalten. Ist der Farbstoff nach 24 Stunden aus den sichtbaren Geweben ausgeschieden und ist das Allgemeinbefinden der Maus

gut, so gebe ich bereits nach diesem Zeitpunkt die volle maximale Dosis des Präparates. Ist die Maus krank, so richte ich mich nach dem Grad der Krankheitserscheinungen. Einen guten Indikator besitzen wir einmal in der Lebhaftigkeit der Bewegungen und der Freßlust der Tiere, 2. in dem Verhalten des Felles — ist dasselbe gesträubt, so ist dies ein sicheres Zeichen für das Kranksein —, 3. im Glanz der Augen, 4. in der Körpertemperatur. Fühlt sich die Maus, wenn man sie in die Hand nimmt, kühl an, so ist dies bereits ein Zeichen schwerer Erkrankung.

Geraue Regeln lassen sich natürlich bei der Durchführung der Behandlung nicht aufstellen. Es muß der Übung überlassen bleiben, den richtigen Zeitpunkt der Injektion sowie die Größe der zu injizierenden Dosis zu erkennen.

Ist das Tier nach der 1. Injektion leicht krank, so ist es ratsamer, die 2. Injektion erst 48 Stunden nach der 1. auszuführen, und zwar dann wiederum die ganze maximale Dosis. Ist das Tier nach 48 Stunden noch leicht krank, so tut man gut, nicht die volle Dosis, sondern je nachdem  $\frac{3}{4}$  oder  $\frac{1}{2}$  der Maximaldosis zu geben. Länger als 24 Stunden die Behandlung auszusetzen, muß möglichst vermieden werden, da sonst später auch bei nachfolgend exakter Durchführung der Kur ein therapeutischer Effekt nicht erzielt wird. Es scheint sich also dann um eine Festigung der Tumorzellen gegen das Präparat zu handeln.

Bei Beobachtung dieser Regeln gelingt es nun, einen großen Teil der Versuchstiere bis zu dem Stadium der Verflüssigung des Tumors zu bringen. Hier droht eine weitere Gefahr, die in der Giftwirkung der resorbierten Zelltrümmer besteht. Von Hansemann hat den Nachweis erbracht, daß bei der Resorption die Trümmer der Tumorzellen besonders in der Leber und Milz abgelagert werden, daß unter dieser Einwirkung Veränderungen in den Organen vor sich gehen, die eine Art lymphatischer Umwandlung erfahren.

Bei der Behandlung muß nun das Augenmerk darauf gerichtet werden, daß die Resorption der verflüssigten Tumormassen nicht zu stürmisch vor sich geht. Merkt man also unter der Behandlung mit der Maximaldosis eine zu schnelle Resorption, so ist es ratsam, mit der Dosis etwas herunter zu gehen, ja eventuell 24 Stunden auszusetzen. Erreicht man, daß die Versuchstiere dieses Stadium der Resorption überstehen, so tritt unter fortgesetzter Behandlung nach vollendeter Resorption die Heilung ein.

Es ist bei der Toxizität des Präparates und bei der Schwie-

rigkeit der Behandlung nicht verwunderlich, daß es mir anfangs nur in 1—2%, erst später in 6—8% gelang, Heilungen zu erzielen. Man wird deshalb auch schon bei dem Befund, daß sich die Tumormassen verflüssigen und resorbiert werden, zu der Annahme berechtigt sein, daß das Präparat für die Behandlung brauchbar ist und eine Heilkraft besitzt.

Um eine Vorstellung von dem Gang eines solchen Heilver-suches zu geben, führe ich in Tabelle 3 ein Protokoll an, aus dem sich alles Weitere ergibt.

**Tabelle III.**

Protokoll einer mit Eosin-Selenvanadium (s. Tab. II) behandelten Tumormaus (20 g). Tumor walnußgroß. Maximale Dosis der Eosin-Selenmischung 1,0 ccm, Gebrauchs-dosis 0,8 ccm.

Tag.	Zahl der i. v. Injektionen.	Dosierung.	Befinden des Tieres vor der Injektion.	Befund des Tumors vor der Injektion.
6. VI.	I.	0,8 ccm	munter	walnußgroß, hart, höckrig
7. VI.	—	—	gesträubtes Fell, schwach rot gefärbt, Urin noch rot	idem
8. VI.	II.	0,6 ccm	munter, ungefärbt	idem
9. VI.	III.	0,5 ccm	munter, Urinschwachrot	idem
10. VI.	—	—	munter	Oberfläche des Tumors ödematös
11. VI.	IV.	0,8 ccm	munter	idem
12. VI.	—	—	leicht krank, Urin rot	Tumor weich
13. VI.	V.	0,8 ccm	munter	Erweichung stärker Tumor knetbar
14. VI.	VI.	0,6 ccm	munter, Urin schwach rot	Tumor cystisch, prall fluktuierend
15. VI.	—	—	munter	idem
16. VI.	VII.	0,6 ccm	munter	beginnende Resorption, Cyste weniger prall
17. VI.	—	—	krank, gesträubtes Fell, verklebte Augen	idem
18. VI.	—	—	idem	idem
19. VI.	VIII.	0,4 ccm	Befinden gebessert, frißt gut	idem
20. VI.	IX.	0,4 ccm	leicht krank	Schlaffer Sack
21. VI.	—	—	idem	idem
22. VI.	—	—	munter	idem

Tag.	Zahl der i. v. In- jektionen.	Dosierung.	Befinden des Tieres vor der Injektion.	Befund des Tumors vor der Injektion.
23. VI.	X.	0,8 ccm	munter	Leerer Sack, nur ver- einzelte frei bewegliche Brocken noch fühlbar
24. VI.	XI.	0,6 ccm	leicht krank	idem
25. VI.	—	—	idem	idem
26. VI.	—	—	idem	idem
27. VI.	—	—	munter	Leerer Sack, nur noch Kapsel fühlbar
28. VI.	XII.	0,8 ccm	munter	idem
29. VI.	—	—	sehr krank, rötlich ge- färbt, frißt schlecht,	idem
30. VI.	—	—	idem	idem
1. VII.	—	—	idem, Maus kalt	idem
3. VII.	—	—	gestorben	Sektion: Tumor nicht mehr vorhanden, nur ver- dickte Kapselwandung und vereinzelte nekro- tische Tumorbröckel; siehe Tafel.

Aus dem vorstehenden Protokoll ist die Bestätigung dessen, was oben ausgeführt ist, zu sehen. Es ist die Behandlung mit der pro Gramm Maus bestimmten maximalen Gebrauchsdosis ausgeführt und zwar je nach dem Befinden mit den ganzen oder kleineren Dosen. Dieses Beispiel wird zur Illustration des oben ausgeführten genügen. Ich kann es mir ersparen, auf weitere Einzelheiten einzugehen, insbesondere auf die der Rezidive, der für die Behandlung geeigneten Entwicklungsstadien der subkutanen Tumoren, der Spontantumoren u. a., auf die v. Wassermann in der früheren Arbeit bereits hingewiesen hat. Betont sei hier nur nochmals das Ergebnis der obigen Versuchsreihe, daß es durch Mischung von intensiv und schnell-färbendem Eosin mit Selenvanadium in gleicher Weise wie mit einer chemischen Eosin-Selenverbindung gelingt, subkutane Tumoren von der Blutbahn aus zu beeinflussen.

Mit der Feststellung dieser Tatsache war es gegeben, tiefer in das Problem der Geschwulstbehandlung einzudringen. Eine der wichtigsten Fragen war es zunächst, zu eruieren, ob es mit dem Eosin-Selen sowohl wie mit den anderen von Neuberg und Caspari, Werner und Szécsi angegebenen Präparaten gelingt, nicht

nur subkutane Mäusegeschwülste, sondern auch in den Organen vorkommende Tumoren im gleichen Sinne zu beeinflussen.

War schon häufig die Beobachtung gemacht worden, daß bei subkutanen Impfungen zuweilen Metastasen in den Organen vorkommen, war ferner auch der Nachweis erbracht, daß die metastatischen Organtumoren ein infiltratives Wachstum besitzen im Gegensatz zu dem nicht infiltrativen Wachstum der subkutanen Tumoren, so war der Gedanke naheliegend, das Verhalten der infiltrativ wachsenden Tumoren für die experimentellen und therapeutischen Versuche nutzbar zu machen. Diesem Gedanken hat C. Lewin schon gelegentlich Ausdruck gegeben. Eine Ausführung dieses Gedankens war indes nicht möglich, weil es einerseits nicht gelang, bei subkutanen Impfungen regelmäßig metastatische Tumoren in den Organen zu erzielen, weil andererseits bei therapeutischer Verwertung bekannt sein mußte, in welchen Organen solche Metastasen vorhanden waren, um Mißdeutungen bezüglich therapeutischer Versuche auszuschließen.

Von anderen Gesichtspunkten ausgehend sind nun von anderer Seite schon Versuche angestellt worden, um Organtumoren durch direktes Einbringen des Impfmateri als in dieselben zu erzielen. Solche Versuche sind von Isaak Lewin, ferner von H. Citron unternommen worden. Von ersterem zum Studium der Immunisierungsvorgänge, von letzterem zur Feststellung der Veränderungen des Magensaftes bei Magentumoren der Mäuse. Schließlich stellte noch C. Lewin derartige Versuche an, um die Angabe von Hansemann, daß den Mäusetumoren jeglicher Vergleich mit den menschlichen Geschwülsten fehle, zu widerlegen.

Die bisher übliche Methode, die subkutanen Impftumoren in Passagen weiterzuzüchten, bestand in einer Transplantation der Tumorgewebsstücke oder eines dicken Tumorbreies. Wenn mit dieser Methode der Versuch gemacht wurde, sei es direkt oder mit Hilfe von Kapillaren und Fremdkörpern, dieses soeben geschilderte Verfahren zu verwenden, um das Impfmateri al direkt in die Organe zu bringen, so ist es zwar in einem geringen Prozentsatze geglückt, in Organen Impftumoren zu erzielen, doch war es nicht möglich, diese Impftumoren regelmäßig und lokalisiert zu erzielen, um sie zu therapeutischen Zwecken verwenden zu können. Es ist ja erklärlich, daß bei solchen groben mechanischen Eingriffen der größte Teil der Versuchstiere an den Folgen eingehen mußte, ferner ist zu berücksichtigen, daß mit den bisher üblichen Methoden auch eine streng lokalisierte

Impfung nicht möglich ist. Es scheint gerade deshalb die Entscheidung der Frage über das Verhalten primärer Impftumoren nicht in absolut einwandfreier Weise möglich zu sein, da die Einwendung berechtigt ist, ob der vorliegende Tumor wirklich der primäre oder ein sekundärer metastatisch entstandener Tumor ist, ganz abgesehen davon, daß bei gleichzeitiger Einführung von Fremdkörpern der Einwand einer Granulationsgeschwulst, bedingt durch den Reiz des Fremdkörpers, keine einwandfreie und eindeutige Erklärung zuläßt.

Um zu therapeutischen Zwecken infiltrierend wachsende Organumoren zu erzielen, ferner, um den Beweis zu erbringen, daß nicht nur metastatische, sondern auch primär in Organen wachsende Impftumoren ein infiltratives Wachstum besitzen, war es natürlich nicht möglich, mit der bisher üblichen Methode der Transplantation von Tumorgewebsstücken oder Injektion eines dicken unverdünnten Tumorbreies mit dicker Kanüle die Impfung in Organe auszuführen. Nach langwierigen Versuchen ist es mir dann geglückt, eine Methode auszuarbeiten, die den gestellten Anforderungen in jeder Weise genügt, um infiltrativ wachsende Organumoren für experimentell therapeutische Versuche nutzbar zu machen. Ich wich von der bisherigen Impfmethode ab, indem ich mich sehr dünner Emulsionen, die durch haarfeine Kanülen durchgängig waren, bediente entgegen der geltenden Anschauung.

Ich gehe nun zunächst dazu über, die Methode zu beschreiben, nach der Impfung mit dieser Tumoremulsion in Organe vorzunehmen ist. Es gilt für sämtliche Organinjektionen, daß 1—3 Tropfen der dünnen Emulsion in das betreffende Organ injiziert werden.

Bei Impfungen in Hoden und Leber wurde diese dünne Emulsion durch die Haut hindurch in die betreffenden Organe injiziert. Der Hoden läßt sich bei Mäusen leicht aus der Bauchhöhle herausdrücken und mit 2 Fingern fixieren.

Bei Leberimpfungen benutzte ich gebogene Kanülen, die durch die Haut am unteren Rippenbogenrande, nahe an der Wirbelsäule, eingeführt wurde. Durch Senkung und Drehung der Spritze nach abwärts ließ sich erzielen, daß die Impfung in die Hauptmasse der Leber, und zwar in den rechten oberen Leberlappen gelangte. Um Infektionen zu vermeiden, ist es indiziert vor Einstich der Kanüle, die von Haaren entblößte Hautpartie mit Jodtinktur zu desinfizieren.

Auch die Impfung in die Niere gelingt bei einiger Übung ohne operativen Eingriff. Die Maus wird gestreckt gehalten. Mit der

linken Hand kann man die Niere zwischen Zeigefinger und Daumen aus der Bauchhöhle so herausdrücken, daß sie unterhalb des Rippenbogens dicht unter der Rückenmuskulatur zu liegen kommt. Man muß nun entweder durch die enthaarte und desinfizierte Haut die Kanüle direkt in das Nierengewebe einführen oder die Haut über der vorgedrückten Niere mit einem Scherenschlag spalten, so daß man unter Augenkontrolle die Injektion in die Niere vornehmen kann.

Bei Impfung in die Milz ist es erforderlich, die Maus aufzuspannen und in der linken oberen Bauchgegend die Haut zu spalten. Durch die Hautmuskulatur sieht man dann deutlich die Milz hindurchschimmern, die mit stumpfer Pinzette fixiert wird. In dieser Lage wird dann die Injektion vorgenommen.

Bei Impfungen in Darm und Magen ist es nötig, die Bauchhöhle zu eröffnen und Darm, resp. Magen aus der Öffnung vorzuziehen, um dann unter die Serosa die Emulsion einzuspritzen.

Die Impfung in das Gehirn geschieht in der Weise, daß der Kopf der Maus mit der linken Hand fixiert und die Kanüle dann durch Haut und Schädeldach direkt eingebohrt wird.

Bei Impfungen in das Auge wird die Maus fixiert. Durch Auseinanderziehen der Lidränder springt der Bulbus aus der Augenhöhle hervor. Um Blutungen zu vermeiden, wird die Kanüle in die hintere Wand des Bulbus eingestochen.

Bei Impfungen in die Schilddrüse ist es notwendig, die Haut des Halses nach Streckung des Kopfes quer zu spalten. Es springen dann die Schilddrüsenlappen in die Schnittwunde hervor, dieselben werden mit einer Pinzette fixiert und dann die Injektion vorgenommen.

So kann auch die Impfung in die Zunge, die Schleimhäute und in die Beinmuskulatur direkt vorgenommen werden.

Zu therapeutischen Zwecken, sowohl zu Bestrahlung mit Mesothorium und Radium wie zu chemotherapeutischen Versuchen, bei denen es womöglich darauf ankommt, die Organumoren dem Gefühl oder dem Auge zugänglich zu machen, hat sich mir eine Methode sehr brauchbar erwiesen, die ich auch besonders zur Erlernung der Organimpfungen empfehlen möchte. Diese Methode besteht darin, daß die Organe aus der Körperhöhle heraus unter die Haut gelagert werden, besonders bei Milz und Niere. Die Tiere werden auf den Bauch aufgespannt und die Rückenhaut nach Alkoholdesinfektion des Schnittbereiches mittels eines bogenförmigen Schnit-

tes von der Muskulatur zurückpräpariert. Durch einen horizontalen Schnitt durch die Rückenmuskulatur, etwas unterhalb des Rippenbogens wird die Bauchhöhle eröffnet. Aus dieser Öffnung läßt sich die Niere, resp. die Milz leicht mittels einer stumpfen Pinzette hervorziehen. Die so vorgelagerten Organe bleiben unter der Haut auch ohne Befestigung durch Naht fixiert, da der Querschnitt verhindert, daß die längsgestellten Organe in die Bauchhöhle zurückschlüpfen. Nach Vorlagerung dieser Organe wird mittels feinsten Kanüle die dünne Karzinomemulsion injiziert. Man muß sich dabei hüten, unter zu großem Druck oder in zu großer Menge einzuspritzen, da die Tiere sonst sterben. Es genügt vollkommen, 1—2 Tropfen in das Gewebe einzubringen, um ein Angehen des Tumors zu erzielen. Die Hautwunde wird durch fortlaufende Seidennaht geschlossen.

Ich möchte noch besonders auf die Bedeutung der Augenimpfung hinweisen. In dem Auge haben wir gleichsam einen für sich abgeschlossenen Organismus. Die Eiweißnatur des Glaskörpers gehört zu den niederen und einfachen Proteinen, denen eine Spezifität nicht zukommt, wie sie sämtliche andere aus zusammengesetzten Eiweißarten bestehenden Gewebe und Organe besitzen. In den im Glaskörper eingeschlossenen Eiweißkörpern sind artspezifische Stoffe oder Schutzstoffe irgendwelcher Art sowohl bakterizide wie opsonische nicht oder nur in ganz minimalen Spuren nachweisbar. Wir können also bei Impfungen in das Auge, vor allem heterologen Tumorimpfungen Aufklärung darüber erlangen, ob es spezifische Stoffe sind, die ein Angehen des Tumors verhindern, resp. Versuche darüber anstellen, ob es durch Ausschaltung dieser Schutzstoffe, wie wir es bei Augenimpfungen tun, gelingt, ein Angehen tierfremder Tumoren zu erzielen. Es ist, wie bemerkt, beim Auge die Art der Impfung von großer Bedeutung. Es muß vor allem vermieden werden, Blutgefäße zu verletzen, wodurch künstlich die Flüssigkeit des Auges mit den aus dem Blut stammenden Schutzstoffen angereichert würde.

Bei der Impfung kommt es nicht nur darauf an, Blutungen zu vermeiden, sondern auch festzustellen, ob die Impfung in die Vorderkammer oder in den Glaskörper bessere Resultate zeitigt, ferner welche Bedeutung der Linse oder den verschiedenen inneren Schichten der Bulbuswandung bei eventueller Verletzung zukommt. Fragen, die Hand in Hand mit den pathologisch-anatomischen Untersuchungen so schwierig zu entscheiden sind, daß mir die Mitarbeit

eines Augenspezialisten geboten schien. Herr Dr. Hegner, Privatdozent an der Universitätsaugenklinik Jena, hat in liebenswürdigster Weise diesem meinem Ersuchen entsprochen und die Bearbeitung der oben gestellten Fragen übernommen, über die er nach Abschluß berichten wird.

Neben der Bedeutung, die der Augenimpfung zukommt, bietet diese gleichzeitig den Vorteil, daß man die Entwicklung des Tumors in allen Phasen genau verfolgen kann.

Die Organimpfungen an Mäusen sind mit den mir vom Heidelberger Krebsinstitut in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellten oben erwähnten Mäusegeschwulststämmen, einem Karzinom-, einem Adenokarzinom- und einem Sarkomstamm ausgeführt worden. Bei sämtlichen Stämmen gelang es, mittels der angegebenen Methode in den Organen infiltriert wachsende Geschwülste zu erzielen. Einen Unterschied zwischen dem Angehen der Organumoren bei Impfung mit dünnen Emulsionen und der subkutanen Tumoren bei Impfung mit dickem zerstampftem Tumorbrei konnte ich, nachdem ich die Methode vollkommen beherrschte, nicht feststellen, dabei dürfte die Mitteilung interessieren, daß subkutane Impfungen mit dünnen Emulsionen nicht oder nur selten, wenigstens wenn sie mit der gleich geringen Menge ausgeführt wurden zur Tumorentwicklung führten, während bei Organimpfungen, soweit ein eingreifender operativer Eingriff nicht nötig war, mit den gleichdünnen Emulsionen in 70—80 % Tumoren auftraten, d. i. ungefähr in demselben Prozentsatz, in dem bei subkutanen Impfungen mit unverdünntem Tumorbrei ein Wachstum der subkutanen Geschwülste erzielt wurde.

Diese so entstandenen Organumoren zeigten ein deutlich infiltratives Wachstum. 14 Tage bis 3 Wochen vergingen bis zur Entwicklung von kirschkerngroßen Geschwülsten. Meistens blieben dieselben auch noch bei der Weiterentwicklung vollkommen in dem betreffenden Organ isoliert. Erst später, nach 4—5 Wochen metastasierten die Tumoren, sich selbst überlassen, in anderen Organen, vor allem in den benachbarten Organen sowie in der Lunge.

Wie erwähnt, lassen sich die Augentumoren in allen Phasen der Entwicklung verfolgen. Mehrere Tage nach der Impfung bieten dieselben zunächst das Bild eines Kataraktes. Man kann dann deutlich verfolgen, wie sich der Tumor vaskularisiert. Dies ist das erste Zeichen des Wachstums, das bald eine Vorwölbung des Bulbus bedingt. Nach 3—4 Wochen durchbricht der Tumor den

Bulbus und wächst infiltrierend in die Muskulatur und Haut der ganzen Gesichtshälfte. Erwähnen möchte ich noch, daß ich mit den dünnen Emulsionen ebenfalls Impfungen in die Blutbahn bei Mäusen vorgenommen habe. Obwohl ein Teil der Tiere die Injektion monatelang überlebte, kam es nie zu einer Tumorbildung. Friedberger hat allerdings kürzlich erfolgreiche Versuche vom Blutwege aus Tumoren bei Mäusen zu erzielen, veröffentlicht, ob diese verschiedenen Befunde in der Verschiedenheit der Tumorstämme oder an der Menge oder Verdünnung der injizierten Emulsion liegen, kann ich vorläufig nicht entscheiden. Jedenfalls scheinen der Methode, von der Blutbahn aus Tumoren zu erzielen, keine konstanten Ergebnisse zuzukommen, daß also, abgesehen von der großen Mortalitätsziffer bei der intravenösen Impfung der Prozentsatz, der zur Entwicklung gelangenden Tumoren, worüber Friedberger in seiner kasuistischen Mitteilung gelegentlich eines Vortrages noch keine näheren Angaben gemacht hat, nur ein geringer ist.

In meiner in der Wiener klinischen Wochenschrift erschienenen vorläufigen Mitteilung habe ich bereits erwähnt, daß ich diese Methode zum Studium einiger Fragen ätiologischer Natur, sowie der Übertragung menschlicher Tumoren auf Tiere benutzt habe. Ich habe daselbst angeführt, daß es mir gelungen ist, mit zellfreiem Aszites von Mäusen, der sich infolge eines großen Lebertumors gebildet hatte, bei Weiterimpfung in Organe normaler Mäuse in diesen Tumoren erzielt habe (auch mit diesem Material vermochte ich von der Blutbahn aus keine Tumoren zu erzielen), daß es andererseits in einem geringen Prozentsatz gelang, Mäusetumoren, sowie menschliche auf Ratten zu übertragen. Ich werde erst nach Abschluß dieser Versuche auf dieselben in einer besonderen Arbeit näher eingehen. Ich füge heute nur einige Abbildungen derartig gewonnener Tumoren bei, und zwar einmal Tumoren, die mit zellfreiem Aszites von Mäusen erzielt sind, 2. die an Ratten erzielten, die mit menschlichem Material geimpft waren (die Tafel gibt eine Abbildung eines solchen Augentumores einer Ratte, der durch Impfung mit einer dünnen Emulsion eines vom Menschen stammenden Sarkoms entstanden ist. Die Möglichkeit eines Irrtums oder einer Verwechslung mit einem von einem Rattentumor auf das Auge der Ratte erzeugten Geschwulst, die bei Arbeiten in umfangreichem Maßstabe durch Unachtsamkeit des Wartepersonals ja vorkommen könnte, ist im vorliegenden Fall mit absoluter Sicherheit auszuschlie-

Ben, da mir zu der Zeit ein Rattentumorstamm überhaupt nicht zur Verfügung gestanden hatte).

Aus äußeren und technischen Gründen kann ich ebenfalls hier nicht an Hand von Abbildungen näher auf die histologischen Befunde eingehen. Auch diese mögen einer späteren Arbeit vorbehalten sein. Ich kann das um so eher als bereits von Lewin an Hand von Abbildungen dargetan ist, daß in Organen wachsende Tumoren ein infiltratives Verhalten zeigen und gegenüber den subkutanen Tumoren ein gleiches Verhalten wie die menschlichen aufweisen.

Durch diese oben erwähnte Impfmethode war also, um dies nochmals kurz zusammenzufassen, festgestellt, daß die Impftumoren in Organen in der ersten Zeit eine streng lokalisierte Entwicklung zeigten und daß diese primären Organtumoren ein infiltratives Wachstum besitzen. Außerdem war durch die Impfausbeute möglich geworden, in bestimmten Organen ohne große Impfvverluste Serien von Organtumoren zu erzielen, die sich für therapeutische Zwecke verwenden ließen. Bei einiger Übung ist die Methode auch nicht zeitraubender als die subkutane Übertragung.

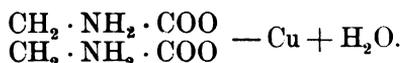
Wie bereits oben angedeutet, ist es allerdings nur möglich, bei bestimmten Organtumoren diese Versuchsreihen zu erhalten, nämlich bei denen, bei welchen größere operative Eingriffe unnötig waren. 80—90 % Impfausbeute gaben nur die Tumoren der Leber, der Niere, des Hodens, der Beinmuskulatur und der Augen. Etwas geringer war die Ausbeute bei Milztumoren. Die gleiche Ausbeute zeigte dagegen auch die Impfung bei vorgelagerten Milzen und Nieren. Bei den anderen Organen war, da größere operative oder schwere Eingriffe nötig wurden, die Impfausbeute deshalb geringer, weil im Anschluß an die Impfung die Mortalität eine große war.

Um die oben erwähnten Zahlen zu erreichen, bedarf es natürlich der Erlangung einer gewissen Technik. Die beigefügten Tafeln mögen eine Vorstellung der infiltrierenden Tumoren der Organe in situ sowohl wie der vorgelagerten Organe geben.

Nachdem es also gelungen war, infiltrativ wachsende Organtumoren in einer Impfausbeute zu erhalten, die den therapeutischen Versuchen zugänglich waren, ging ich daran festzustellen, wie die Präparate, die an subkutanen Mäusetumoren sich wirksam erwiesen, sich gegenüber den infiltrativ wachsenden Organtumoren verhalten.

Um hierüber sicheren Aufschluß zu erhalten, wählte ich nicht nur das Eosin-Selenpräparat, über dessen Heilwirkung ich oben berichtete, sondern auch die Präparate von Neuberg und Caspari

und von Werner und Szécsi. Der Liebenswürdigkeit der Herren Werner und Szécsi habe ich es zu verdanken, daß mir die Originalpräparate des Borcholin-Selenvanadiums vom Heidelberger Krebsinstitut zur Verfügung gestellt wurden. Von Neubergs komplexen organischen Metallverbindungen stand mir ein von dem chemischen Assistenten des Herrn Geh. Rat Knorr, Herrn Dr. Weyland angefertigtes Glykokoll-Kupferpräparat zur Verfügung. Demselben kam folgende chemische Struktur zu:



Dieses Präparat ist im Wasser ohne Zersetzung leicht löslich und enthält der Formel entsprechend 27,679% Cu.

Einer brieflichen Mitteilung des Herrn Prof. Neuberg zufolge ist dieses Glykokoll-Kupferpräparat obiger Formel dem von Neuberg hergestellten gleichnamigen Präparat identisch.

Zunächst wählte ich für die Versuche Organtumoren, die bereits ausgebildet waren, deren Alter vom Tage der Impfung ab zirka 3 Wochen betrug. In diesem Fall ist, wie bereits erwähnt, die Tumorbildung noch lokal beschränkt auf das Organ, in welches die Impfung vorgenommen ist. Es wurde zur Kontrolle die gleiche Zahl von Organtumoren gewählt, um die Lebensdauer der in Behandlung begriffenen und der unbehandelten Tiere vergleichen zu können, ferner um die Ausdehnung und Größe der in Organe geimpften Tumoren bei den behandelten und unbehandelten Tieren annähernd vergleichen zu können und auf ihre Verschiedenheit hinsichtlich ihrer Metastasenbildung prüfen zu können. In einer weiteren Kontrollreihe wurden ausgebildete subkutane, durchschnittlich kirschgroße Tumoren (gleichfalls 3 Wochen nach der Impfung) mit den gleichen Präparaten behandelt, um die Wirksamkeit derselben an diesen festzustellen. Zunächst wurden erst Versuchsreihen mit dem Glykokoll-Kupferpräparat von Neuberg, ferner mit dem mir in liebenswürdiger Weise von Werner und Szécsi zur Verfügung gestellten Borcholin-Selenvanadium an subkutanen Mäusetumoren ausgeführt.

Bezüglich des Glykokoll-Kupferpräparates sei erwähnt, daß 0,1 g mit 10 ccm destilliertem Wasser sich unter leichtem Erwärmen vollständig löste. Beim Erkalten fiel aus der Lösung ein Niederschlag aus. Es wurde so vorgegangen, daß das Präparat in der obigen Weise unter Erwärmen zunächst gelöst wurde und in der Wärme noch weitere Verdünnungen mit physiologischer Kochsalz-

lösung angesetzt wurden. Diese blieben klar und fielen auch in der Kälte nicht aus. Die maximale Dosis des Präparates pro Gramm Maus betrug 0,02 mg.

Bezüglich des von Werner und Szécsi benutzten und mir zur Verfügung gestellten Präparates, des Borcholin-Selenvanadiums hielt ich mich genau an die mir von Herrn Dr. Szécsi angegebenen Gebrauchsdosis, wie sie sich diesem Autor als am gebrauchsfähigsten erwiesen hatte, und zwar: 0,5% Borcholinlösung zu gleichen Teilen mit Selenvanadium, davon 0,2 bis 0,3 ccm.

Die Versuche mit Glykokoll-Kupfer, ferner Borcholin-Selenvanadium ergaben eine deutliche Heilwirkung der subkutanen Tumoren, ähnlich der oben beschriebenen nach dem Wassermannschen Verfahren angestellten therapeutischen Versuche. Es konnte also auch bei diesen Präparaten nach zirka 4 Injektionen eine Erweichung mit nachfolgender Verflüssigung der subkutanen Tumoren konstatiert werden.

Mit diesen Präparaten, die also bei intravenöser Applikation deutlich eine Beeinflussung subkutaner Mäusegeschwülste erkennen ließen, wurden sodann Heilversuche an infiltrierend wachsenden Organtumoren vorgenommen. Die weitgehenden makroskopisch sichtbaren Unterschiede zwischen subkutanen und Organtumoren seien hier in der Reihenfolge der im Laufe der Behandlung sich zeigenden augenfälligen Symptome angeführt.

Äußerte sich bei den subkutanen Mäusetumoren unter der therapeutischen Behandlung die erste Reaktion in einer ausgesprochenen Hyperämie der Tumorgefäße, so zeigten die Gefäße der Organtumoren schon in diesem Punkte ein völlig abweichendes Verhalten nach den ersten Injektionen sowohl von Eosin-Selenvanadium wie von Glykokoll-Kupfer, wie von Borcholin-Selenvanadium. Weder bei den zu den Versuchen gewählten Tumoren der Leber und Niere, noch bei denen der Beinmuskulatur trat eine Hyperämie der Tumorgefäße auf, geschweige denn eine Hämorrhagie derselben bei späteren Injektionen, wie solche bei subkutanen Tumoren bemerkbar ist. Auch in dem färberischen Verhalten dem Eosin-Selenpräparat gegenüber war ein Unterschied zu sehen. Die Rötung des Tumorgewebes entsprach in ihrer Intensität dem der übrigen Gewebe und Organe der Maus und verschwand ebenso schnell wieder aus dem Tumor wie aus den Geweben. Von einer Retention des Farbstoffes, wie dies bei subkutanen Tumoren der Fall ist, war keine Rede, auch änderte sich das Bild nicht, wenn mehrere Injek-

tionen gegeben wurden. Der Tumor zeigte zwar schwach rosa Färbung der Randpartien, daß eine diffuse intensiv rote Färbung des Tumorgewebes eintrat, bedingt durch Summation, konnte niemals beobachtet werden, abgesehen von den Fällen, in denen die Tiere kurz nach der Injektion starben und sämtliche Organe eine intensive Rotfärbung aufwiesen. Also bei den Eosinpräparaten war makroskopisch ein besonderes Verhalten der Tumorzellen der in Organen infiltriert wachsenden Tumoren gegenüber den anderen Geweben nicht vorhanden.

Weiterhin war ein auffallender Unterschied zwischen subkutanen Tumoren und Organtumoren bezüglich des Verhaltens der Konsistenz zu beobachten. Trat bei den subkutanen Geschwülden nach 3—4 intravenösen Injektionen eine Erweichung ein, die sich nach weiter vorgenommenen Injektionen derart steigerte, daß das Tumorgewebe in eine Flüssigkeit, resp. dünne breiige Masse umgewandelt wurde, so wurde dies bei Organtumoren niemals beobachtet. Die Tumoren behielten ihre Konsistenz, in der sie von denen der Kontrolltiere nicht abwichen.

Bezüglich des therapeutischen Effektes verhielten sich die infiltrativ wachsenden Organtumoren ebenfalls anders als die subkutanen. Wurden die letzteren erweicht und verflüssigt und unter Umständen geheilt, so war ein solcher Effekt bei den Organtumoren nicht zu konstatieren. Es trat aber auch keine Beeinflussung in der Entwicklung der Organtumoren ein. Es konnte weder ein Stillstand, noch eine Verzögerung im Wachstum derselben beobachtet werden, vielmehr verhielten sie sich in ihrer Weiterentwicklung ebenso wie die der Kontrolltiere. Die beim Beginn der Behandlung noch auf ein Organ lokalisierten Tumoren durchsetzten dieses vollkommen, durchbrachen dasselbe und bildeten Metastasen, an denen die Tiere schon während oder bald nach der Behandlung eingingen. Es ist somit auch nicht verwunderlich, daß mikroskopisch eine Beeinflussung der Tumorzellen der Organe nicht zu beobachten war, es konnten niemals die an subkutanen therapeutisch beeinflussten Tumoren histologisch erkennbaren Veränderungen wahrgenommen werden.

Es gelten diese Beobachtungen für die sämtlichen Präparate, also sowohl für das Eosin-Selen nach von Wassermann, wie für die komplexen organischen Metallverbindungen, insbesondere des Glykokoll-Kupfers von Neuberg, wie auch für das Borcholin-Selenvanadium von Werner. Es gelten fernerhin diese Befunde

für die in den verschiedensten Organen wuchernden Tumoren, schließlich auch für sämtliche mir zur Verfügung stehenden Tumorstämme, also Karzinom, Adenokarzinom- und Sarkom von Mäusen.

Diese auffälligen Befunde, daß sich die subkutanen Tumoren therapeutisch anders verhalten als die Organtumoren, machen es erforderlich, die Frage genauer zu analysieren, worin eine derart merkwürdige Erscheinung ihre Erklärung findet, eine Frage, die unbedingt der Aufklärung bedarf, wollte man weiterhin zur Auswertung therapeutischer Heilmittel im Tierversuch zu einem Resultat gelangen.

Eine Handhabe dazu bot zunächst ein Eingehen auf die verschiedenartigen Prinzipie, nach denen von den einzelnen Autoren eine Heilung subkutaner Mäusetumoren auf chemotherapeutischem Wege angestrebt und erzielt wurde.

Wassermann sieht die Wirksamkeit des Eosin-Selenpräparates auf Tumorzellen in einer spezifisch kernzerstörenden Wirkung des Selens, dem das Eosin die Schienen bildet, um in den Tumor zu gelangen.

Nach Neuberg kommt den komplexen organischen Metallverbindungen die Eigenschaft zu, den normalerweise in dem Tumor vor sich gehenden autolytischen Prozeß zu steigern. Er sieht in der Steigerung desselben die Erklärung für die Heilwirkung der erwähnten Präparate.

Das Heilprinzip des von Werner angegebenen Cholins beruht auf einer chemischen Imitation der Wirkung von Radium- und Röntgenstrahlen. Zur Beschleunigung dieses Effektes bedient sich Werner der Kombination des Cholins mit einem kolloidalem Metall, nämlich dem Selenvanadium, dem wiederum nach Neuberg eine Steigerung des autolytischen Vorganges zukommt.

Wenn wirklich das Selen nach Wassermanns Annahme eine zellzerstörende Eigenschaft besitzt, so war anzunehmen, daß auch in vitro eine Abtötung der Tumorzellen durch Einwirkung des Selens stattfinden würde, um so mehr, da ja Wassermann seinen Versuchsplan auf die in vitro gemachten Beobachtung hin aufbaute, nämlich, daß lebende Karzinomzellen aus einer selennatriumhaltigen klaren Lösung das Selen als rötliches Metall reduzieren, so daß es in dieser Form in den Kernen der Karzinomzellen abgelagert wird.

Es wurden nun in vitro Versuche angestellt, um zu eruieren, ob wirklich durch das Eosin-Selen eine Abtötung der Karzinomzellen

in vitro erfolgt. Der Versuch wurde in der Weise angestellt, daß einmal das von den subkutanen Mäusetumoren stammende Impfmateriale als dicker Brei mit dem Eosin-Selenvanadium versetzt wurde, und zwar einmal mit der für die Mäuse maximalen Dosis des betr. Präparates, dann mit der 2- und 3fachen i. v. tödlichen Dosis. In dieser Verdünnung fand eine Einwirkung des Eosin-Selenvanadiums auf das Impfmateriale in verschieden langer Zeit statt, nach dem die ganze Menge des für eine Impfung bestimmten Impfmateriale mit der betreffenden, das therapeutische Agens enthaltenden Flüssigkeit gemischt und verrührt wurde. Hatte die Einwirkung 1—3 Stunden auf das Impfmateriale stattgefunden, so wurde das Impfmateriale mitsamt der Lösung des Eosin-Selenvanadiums einer Maus subkutan resp. intraperitoneal injiziert. Der Effekt war der, daß in sämtlichen Fällen bei den mit diesem so behandelten Impfmateriale geimpften Mäusen eine Tumorentwicklung stattfand, die sich in nichts von einer solchen durch unbehandeltes Impfmateriale erzielten unterschied. Es hatte also das Eosin-Selenvanadium die Tumorzellen, resp. das Karzinomvirus nicht im geringsten beeinflußt oder in seiner Entwicklungsfähigkeit beeinträchtigt. Die gleichen Beobachtungen waren im Verhalten der von Neuberg und Werner angegebenen Präparate zu machen. Auch diesem kam in vitro eine zellzerstörende Wirkung nicht zu.

Hatte nach diesen Befunden die Theorie von Wassermann über die therapeutische Wirkung des Selens wenig Wahrscheinlichkeit, so galt es weiterhin, Klarheit über die von Neuberg aufgestellte Hypothese zu gewinnen, daß eine Steigerung des autolytischen Vorganges durch die Behandlung mit organischen komplexen Metallverbindungen stattfindet und daß diesem autolytischen Prozeß eine Heilwirkung zukommt.

Diese Hypothese Neubergs hat zur Voraussetzung, daß ein autolytischer Prozeß einen Heilvorgang bedeutet. Wäre dies der Fall, so hätte man erwarten dürfen, daß die im Stadium der Autolyse sich befindenden subkutanen Mäusetumoren bereits ein abgestorbenes Geschwulstmateriale darstellen, daß also auf therapeutischem Wege verflüssigte Tumoren nicht mehr die Eigenschaft besitzen, bei Übertragung auf normale und gesunde Mäuse die Entwicklung neuer Tumoren zu veranlassen.

Um diese Frage festzustellen, ging ich in der Weise vor, daß ich die auf therapeutischem Wege, und zwar nach allen 3 oben erwähnten Methoden verflüssigten Tumoren mittels Pravaspitze

punktierte und nun die Flüssigkeit in derselben aufzog, um sie dann in Organe gesunder Mäuse zu impfen. Der Erfolg war der, daß bei sämtlichen so geimpften Mäusen eine Tumorentwicklung stattfand, die allerdings bei subkutaner Impfung nicht eintrat, wohl aus dem Grund, weil, wie schon oben betont, die subkutane Impfmethode bei Verwendung dünner Emulsionen versagt, während hierfür die Organe einen viel günstigeren Nährboden darstellen. Der zu der Impfung benutzte, während der Behandlung verflüssigte Tumor wurde einerseits bald nach Eintritt der Verflüssigung nach 4—5 Injektionen entnommen, teils nach längerer fortgesetzter Behandlung, also nach 8—10 intravenösen Injektionen.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe, die wiederum mit den 3 Heilpräparaten vorgenommen worden war, läßt eindeutig den Schluß zu, daß die unter der Behandlung verflüssigten Tumoren kein abgetötetes Geschwulstmaterial darstellen, vielmehr noch ein lebensfähiges Virus enthalten, das bei Verimpfen auf normale Mäuse zur Ausbildung von Tumoren befähigt ist, mit anderen Worten, der autolytische Vorgang in den subkutanen Mäusetumoren stellt keinen Heilvorgang dar.

War dieser Schluß richtig, so mußte sich der Beweis hierfür auch noch in anderer Richtung erbringen lassen. Die schon in jedem normalen Tumor sich abspielenden autolytischen Prozesse sind naturgemäß um so mehr ausgesprochen, je größer, resp. älter ein Tumor ist. Es ist also verständlich, daß autolytische Prozesse leichter auszulösen und durch geeignete Chemikalien beträchtlich zu steigern sind im bereits ausgebildeten und zu einer gewissen Größe entwickelten Tumor, daß in kleinen und kleinsten Tumoren dieser autolytische Prozeß, im Beginn der Entwicklung derselben wenigstens, nur in sehr beschränktem Maße, wenn überhaupt vorhanden ist. Aus dieser Überzeugung heraus war es gegeben zu versuchen, ob auch subkutane Impftumoren bald nach ihrer Impfung, resp. im ersten Beginn ihrer Entwicklung auf die Mittel reagieren, denen Neuberg autolysehemmende Wirkung zuschreibt. Denn wenn wirklich ein autolytischer Prozeß einen Heilfaktor darstellen soll, so würde demselben eine allgemeine Bedeutung nicht zukommen, wenn er nur unter bestimmten Bedingungen in Wirksamkeit tritt, z. B. der, daß der Tumor ausgebildet ist oder eine bestimmte Größe besitzt, in der sich Zerfallprodukte bereits befinden. Würde ein Heilmittel nur unter dieser Bedingung eine Wirksamkeit entfalten, so wäre damit gesagt, daß bereits vorhandene

Metastasen oder verschleppte Geschwulstkeime in anderen Organen der Wirkung des Präparates nicht zugänglich sind. Es würden somit die Präparate nicht mehr auf dem Boden des von Wassermann angegebenen Prinzipes stehen, daß nämlich durch die intravenöse Behandlung der Tumoren durch chemische Mittel von der Blutbahn aus bezweckt werden soll, die bereits in dem Organismus verschleppten und versprengten Geschwulstkeime zu vernichten.

Diese Verhältnisse suchte ich im Experiment derart nachzubilden, daß die therapeutische Behandlung mit dem Glykokoll-Kupferpräparat, ferner Eosin-Selen und Borcholin-Selenvanadium gleich, resp. kurze Zeit nach der auf subkutanem Wege vorgenommenen Impfung begonnen wurde. Während, wie früher ausgeführt, kirschgroße und auch noch kirschkerngroße Tumoren einer Einwirkung des Präparates unterlagen, indem sie verflüssigt wurden, konnte bei diesen, kurz nach der Impfung in Behandlung genommenen Tumoren auch nicht der geringste entwicklungshemmende Effekt beobachtet werden. Die Tumoren entwickelten sich, auch wenn die Behandlung der Tiere mit dem Präparat noch so lange fortgesetzt wurde. Entsprechend denen der Kontrolltiere entwickelten sich die so in Behandlung befindlichen Tiertumoren zu der gleichen Größe wie die der Kontrolltiere. Es hatten somit die Präparate nicht einmal eine das Wachstum hemmende Eigenschaft, da die Tiere in derselben Zeit eingingen, wie die Kontrollierte (s. Tab. 4).

Dieser letzte Versuch scheint mir beweisend dafür zu sein, daß wir es weder in dem Eosin-Selenpräparat von Wassermann, noch in den komplexen organischen Metallverbindungen von Neuberg, noch im Borcholin-Selenvanadium von Werner mit einem wirklichen Tumorneilmittel zu tun haben. Die Tumoren wuchsen zu gleicher Größe wie die der Kontrolltiere aus, merkwürdigerweise trat aber, sobald eine gewisse Größe erreicht wurde, nachträglich eine Erweichung der Tumoren ein, ohne indes die Entwicklung des Tumors aufzuhalten oder, wie dies an infiltrativ wachsenden Organatumoren zu beobachten war, die Metastasenbildung zu verhüten.

Die Deutung dieser Erscheinung mag zunächst dahingestellt bleiben, hier ist nur das eine von fundamentaler Wichtigkeit, daß die Präparate, denen die Fähigkeit zukommt, in ausgebildeten subkutanen Tumoren die Autolyse derart zu steigern, daß sie völlig verflüssigen, versprengte einzelne Tumorzellen oder stecknadelkopfgroße Tumorknötchen nicht im geringsten zu beeinflussen oder in ihrem Wachstum zu hemmen vermögen, geschweige denn zu vernichten.

Daß der Vorgang der Autolyse mithin nicht als Heilvorgang aufzufassen ist, wenigstens nicht als eine Methode, die zu brauchbaren therapeutischen Zwecken dienen kann, dürfte die zwingende Schlußfolgerung sein. Die vollständige Wirkungslosigkeit an Organtumoren aller der an subkutanen Tumoren wirksamen Präparaten läßt weiterhin auch daran denken, daß nicht lediglich ein chemischer, sondern auch ein physikalischer, durch mechanische Momente bedingter Einfluß die Steigerung des autolytischen Prozesses begünstigt hat. Hierfür spricht ganz besonders ein Moment, daß es bei den therapeutischen Versuchen notwendig ist, die subkutanen Geschwülste zu palpieren, um sich über den Heilverlauf zu orientieren. Hierdurch tritt notgedrungen eine Hyperämie, eventuell eine Hämorrhagie an der Oberfläche des Tumors auf. Begünstigt wird dieses Phänomen noch durch die an der Oberfläche des Tumors sich findende Verteilung der Blutgefäße, die auch nur auf die Oberfläche des Tumors beschränkt sind. Dieses Wissen verdanken wir der intravitalem Färbungsmethode Goldmanns, der auch den Nachweis erbracht hat, daß nicht nur die subkutanen Geschwülste, sondern auch die Organtumoren der Mäuse, ebenso wie die menschlichen Tumoren, lediglich eine oberflächliche Vaskularisation besitzen. Unter diesen Umständen müßten wir auch die gleichen Vorgänge der Hyperämie und Hämorrhagie unter der therapeutischen Beeinflussung an den Organtumoren beobachten wie an den subkutanen Geschwülsten. Da dies nicht der Fall ist, scheint dies dafür zu sprechen, daß eben das mechanische Moment mehr oder weniger mit von Bedeutung für dieses Verhalten subkutaner Tumoren ist. Man kann ja auch an normalen subkutanen Geschwülsten allein durch das Palpieren des Tumors denselben zur Erweichung bringen, wenn auch eine Heilung desselben, lediglich durch diesen mechanischen die Autolyse steigernden resp. auslösenden Prozeß nicht stattfindet. Dennoch dürfte den in die Blutbahn injizierten kolloidalen oder organisch komplexen Metallverbindungen eine ausschlaggebende Bedeutung für die Verstärkung und Förderung des autolytischen Prozesses zukommen. Auch die Tumoraффinität der verschiedenen Präparate läßt sich durch den mechanischen Einfluß und durch die durch Palpation begünstigte Hyperämie mit nachfolgender Hämorrhagie erklären. Die Erklärung für die Retention der Präparate sowie der Summation derselben kann auch zwanglos durch diesen Vorgang in der Weise geschehen, daß infolge der Zerreißung der oberflächlichen Blutgefäße des Tumors Zirkulations-

störungen in demselben vorhanden sind, daß möglicherweise also durch die arteriellen Gefäße die Metallverbindungen in den Tumor hineingelangen, und infolge der Zirkulationsstörung in dem Tumor zurückbleiben, um sich mit den neuinjizierten Mengen der Präparate summieren. Unter diesen Gesichtspunkten dürfte mithin bei Intaktbleiben der Gefäße subkutaner Geschwülste der autolytische Prozeß kaum zustande kommen, wenigstens ist es nicht verständlich, weshalb unter der Einwirkung der autolysesteigernden Präparate bei intravenöser Applikation eine Hämorrhagie der Gefäße subkutaner Tumoren auftritt und nicht auch eine solche der Gefäße in Organen. Für diese Annahme, daß die Einleitung eines autolytischen Prozesses an mechanische Momente geknüpft ist, spricht einmal der Umstand, daß subkutane Tumoren im Entwicklungsstadium, also wenn die intravenöse Behandlung derselben einige Tage nach ihrer Impfung mit den erwähnten, an ausgebildeten subkutanen Geschwülsten wirksamen Chemikalien vorgenommen wird, keine Beeinträchtigung in ihrer Entwicklung erfahren. Andererseits spricht vor allem der Umstand dafür, wie aus der Tabelle 4 zu ersehen ist, daß bei den Tieren dieser Versuchsreihe, bei denen peinlichst jede Palpation und Berührung sichtbar wachsender subkutaner Geschwülste vermieden wurde, bei ihrer Sektion auch nicht die geringste Konsistenzänderung oder Erweichung des Tumors vorhanden war.

Diese Versuche führen uns zu der Erkenntnis über das Wesen und die Bedeutung autolytischer Vorgänge bei subkutanen Mäusegeschwülsten. Sie lehren uns vor allem, daß wir in anderer Richtung arbeiten müssen, um zu therapeutischen Resultaten zu gelangen. Wenn wir der Hauptsache nach auch an subkutanen Geschwülsten weiterhin unsere Heilversuche vornehmen werden, so werden wir doch mehr darauf hinarbeiten müssen, nicht durch Verflüssigung, sondern eher durch trockene Nekrose eine Heilung des Tumors zu erzielen. Auch werden wir durch Auswerten der Präparate an Organumoren der Mäuse einen Maßstab haben, ob dem Präparat eine wirkliche Heilkraft zukommt.

Jedenfalls stellen die infiltrativ wachsenden Organumoren der Mäuse Höchstforderungen an die Leistungsfähigkeit eines Tumorgeheilmittels. Besteht überhaupt die Möglichkeit ein spezifisches Heilmittel gegen jede noch so verschiedene Tumorzelle zu finden, so würde ein solches Mittel auch die infiltrativ wachsenden Organumoren zur Ausheilung bringen. Solange der gegenteilige Beweis

nicht vorliegt, werden wir bezüglich der chemotherapeutischen Heilbestrebungen von diesem Gesichtspunkt ausgehen. Wenn sich diese Annahme als richtig erweist, so dürfte die Hoffnung gerechtfertigt sein, daß es der experimentellen Chemotherapie vorbehalten ist, dieses Problem der Geschwulstheilung zu lösen.

## Literatur.

- Apolant, H., Diskussionsbemerkung: VI. Tag. der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1912. Ref. s. Münchner med. Wochenschr. 1912.
- Caspari, Die Chemotherapie des Krebses. III. intern. Krebskonf. Brüssel 1913. Zeitschr. f. Chemotherapie, Ref., H. 9 u. 10, 2. Jahrg.
- Citron, H., Ein Beitrag zur Biologie des Mäusekarzinoms. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 15, H. 1, 1912.
- Contamin, Detœuf et Thomos, Sélénium et souris cancéreuses. Bull. de l'ass. franç. pour l'étude du cancer, tome VI, 6, année 3.
- Friedberger, H., Über intravenöse Tumorimpfung bei der Maus. Berliner mikrobiol. Gesellschaft 9. I. 13 Ref. Berliner klin. Wochenschr. 1913, H. 7.
- Izar, Wirkung kolloidalen Schwefels auf Rattensarkome. Zeitschr. f. Immunitätsf. 15, H. 2/3, 1913.
- Izar u. Basile, Wirkung des kolloidalen Schwefels auf Rattensarkome. Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 28, 1312.
- Keysser (s. a. v. Wassermann).
- Keysser, Beiträge zur experimentellen Karzinomforschung. Wien. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 41.
- Keysser, Experimentelles und Klinisches zur Karzinombehandlung. Mittelrhein. Chir. Kongr. Frankfurt a. M. 22. XI. 13.
- Keysser, Die Methoden der operationslosen Geschwulstbehandlung. Naturwiss. med. Ges. Jena 1913, November. Sammelbericht Zeitschr. f. Chemoth., Ref., II. Jahrg., Heft 12.
- Levin, I., The mechanism of metastasis formation in experimental cancer. The Journal of experiment. Medic. 1913. Vol. 18, p. 397.
- Lewin, C., Versuche über die Biologie der Tiergeschwülste. Berliner klin. W. 1913, 1 u. 4.
- Lewin, Die Wirkung von Schwermetallen auf bösartige Tiergeschwülste. Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 12, 541.
- Neuberg u. Caspari, Tumorauffine Substanzen. Deutsche med. Wochenschrift 1912, Nr. 8, 375.
- Neuberg, Caspari, Löhe, Weiteres über Heilversuche an geschwulstkranken Tieren mittels tumorauffiner Substanz. Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 30, 1405.
- Rödelius, Experimentelle Organtumoren. Verein. nordwestdeutscher Chir. 8. XI. 13. Hamburg-Eppendorf. Ztbl. f. Chir. 1914, Nr. 1.
- Sellei, Zur Chemotherapie der Tumoren beim Menschen. Zeitschr. für Chemotherapie, Bd. I, H. 4.

Szécsi, Zur Chemotherapie des Krebses. III. intern. Krebskonf. Brüssel 1913. Zeitschr. f. Chemotherapie. Ref. Heft 9 u. 10. 2. Jahrgang.

Uhlenhuth, Dold und Bindseil, Experimentelles zur Karzinomforschung. VI. Tag. der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1912. Ref. s. Münchner med. Wochenschr. 1912.

Wassermann, Keysser u. Wassermann, Chemotherapeutische Versuche an tumorkranken Tieren. Berl. klin. Wochenschr. 1912, 1.

Wassermann, Keysser u. Wassermann, Beiträge zum Problem: Geschwülste von der Blutbahn aus therapeutisch zu beeinflussen. Auf Grund chemotherapeutischer Versuche an tumorkranken Tieren. Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 51.

Werner u. Szécsi, Experimentelle Beiträge zur Chemotherapie der malignen Geschwülste. Ztschr. f. Chemotherap., Bd. 1, H. 4.

---

## Mikroskopischer Beitrag zur Frage der Parasitotropie des Salvarsan und des Chinin.

Von

**Dr. Carl Lennhoff,**  
gewes. I. Assistent.

Bekanntlich hat Ehrlich schon vor langer Zeit spezifisch färbende Substanzen therapeutisch zu verwerten versucht (vgl. Methylblau). Es schien mir daraufhin im Prinzip auch möglich, den umgekehrten Weg einzuschlagen und zu versuchen, ob es nicht möglich sei, spezifisch medikamentös wirkende Substanzen zur tinktoriellen Darstellung der von ihnen beeinflussten Elemente nutzbar zu machen. Diese schon längst von mir erwogene Idee ruhte, bis mit Ehrlichs Salvarsan und seinen verblüffenden Erfolgen die Frage der Parasitotropie und Organotropie in jedermanns Munde war. Im November 1910 begann ich in der hiesigen Klinik meine Untersuchungen, über die ich teilweise schon im Dezember 1912 im Berner Ärztlichen Bezirksverein berichtet habe (Referat Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte, Nr. 8, 1913).

Ich ging von vornherein von der stark reduzierenden Eigenschaft des Salvarsans aus und benutzte als Reduktionsindikatoren solche Substanzen, die durch Reduktion einen intensiven Farbniederschlag oder Metallimprägnation geben. Es waren das: 1. ein Gemisch von Ferrizyankalium und Eisenchlorid. Dieses Gemisch wurde von Golodetz und Unna 1909 zur Untersuchung des Reduktionsvermögens der Haut in die histologische Technik eingeführt. Ich habe es schon vor Erscheinen einer Arbeit von Tryb (Monatsschr. f. prakt. Dermat., Bd. 52, S. 405, 1911) für meine Zwecke mit Erfolg verwendet<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Am Schluß dieser Mitteilung sagt Tryb: Diese Tatsache, daß der ganze Organismus durch die starke Reduktionskraft des Salvarsans desoxydiert wird, scheint mir sehr bemerkenswert. Wir sehen, daß das Parenchym der Organe ganz geringe Veränderungen aufweist, die man mit den Degenerationsbildern nach Vergiftungen nicht vergleichen kann. Sollte das vielleicht die geringe

Das Wesen der Golodetz-Unnaschen Methode besteht bekanntlich darin, daß durch reduzierende Substanzen das Ferrizyankalium in Ferrozyankalium umgewandelt wird, und daß das letztere zusammen mit Eisenchlorid Berliner Blau ergibt.

2. Ferner benützte ich als Reduktionsindikator: Argentum-nitricum-Lösungen;

3. die viel gebrauchte Schwärzung des Osmiumtetroxyds durch Reduktion.

Das Prinzip meiner ersten Untersuchungen ist folgendes: Ich suchte das Salvarsan oder Neo-Salvarsan an die Spirochäten auf Objektträgerausstrichen zu binden und durch dieses an die Spirochäten gebundene und reduzierende Salvarsan die Spirochäten dadurch mikroskopisch sichtbar zu machen, daß ich die Objektträger dann in einen der oben angegebenen Reduktionsindikatoren brachte. Im Laufe der Untersuchungen zeigte sich sehr bald, daß Salvarsan, wenn es nicht sehr stark alkalisiert ist, aus seinen Lösungen ausfällt und durch das Ausfallen die Untersuchungsobjekte zerstört; andererseits werden natürlich die Objektträgerausstriche durch zu starke Alkaleszenz abgeschwemmt, und da saure Lösungen für meine Zwecke anscheinend unbrauchbar waren, so erhielt ich mit dem alten Salvarsan keine regelmäßigen Resultate, wenn mir auch der Nachweis der Spirochaeta pallida, der Hühner- und Refringensspirillen einwandfrei damit gelungen ist. Viel günstiger verhält sich in diesen Beziehungen das Neo-Salvarsan, das bekanntlich als leicht wasserlösliches, neutrales Pulver in den Handel kommt. Seitdem der Klinik das Neo-Salvarsan zur Verfügung gestellt worden war, habe ich nur noch dieses zu meinen Versuchen angewendet. Ich möchte nicht verfehlen, Exz. Ehrlich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank dafür auszusprechen, daß er mir auch seither für die Fortführung meiner Versuche das Präparat zur Verfügung gestellt hat. Bringt man einen Objektträgerausstrich mit Spirochäten bis 24 Stunden in eine Lösung, die in 20 ccm Aqua dest. 0,05 bis 0,9 Neo-Salvarsan enthält, wäscht gründlich in Wasser aus und stellt ihn dann in einen der angegebenen Reduktionsindikatoren,

---

„Organotropie“ sein (Ehrlich) und sollte die „Spirillotropie“ in der Reduktionskraft beruhen? Eher handelt es sich um einen günstigen Einfluß auf den Organismus („Organotropie bono sensu“). Daraus geht hervor, daß Tryb die Möglichkeit erwogen hat, daß das Salvarsan infolge seiner Reduktionskraft an den Spirochäten haften könne, während ich den Nachweis dieser Haftung mittels der Reduktionswirkung des Salvarsans erbracht habe.

so erhält man eine sehr präzise Darstellung der *Spirochaeta pallida*, wie ich sie in der oben erwähnten Sitzung des Ärztlichen Bezirksvereins und gelegentlich auch Exzellenz Ehrlich demonstrieren konnte.

Praktisch hat sich für diese Zwecke am besten das *Argentum nitricum* bewährt, das ich in 3%igen Lösungen anwandte, und zwar für 24 Stunden. Ich möchte gleich hier (ich komme darauf später noch zurück) betonen, daß ich die Standgefäße, in denen ich die *Argentum-nitricum*-Lösungen hielt, in schwarzes Papier eingehüllt, in den dunkeln Brutofen gestellt und so nach Möglichkeit vor der Einwirkung des Sonnenlichtes bewahrt habe. Bei dem Gemisch von *Ferrizyankalium* (1:100) und 1%igem Eisenchlorid, das an sich eine braune Farbe hat und sich an der Luft leicht zersetzt, tut man gut, unter häufigem Wechsel der Flüssigkeit, am besten alle 5 Minuten, bis etwa 45 Minuten, zu färben und nachher gründlich in Brunnenwasser auszuwaschen. Am schwächsten werden die Spirochäten mit  $OsO_4$  dargestellt, auch wenn man die Objektträger 48 Stunden lang über Osmiumdämpfen liegen läßt. Ich erwähne diese Methode nur der Vollständigkeit halber und weil sie theoretisch dasselbe Interesse wie die übrigen hat.

Wie ich schon oben erwähnte, kann man die Objektträgerausstriche nach der Behandlung mit Neo-Salvarsan sehr lange, bis 24 Stunden, in Wasser, unter häufigem Wechsel desselben, auswaschen und trotzdem noch eine Darstellung der *Spirochaeta pallida* mit den Reduktionsindikatoren erhalten, besonders, wenn man statt der gewöhnlichen *Argentum-nitricum*-Lösung ammoniakalische Silberlösungen anwendet. Es spricht das natürlich besonders für die feste Haftung des Neo-Salvarsans an den Spirochäten.

Außer der *Spirochaeta pallida*, mit der ich mich hauptsächlich beschäftigte, war es mir durch die dankenswerte Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Kollé und seiner Herren Assistenten möglich, mich zu überzeugen, daß mit der beschriebenen Methode auch die Darstellung von Nagana-, Hühner- und *Recurrenspirillen* möglich ist. Bei einem allerdings fraglichen Fall von Plaut-Vincentischer Angina gelang die Darstellung der Spirillen ebenfalls. Von weiter untersuchtem Material möchte ich noch erwähnen, daß man von Bakterien nach Salvarsan ebenso wie wenn man das Salvarsan aus diesem Prozeß wegläßt, eine reine Hüllendarstellung erhält; nach Neo-Salvarsan finden sich allerdings einzelne in toto dargestellte Individuen.

Fixiert man vor der Behandlung mit Neosalvarsan die Ausstriche 10 Minuten lang mit Kal. bichrom., Formalin, Äthyl- oder Methylalkohol, mit Acidum aceticum oder Sublimat, so gelingt die Darstellung der *Spirochaeta pallida* mit Argentum-nitricum-Lösungen nach allen angegebenen Fixierungsmitteln, am schwächsten und nur eben angedeutet nach Sublimat, auch wenn man den Färbeprozess in der Weise gestaltet, wie er sonst die intensivste Darstellung ergibt. Ebenfalls stark schädigend wirkt Hitzefixierung im Toluolofen. Die lufttrocken aufbewahrten Objektträger wurden mit der Zeit unbrauchbar für die Methode; die Grenze der Darstellung scheint bei 5 Wochen alten Ausstrichen (wenigstens für die *Spirochaeta pallida*) zu liegen, obgleich natürlich diese Zeit nach den Konzentrationsverhältnissen der angewandten Flüssigkeiten und der Länge der Behandlung mit ihnen wechselt.

Selbstverständlich ist ja wohl, daß ich mich gleich im Anfang meiner Untersuchungen überzeugte, daß die Spirochäten durch die Reduktionsindikatoren allein, d. h. ohne Vorbehandlung mit Salvarsan oder Neo-Salvarsan, nicht dargestellt werden. Bei den groben Formen des Nagana erhält man dabei eine blasse Darstellung der Individuen ungefähr in der Intensität des Blutserums, die gar nicht zu vergleichen ist mit der intensiven Darstellung nach Salvarsanbehandlung.

Weitere Kontrollen, die ich auf den Rat von Herrn Professor Jadassohn anstellte, hatten zum Ziel, statt des Neo-Salvarsans andere reduzierende Substanzen einzuführen. Ich selbst hatte dabei negative Resultate. Hingegen publizierte Fontana (Dermatologische Wochenschrift 10. August 1912) eine Methode, die darin besteht, daß er Objektträgerausstriche zuerst mit Tanninlösung und nachher mit ammoniakalischem Silbernitrat behandelt, das bekanntlich sehr leicht reduziert wird. Da Tannin reduziert, so läßt sich nicht leugnen, daß hierin eine große Analogie mit meiner eigenen Darstellung besteht. Doch muß man bedenken, daß diese Methode nach Fontanas eigenen Angaben zur Voraussetzung hat, daß man das spirochätenhaltige Reizserum zur Hälfte mit Wasser verdünnt, weil sonst das mitgefärbte Serum die Erkennung der Spirochäten erschwert oder unmöglich macht. Das zeigt, daß das Tannin die Spirochäten nicht so elektiv wie das Neo-Salvarsan anfaßt. Immerhin wäre es auch möglich, daß dem Tannin, das ja kein einheitlicher Körper mit genau festgestellter Konstitution ist, eine geringe spirillotrope Eigenschaft zukommt.

Nachdem für mich die Darstellung der *Spirochaeta pallida* an Objektträgerausstrichen mit Hilfe von Neo-Salvarsan festgestellt war, war mein nächstes Ziel ihre Darstellung im Gewebe. Mit dem Gemisch von Ferrizyankalium und Eisenchlorid hatte ich nur ein negatives Ergebnis, positives dagegen mit Argentum-nitricum-Lösungen, und zwar sowohl an Gefrierschnitten, wie an eingebettetem Material, wie ich das in der erwähnten Sitzung des Bezirksvereins gezeigt habe. Da ich mich inzwischen mit einer ganz anderen, später zu publizierenden Darstellung der *Spirochaeta pallida* im Gewebe mit positivem Erfolge beschäftigt habe und mir das Neo-Salvarsan zur methodischen praktischen Anwendung ungeeignet erschien, so habe ich diesen Weg, als mir die prinzipielle Möglichkeit sicher war, nicht weit genug verfolgt, um die Einzelheiten so genau präzisieren zu können, daß die Darstellung mit Sicherheit jedesmal zu erwarten ist. Um einen ungefähren Anhalt zu geben, möchte ich folgende Vorschrift geben:

Formalin 10% . . . . . 1 Tag  
 Kal. bichromic. 5% . . . . . 4 Tage  
 Alkohol, Xylol, Paraffin.

Die Schnitte kommen 24 Stunden lang in eine Lösung, die auf 25 ccm Aqua dest. 0,9 Neo-Salvarsan enthält. Auswaschen in Brunnenwasser zirka 17 Stunden.

Aqua dest.  
 Argent. nitricum  $\frac{1}{4}$  ‰ zirka 1 Stunde.  
 Aqua dest.  
 Alkohol, Xylol, Balsam.

Ähnlich kann man mit Formolgefrierschnitten verfahren.

Theoretisch wichtiger, wenigstens für die Frage der Parasitotropie, als die bisher mitgeteilten Befunde scheinen mir die folgenden Untersuchungen zu sein. Injiziert man einem Patienten mit spirochätenhaltigen Effloreszenzen große Dosen von Salvarsan oder Neo-Salvarsan (jedoch nie über 0,6 Salvarsan und entsprechend Neo-Salvarsan), exzidiert nach einiger Zeit, nach 1—20 Stunden eine spirochätenhaltige Effloreszenz, legt sie für 6—28 Tage bei 37° in 3%ige Argentum-nitricum-Lösung und bettet sie dann ohne Nachbehandlung mit Pyrogallol, in Paraffin ein, so gelingt es, einzelne Spirochäten sichtbar zu machen, die allerdings bei nachträglicher Beleuchtung durch Sonnenlicht schärfer hervortreten. Ebenso gelang die Darstellung, wenn man die Stücke zuerst für kurze Zeit in Formalin brachte, Gefrierschnitte anfertigte und diese dann in Argentum-nitricum-Lösung legte. Diese Darstellung

nur mit *Argentum nitricum* nach Salvarsaninfusionen ist mir in 6 untersuchten Fällen gelungen, wobei immer nur vereinzelte Exemplare und meist nach längerem Suchen gefunden wurden, während Levaditi-Kontrollen derselben Stücke eine große Zahl Spirochäten aufwiesen. Damals habe ich, als ich die später zu erwähnenden Untersuchungen noch nicht vorgenommen hatte, nur in der Form ganz einwandfreie Spirochäten als solche gerechnet, und sie jedesmal durch Herrn Professor Jadassohn und die anderen Herren des Laboratoriums — einmal auch durch Herrn Professor Wegelin — verifizieren lassen: dieses Verfahren schien mir bei den vielen Irrtumsmöglichkeiten bei den Silbermethoden durchaus geboten. Allerdings glaube ich jetzt nachträglich, daß ich auch viele deformierte Formen gesehen habe, die ich damals nicht gerechnet habe. Kontrollen, die ich von nicht infundierten Syphilitikern mit spirochätenhaltigen Effloreszenzen anstellte — ich habe 12, also doppelt soviel wie infundierte, untersucht — ergaben ein negatives Resultat, obgleich ich und andere, speziell unsere Laboratoriumsassistentin, Fräulein Jadassohn, sehr lange in den Schritten gesucht und alles auch nur einigermaßen Verdächtige anderen zur Begutachtung vorgelegt haben. Auf diese Kontrollen habe ich deshalb so viel Zeit mühseliger und ermüdender Arbeit verwandt, weil ja die Reduktion der *Argentum-nitricum*-Lösungen durch Sonnenlichteinwirkung bekannt ist und auch für die Darstellung der *Spirochaeta pallida* eine Methode von Stern aus dem Jahre 1907 existiert, die darin besteht, daß er Objektträgerausstriche in 10%iger *Argentum-nitricum*-Lösung dem diffusen Sonnenlicht aussetzt. Speziell mit Rücksicht auf diesen Punkt möchte ich noch einmal betonen, daß ich meine Objekte in dunkler Flasche im dunkeln Brutofen gelassen habe und so wohl die Einwirkung des Sonnenlichtes auf die Darstellung der Spirochäten ausschließen kann. Ja einmal habe ich, um ganz sicher zu sein, die Einbettung im Dunkelzimmer und das Wechseln des Alkohols usw. bei rotem Lichte vorgenommen und auch bei diesem Objekt habe ich in einem Schnitte sofort nach dem Auflösen des Paraffins eine Spirochäte gefunden, die allerdings, als ich sie einige Stunden im Mikroskop eingestellt ließ, deutlich nachdunkelte.

Trotzdem also auf diese Weise die Parasitotropie des Salvarsans demonstriert werden konnte, habe ich wegen der Schwierigkeit der Feststellungen und der bekannten Irrtumsmöglichkeiten der Silbermethoden es vorgezogen, diese Untersuchungen in anderer

Weise fortzusetzen. Diese haben dann so viel leichter konstatierbare und eindeutiger Resultate gegeben, daß ich, wenn ich sie vorher gehabt hätte, auf die Silbermethode an menschlichem Material verzichtet hätte. Ich injizierte Kaninchen mit Primäraffekten intravenös relativ (d. h. im Vergleich zu den bei Menschen angewandten Dosen) große Mengen Neo-Salvarsan, ging mit der Spitze einer nicht zu dünnen Nadel, die gut auf einer 10 ccm-Spritze aufsaß, in den Rand des Primäraffekts ein, aspirierte ein bis zwei Minuten lang unter langsamem Aufziehen des Kolbens in Abständen von 5 bis 10 Minuten Serum und machte jedesmal Objektträgersausstriche dieses Serums, wobei ich nach Entfernung des Serums aus der Spritzenadel die Spritze jedesmal gut mit physiologischer Kochsalzlösung ausspülte.

Die Objektträgersausstriche kamen für 45 Minuten unter häufigem Wechsel der Flüssigkeit in das Gemisch von Ferrizyankalium und Eisenchlorid. Auf diese Weise fand ich in 4 untersuchten Fällen Spirochäten mehr oder weniger zahlreich. Von diesen Fällen gebe ich nur über einen Fall, bei dem das Kaninchen pro Kilogramm Körpergewicht die höchste von mir angewandte Dosis Neo-Salvarsan erhielt, ein ausführliches Protokoll.

Kaninchen 1800 g schwer mit außerordentlich zahlreichen Spirochäten im Primäraffekt, so zahlreich, daß im Dunkelfeld in jedem Gesichtsfeld eine große Anzahl zu finden sind, erhält 0,6 Neo-Salvarsan intravenös, also 0,33 g pro Kilogramm Körpergewicht. Anlegen der Ausstriche nach der oben angegebenen Methode 5, 10, 20, 30, 35, 45 Minuten nach der Infusion und Färbung in dem Gemisch von Ferrizyankalium und Eisenchlorid.

In den Ausstrichen 5 Minuten nach der Infusion (mit dieser Methode) keine Spirochäten.

Nach 10 Minuten vereinzelte breite, spitz zulaufende, wellig begrenzte und schwach gefärbte Spirochäten.

Nach 15 Minuten außerordentlich zahlreiche Spirochäten. Von ihnen ist ein Teil in der Form vollkommen erhalten und gleichmäßig intensiv gefärbt, ein anderer Teil ist verdickt und intensiv gefärbt, ein weiterer sehr stark verbreitert, blaß; häufig sind hier, wie auch bei vielen anderen Exemplaren Endfäden gut zu sehen, dabei erscheint die Begrenzung (Membran?) intensiver als der übrige Teil gefärbt. Ganz vereinzelt sind auch blasse spitz zulaufende Gebilde, die man wohl schon nur auf Grund der Übergangsbilder zu den Spirochäten rechnen kann.

Nach 20 Minuten keine in der Form vollkommen erhaltene Spirochäten, nur breite, blasse und spitz auslaufende Exemplare, wie nach 15 Minuten, im ganzen wenig zahlreich.

Nach 30 Minuten nur blasse breite Bänder, über deren Herkunft aus Spirochäten man kaum sicher sein kann.

Nach 35 und 45 Minuten keine Spirochäten.

Hiermit scheint mir die Kette der mikroskopischen Beweise dafür geschlossen, daß Salvarsan und Neo-Salvarsan eine unmittelbar parasitotrope Eigenschaft haben. Es ist das also eine neue Bestätigung der Ehrlichschen Ansicht. Wollte man doch den Einwand machen, daß nur das Absterben der Spirochäten als solches die Ursache dafür sei, daß sie eine so stark reduzierende Eigenschaft bekämen, daß sie die Reduktionsindikatoren reduzieren, so würde man dem sofort entgegenhalten können, daß sie unter anderen Umständen, d. h. unbeeinflußt durch Salvarsan oder Neo-Salvarsan, wenn sie absterben, z. B. bei Objektträgerausstrichen, diese stark reduzierende Eigenschaft nicht haben.

Mein auf mikroskopischem Weg gefundener Beweis stimmt ja auch überein mit den auf chemischem Weg von Jgersheimer und Ullmann erhobenen Befunden, die in spirochätenhaltigem Material gegenüber dem übrigen Organismus eine Arsenspeicherung nach Salvarsanverabreichung fanden, ebenso mit den Befunden von Levaditi und Knaffl-Lenz, die nach Verabreichung von Arsenophenylglycocol in Naganatrypanosomen eine Arsenspeicherung fanden, Ergebnisse, die Ullmann für Salvarsan bestätigen und erweitern konnte.

Besonders erwähnen möchte ich auch noch die Arbeit Castellis aus dem Ehrlichschen Institut, der fand, daß Hühnerspirillen bei Zusatz von Neo-Salvarsan ihre Beweglichkeit zwar behalten, ihre Infektionsfähigkeit aber verlieren. Die Literatur hierüber ist eingehend in der ausführlichen Arbeit von Ullmann (Wiener klinische Wochenschrift 1913) und neuerdings in der Festschrift der Münch. med. Wochenschr. vom 10. Nov. 1914 zu Ehrlichs 60. Geburtstag von Schreiber besprochen, so daß ich mir es wohl ersparen kann, näher darauf einzugehen.

Es lag natürlich nahe, das so gefundene Prinzip auch auf andere Verhältnisse zu übertragen und zuerst mit der Malaria und ihrem vorzüglichen Spezifikum Chinin fortzufahren. Ohne auf Vorversuche einzugehen, möchte ich nur erwähnen, daß es mir auch hier mit Hilfe der Thalleiochin-Reaktion gelungen ist, in Blut-

ausstrichen die Malariaplasmodien sichtbar zu machen. Die Thalleiochin-Reaktion besteht bekanntlich darin, daß Chinin mit Chlor- oder Bromwasser und Ammoniak eine Färbung gibt, die, je nachdem die Flüssigkeit alkalisch, neutral oder sauer ist, eine grüne, blaue oder rote ist.

Ich verfuhr nun zunächst wie beim Salvarsan; ich legte Objektträgerausstriche mit Malariaplasmodien in eine Lösung von Chininsalz (Chin. sulf., mur., lact.), wusch kurz in Wasser ab, und brachte sie dann in Bromwasser, dem ich tropfenweise Ammoniak zusetzte, wechselte die Flüssigkeit häufig oder setzte Brom in Überschuß zu und erhielt so öfters eine Darstellung der Malaria in grüner, blauer oder roter Farbe. Aber die Ergebnisse waren, wie das in der Natur der Prozedur lag, nicht konstant. Entweder die Säurewirkung des Broms und des Bromwassers war zu stark oder, was bei dem tropfenweisen Zugeben des Ammoniaks auch ganz erklärlich ist, die Alkaleszenz war zu stark, so daß der Objektträgerausstrich blaß oder abgewaschen war. Erwähnenswert erscheint mir, daß bei einem Präparat, bei dem ich mir notiert hatte, daß die Malariaplasmodien blau waren, später, als ich nachkontrollierte, sie rot erschienen. Ich halte es in diesem Fall für möglich, daß die saure Reaktion des Balsams, den ich im Anfang anwandte, an dem Farbenschlag schuld war.

Viel bessere Resultate erhielt ich, als ich dazu überging, die Objektträger nach der Chininbehandlung Brom- resp. Chlorwasser und Ammoniakdämpfen auszusetzen. Ich benutzte dazu Deckel von Standgefäßen, die durch Objektträger meist gut zugedeckt werden können. Auf den Boden dieses Deckels bringe ich Bromwasser mit recht viel Brom im Überschuß, dann setze ich Ammoniak tropfenweise zu und lege schnell den mit Fließpapier abgetrockneten Objektträger mit der Schichtseite nach unten auf den Deckel. Wenn nach einiger Zeit die Ammoniaknebel sich verflüchtigt haben, setze ich wieder Ammoniak zu, achte aber dabei darauf, daß immer Bromwasser vorhanden ist und die Flüssigkeit braun bleibt. Explosionen habe ich dabei nicht erlebt. Sobald das Brom verbraucht ist, erneuere ich es und setze diesen Prozeß bis 7 Stunden fort, wobei ich zum Schluß kein Ammoniak mehr zusetze. Das tue ich in der Absicht, um durch die sauren Bromdämpfe eine rote Färbung zu erzielen. Auf diese Weise erhält man eine Rotfärbung der Malariaplasmodien, und zwar, soweit ich es konstatieren konnte, aller Formen, die zwar nicht sehr intensiv ist, die aber bei geringer Ab-

blendung deutlich hervortritt. Ähnliche Resultate erhält man, wenn man, statt Brom-, Chlorwasser anwendet.

Interessant erscheint mir noch folgender Versuch mit negativem Ergebnis. Nach Behandlung mit Chinin. ferro-citricum stellte ich die Berliner-Blau-Reaktion mit Ferrizyankalium und, da im Chinin. ferro-citricum auch immer Ferrisalze sind, mit Ferrozyankalium an. Bei mehrmaliger Wiederholung gelang die Darstellung der Malariaplasmodien nicht, was wohl bei der Feinheit der Berliner-Blau-Reaktion dafür sprechen dürfte, daß nur, wie es der fast allgemeinen Anschauung entspricht, die Chininbase als solche und nicht das ganze Chininsalz aufgenommen wird.

Ob es durch weitere Modifikationen der Methode gelingen würde, eine intensivere Darstellung zu erzielen, vermag ich zurzeit nicht zu entscheiden. Denn da ich hier in Bern selbst kein brauchbares Material hatte, so war ich naturgemäß in der Ausdehnung meiner Untersuchungen beschränkt und auf die Zusendung des Materials von auswärts angewiesen. Ich erhielt es fast ausnahmslos, wofür ich meinen besten Dank ausspreche, durch Vermittlung von Herrn Dr. F. Lewandowsky vom Tropenhygienischen Institut in Hamburg. Immerhin scheint mir, besonders, wenn man meine vorherigen Versuche mit dem Salvarsan und den Spirochäten berücksichtigt, die direkte mikrochemische Darstellung der Malariaplasmodien durch Chinin festgestellt zu sein; ich würde mich aber freuen, wenn andere Untersucher mit reichlichem Material die Versuche fortsetzen würden.

Weitere Schlußfolgerungen aus meiner Arbeit zu ziehen und Perspektiven zu geben, erscheint mir überflüssig, da sie ohne weiteres klar sind.

---

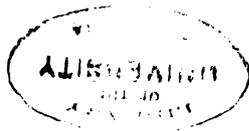


Abb. 1

Subkutaner Mäusetumor. Die rechtsseitige Partie ist längs  
gespalten und nach rechts geklappt.

Abb. 2

Methode der Vorlagerung von Milz und Niere zur  
Tumorimpfung in Organe.



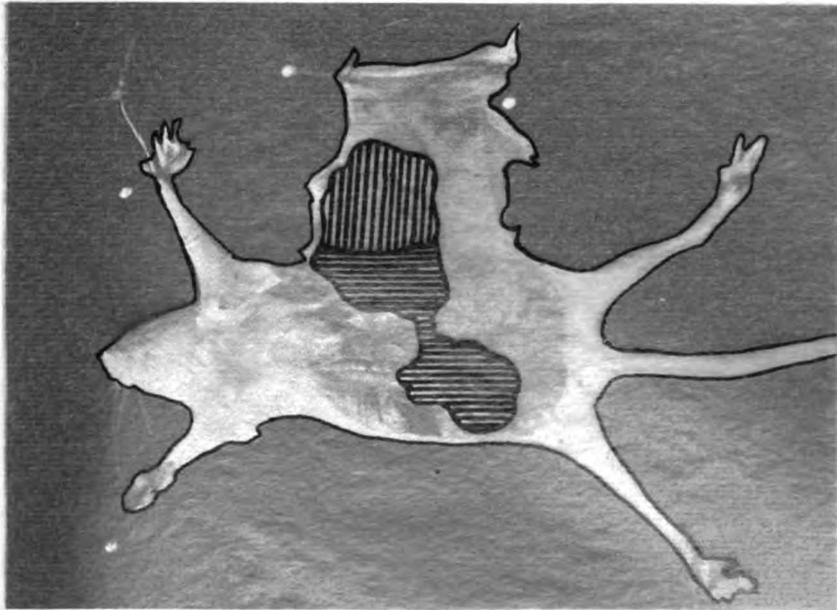


Abb. 1

der Mauseumor. Die rechtsseitige Partie ist längs gespalten und nach rechts geklappt.

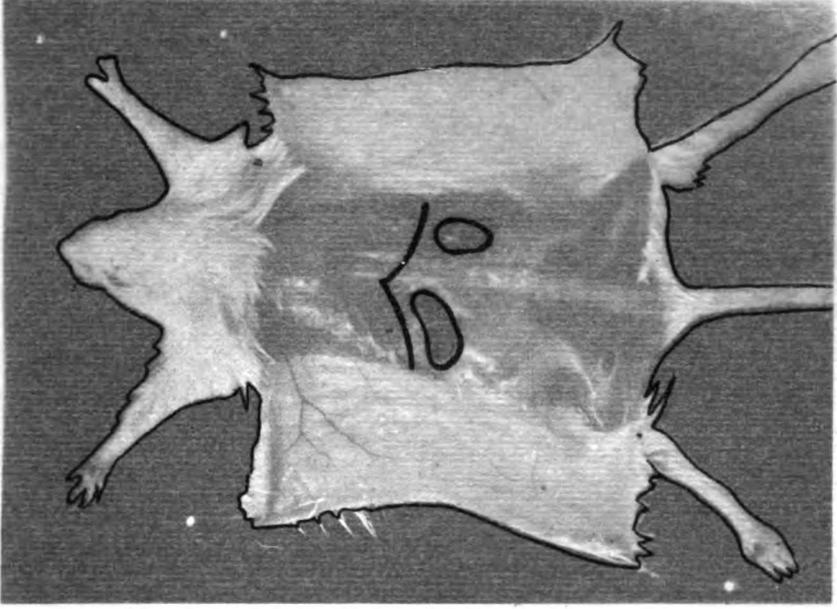


Abb. 2

Methode der Vorlagerung von Mauseumoren.

ALLEN COUNTY  
MISSOURI

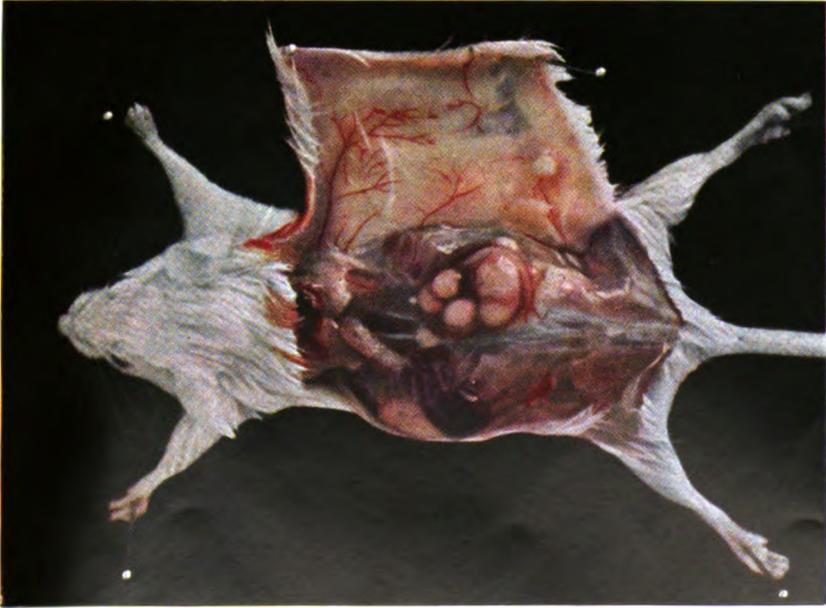


Abb. 3

Carcinom in der vorgelagerten Niere. Niere bis auf kleine, in der Mitte liegende Reste von Tumormassen zerstört.

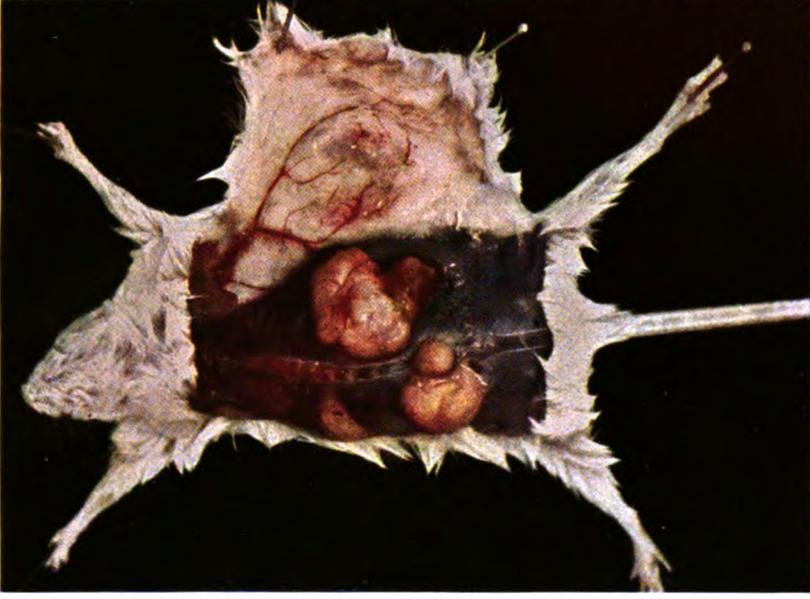
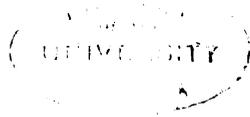


Abb. 4

Sarkom des oberen Nierenpols, derselbe vollständig zerstört, die untere Hälfte der Niere ist von kleinen Tumorknötchen durchsetzt.



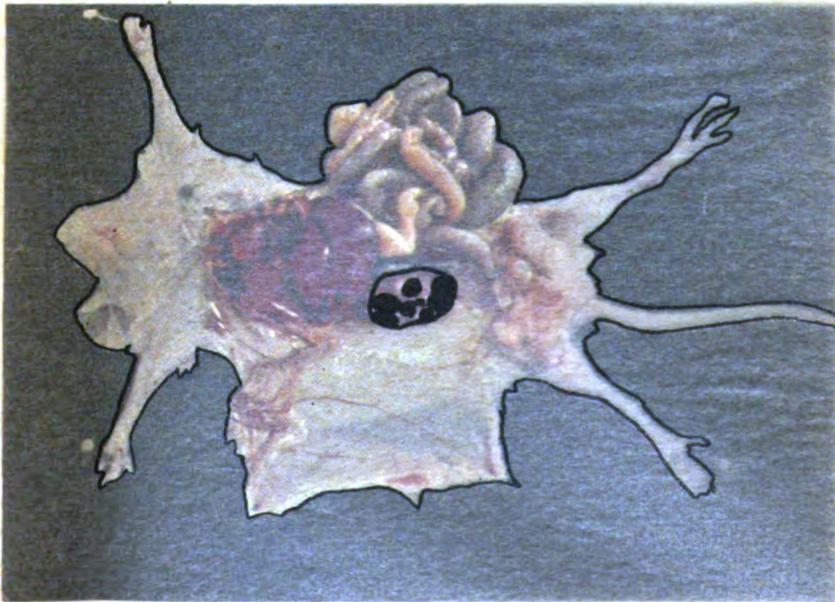


Abb. 5  
Sarcoma des Rückenmarkes der Maus, 20 Tage nach der Injektion von 0,1 ccm einer 10%igen Lösung von Nitrosäure in Wasser.

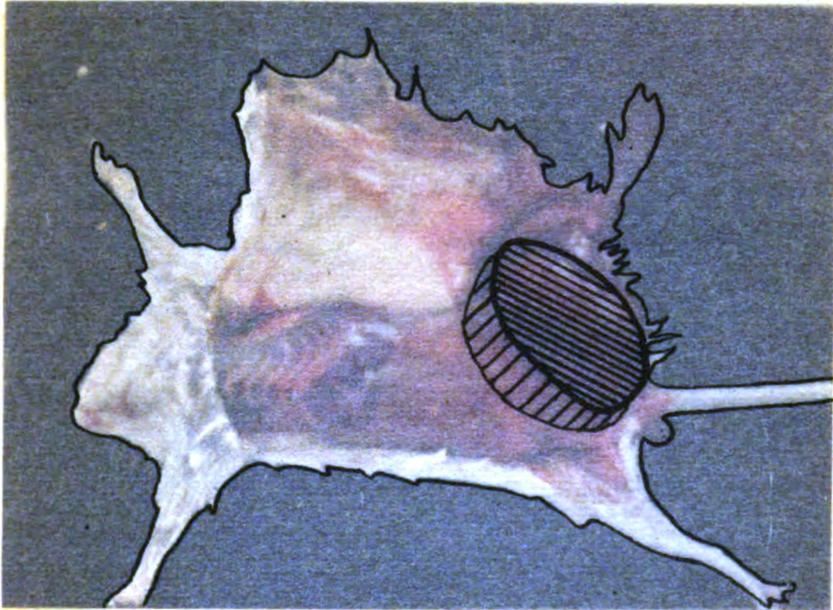


Abb. 6  
Sarcoma des Oberschenkels, Implung direkt in die Muskulatur

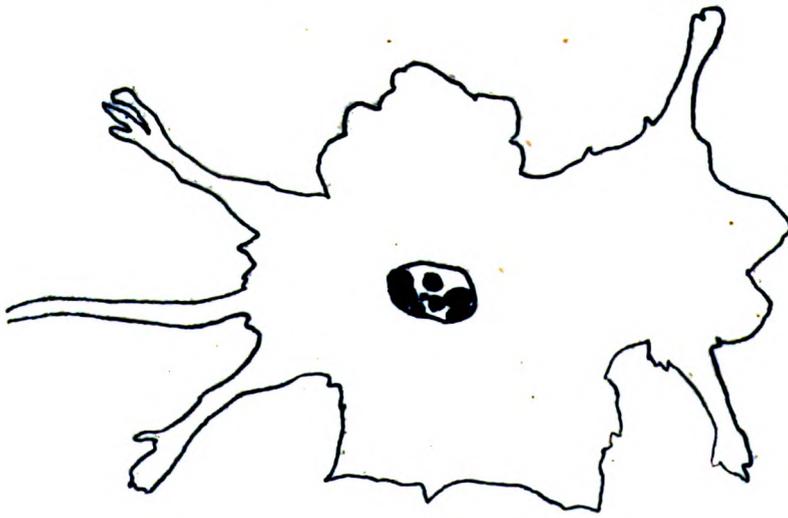
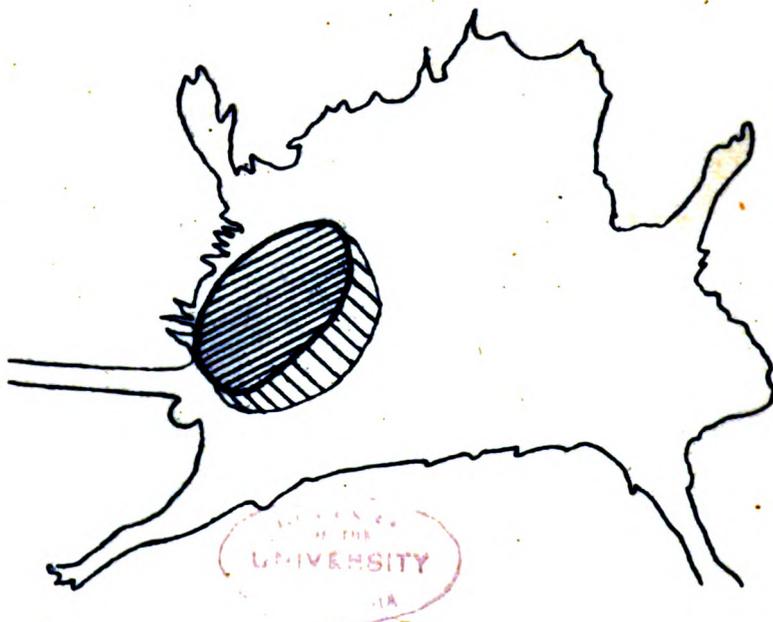




Abb. 5

Multiple Carcinomknoten der Niere, 3 Wochen nach der Impfung, die in situ ausgeführt ist. Carcinom noch vollständig auf die Niere lokalisiert.

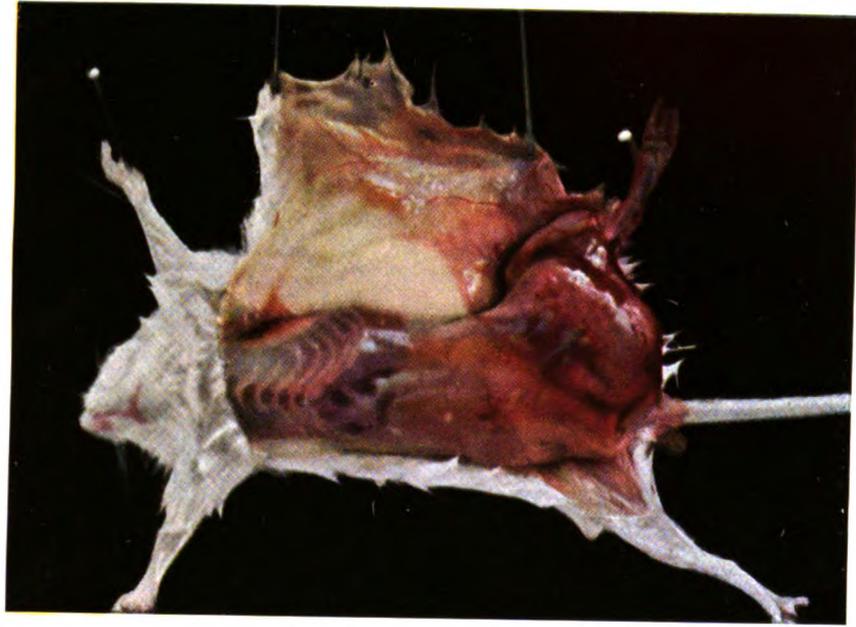


Abb. 6

Sarkom des Oberschenkels, Impfung direkt in die Muskulatur.

UNIVERSITY  
OF THE  
UNIVERSITY

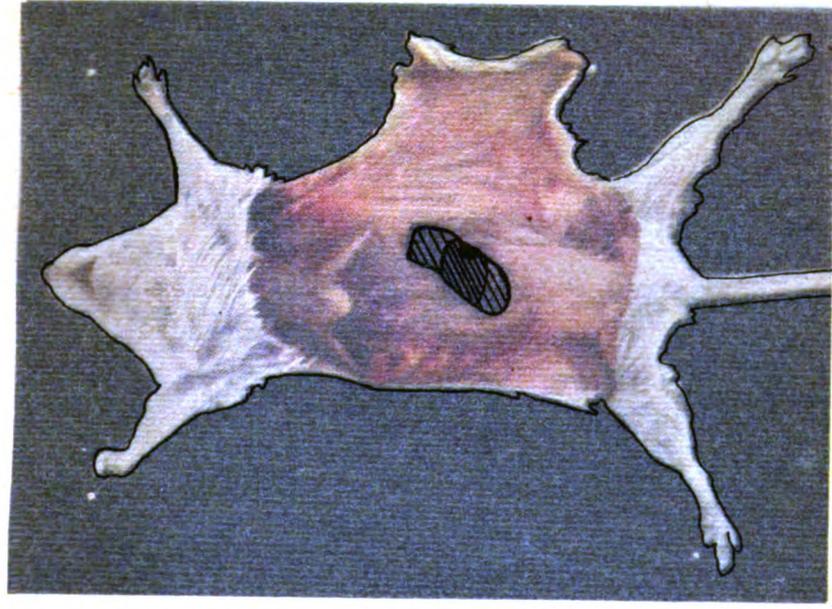
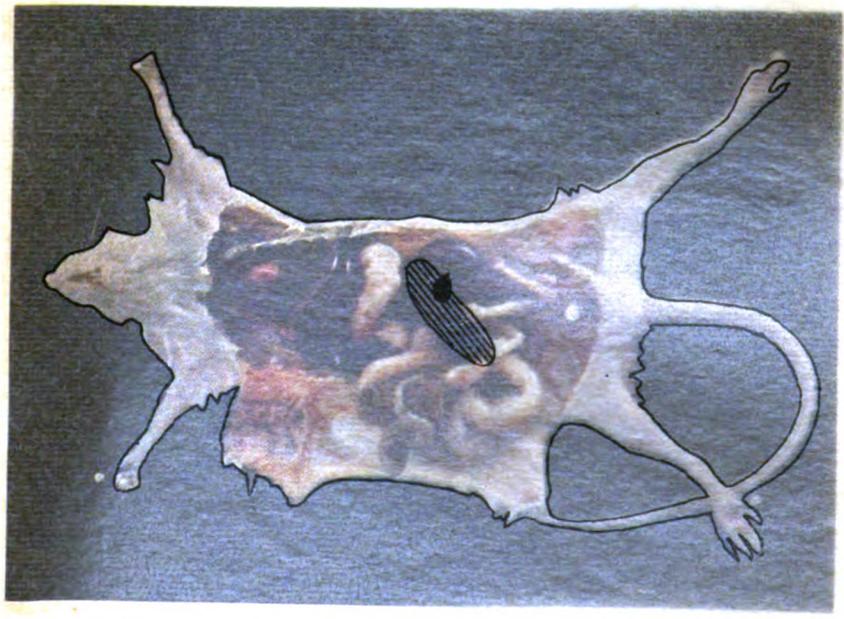


Abb. 8  
 Milzsarkom, Impfung nach Voranfertigung der Mäuse

Lehrbuch des Mikroskopischen Anatomie, M. 12.



11





Abb. 7

Beginnendes Milzcarcinom, Impfung in situ direkt in die Milz.

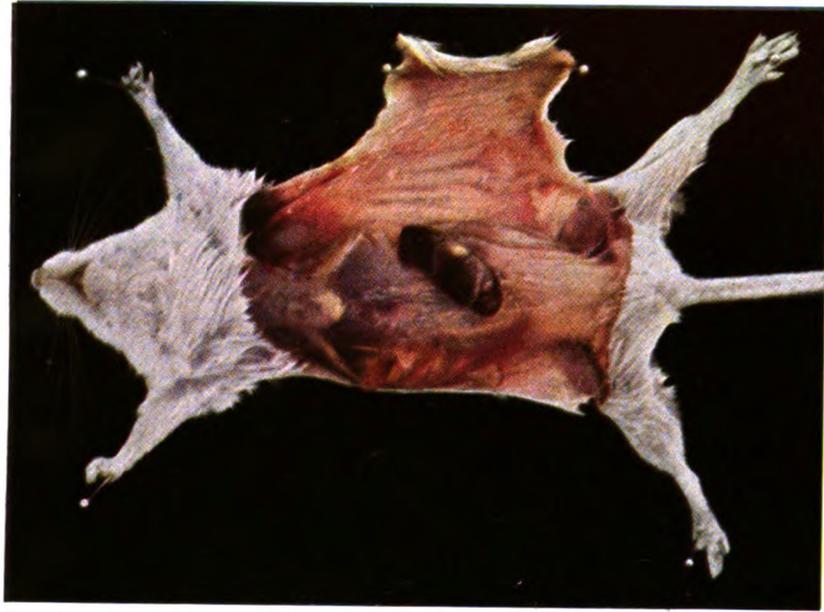
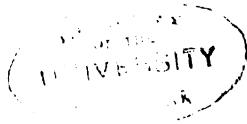


Abb. 8

Milzsarkom, Impfung nach Vorlagerung der Milz.



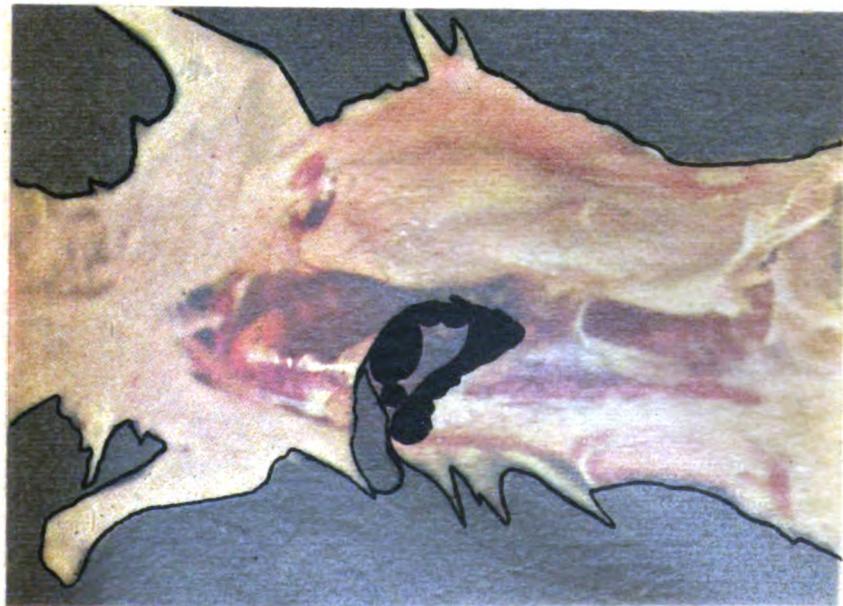


Abb. 9

Die von verbliebenen Milz, Mitte und untere Partie vollständig von Tumor zerstört. Am unteren Pol ist die Milz durchbrochen und umwachsen von Tumormassen.

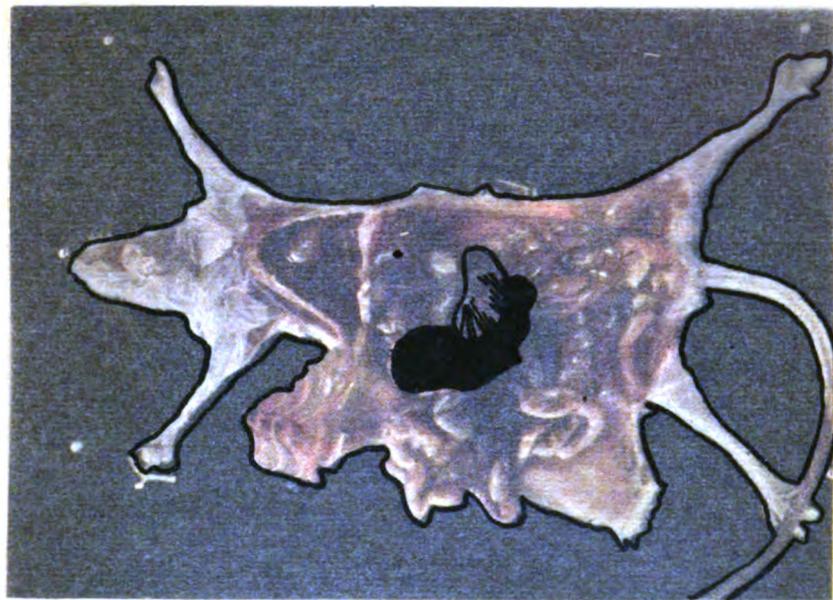


Abb. 10

Diffuse Milzkarzinose, Impfung in situ. Die Milz hat das Tumorgewebe durchbrochen und ist durchgedehnte Netz.





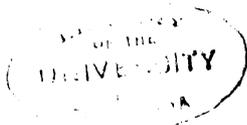
Abb. 9

Sarkom der vorgelagerten Milz, Mitte und untere Partie vollkommen von Tumor zerstört. Am unteren Pol ist die Milz durchbrochen und umwachsen von Tumormassen.



Abb. 10

Diffuse Milzkarzinose, Impfung in situ, an der unteren Fläche der Milz hat das Tumorgewebe dieselbe durchbrochen. Ausgedehnte Netzmetastasen.



Impfung mit zellfreier Ascitesflüssigkeit die von Lebertumor einer Maus stammt.



Abb. 11

Abbildung der Bauchorgane, Lebercarcinom genabelt, Darm-  
carcinom mit Bauchmuskulatur verwachsen ist. (6 Wochen  
nach Impfung gestorben.)

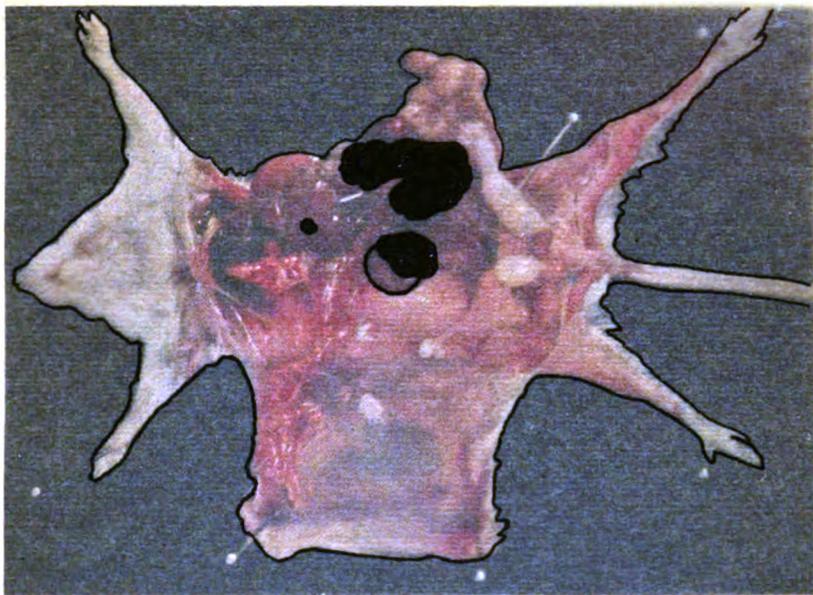
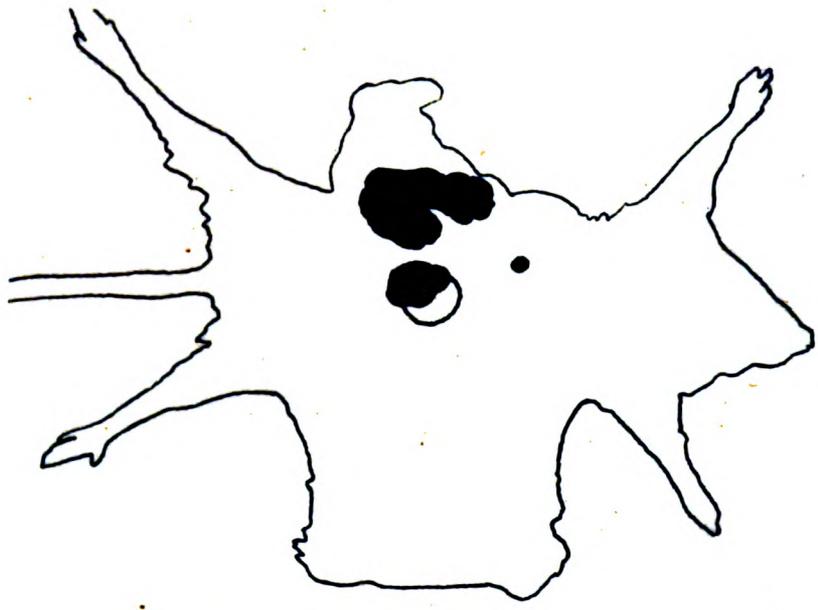


Abb. 12

Carcinom der Niere mit ausgedehnten Metastasen in  
Leber, Darm. (Maus tot nach 6 Wochen.)



UNIVERSITY  
OF THE  
UNIVERSITY  
OF CALIFORNIA



Impfung mit zellfreier Ascitesflüssigkeit die von Lebertumor einer Maus stammt.

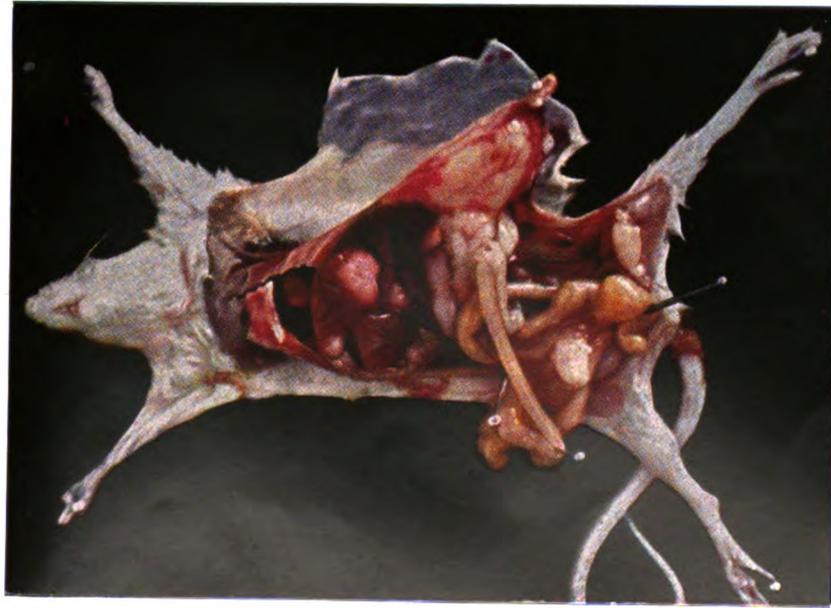


Abb. 11

Carcinose der Bauchorgane, Lebercarcinom genabelt, Darmtumor, der mit Bauchmuskulatur verwachsen ist. (6 Wochen nach Impfung gestorben.)

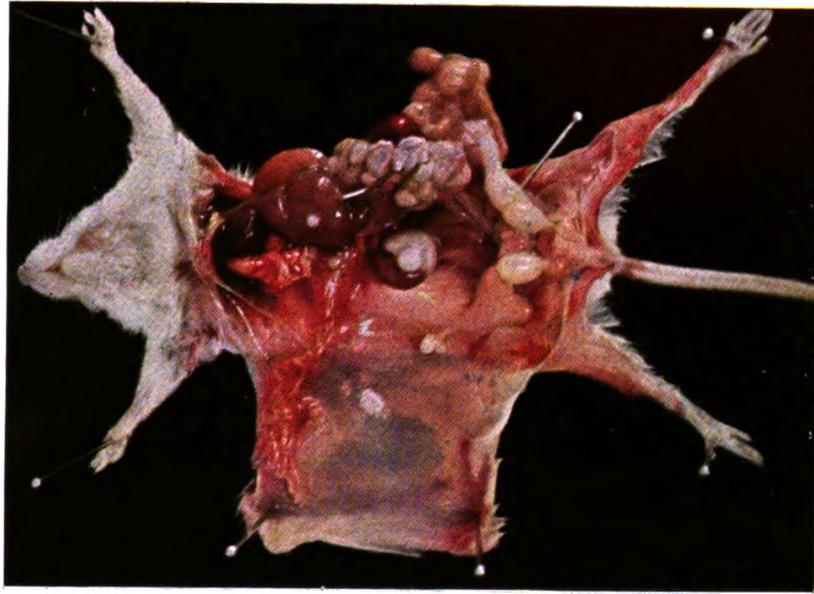


Abb. 12

Carcinom der Niere mit ausgedehnten Metastasen in Netz, Leber, Darm. (Maus tot nach 7 Wochen.)

CONFIDENTIAL

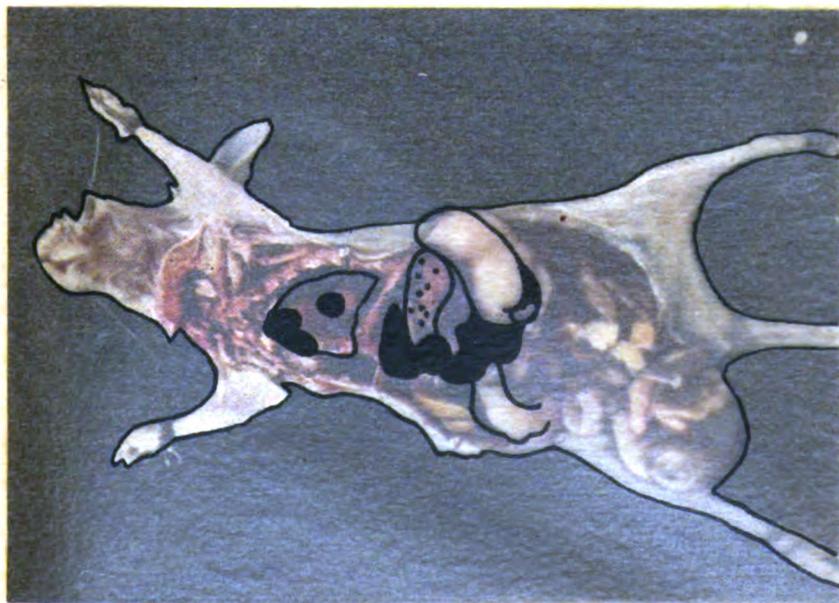


Abb. 13

Carcinom des Magens, Impfung in situ, Metastasen in Leber, ausgeheilte Metastasen in Lunge.

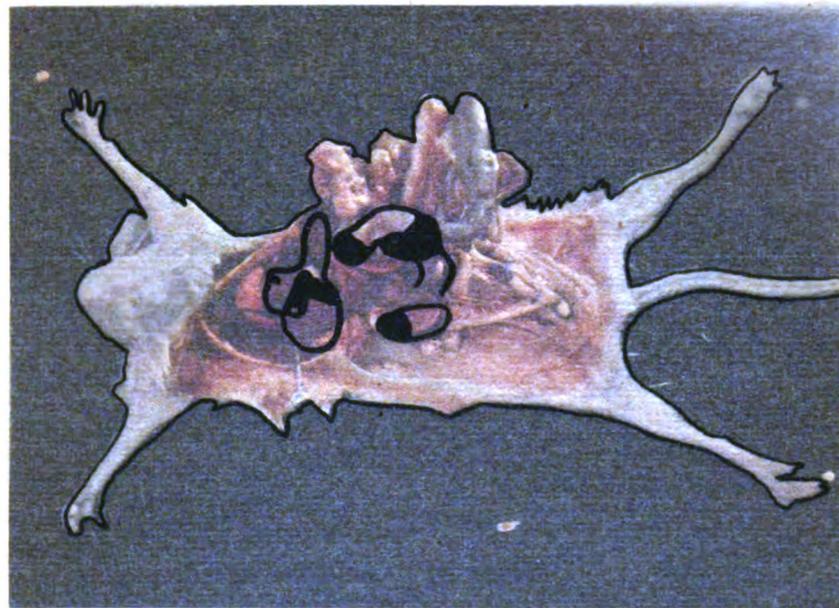
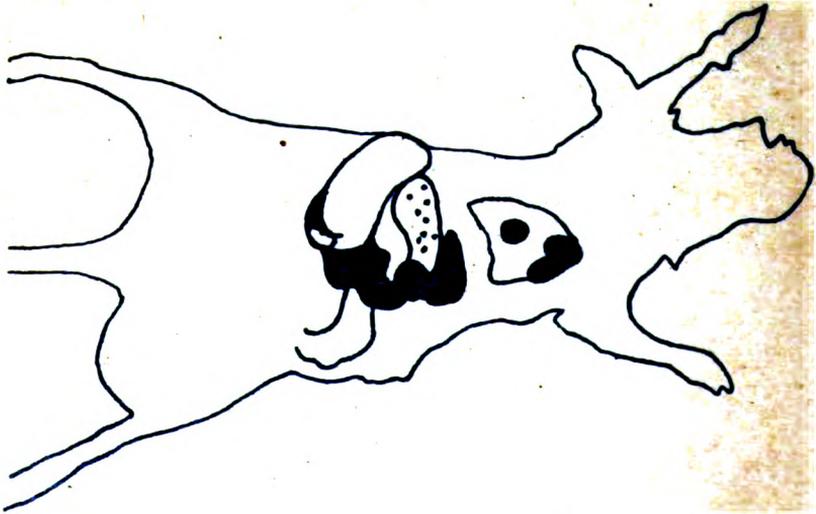


Abb. 14

Carcinom des Darms, Metastasen.



UNIVERSITY



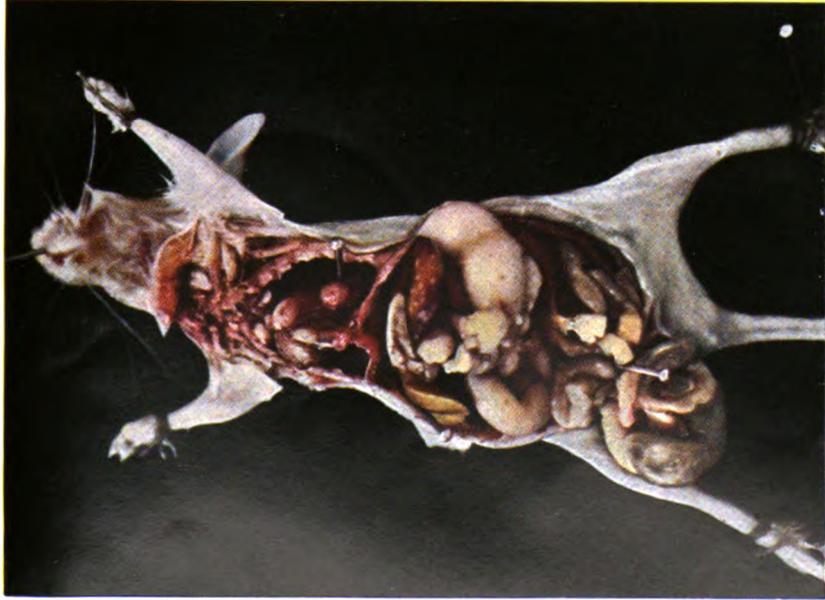


Abb. 13

Carcinom des Magens, Impfung in situ, Metastasen in Leber, ausgedehnte Metastasen in Lunge.

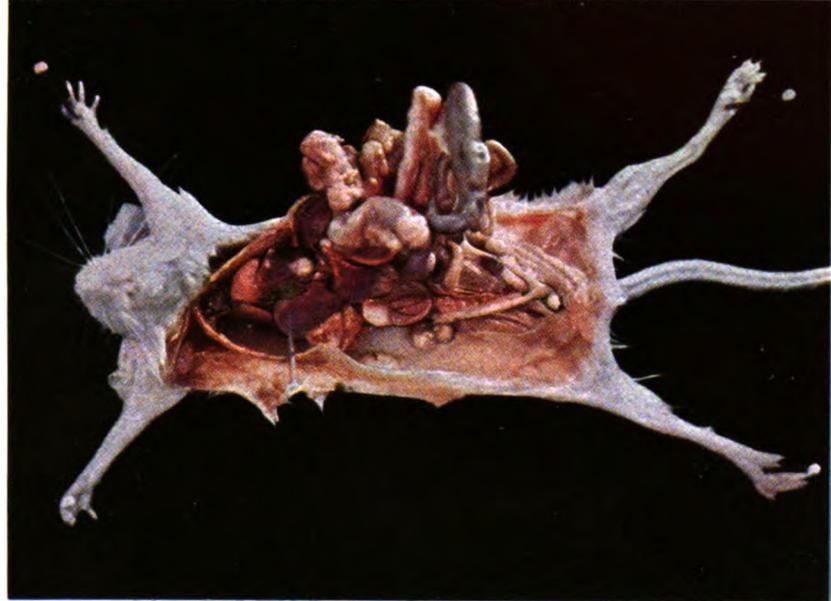


Abb. 14

Carcinom des Darms, Metastasen in Niere, Leber, Gallenblase.

UNIVERSITY



Abb. 15  
Sarkom des Gehirns.

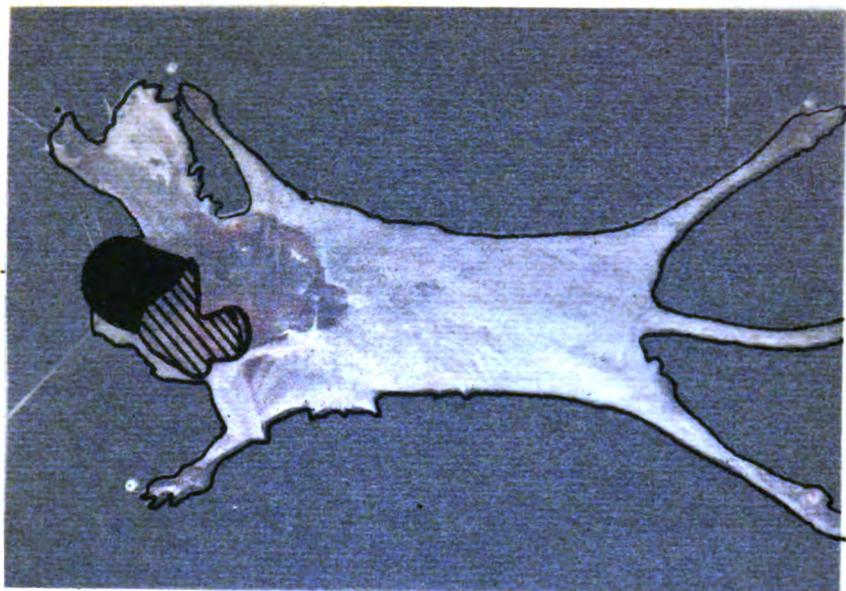
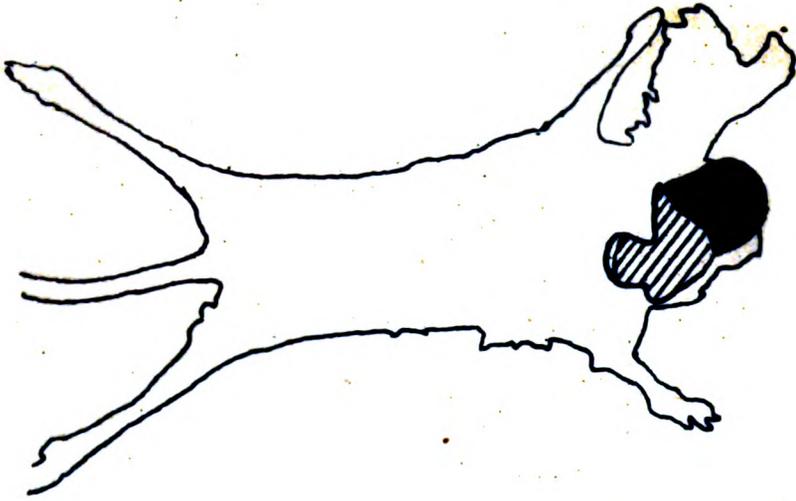
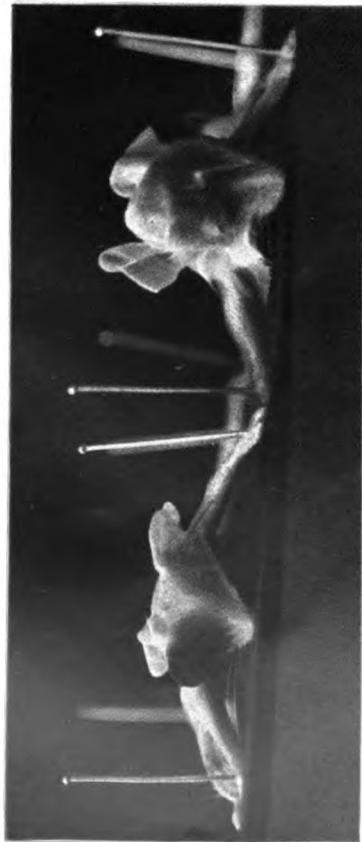


Abb. 16  
Carcinom des Auges, durchgebrochen.





a) Sarkom des r. Auges. b) Sarkom des Gehirns.



Abb. 16  
Carcinom des Auges, durchgebrochen in das Gehirn.

OFFICE OF THE  
DIRECTOR  
CIVIL SERVICE COMMISSION  
WASHINGTON, D. C.

Übertragungsversuche menschlicher Sarkome auf Ratten.

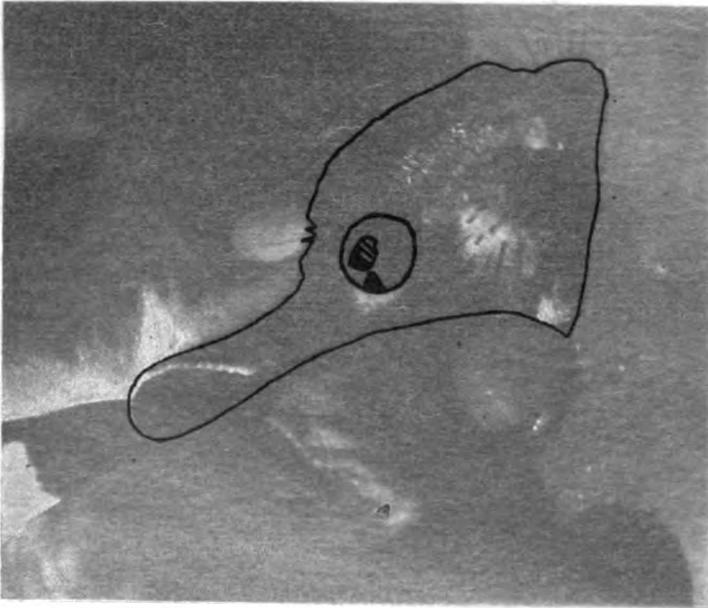


Abb. 17

2 Tumorknoten im Bulbus einer Ratte. (3 Wochen nach der Impfung.)

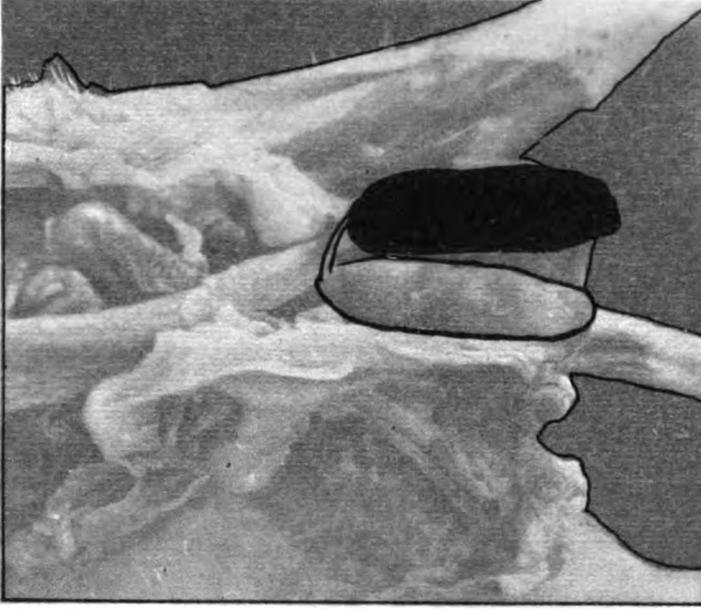
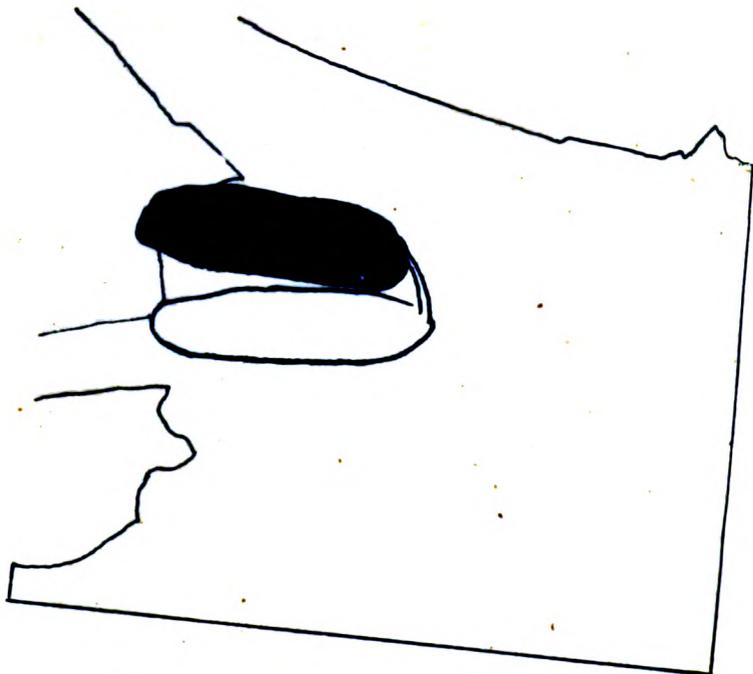
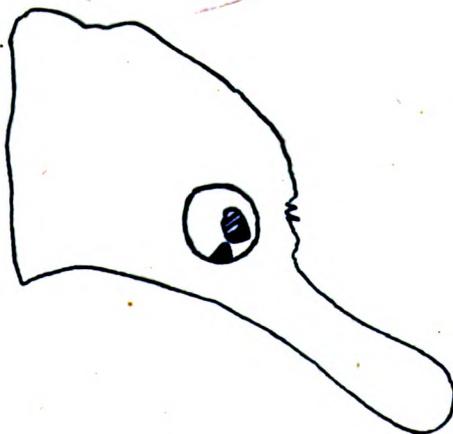


Abb 18

Geschwulst des linken Hodens, die  
größt ist. (14 Tage nach der In-  
schiessen, Schnittfläche 3:1)



LIBRARY  
OF THE  
UNIVERSITY  
OF CALIFORNIA



Übertragungsversuche menschlicher Sarkome auf Ratten.



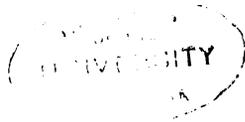
Abb. 17

2 Tumorknoten im Bulbus einer Ratte. (3 Wochen nach der Impfung.)



Abb. 18

Geschwulst des linken Hodens, der um das doppelte vergrößert ist. (14 Tage nach der Impfung.) Linker Hoden durchschnitten, Schnittfläche der linken Hälfte sichtbar.



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Glukoko'-Kupfer.

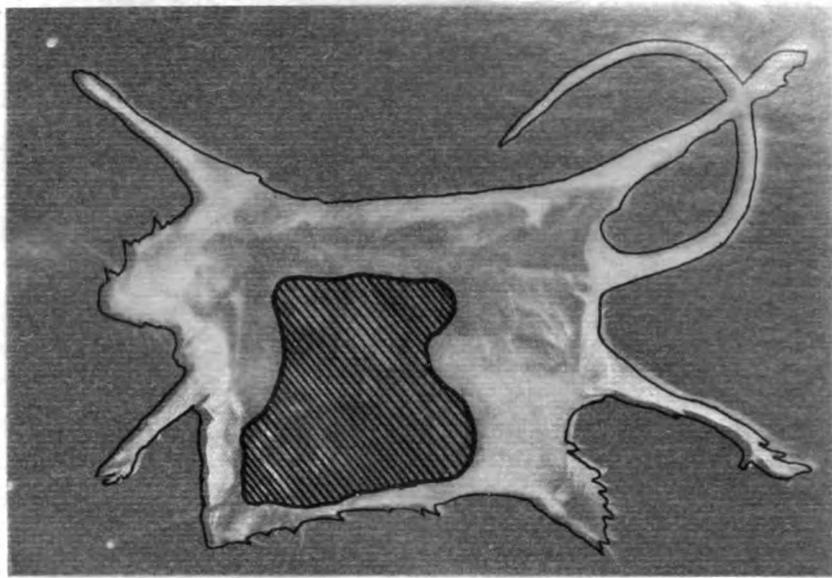
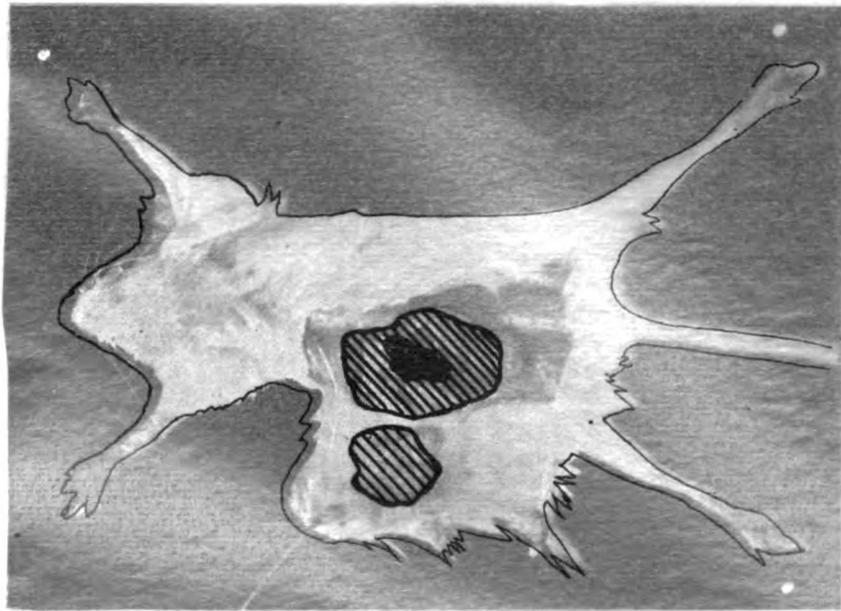
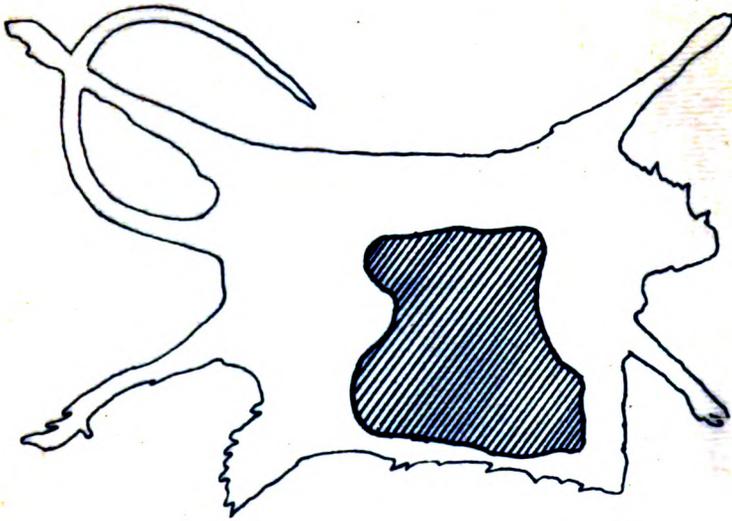


Abb. 12  
Verbreitung des Tumors.



UNIVERSITY  
OF THE  
STATE OF  
CALIFORNIA



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Glykokoll-Kupfer.

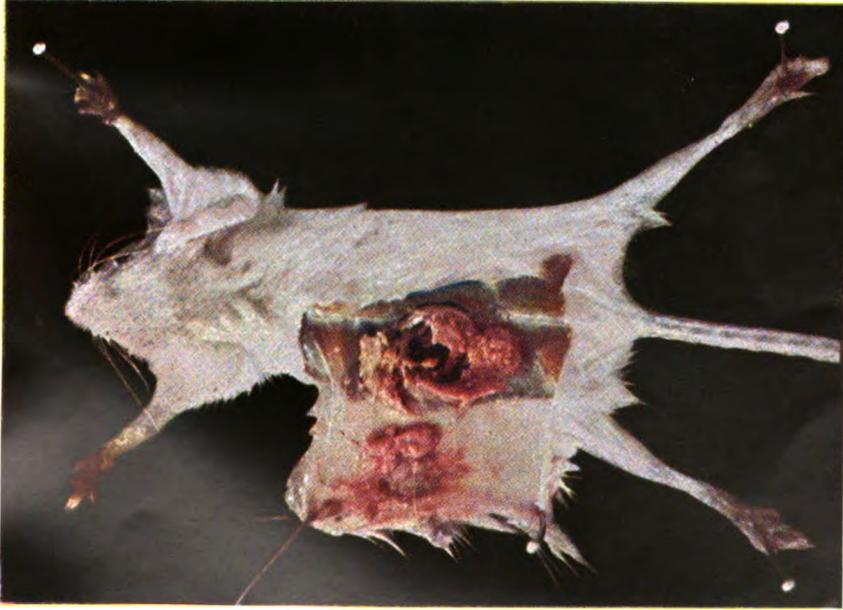


Abb. 19

1. Stadium: Erweichung des Tumors.

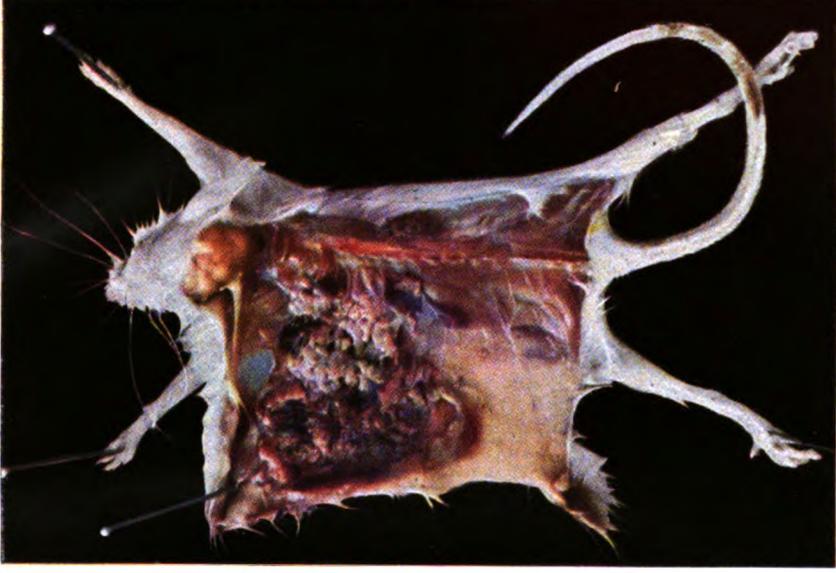
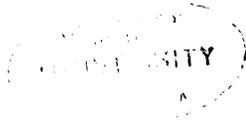


Abb. 20

2. Stadium: Verflüssigung des Tumors, deutlicher Zerfall, bei Palpation Gefühl des leeren Sackes.



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Glykokoll-Kupfer.

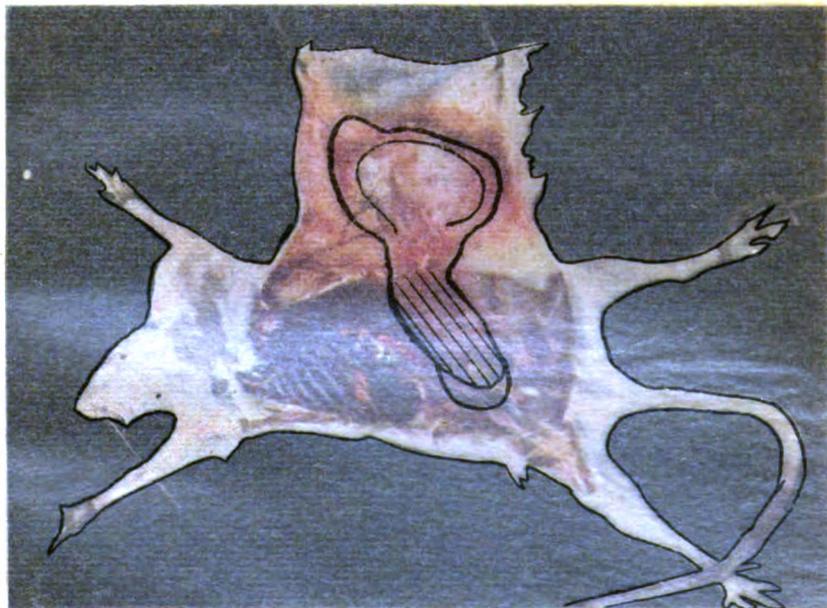
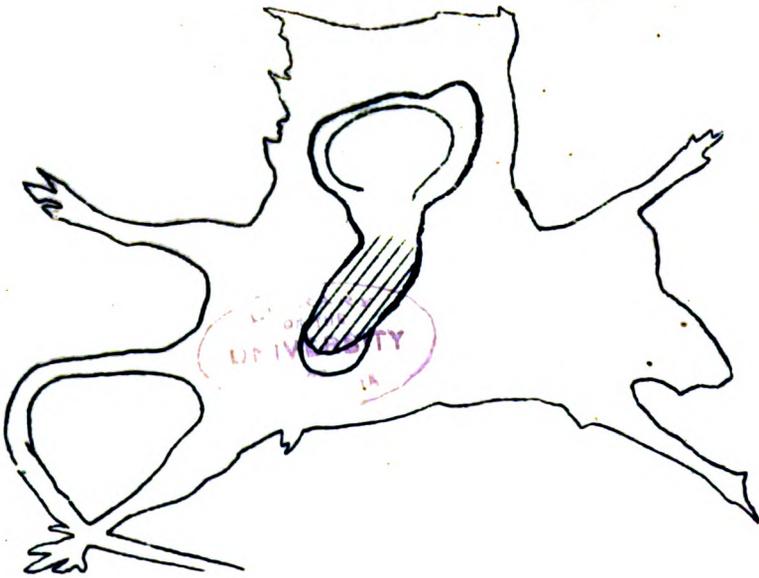


Abb. 21

3. Stadium der subkutanen Tumore bis auf Kapselreste resorbiert und die Tumorgewebe mehr vorhanden. Maus geheilt.

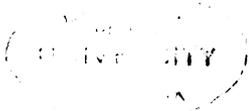


Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Glykokoll-Kupfer.



Abb. 21

3. Stadium: Der subkutane Tumor bis auf Kapselreste resorbiert, kein Tumorgewebe mehr vorhanden. Maus geheilt.



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Losin-Selen.

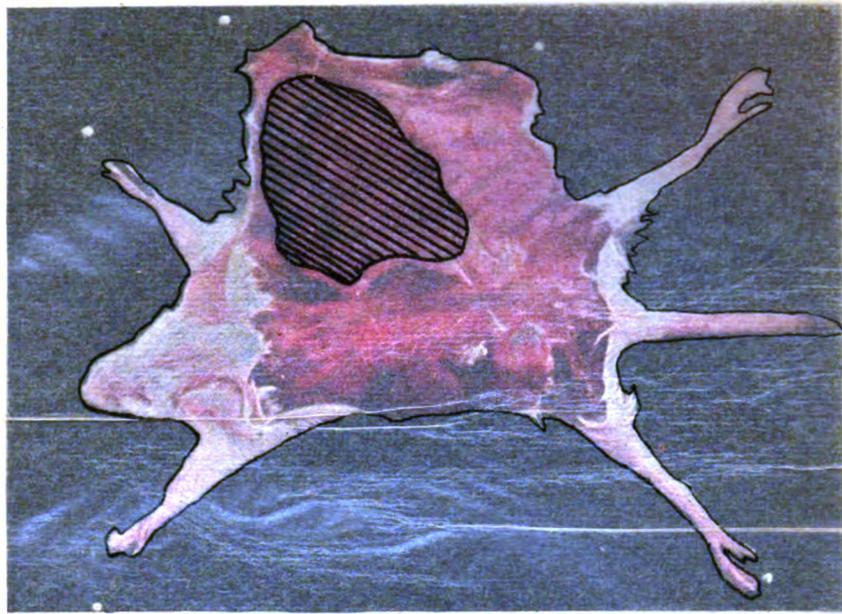
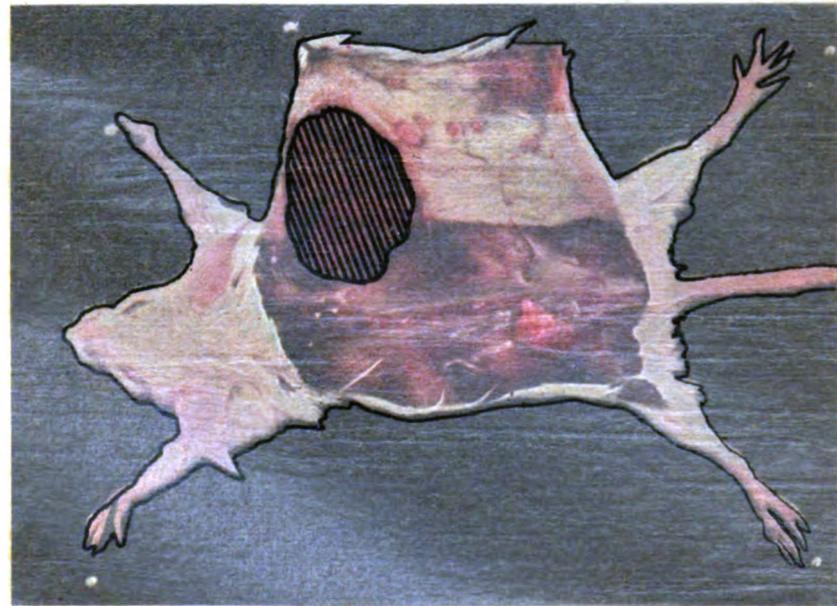
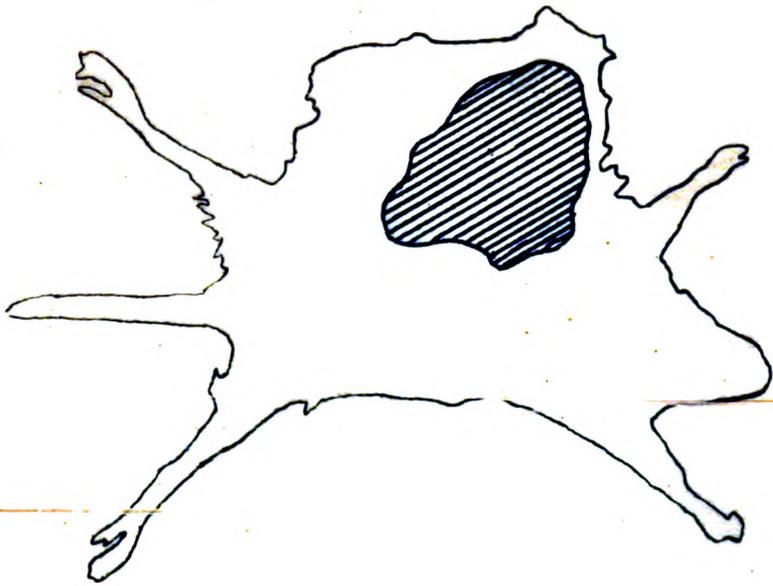
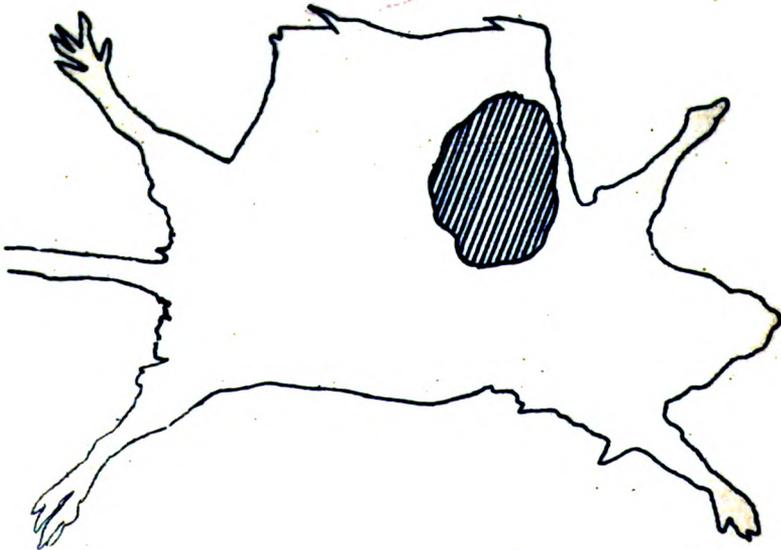


Abb. 22

1. Stadium: Hyperämie und Erweichung des subkutanen Tumors  
(Maus tot nach der 4. Injektion.)



UNIVERSITY  
OF INDIANA



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Eosin-Selen.

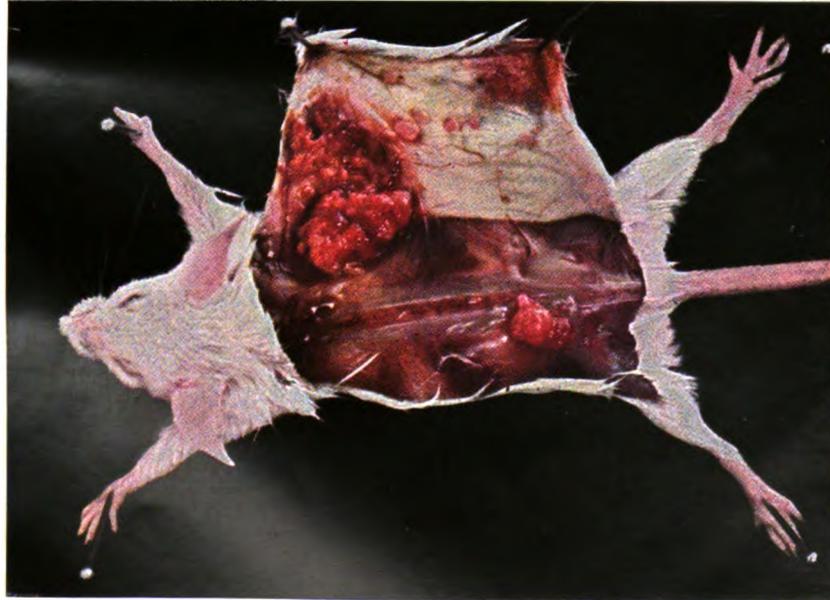


Abb. 22

1. Stadium: Hyperämie und Erweichung des subkutanen Tumors  
(Maus tot nach der 4. Injektion.)



Abb. 23

2. Stadium: Erweichung und Verflüssigung des Tumors, Gefühl  
einer Cyste. (Maus tot nach der 6. Injektion.)

1000

Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Eosin-Selen.

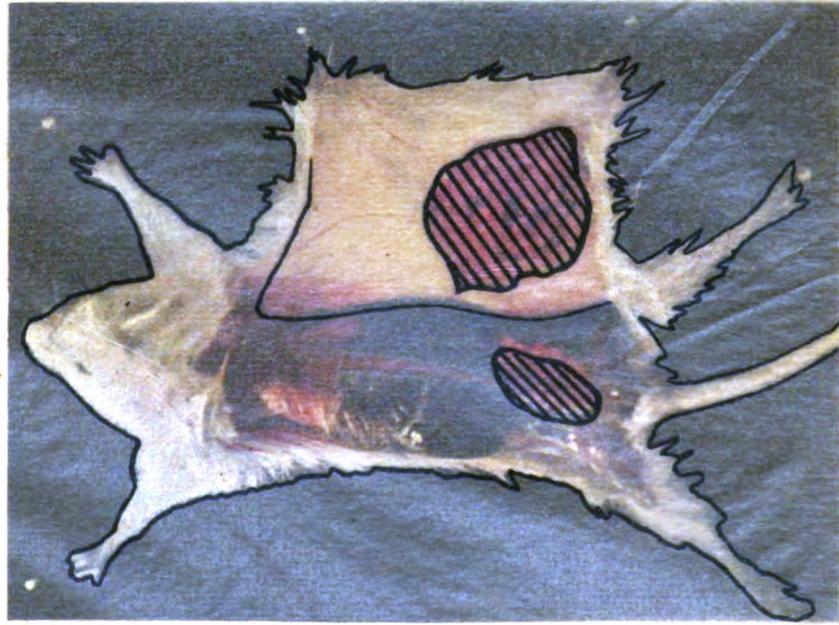


Abb. 24

3. Stadium: Tumoren sind im wesentlichen resorbiert, bei  
Papillarkarzinom des leeren Sackes.

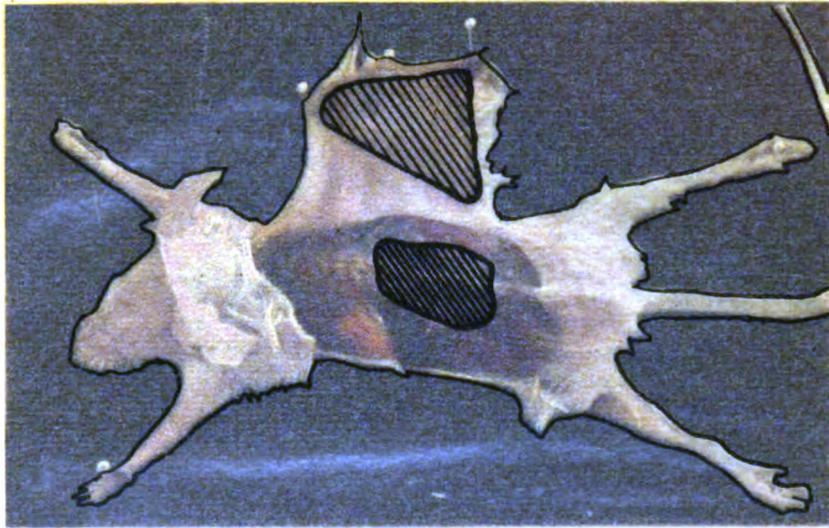
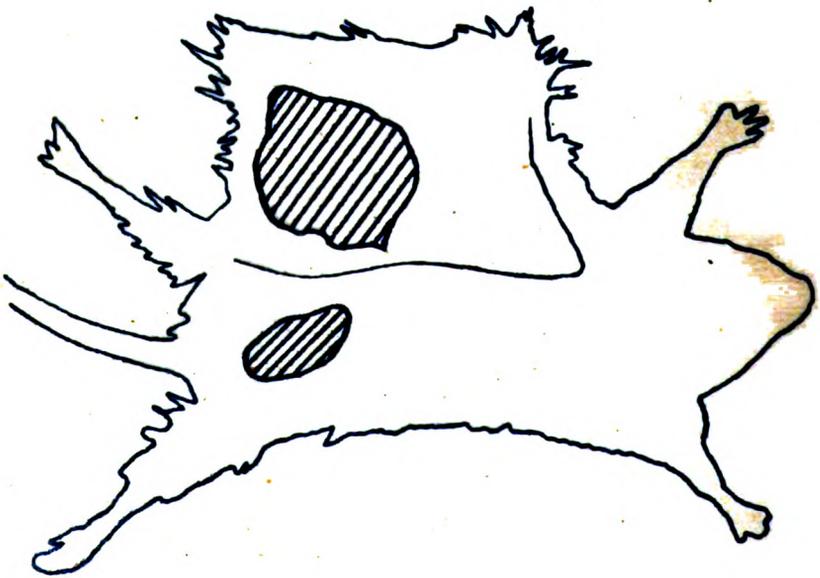


Abb. 25

4. Stadium: Heilung. An Muskulatur und Haut nur noch An-  
deutungen zu sehen, wo der Tumor früher gesessen hat.



LIBRARY



Chemotherapeutische Versuche an subkutanen Mäusetumoren mit Eosin-Selen.

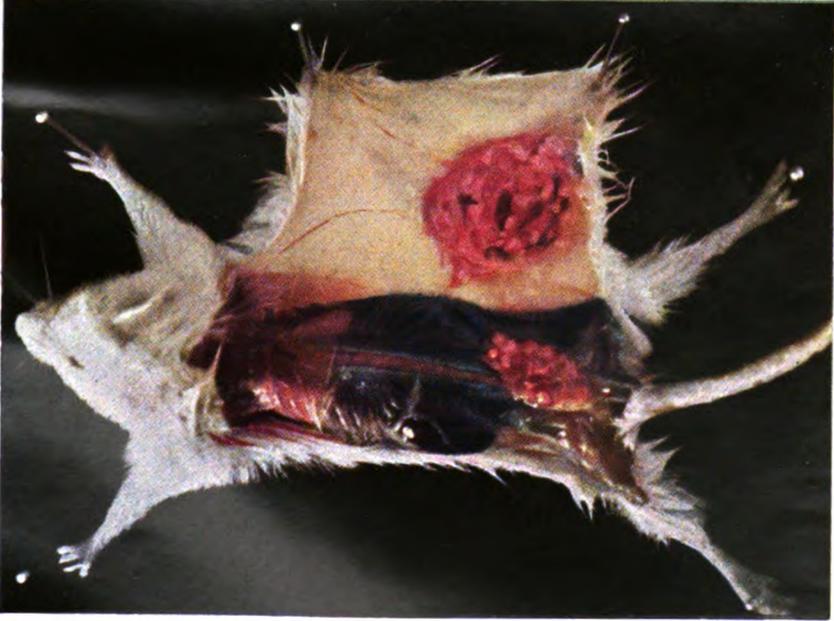


Abb. 24

3. Stadium: Tumormassen größtenteils resorbiert, bei Palpation Gefühl eines leeren Sackes.

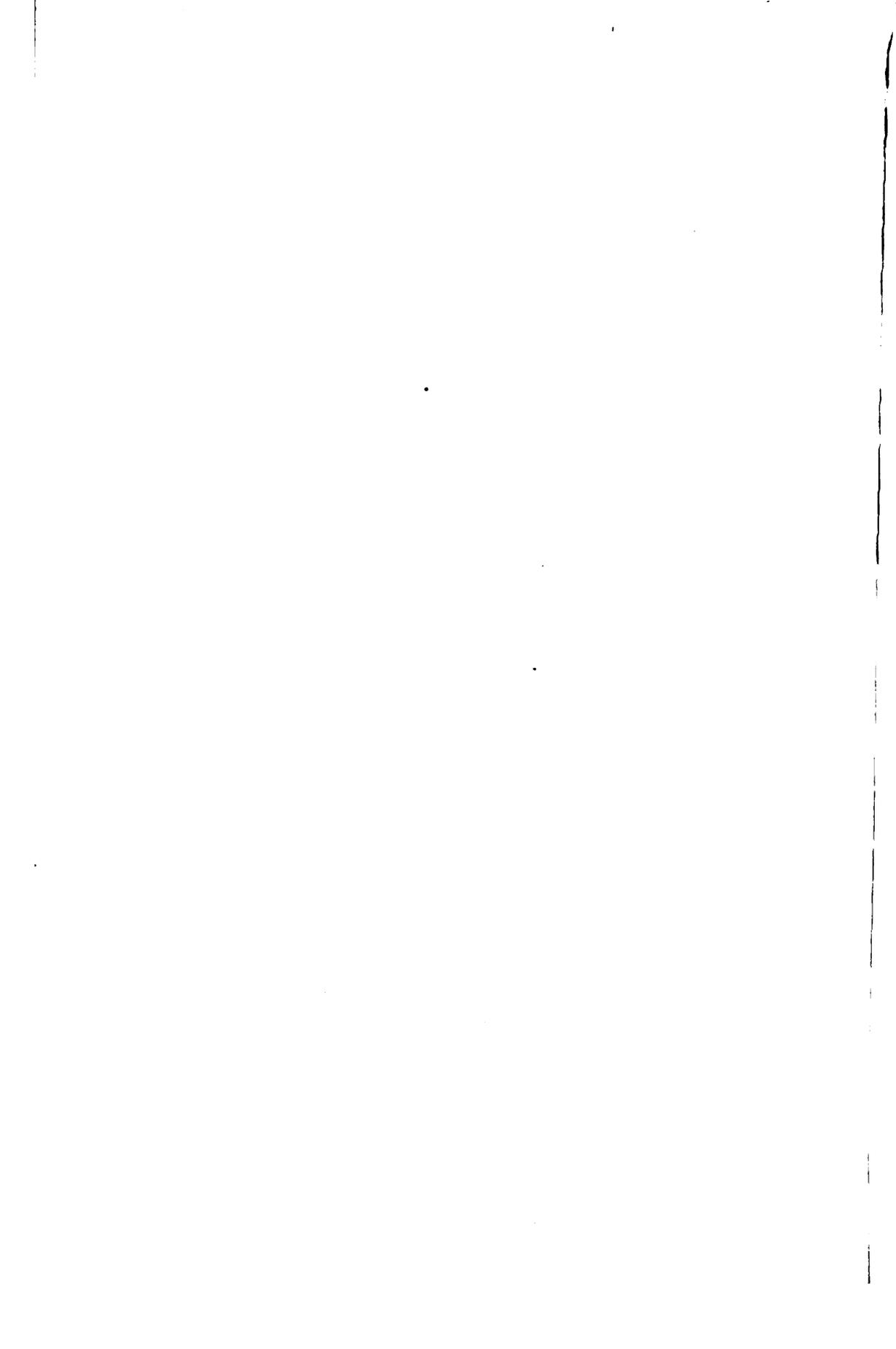


Abb. 25

4. Stadium: Heilung. An Muskulatur und Haut nur noch Andeutungen zu sehen, wo der Tumor früher gesessen hat.











Zeitschrift  
für Chemotherapie

24  
v. 2  
BIOLOGY  
LIBRARY  
G

Dec 9, 1925

413777

BIOLOGY  
LIBRARY  
G

UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

