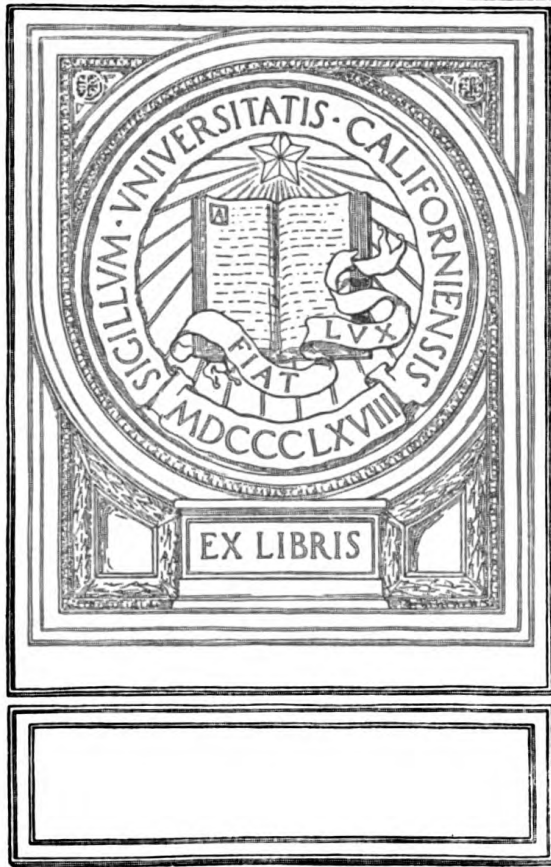


UNIVERSITY OF CALIFORNIA
SAN FRANCISCO MEDICAL CENTER
LIBRARY



ZEITSCHRIFT
FÜR
HYGIENE
UND
INFEKTIONSKRANKHEITEN

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE UND **PROF. DR. F. NEUFELD**

GEH. MED.-RAT

GEH. MED.-RAT UND DIREKTOR
DES INSTITUTS FÜR INFEKTIONSKRANK-
HEITEN „ROBERT KOCH“ IN BERLIN

99. BAND

MIT 31 TEXTABBILDUNGEN



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1923

WILHELM
D. 1808 J. A. 18

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Mühlens, P. Die russische Hunger- und Seuchenkatastrophe in den Jahren 1921—1922. (Mit 24 Textabbildungen)	1
Meull, Hans. Studien zum Bakteriophagenproblem. II. Mitteilung. Die Konzentration des lytischen Prinzips und ihre Beziehungen zum Ablauf der Bakteriophagenreaktion. (Mit 2 Textabbildungen)	46
Liebermann, L. v. und D. Acél. Über Resistenzänderungen der roten Blutkörperchen bei physischer Arbeit	67
Reiter, Hans. Wird die Sterblichkeit vor vollendeter Aufzucht durch Geschwisterzahl und soziale Lage der Eltern beeinflusst? III. Mitteilung	76
Dresel, E. G. Erwiderung zu vorstehender Arbeit von H. Reiter . . .	84
Kojima, Katsumi. Über einen neuen Toxinbildner aus der Rauschbrandgruppe	86
Müller, Alfred. Über die Prüfung von Desinfizienten	94
Bleyer, Leo. Der Nachweis der Abtötung durch Kultur und Tierversuch bei mit Hitze behandelten Bakterien	98
Ruppel, W. G. und O. Ornstein. Über die Immunisierung gegen Schweine-rotlauf mit einem neuen keimfreien Impfstoff und über Schweine-rotlaufserum	101
Rodewald, Karsten. Über die Widerstandsfähigkeit von Geflügelcholera und Streptokokken gegenüber Sublimat, Carbolsäure und Trypaflavin .	117
Boecker, Eduard. Über die submerse Vermehrung der Tuberkelbacillen in flüssigen Nährböden. II. Mitteilung	121
Bieling, R. und A. Gottschalk. Die Verteilung der Toxine im Körper . .	125
Bieling, R. und A. Gottschalk. Bindung, Ausscheidung und Vernichtung von Toxinen im Körper	142
Kreuser. Erfahrungen aus der Ruhrepidemie von 1914—1920 in den Kreisen Saarbrücken und Saarlouis. (Mit 3 Textabbildungen)	166
Schlossberger, H. und R. Prigge. Versuche zur kulturellen Differenzierung der säurefesten Bakterien	186
Yoshioka, M. Untersuchungen zur Pneumokokkenimmunität. V. Mitteilung. Beitrag zur Frage der Wertbestimmung von Pneumo- und Streptokokkensäuren	193
Fleischer, Ludwig und S. Amster. Über den Einfluß des Mediums auf die Resistenz der Bakterien. Desinfektionsversuche mit Hitze	209
Morgenroth, J. und R. Schnitzer. Zur chemotherapeutischen Biologie der Mikroorganismen. II. Mitteilung. Weitere Beobachtungen über chemotherapeutische Antisepsis und Zustandsänderungen der Streptokokken.	221
Strauss, W. und W. Liese. Untersuchungen zur Wertung einiger neuer Sputumdesinfektionsverfahren	245
Jungeblut, Claus W. Über Festigungsversuche an Bakterien, mit besonderer Berücksichtigung der physikalisch-chemischen Veränderungen.	254
Bonacorsi, L. Über den Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf die entwicklungshemmende Wirkung chemischer Substanzen	284

12001

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Fischer, K. Über die Schädigung der Mundschleimhaut durch Tabakstaub	296
Weigl, R. Die Beziehungen der X-Stämme zur Rickettsia Prowazeki. Vorläufige Mitteilung	302
Gosio, B. Ergebnisse bakteriologischer Influenzaforschungen	314
Bürgers, Th. J. Das Scharlachproblem. Eine epidemiologische Studie	323
Nuck, Kurt. Praktische Erfahrungen über das Verhalten von Kleinhäusern aus „Ersatzbaustoffen“	350
Nuck, Kurt. Untersuchungen über Wandisolationen unter sommerlichen Verhältnissen. (Mit 3 Textabbildungen)	359
Schnitzer, R. und F. Munter. Über Zustandsänderungen der Streptokokken im Tierkörper. III. Mitteilung	366
Fraenkel, Eugen und Hans Much. Weitere Untersuchungen über Lymphogranulomatose	391
Scheidegger, Edwin. Studien zum Bakteriophagenproblem. IV. Mitteilung. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das lytische Agens und den Ablauf der übertragbaren Bakteriolyse	403
Simić, T. V. Untersuchungen über die Wirkungsweise des Neosalvarsans	417
Autorenverzeichnis	447

Die russische Hunger- und Seuchenkatastrophe in den Jahren 1921–1922.

Von

Prof. Dr. P. Mühlens, Hamburg, Tropeninstitut,
Leiter der vom Deutschen Roten Kreuz entsandten sanitären Hilfsexpedition für Rußland.

Mit 24 Textabbildungen.

A. Einleitung.

Wenn ich es versuche, im folgenden einige Daten aus meinen Erinnerungen an Rußlands schwerste Hunger- und Seuchenzeiten wiederzugeben, so bin ich mir von vornherein mancher Unzulänglichkeiten meiner Darstellung bewußt. Vieles von dem Geschehenen, Gehörten und Gesehenen läßt sich in Worten überhaupt nicht ausdrücken. Auch sind die folgenden Statistiken und andere Zahlen, obwohl sie zum großen Teil auf amtlichen Angaben bzw. Zusammenstellungen beruhen, vielfach unvollständig, wie auch von den russischen Behörden zugegeben wird. Das *Krankheits-Meldesystem* versagte in dem Kriegs-Zusammenbruchsjahr 1917 fast gänzlich und konnte auch später in den Revolutionszeiten und während der folgenden inneren und äußeren Kriege auf Zuverlässigkeit keinen Anspruch machen. In den Jahren 1920 und 1921 wurden die statistischen Daten wieder zuverlässiger. Immerhin blieben sie auch dann noch in vielen Gouvernements ungenau und unvollständig, *ungenau* vor allem deshalb, weil die Diagnosen meist nur auf Grund der klinischen Befunde gestellt wurden. So ist sicher vieles als Grippe und Malaria bezeichnet worden, was in Wirklichkeit zum Flecktyphus und Recurrens, vielleicht auch zu typhösen und paratyphösen Erkrankungen gehörte. Und ebenso wurde umgekehrt wohl mancher leichte Flecktyphus- und Recurrensfall, namentlich bei Wieder- und Kindererkrankungen als Grippe oder Malaria erklärt oder — ebenso wie manche Choleraerkrankung — überhaupt nicht erkannt und gemeldet. Zu bedenken ist ferner, daß nur *die* Fälle statistisch verwertet werden konnten, die zur Kenntnis der Ärzte und Feldschere gelangten und von diesen den Sanitätsbehörden weitergemeldet wurden, daß in manchen Gegenden mit zahlreichen Infektionskrankheiten zeitweise überhaupt *keine ärztliche Versorgung* stattfand, daß viele indolente oder von Hunger erschöpfte Kranke keine sanitäre Hilfe mehr aufsuchten und daß schließlich infektiöse Krankheiten *verborgen* wurden aus Furcht vor Überführung in die überfüllten und schlecht versorgten Infektionskrankenhäuser.

Nicht minder haben auch die — oft schätzungsweise zusammengestellten — Angaben über die *Zahlen der Hungernden* und der an Hunger Verstorbenen nur annähernden Wert. Sie dürften wohl auf Grund von späteren Erhebungen und Volkszählungen nach Beendigung der Katastrophe noch wesentliche Änderungen erfahren. Dabei werden bei der Berechnung der Mortalität die an Hunger sowie Infektions- und sonstigen Krankheiten Verstorbenen zum Teil nicht sicher voneinander zu trennen sein.

Trotz aller dieser Fehlerquellen ¹⁾ beanspruchen die russischen Seuchen- und Hungerstatistiken doch mehr als lediglich historisches Interesse.

Für viele der folgenden Angaben bin ich den Moskauer Gesundheitsbehörden sowie auch dem bekannten Moskauer Epidemiologen, Herrn Kollegen Prof. *Tarassewitsch*, sehr dankbar, der u. a. durch ständige schriftliche Verbindung mit Ärzten aus den Hunger- und Seuchengebieten gute lokale Informationen bezog, die zum Teil in seinem ausgezeichneten epidemiologischen Berichte ²⁾ niedergelegt sind. — Der auf der *Warschauer Sanitätskonferenz* am 18. III. 1922 von den Herren Dr. *Ssyssin* und *Kalina* erstattete zusammenfassende Bericht enthielt ebenfalls viele wertvolle Daten, die ich zum Teil mitbenutzt habe.

Die *Übersetzung* der russischen Berichte, insbesondere auch der Vorträge auf dem VI. Russischen Bakteriologen-Kongreß ³⁾ sowie die Sammlung weiterer wertvoller russischer Literaturangaben verdanke ich meinem Mitarbeiter Herrn Dr. *Nauck*. Auch meine anderen Expeditionsmitglieder haben sich an der Materialbeschaffung beteiligt.

B. Geschichtliches.

In den Jahren 1921/22 wurde das ohnehin schwerkgeprüfte Rußland mitsamt der Ukraine von einer Hunger- und Seuchenkatastrophe heimgesucht, wie sie in Europa und vielleicht in der ganzen Weltgeschichte einzigartig dasteht. Hungerkatastrophen und Seuchenepidemien sind zwar in der Geschichte keine Seltenheiten, die letzteren oft ausgelöst durch die ersteren und die durch sie oder auch durch Kriege hervorgerufenen Massenbewegungen sowie eventuell auch auftretend im Gefolge von Kriegs- und Revolutionswirren.

Außer Rußland sind bekanntlich insbesondere auch *Indien* und *China* die von Hungersnot am häufigsten heimgesuchten Länder und zum Teil auch ein bekannter Boden für die sog. Hungerseuchen, d. h.

¹⁾ Die Ungenauigkeit der Statistiken ergibt sich auch aus den Unterschieden in den aus verschiedenen Quellen stammenden Zusammenstellungen.

²⁾ *L. Tarassewitsch*, Renseignements épidémiologiques. Les Epidémies en Russie depuis 1914. 1^{re} Partie. Genf 1922. Société des Nations.

³⁾ *Mühlens* und *Nauck*, VI. Allrussischer Bakteriologen- und Epidemiologen-Kongreß. Zentrallbl. f. Bakteriol. I. Abt. Ref. **74**, 1. 1922.

die vorzugsweise bei Hungersnot auftretenden Epidemien von Flecktyphus, Cholera, Dysenterie, ferner auch Pest und Rückfallfieber.

Selbst in *Westeuropa* (Irland, Schlesien) waren bis zum Anfang des 19. Jahrhunderts Hungerkatastrophen mit den begleitenden Seuchen nicht unbekannt. So zählt auch Irland zu den klassischen Flecktyphusländern. — Mit Bezug auf Rußland sagt der Historiker *Romanowitsch Slowatinsky*¹⁾ im Jahre 1891: „Mißernten und Hungerperioden sind eine chronische Erscheinung im russischen Volksleben seit Beginn seiner historischen Existenz.“ — Im 11. bis 16. Jahrhundert wurden in Rußland durchschnittlich 8 mal in je 100 Jahren, also etwa alle 13 Jahre Mißernten verzeichnet, im 17. Jahrhundert noch häufiger, im 18. Jahrhundert allein 34 und im 19. noch mehr. Insbesondere geht in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts diese eigenartige Zunahme der Mißernten weiter, so daß der Moskauer Professor *Tarasewitsch* in einer im Jahre 1907 erschienenen Schrift über den Hunger den Ausspruch tat: „Von den 1890 er Jahren an haben wir eigentlich ein ununterbrochenes Hungern.“

Damals, im Jahre 1907, war in 29 Gouvernements eine Mißernte, und es hungerten 25 Millionen Menschen. Daraufhin folgte prompt und typisch in den Jahren 1908 und 1909 ein starkes *Ansteigen der Infektionskrankheiten*, namentlich der sog. Hungerseuchen.

Es steht also historisch fest, daß — selbst abgesehen von den ausgesprochenen Mißernte- und Hungerjahren — seit Jahrzehnten, ja seit Jahrhunderten, in Rußland ein großer Teil der Bevölkerung, namentlich der unteren Klassen, sich bei sehr einförmiger Kost nicht immer sattessen konnte. *Tarasewitsch* sagt sehr treffend: „Die Hungersnot in Rußland ist eigentlich nur die Verschärfung eines chronischen Leidens, der ständigen Unterernährung.“

Ohne weiteres ist es klar, daß bei einer derartig ständig unterernährten Bevölkerung der ganze Organismus mitsamt der Psyche und der Willenskraft leiden und die ganze Persönlichkeit auf ein niedrigeres Niveau sinken muß (*Bechterew*). So sind manche *Eigenschaften eines Teiles des russischen Volkes*, wie stumpfsinnige Gleichgültigkeit, Sorglosigkeit gegenüber sozialen und persönlichen Angelegenheiten, mangelnde Arbeitsfreudigkeit und Unentschlossenheit, der sorglos leichtfertige, in dem eigentlich „nichts“-sagen-sollenden und doch so vielsagenden Worte „*Nitschewo*“ zum Ausdruck kommende *Optimismus*, nicht allein durch fatalistische Weltanschauung, sondern vielmehr sicher zum Teil auch durch das *chronische Nicht-Sattessen* und Unterernährtsein weiter Bevölkerungsschichten in Rußland zu erklären. Auch der früher so weit verbreitete *Alkoholismus* und die dadurch herbeigeführten sozialen

¹⁾ Zitiert nach *L. Tarasewitsch*, Der Hunger. Kiew 1907.

Schäden in Rußland (Herabsetzung der Arbeitskräfte usw.) können und müssen zum Teil indirekt als Hungerfolgen erklärt werden.

Die vielen Mißernten und der dadurch herbeigeführte chronische Hunger in Rußland haben also zu einem *Circulus vitiosus* geführt, in dem Ursachen und Wirkungen sich immer wieder ab- bzw. auslösen: Vor allem sind die als Folge dieses Hungerns bedeutend geringeren Arbeitsleistungen und die Verständnislosigkeit der Landbevölkerung gegenüber ihrer Lage vielleicht auch mit eine der Ursachen dafür, daß die Hungersnöte allmählich immer häufiger geworden sind — einfach deshalb, weil von den Unterernährten lange nicht *die* Feldarbeiten alljährlich ausgeführt worden sind, die von einer normal ernährten, kräftigen, willensstarken Landbevölkerung geleistet werden und weil dementsprechend für die dürrn Jahre nicht genügend Reserven gesammelt werden können.

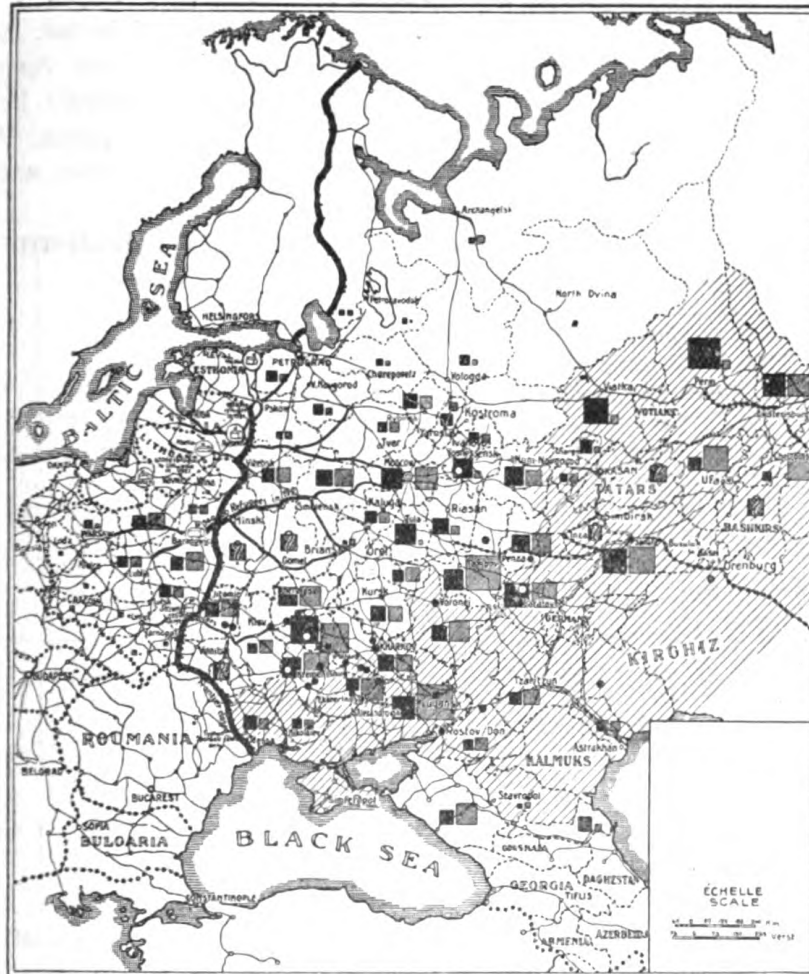
Ich bin auf diese Verhältnisse etwas näher eingegangen, weil sie mir nicht nur *rückblickend* von kulturhistorischem Interesse zu sein scheinen, sondern weil sie auch manche Erscheinung der jetzigen Katastrophe erklären können und insbesondere für die *Prognose des Wiederaufbaues* Rußlands von allergrößter Bedeutung sind. Beim Wiederaufbau spielen nach meiner Ansicht auch *sozialhygienische Fragen*, vor allem aber auch die Frage einer *zukünftigen regelmäßigen besseren und vielseitigeren Lebensmittelversorgung* gerade der landarbeitenden Volksschichten eine große, wenn nicht eine der wichtigsten Rollen (vgl. auch S. 44).

C. Die Hungerkatastrophe im Jahre 1921.

Nach einer mäßigen Ernte im vorausgegangenen Jahr hatte im Jahre 1921 eine unheilvolle, in solchem Maße noch nie dagewesene *Dürre* die ohnehin geringe *Aussaat in vielen Gouvernements teilweise oder fast völlig vernichtet*. Dieser schwere Schlag traf Rußland zu einer Zeit, in der ohnehin durch die Folgen der äußeren und inneren Kriege, durch die jahrelange Blockade mit völligem Abschluß von allen Auslandsbeziehungen und Industrieverbindungen sowie durch verheerende Seuchenzüge in den Jahren 1918—1920 die Notlage aufs höchste gestiegen war und infolge der Abgaben, Kriegs- und sonstigen Requisitionen keine Reserven bei der Landbevölkerung mehr vorhanden waren. Er traf das ohnehin schwer leidende Land in seinem *Herzen*, in der *Getreidekammer* an der Wolga, in den Gebieten, die früher mit 2343 Millionen Pud, also mit 38½ Millionen Tonnen Getreide über die Hälfte einer auf 4525 Millionen Pud, also über 74 Millionen Tonnen angegebenen russischen Gesamternte lieferten und zum Teil auch noch Europa mit ihren Überschüssen versorgten.

Durch das *unglückselige Zusammentreffen so vieler ungünstiger Umstände* mußte die fast schlagartig einsetzende Hungersnot mit ihren

furchtbaren Folgen so verheerend werden. Den *wahren unendlichen Umfang der Katastrophe* vermag nur zu erkennen und zu glauben, wer mit eigenen Augen das *Hungerelend* an der Wolga und in der Ukraine



- Erklärung:
- Flecktyphus.
 - ▨ Recurrens.
 - Choleraherde.
 - ▧ Hungerzone.
 - 🚂 Quarantänestationen.
 - Eisenbahnwege.
 - 🚫 Keine statistischen Daten.
 - ⋯ Eisenbahnliesen, für Passagiere gesperrt.
- Anzahl der Fälle: 500 1000 2000 4000 1 qmm entspricht 100 Fällen.

Abb. 1. Epidemische Lage in Ost-Europa im Frühjahr 1922. (Nach einer Zusammenstellung der epidemiologischen Abteilung des Völkerbundes.)

gesehen und in seinen volkswirtschaftlichen und Seuchenfolgen voll und ganz begriffen hat. Zahlen allein schon sprechen Bände und schildern Tragödien. Lassen wir sie reden!

Die *ursprünglichen Hungergebiete* erstreckten sich im Herbst und Winter 1921/22 auf einen großen Teil *Ostrußlands*, im Norden bis in die Gouvernements *Wjatka* und *Perm* hinein, dann über *Kasan*, *Ufa*, *Samara*, *Saratow* und *Orenburg* bis nach *Astrachan* hin. Hinzu kamen im Spätwinter und im Frühjahr noch weite Teile der *Ukraine*. Ganz besonders schwer heimgesucht waren die Gouvernements *Samara*, *Saratow*, in denen auch die sog. „*deutschen Wolgakolonien*“ liegen, ferner *Ufa* und das *Uralgebiet* sowie die Tatarenrepublik *Kasan*. Auch die deutschstämmigen Kolonisten in den *Schwarzmeer-Gebieten* wurden sehr stark in Mitleidenschaft gezogen.

Nach einem russischen offiziellen Bericht war der *Ernteertrag* in den Jahren 1913—1921 folgender:

*Tabelle I. Brutto-Ernteertrag in Millionen Pud.
(1 Pud = 16,38 kg).*

Jahr	Getreide	Kartoffeln	Ölpflanzen
1913	2342	290	39
1916	1612	191	24
1921	935	71	—

Eine andere Zusammenstellung ergibt folgende Zahlen:

Die Wolgadeutschen bearbeiteten:

1914	800,000	Deßjatinen Land	(Deßjatine = 1,0925 Hektar)
1919	629,000	„	„
1920	564,000	„	„
1921	202,000	„	„

Die Wolgadeutschen ernteten:

1914	18	Millionen Pud	Getreide
1920	3 $\frac{1}{2}$	„	„
1921	70—80	Tausend	„

Von ganz besonderem Interesse ist weiterhin auch die statistische Zusammenstellung in *Tabelle II*.

In dieser Übersicht interessieren vor allem die Zahlen der letzten Rubrik, nach denen im Jahre 1921 in den aufgezählten 32 von der Mißernte betroffenen Gouvernements im Durchschnitt die *Nettoernte* der wichtigsten Getreidearten 3,5 *Pud*¹⁾ (also 57,4 kg) *pro Kopf der Bevölkerung* betrug; unter diesen 32 hatten 9 *Gouvernements eine Ernte von nur 0,1—1,0 Pud* (also 1,64—16,4 kg) *pro Kopf*. Die niedrigsten Zahlen mit 0,1—0,2 *Pud* zeigten die Gouvernements *Samara*, *Bukejew* und die *Baschkirenrepublik*. So ist es verständlich, wenn es in einem Berichte heißt: „Im Gouvernement *Samara* hatten im August 1921 45% der *Bewohner kein Brot*, im September 76% und im Dezember 99,2%.“ —

¹⁾ 1 *Pud* = 16,38 kg.

Tabelle II. Die Bevölkerung, die Anbaufläche und der Ertrag der wichtigsten Getreidearten in den Hungergebieten im Jahre 1921 laut Angaben des Statistischen Zentralbureaus (Moskau).

Gouvernements- gruppen	Gouvernements, Gebiete und Republiken	Zahl der Kreise	Zahl der betroffenen Kreise	Die Bevölkerung (in 1000 Seelen)			Ertrag der wichtigsten Getreidearten		
				Dorfbevölkerung	Stadtbevölkerung	Insgesamt	Anbaufläche im Jahre 1921 (Dejlatinen)	Bruttoernte pro Dejlatine i. Pud	Nettoernte pro Kopf der Be- völkerung in Pud
A. Gouvernements mit totaler Mißernte	Baschkirenrepublik	12	12	1198	71	1269	618,3	8,4	0,2
	Marigebiet	3	3	290	10	300	224,9	6,1	4,1
	Arbeitskommune	3	3	419	35	454	179,0	1,8	1,2
	Samara	7	7	2486	335	2821	1282,7	5,5	0,1
	Tatarenrepublik	11	11	2638	248	2886	1321,0	6,3	1,3
	Ufa	4	4	1754	255	2009	930,3	7,9	0,4
	Tschuwaschengebiet	3	3	738	20	758	334,4	6,5	1,8
	Aktjubinsk	6	6	464	17	481	242,7	1,3	1,6
	Bukejew	7	7	222	2	224	22,4	2,5	0,2
	Kustanaisk	8	8	414	24	438	379,2	3,8	2,3
Orenburg	8	8	534	136	670	476,4	5,2	1,9	
Ural	5	5	515	51	566	131,2	1,9	0,6	
Zusammen		77	77	11 672	1204	12 876	6142,5	5,9	0,9
B. Gouvernements mit einem Ertrag bis zu 5 Pud pro Kopf der Be- völkerung	Astrachan	3	3	244	143	387	66,7	5,7	1,0
	Wotsk	5	5	634	53	687	336,6	12,9	0,8
	Krim	7	3	347	360	707	535,0	10,2	3,5
	Saratow	12	12	2629	436	3065	1367,7	13,4	3,8
	Simbirsk	7	7	1436	207	1643	736,1	10,8	1,7
	Zarizyn	7	7	1019	180	1199	847,3	8,4	3,6
	Tscheljabinsk	6	6	1159	182	1341	683,4	9,6	0,7
	Stawropol	4	2	872	73	945	801,2	8,3	1,0
	Akmolinsk	4	2	1010	61	1071	532,2	15,7	4,7
Saporoschje	5	5	1141	147	1288	1400,0	8,2	1,8	
Zusammen		60	52	10 491	1842	12 333	7305,2	10,5	2,5
C. Gouvernements mit einem Ertrag von 5—10 Pud pro Kopf der Be- völkerung	Woronesch	13	7	2925	229	3154	828,5	28,2	6,0
	Wjatka	10	6	1947	105	2052	1122,2	15,9	5,1
	Jekaterinburg	10	2	1442	540	1982	801,7	27,9	8,6
	Perm	7	3	1461	331	1792	702,5	32,4	9,7
	Rjasan	13	10	2032	124	2156	726,3	32,4	8,0
	Dongebiet	7	5	1173	372	1545	943,1	15,1	7,6
	Tjumen	5	1	1179	87	1266	534,1	35,0	7,0
	Donetzgebiet	10	2	2262	350	3112	1391,9	19,5	7,9
	Jekaterinoslaw	5	3	1415	367	1782	1114,0	14,1	5,7
Nikolajew	4	3	1108	312	1420	1240,1	11,4	5,5	
Zusammen		84	42	16 944	3317	20 261	9454,3	21,1	7,1
Insgesamt		221	171	39 107	6333	45 470	22 902,0	13,7	3,5

Unser Expeditionsmitglied Dr. *Halberkann* traf im März 1922 an der Wolga *deutschstämmige Bauern*, die seit *Weihnachten 1921 kein Brot mehr gegessen* hatten.

Wie ich schon in der Einleitung bemerkte, können absolut genaue Angaben über die **Zahl der Hungernden** unmöglich gemacht werden. Ein ungefähres Bild aber kann man sich aus den in Tab. III wiedergegebenen Zahlen aus 15 der am schwersten heimgesuchten Gebiete Rußlands machen, die ich aus einer mir von Herrn *Eyduck*, dem Vertreter der russischen Regierung bei den auswärtigen Hilfsorganisationen, zur Verfügung gestellten größeren Gesamtübersicht ausgezogen habe.

Tabelle III. Zahl der Hungernden (nach dem Stande anfangs Mai 1922.)

Distrikte	Gesamtbevölkerung			Anzahl der Hungernden		
	Erwachsene	Kinder	Zusammen	Erwachsene	Kinder	Zusammen
1. <i>Baschkirenrepublik</i> (Rayon Orenburg)	165 000	130 000	295 000	151 050	119 000	270 050
2. <i>Baschkirenrepublik</i> (Rayon Uia) . .	546 000	428 000	974 000	442 950	347 250	790 200
3. Gouv. <i>Bukejew</i> (Rayon Orenburg)	123 200	95 800	219 000	73 920	57 480	131 400
4. <i>Marigebiet</i> (Rayon Kasan) .	237 000	135 000	372 000	213 300	121 500	334 800
5. Gouv. <i>Orenburg, Turgai, Aktjubinsk, Kustanaisk</i> (Kirgisenrepublik)	797 500	624 000	1 421 500	478 500	374 400	852 900
6. Gouv. <i>Samara</i> . .	1 581 000	1 240 000	2 821 000	1 501 950	1 178 000	2 679 950
7. Gouv. <i>Saratow</i> . .	1 716 000	1 348 000	3 064 000	1 127 200	885 750	2 012 950
8. Gouv. <i>Simbirsk</i> .	922 000	721 000	1 643 000	668 600	522 550	1 191 150
9. <i>Tatarenrepublik</i> (Rayon Kasan) .	1 640 000	1 289 000	2 929 000	1 562 050	1 223 000	2 785 050
10. Gouv. <i>Tscheljabinsk</i>	752 000	589 000	1 341 000	502 350	393 700	896 050
11. <i>Tschuwaschengebiet</i>	425 000	333 000	758 000	390 940	306 360	697 300
12. Gouv. <i>Ufa</i> . . .	1 125 000	883 000	2 008 000	1 038 650	815 150	1 853 800
13. <i>Uralgebiet</i> (Rayon Saratow)	401 000	314 000	715 000	240 600	188 400	429 000
14. <i>Deutsche Wolga-Kommune</i> (Rayon Saratow)	255 000	199 000	454 000	153 000	119 400	272 400
15. Gouv. <i>Zarizyn</i> . .	672 000	527 000	1 199 000	282 250	299 200	581 450
Zusammen	11 357 700	8 855 800	20 213 500	8 827 310	6 951 140	15 778 450

Von 11 357 700 *Erwachsenen* in 15 Gouvernements hungerten: 8 827 310 (= 77,7%)

„ 8 855 800 *Kindern* „ 15 „ „ 6 951 140 (= 78,7%)

Von 20 213 500 Ges.-Bevölk. in 15 Gouvernements hungerten: **15 778 450 (= 78,05%)**

Derartiges Zahlenmaterial spricht mehr als Worte. In den von der Mißernte am schwersten betroffenen Gouvernements schwankte also die *Zahl der Hungernden zwischen 50—90% und mehr*. Und es ist keine Übertreibung, wenn im *April 1922* die Zahl der Hungernden (einschließlich denen in der Ukraine) *auf 35—40 Millionen* geschätzt wurde, von denen sich damals *viele Millionen in unmittelbarer Lebensgefahr befanden und mehrere Millionen unrettbar dem Tode verfallen schienen (Nansen)*.

Über die *allgemeine Sterblichkeit* und die *Gesamtzahl der bisherigen Hunger- und Seuchenopfer* liegen noch keine zuverlässigen Zahlenangaben vor (vgl. auch S. 2). Am höchsten war in vielen Hungergebieten die Sterblichkeit *unter den Kindern*, so in den *Kinderasylen in Ufa 70—90%*; d. h. die kleinsten Kinder starben fast alle: die Sterblichkeit im Alter bis zu einem Jahre wurde mit *80—100%*, die der anderen Jahre mit *30—40%* angegeben. — In den verschiedenen Hungergebieten nahm die *Gesamtsterblichkeit* von Monat zu Monat zu und erreichte stellenweise, z. B. in manchen Gegenden der Gouvernements Kasan, Samara, Saratow und Ufa in den Monaten Januar bis März schätzungsweise *5—8% pro Monat* (nach offizieller Statistik allerdings weniger).

Im Gouvern. Ufa z. B. starben:	Stadt Ufa:	Distrikt Ufa:
vom 1.—15. I. 1922:	1917	5323
vom 16.—31. I. 1922:	3978	14128

Im Frühjahr wurde aus der *Tatarenrepublik* berichtet: „Die Bevölkerungszahl ist gegen 1921 um $12\frac{1}{2}\%$ gesunken. Über eine Million Kinder sterben in rascher Folge.“

In *Ufa* zählte man zeitweise *74 000 Kranke auf 217 000 Hungernde*.

Die Mißernte mit ihren Folgen betraf aber nicht nur die Menschen, sondern auch die **Tiere**, vor allem die **Haus- und Nutztiere**, die unter dem Futtermangel entsetzlich zu leiden hatten und in großer Zahl zugrunde gingen. Andere wurden *abgeschlachtet*, zum Teil zu Ernährungszwecken, teils aber auch, um dem Hungertode der Tiere vorzubeugen sowie um das Fleisch zu verkaufen bzw. gegen Getreide und andere Lebensmittel einzutauschen¹⁾. So kam es, daß in vielen Gegenden, besonders auch in den Städten, in den ersten Monaten der Hungersnot *Fleisch im Überfluß* und zu billigen Preisen zu haben war. Später trat, zuerst auf dem Lande, gerade das *Gegenteil* ein, und man verzehrte schließlich sogar das Fleisch von Hunden, Katzen, Ratten, Zieselmäusen und selbst von Kadavern (Tieren und Menschen).

¹⁾ Nach einem neueren Bericht aus der *Tatarenrepublik* soll daselbst die *Zahl der Pferde* um 83% , in den Gouvernements *Samara* und *Saratow* um noch höhere Prozente vermindert sein. Entsprechend verhalten sich natürlich auch die Zahlen der anderen Haus- und Nutztiere.



Abb. 3. Von ihren Eltern auf der Flucht zurückgelassene Kinder.



Abb. 4. Hungerleichen in einer Leichenkammer.



Abb. 2. Hungergestalten an der Wolga.

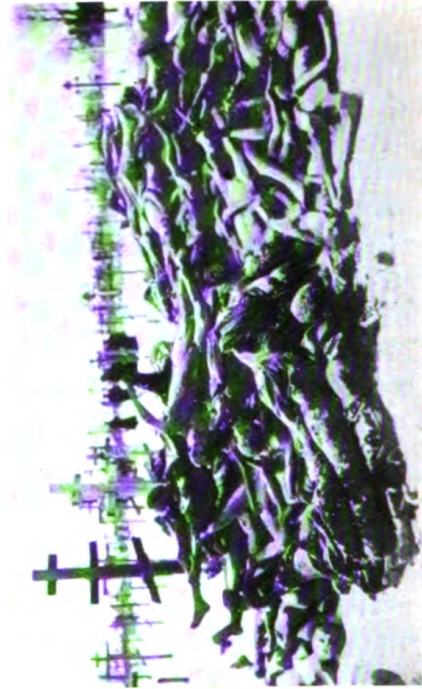


Abb. 5. Unbestattete Hungerleichen auf einem Friedhofe. (F. Nansen.)



Abb. 6. Flüchtlinge aus den Hungergebieten.



Abb. 7. Todesgrauen in einem Flüchtlingslager.



Abb. 8. Auf der Flucht verstorben.



Abb. 9. Abtransport von an Hunger und Seuchen Verstorbenen.

Als **Brotersatz** sahen wir in der ersten Zeit — solange es derartiges gegen teures Geld überhaupt noch gab — Mehl aus gemahlenden Baumrinden, Haselstrauchknospen, Eicheln (mit Schalen), Steppengras (sog. „Lebeda“, Melde), Gerstenspreu, Maisstroh und Scheunentennen-Kehricht (meist Stroh und Schmutz). Selbst *lehmartige Tonerde* wurde genossen, weil sie für fetthaltig und nahrhaft gehalten wurde. Das war natürlich nur eine Magentäuschung und viele Menschen gingen infolge des „*Lehmessens*“ zugrunde. Bei Obduktionen fanden sich dann häufig größere Lehm Massen im Magen und in den Darmpartien. Bekanntlich ist von „Lehmessen“ auch schon früher, wenn auch nicht in diesem Maße und zum Teil aus anderen Gründen, in der Literatur die Rede.

Aus dem *Samara*-Gebiet wurde über *Koprophagie*, namentlich von seiten der Kinder, die alles aßen, berichtet. „Auch *Knochen* wurden gesammelt, getrocknet und zermahlen. Derartiges Mehl verursachte fürchterliche Koliken und hatte schnellen Tod zur Folge.“ In einem Berichte aus der *Baschkirenrepublik* heißt es: „Als die Schneefälle einsetzten, begann man Lehm und gemahlene Knochen als Nahrungsmittel zu verwerten; dann fing man an, Katzen, Hunde und Ratten zu essen. Jetzt sammeln die Hungernden auf der Straße *Pferdemist*, backen und verschlingen ihn mit Heißhunger. Es kommt vor, daß Hungernde auch Menschenfleisch verzehren.“

In den **Hungerdörfern**, namentlich in der Tatarenrepublik, sahen wir schon im November 1921 herzerreißende Bilder: viele Hütten waren verlassen, ausgestorben und menschenleer und zahlreiche Häuser mit Brettern verschlagen. In anderen fand man bei genauerem Zusehen zusammengekrümmte Jammergestalten, meist Frauen und Kinder, nur dürftig in Lumpen gehüllt, in den ungeheizten Räumen daliegen, teilnahmslos, den sicheren Tod vor Augen, teils bis aufs Skelett abgemagert, teils von Hungerödemen wassersüchtig aufgetrieben, nicht wenige auch in schweren Flecktyphusdelirien oder mit anderen Krankheiten behaftet. In manchen Dörfern lag bis zu $\frac{1}{3}$ und mehr der Bevölkerung bewußtlos darnieder (Bericht aus *Bussuluk*). — Ergreifende Bilder schilderten meine Mitarbeiter Dr. *Fischer* und Dr. *Halberkann* im März 1922 auch aus den von ihnen besuchten *Wolgakolonistendörfern* und Dr. *Nauck* aus der Tatarenrepublik. Manche der früher so blühenden Wolgakolonien schienen wie ausgestorben; kaum ein Mensch war draußen zu finden. Was man als die letzten Nahrungsmittel vorzeigte, war — ebenso wie im *Kasanbezirke* — zum Teil „entsetzlich anzusehen“.

Frithjof Nansen funkte im November 1921 in einem Radiotelegramm u. a. folgendes: „Morgens findet man in den Straßen von *Bussuluk* Leichen, die dort infolge Mangel an Transportmitteln einige Tage liegenbleiben. Ich sah eine Leiche von Hunden zerfleischt. Auf dem Kirchhofe sah ich 80 Leichen ohne alle Kleider zu einem Haufen zu-

sammengeworfen. Das waren die Opfer der beiden letzten Tage“ (vgl. Abb. 5).

Auch aus anderen Dörfern des Gouvernements *Samara* wurde berichtet, daß die Leichen unbestattet auf den Friedhöfen und in Scheunen lagen, von wo sie zum Teil nachts (zum Verzehren) gestohlen sein sollen. „Die Bewohner waren so entkräftet, daß sie die Leichen nicht mehr beerdigen konnten.“

D. Die Krankheiten und Epidemien als Hungerfolgen.

Den schon angedeuteten Depressionszuständen bis zu völliger Verzweiflung, Apathie und stummer Ergebenheit in das unabwendbare



Abb. 10. Deutschstämmige Wolgakolonisten in einem Flüchtlingsheim in Minsk.

Schicksal standen, zwar weniger häufig, auch Zustände von **Euphorie** und **krankhafter Exzitation** gegenüber. In der ersten Verzweiflung ließen sich viele **Hungernde** zu **panikartiger Flucht** hinreißen: teils zogen sie mit ihrem auf Leiterwagen transportablen Besitz von dannen. Unterwegs mußten sie alsdann gegen Lebensmittel ein Stück nach dem anderen verkaufen, bis sie schließlich in Flüchtlingsheimen, Hospitälern oder dergleichen endeten, als einzigen Besitz nur noch die Lumpen mit sich führend, die sie auf dem Leibe trugen. Der Weg der durch den Hunger grausam aus ihrer Heimat Vertriebenen war mit zahlreichen Leichen gekennzeichnet. Nicht geringere Verluste zählten die auf dem *Eisenbahnwege* Geflohenen.

Im Februar und März fanden wir mehrere Tausend panikartig aus ihren Wolgadörfern geflohene deutschstämmige Kolonisten in *Minsk*

in der allergrößten Hungers- und Krankheitsnot. Ich sah in den *Flüchtlingsheimen* Bilder, die fast ebenso traurig waren wie die in den Hungergebieten. In den Massenquartieren, die es in dieser Form nur in Rußland gibt, lagen die Ärmsten am Boden, in fürchterlichem Zusammengedrängtsein und in entsetzlich schlechter Luft, viele krank und vor Hunger kraftlos, alle schmutzig und total verlaust. Dementsprechend sahen wir *kaum einen Raum ohne Flecktyphuskranke*. Aus den eingefallenen Augenhöhlen der abgemagerten Jammergestalten starrte uns Todesahnen und Todesgrauen entgegen. Hilfe tat dringend not. Sie wurde von dem dorthin entsandten Dr. *Karstens* geleistet.

Auf der Fahrt mit unserem Sanitätszuge von *Petersburg* nach *Kasan* gewannen wir Ende Oktober 1921 bereits auf vielen Stationen ein Bild von *Flüchtlingselend* und Flüchtlingsnöten: die armen Flihenden fuhren teils eng zusammengepfercht in leeren ungeheizten Güterwagen, teils aber saßen oder hingen sie auch auf und an den Waggons jeglicher Art, an den Puffern und selbst auf den Lokomotiven, auf denen wir manchmal bis zu 30 Personen als blinde Passagiere zählen konnten. Wochenlang waren oft die Unglücklichen in den Waggons bei grimmiger Kälte unterwegs. Resultat: viele Erkrankungen und Todesfälle. Zum Teil fielen die Kraftlosen unterwegs von den Zügen herunter; viele andere starben — meist an Entkräftung oder Flecktyphus — in den Eisenbahnwaggons; andere auch, wenn sie tagelang in und bei den Bahnhofsgebäuden, in den Wartesälen der Hauptstationen der Hungerzentren oder auch draußen im Freien auf eine Fahrgelegenheit wartend lagern mußten. Auf vielen Bahnstationen sahen wir Waggons, in denen die *Leichen gesammelt* wurden und lange Zeit unbeerdigt herumstanden. So ist es auch ohne weiteres klar, daß und wie die *Eisenbahntransportwege* und *-mittel* eine *Hauptrolle bei der Weiterverbreitung der Hungerseuchen* spielen mußten.

Nach einem Berichte aus *Tscheljabinsk* wurden daselbst im Isolierhospital im Januar 835 *auf dem Bahnhof gefundene Leichen* eingeliefert, im Juni 1922 nur noch 104.

Auch wir konnten täglich den Abtransport von zahlreichen Leichen aus dem Infektionshospital am Bahnhof *Kasan* beobachten.

Als weitere „*Erregungszustände*“ sind noch zu nennen: das Auftreten von Verfolgungsideen sowie das Vorkommen von **Selbst- und Kindermorden**, die als „isoliert und kollektiv“ beobachtet berichtet wurden. *Selbstmorde* kamen nicht nur bei Erwachsenen vor, sondern auch bei *Kindern*, von denen z. B. einzelne — wie aus dem Gouvernement *Kasan* mitgeteilt wurde — den selbstgesuchten Wassertod (in Brunnen) dem Nagen am Hungertuche und dem langsamen Dahinsterben vorzogen. Andere erlöste elterliche Verzweiflung oder mütterliches Mitleid von ihren Hungers- und Daseinsqualen.

Der Vizepräsident der *Tatarenrepublik* sagt in einem Bericht: „Die schrecklichen Szenen *wahnsinnig gewordener Hungernder* spotten jeder Beschreibung.“

Der Höhepunkt von Wahnsinnstaten kam in den leider nicht vereinzelt gebliebenen Fällen von **Nekrophagie** und **Anthropophagie** zum Ausdruck, besonders in den am schlimmsten heimgesuchten Gegenden der Gouvernements *Samara* und *Kasan*. *Keiner* von meinen Expeditionsmitgliedern hat zwar die *Beweise an Ort und Stelle gesehen*. Nach den Protokollen der amtlichen Vernehmungen, nach den mir von russischen Regierungsvertretern übergebenen Abbildungen mit den aufgefundenen Menschenfleischteilen, sowie nach mündlichen Schilderungen von *Ärzten* und deutschen Pfarrern in den Wolga-Hungergebieten *zweifelte ich nicht mehr an der Wahrheit* dieser Tatsachen. In einem Berichte heißt es: „Die Lage in einzelnen Gegenden ist derart, daß es gefährlich ist, die Leichen öffentlich zu bestatten; man muß Wachen an den Gräbern aufstellen, weil die Hungernden die Leichen ausgraben und sie essen. Es wird offiziell ein Fall gemeldet, wo die Mutter ihr Kind in Stücke schnitt und das Fleisch im Topf aufbewahrte.“ — Nicht gerade selten waren die Fälle von *Leichenraub*. — Der Vizepräsident der Tatarenrepublik meldete folgendes: „Die Berichte über Nekrophagie werden erschreckend zahlreich.“ — Von einem durchaus glaubwürdigen (deutsch-russischen) Gewährsmann ist mir — ebenso wie von verschiedenen anderen Seiten — berichtet worden, daß gepökelttes Menschenfleisch käuflich zu haben war. Nach einem Berichte der offiziellen „Istwestija“ hat Dr. *Rosenstein* in *Samara* 200 Fälle von Kannibalismus untersucht. Als besonders krasser Fall wird mitgeteilt, daß ein Mann nicht weniger als 16 menschliche Wesen, darunter seine Frau, verzehrt habe. Auf weitere, in ähnlichem Sinne lautende Berichte, besonders auf die über Abschlachten und Verzehren von eigenen Angehörigen, will ich nicht näher eingehen.

Vielleicht sind aber einige kurze *Literaturangaben* über Anthropophagie und Nekrophagie von Interesse. Über *Anthropophagie* wird bekanntlich schon aus prähistorischen Zeiten berichtet. — *Andree* bezeichnet sie als eine der „Kinderkrankheiten des Menschengeschlechts“ und sagt weiter bezüglich der Hauptursache: „Daß der *Hunger* zu allen Zeiten und bei allen Völkern die Menschen zum Kannibalismus getrieben hat, ist natürlich und braucht nicht an Beispielen näher erörtert zu werden.“ — Das *Verzehren und selbst der Verkauf von Menschenfleisch* ist geschichtlich für manche Hungerländer erwiesen, so z. B. für Westaustralien. *Oldfield* sagt: „In Hungerszeiten töten die Watchandie in Westaustralien eines ihrer Kinder durch einen Keulenschlag in den Nacken, um das Fleisch zu verzehren.“

Auch für *Rußland* sind in früheren Hungerszeiten Fälle von Anthropophagie bekannt geworden. *Geschichtschreiber* berichten aus den *Hunger-*

jahren 1230—31 folgendes: „Einige aber von dem einfachen Volke zerschnitten lebendige Menschen und aßen sie, und die anderen totes Fleisch und zerschnittene Leichen, andere wieder Pferde-, Hunde- und Katzenfleisch.“ — Auch in den *Jahren 1601—02* aß man nicht nur Stroh, Heu, Katzen, Mäuse, Aas, sondern auch Menschenfleisch. In *Moskau* wurden damals selbst „Piroschki“ (d. s. Fleischkuchen) von Menschenfleisch auf dem Markte verkauft.

Bei der heutigen Hungerkatastrophe wiederholen sich also fast alle Erscheinungen früherer Hungerzeiten in den verschiedensten Ländern. Diese Art der Anthropophagie ist demnach nichts Neues. Sie bedeutet nicht mehr als ein Symptom der Hungerverzweiflung. Und das muß die Beurteilung der jetzt in Verzweiflung und *geistiger Umnachtung* bei den auf niedrigster sozialer Stufe stehenden Volksstämmen in Rußland vorgekommenen Fälle von Anthropophagie mildern. Die russischen Behörden tun daher auch mit den armen Unglücklichen das

einzig Richtige: man bringt sie in *Krankenhäuser* zu den anderen Hungerkranken.



Abb. 11. Frauen, die der Anthropophagie überführt waren.

Daß und wie diese ärmsten Menschen „hungerkrank“ waren, zeigen am besten die Abbildungen von acht Frauen, die der Anthropophagie überführt

worden waren. Man erkennt in den stumpfen, verzweifelten, weltvergessenen Gesichtsausdrücken auch deutlich die Zeichen der *Hungerswellungen* unter den Augen (Abb. 11).

Die **Hungerödeme** gehörten zu den alltäglichen Beobachtungen. In dem Berichte eines Laien heißt es: „Alle Dorfbewohner schwollen auf wie Wasserkissen.“ — *Hungerödeme und Skorbut* sah ich in jedem besuchten Dorfe und in jedem Krankenhaus, nicht selten zugleich mit *Nomakomplikationen*, die große Lippen- und Wangenteile zerstört hatten. Die **Nomafälle** zeigten die typische Symbiose von Spirochäten und fusiformen Bacillen und reagierten, wie ich das schon im Jahre 1913 in Palästina beobachten konnte, prompt auf intravenöse *Neosalvarsanbehandlung*.

In einigen Fällen von *Hungerödem*en hat mein Mitarbeiter Dr. *Karstens* in Minsk mit den von mir vorgeschlagenen vorsichtig angewandten intravenösen *Novasurol*einspritzungen gute und schnelle diuretische Wirkung erzielt. Bemerkte sei aber, daß bei Nierenerkrankungen *Novasurol* nicht gegeben wurde. — Fuß- und Unterschenkelgangränen, teils

nach Flecktyphus, teils nach Erfrierungen und vielleicht auch als Folge von Ernährungsstörungen oder septischen Entzündungen bei den Barfüßigen, waren keine Seltenheit. Die dabei notwendigen *Amputationen* wurden häufig von den elenden Menschen *nicht überstanden*.

Auch sonst war die **Widerstandsfähigkeit** gegenüber allen, namentlich den konstitutionellen und Infektionskrankheiten (auch bei Tieren), eine sehr geringe. So fand besonders die *Tuberkulose* allenthalben den günstigsten Boden und nahm — ähnlich wie auch bei uns in Hungerzeiten — enorm zu. — *Diphtherie* soll stellenweise bei den



Abb. 12. Kranker mit Hungerödemen.



Abb. 13. Fußgangrän (nach Flecktyphus?).

Hungerkindern sehr bösartig verlaufen sein; *Scharlach* dagegen soll in den Flecktyphuszeiten abgenommen haben.

Eine neue Krankheitserscheinung fand ich in einem Berichte folgendermaßen geschildert: „Erst macht sich Brechreiz bemerkbar, dann



Abb. 14. Kind mit Noma.

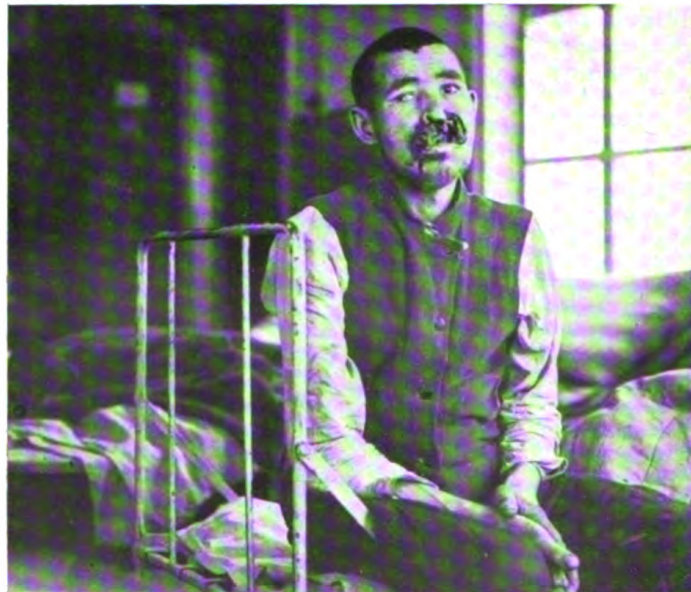


Abb. 15. Nomafall nach Stomatitis ulcerosa.

platzt die Haut im Munde und auf der Zunge und der Tod tritt ein“ (Skorbut? Milzbrand?).

Die **Geschlechtskrankheiten** haben — wie bei allen am Krieg beteiligt gewesenen Nationen — ganz enorm zugenommen. Die Verbreitung

wurde in Rußland noch ganz besonders dadurch begünstigt, daß infolge Mangels oder Fehlens der allernotwendigsten Medikamente in den meisten Fällen eine sachgemäße Behandlung nicht möglich war. — Von unserer Expedition wurde daher, z. B. in Kasan, besonderer Wert auf die *Versorgung der Hospitäler mit Medikamenten* zur Behandlung der Geschlechtskrankheiten gelegt und auch später im *Alexander-Hospital in Petersburg* eine *venerische Ambulanz* eingerichtet.

Darmerkrankungen, namentlich dysenterische, typhöse und paratyphöse waren — wie selbstverständlich bei der Ernährung mit den schmutzigen, ungekochten, undenkbarsten Surrogaten — an der Tagesordnung. — Auf die *Cholera* komme ich noch ausführlicher zurück.

An Typhus- oder gar Dysenterieschutzimpfungen war bei der hungernden und widerstandsunfähigen Bevölkerung nicht zu denken, die die Ärzte in abergläubischen Vorstellungen für die Überbringer der Krankheiten, z. B. der Cholera (durch Impfungen usw.) hielt. — Hierdurch war vielfach das *feindliche Verhalten* der Dorfbewohner gegenüber den zur Hilfeleistung mit Impfstoffen u. dgl. entsandten russischen Ärzten zu erklären. *Man verlangte nach Brot und nicht nach Impfungen*. — Aus den gleichen Gründen waren auch andere *allgemeinhygienische Maßnahmen* in den Hungergebieten *nicht durchführbar*. — Erst seitdem wir einige russische ärztliche *Seuchenabteilungen* — im Gouvernement Kasan — außer mit Laboratorien und Medikamenten auch mit *Verpflegungsmitteln* (Hartzwieback) ausgerüstet hatten, erhielten wir Bericht, daß die Ärzte durch diese letztere Ausrüstung mehr Vertrauen fanden und nunmehr auch *ärztlich und hygienisch* arbeiten konnten. — *Brot ist also bei Hungerepidemien das erste und wichtigste Sanierungsmittel*, die *conditio sine qua non*.

Dasselbe gilt auch für die *Behandlung in den Krankenhäusern*: Auch hier war, selbst in den großen Städten, die Not und das Elend tief ergreifend. Es fehlte nicht nur an allen notwendigen Medikamenten, Verband- und Desinfektionsmitteln sowie an brauchbaren Apparaten und Instrumenten, sondern vor allem auch an Wäsche, Heiz- und Nahrungsmitteln. Dünne wässrige Reissuppen und geringe Mengen harten und für viele unverdaulichen Schwarzbrottes bildeten häufig die einzige Nahrung. Die vorgeschriebenen 800—1200 Calorien pro Tag und Kopf standen meist nur auf dem Papier. Aber selbst voll verabreicht, hätten sie kaum zu $\frac{1}{3}$ genügt zur Unterstützung eines normalen Genesungsverlaufes bei den ungenügend bedeckt in kalten, feuchten, ungeheizten Räumen daliegenden Kranken. Nicht selten lagen, namentlich in den stets übervollen Infektionshospitälern, *mehrere Kranke*, oft mit verschiedenen Krankheiten, in *einem Bett* (Abb. 16).

Uneingeschränkte Anerkennung und Bewunderung verdienen die unter solch schwierigen Verhältnissen selbstlos und aufopfernd arbei-

2*

tenden **russischen Ärzte** und das Krankenhauspflegepersonal, von denen viele mit unserem tapferen, unvergeßlichen Kollegen *W. Gaertner* in treuer Pflichterfüllung fielen.

Der tägliche Anblick von Hunger- und Seuchenqualen, von lebenden Skeletten und von Hungerödemen entsetzlich aufgeschwollenen Gestalten jeden Alters, von Todesgrauen und Todesängsten in leeren Augenhöhlen, von furchtbar durch Hunger- und Krankheitsfolgen entstellten Leichenmassen — das sind Bilder und Erschütterungen, denen kein menschliches, auch nicht das härteste ärztliche Nervensystem für längere Zeit gewachsen ist. Und so scheinen die mir von russischen Kollegen gemachten Mitteilungen durchaus glaubwürdig, daß — namentlich in der ersten

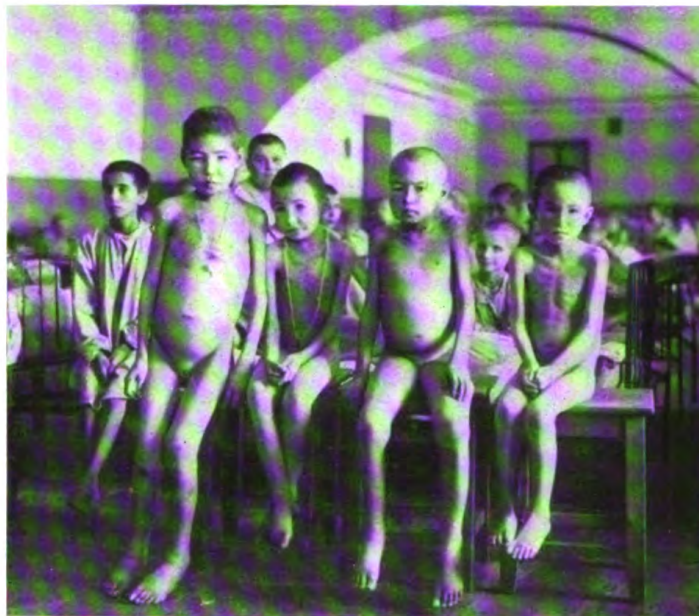


Abb. 16. Kinder mit Hungerödemen in einem Seuchenhospital in Kasan.

Zeit — manche der zur Hilfeleistung entsandten *russischen Ärzte* im Gefühl ihrer gänzlichen Ohnmacht gegenüber einer derartigen Katastrophe zusammenbrachen oder gar *den Verstand verloren*.

Wegen Raum Mangels kann ich außer den Tab. IV, V und VI sowie Abb. 1 u. 18 ausführlichere Mitteilungen und *Statistiken* über sämtliche allgemeine, Hunger- und Infektionskrankheiten nicht geben. Dagegen will ich etwas näher eingehen auf die Seuchen, die als Kriegsfolgen und im Zusammenhang mit der russischen Hungerkatastrophe ganz besonders an Ausdehnung zugenommen haben. Da muß ich in erster Linie **Flecktyphus und Recurrens** nennen, die seit jeher bekannten *Kriegs- und Hungerseuchen*, die auch in früheren Hungerjahren in Rußland und anderen, selbst tropischen und subtropischen Ländern stets epidemisch aufgetreten waren.

Nach den relativ wenig zahlreichen Flecktyphus- und Recurrens-erkrankungen der ersten Kriegsjahre (im Jahre 1916 nur 115 847 Flecktyphusfälle) nahmen diese Krankheiten im *Rückzugs- und Revolutionsjahr 1917* bedeutend zu, also mit Beginn von Ernährungs- und hygienischen Kontroll- sowie ärztlichen Versorgungsschwierigkeiten, nicht nur bei den zusammengebrochenen *Armeen*, sondern auch im *Land* von alten und neuen *Seuchenzentren* aus (Wolga, Sibirien und südlicher Kaukasus). Flecktyphus und Recurrens ergriffen in den Jahren 1917 bis 1921 fast das ganze russische Volk *in einer riesengroßen Pandemie*. In den Jahren 1917—1921 wurden allein über 7 Millionen *Flecktyphus-*



Abb. 17.

Andrang zur chirurgischen Ambulanz des Deutschen Roten Kreuzes in Kasan (Tatarenrepublik).

erkrankungen *gezählt*, die meisten (weit über $2\frac{1}{2}$ Millionen) im Jahre 1920, als Monatsrekord 923 600 Fälle im Januar 1919. Dies sind aber nur die durch das zum Teil schlecht funktionierende Diagnose- und Meldesystem offiziell *registrierten* Fälle. Nach den Urteilen russischer Statistiker und Epidemiologen, insbesondere des erfahrenen Moskauer Professors *Tarassevitsch*, müssen diese Zahlen mit einem Irrtumskoeffizienten um mindestens 2,5—4,0mal multipliziert werden. Mit einem derartigen Koeffizienten berechnet, ergaben sich für die beiden schlimmsten Jahre 1919 und 1920 an 15—20 Millionen Flecktyphusfälle, von denen bei einer mittleren Sterblichkeit von 10—12% etwa $2-2\frac{1}{2}$ Millionen Menschen gestorben wären, bei Annahme einer Gesamtbevölkerung von 134 Millionen.

Tabelle
Infektionskrankheiten in Rußland

Jahr	Pocken		Masern		Scharlach		Diphtherie	
	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000
1900	103695	7,8	185479	13,9	273 249	20,5	175272	12,8
1901	93062	6,9	290060	21,4	294 268	21,7	181782	13,5
1902	90752	6,6	339772	24,7	243 541	17,7	172935	12,8
1903	88264	6,3	210717	15,0	282 850	20,2	215775	15,8
1904	103717	7,3	321906	22,6	323 488	22,7	213131	15,9
1905	102773	7,1	272193	18,8	393 906	27,2	247650	17,8
1906	98438	6,7	258723	17,6	409 521	27,9	333207	22,7
1907	108780	7,3	327804	21,9	356 760	23,8	322352	21,8
1908	127726	8,4	357081	23,5	285 464	18,8	308436	20,8
1909	143790	9,5	382612	24,5	416 767	26,7	461722	29,0
1910	165265	10,5	390614	24,7	500 726	31,6	681538	43,2
1911	119113	7,4	306584	19,1	414 944	25,8	558349	34,7
1912	81588	5,0	419807	25,6	350 256	21,4	431845	26,3
1913	72236	4,6	535076	32,9	460 108	28,3	506257	31,3
1914	94162	6,3	391232	26,0	365 259	24,3	419409	27,3
1915	121680	8,8	319868	25,0	371 970	27,0	309994	25,0
1916	106301	6,9	—	—	201 179 ²⁾	13,1	147213 ²⁾	16,1
1917	64892	4,3	—	—	64 484 ²⁾	4,3	64 433 ²⁾	5,1
1918	54856	4,8	20897 ²⁾	3,7	30 757 ²⁾	4,2	44 456 ²⁾	6,1
1919	166340	14,6	70734	11,6	37 026 ²⁾	5,0	29799 ²⁾	3,9
1920	98179	8,7	28284	7,1	56 693 ²⁾	7,9	26333 ²⁾	3,9

Tabelle V.

a) Bevölkerungszahl der Tatarenrepublik: etwa 3 000 000.

Davon hungerten am 1. Januar 1922: 2 471 909,

1. Februar 1922: 2 469 377,

1. März 1922: 2 151 883.

b) Infektionskrankheiten in der Tatarenrepublik.

	Erkrankt			Gestorben		
	Erwachsene	Kinder	Zusammen	Erwachsene	Kinder	Zusamm.
Januar 1922 . . .	97 183	43 337	140 520	5 673	3 909	9 582
Februar 1922. . .	113 601	76 386	189 987	13 249	9 629	22 878
1. Hälfte März 1922	39 908	21 975	61 883	5 744	3 188	8 939
Summe	250 692	141 698	392 390	24 666	16 726	41 392

Auch die Rückfallfieberzahlen waren sehr hoch: Für die beiden Jahre 1919 und 1920 war eine Gesamterkrankungszahl von mindestens 5—6 Millionen anzunehmen.

Im Winter und Frühjahr 1920/21 gingen beide Seuchen, im wesent-

¹⁾ Nach L. Tarasseritsch, Bericht an Hygiene-Kommission des Völkerbundes. Genf 1922.

²⁾ Ungenaue Angaben.

IV.
in den Jahren 1900—1920¹⁾.

Flecktyphus		Recurrans		Typhus abdominalis		Dysenterie		Grippe	
insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000	insgesamt	p. 10000
52523	3,9	10544	0,8	247 274	18,6	240 142	18,0	1 539 849	115,6
52601	3,9	12409	0,9	299 637	22,1	319 389	23,6	1 180 496	87,2
50184	4,3	18767	1,4	271 579	19,7	253 981	18,5	1 462 756	106,3
70402	5,0	17 105	1,2	341 506	24,4	345 914	24,7	1 563 227	111,6
54178	3,8	12179	0,9	255 351	17,9	218 771	15,4	1 855 937	130,3
76831	5,3	16 658	1,2	356 535	24,7	313 598	21,7	1 626 510	112,5
52412	3,6	27 117	1,8	449 657	30,6	339 816	23,1	1 969 501	133,9
51984	3,5	56715	3,8	399 730	26,7	284 170	19,0	2 511 928	167,8
03259	6,8	128 494	8,4	419 065	27,5	309 403	20,3	3 050 473	200,5
80724	11,6	128 728	8,3	511 000	32,8	373 306	23,9	3 024 207	193,9
38577	8,8	61 579	3,9	499 295	31,5	424 261	26,8	3 165 652	200,0
20671	7,5	39 457	2,5	412 782	25,7	457 361	28,4	2 996 556	186,4
00928	6,2	34 544	2,0	376 246	22,9	436 120	26,6	3 440 282	209,8
18419	7,3	30 690	1,9	432 275	26,6	511 018	31,4	3 608 957	222,0
89463	5,9	17 061	1,1	355 453	23,6	394 879	26,2	3 577 966	237,7
92845	6,5	14 536	1,1	275 468	19,3	292 301	21,1	2 399 091	179,9
15874	8,3	14 787	1,0	170 822	11,2	111 146 ²⁾	7,2	—	—
97570	7,1	21 764	1,5	150 657	10,1	148 580 ²⁾	10,0	—	—
141638	12,3	16 662	2,3	109 264	13,0	59 750 ²⁾	9,2	—	—
240858	196,7	227 927	29,1	252 066	32,1	137 169 ²⁾	18,6	—	—
377500	264,9	1 031 624	97,9	424 481	34,3	324 389	34,1	—	—

Tabelle VI.

Die Infektionskrankheiten im Gebiet der Wolgadeutschen in den Jahren 1918—1921.

Die Krankheiten	1918	1919	1920	1921
<i>Typhus abdominalis</i> . . .	323	1911	5608	6041
Typhus recurrens . . .	2	142	915	1957
<i>Typhus exanthematicus</i>	31	2094	7547	8085
Unbestimmter Typhus	11	93	1195	1900
Dysenterie	300	272	2145	1993
<i>Malaria</i>	2557	2930	7658	12695
Milzbrand	11	72	75	83
<i>Cholera</i>	42	71	—	1655
Diphtherie	234	565	396	226
Masern	62	164	475	866
Scharlach	18	83	252	121
Keuchhusten	284	408	603	522
Pocken	26	392	938	1574

lichen wohl infolge der *Durchimmunisierung* weiter Bevölkerungsschichten bedeutend zurück, lebten aber dann im Anschluß an die Hungerkatastrophe im Winter 1921/22 wieder auf, vor allem in den Hungergebieten an der Wolga, von wo die Infektionen durch die Flüchtlinge

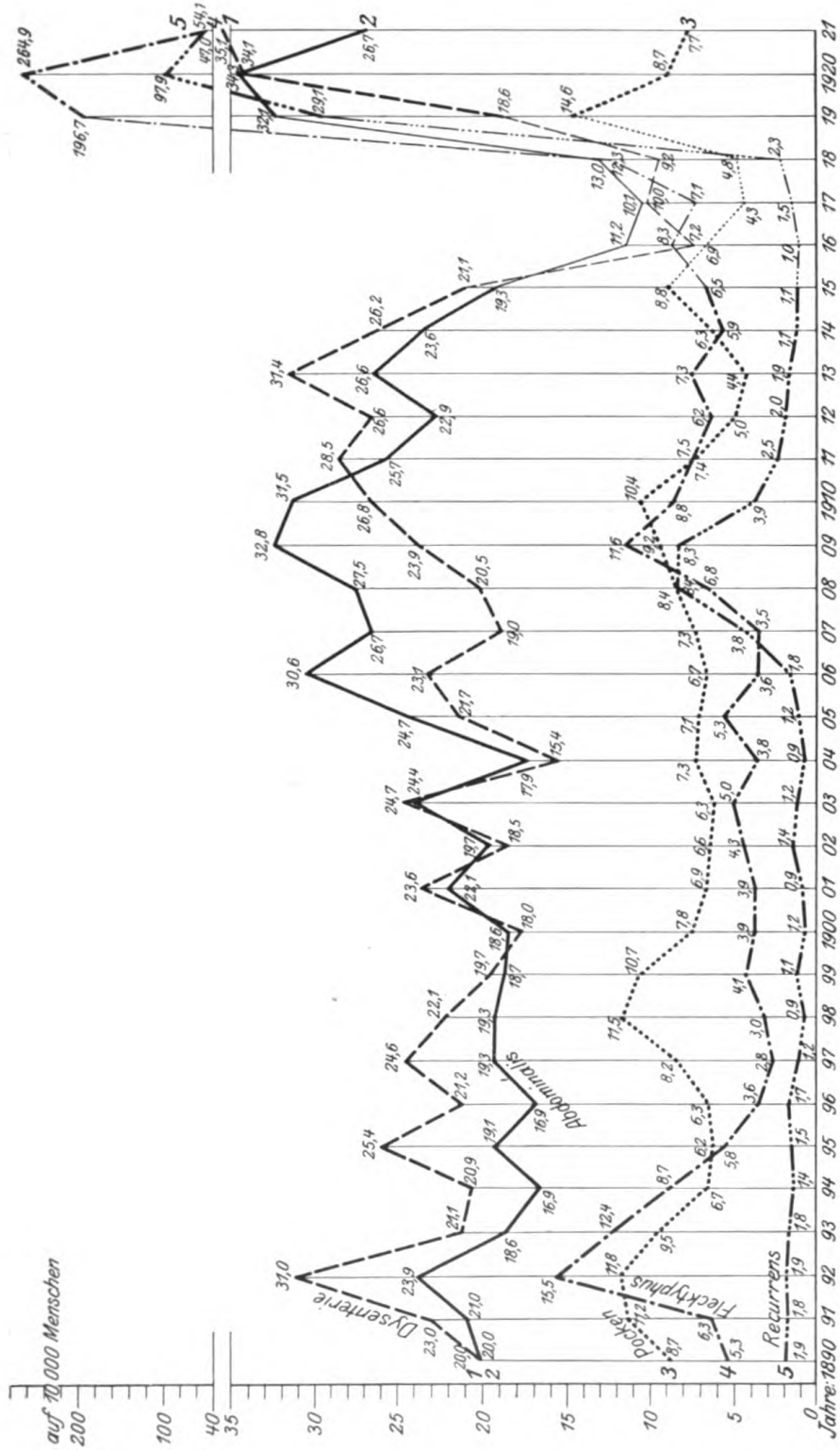


Abb. 18. Kurven der wichtigsten Infektionskrankheiten in Rußland in den Jahren 1890—1921 (nach Tarassewitsch, Moskau).
Anmerkung: Von 1915—1919 sind die Daten ungenau.

auf den *Verkehrswegen*¹⁾ verschleppt wurden und auch noch im Frühjahr 1921 zu vielen Neuerkrankungen führten. So hatte allein die *Ukraine* in den ersten 4 Monaten 1922: 137 083 Flecktyphus-, 53 578 Recurrens- und 42 388 Abdominalisfälle. Weitere Zahlen ergeben sich im einzelnen aus den Tabellen.

Tabelle VII.
Flecktyphus-Erkrankungen in Rußland (nach *Pletnew*).

Jahr	absolute Zahl	auf 10 000	Jahr	absolute Zahl	auf 10 000
1890	60 766	5,3	1906	52 412	3,6
1891	74 462	6,3	1907	51 984	3,5
1892	184 142	15,5	1908	103 259	6,8
1893	147 953	12,4	1909	180 724	11,6
1894	105 316	8,7	1910	138 577	8,8
1895	71 552	5,8	1911	120 671	7,5
1896	44 889	3,6	1912	100 928	6,2
1897	35 822	2,8	1913	118 419	7,3
1898	38 881	3,0	1914	89 463	5,9
1899	53 028	4,1	1915	89 982	7,6
1900	52 523	3,9	1916	101 904	8,2
1901	52 601	3,9	1917	88 328	7,3
1902	59 184	4,3	1918	130 164	17,1
1903	70 402	5,0	1919	2 104 578	352,0
1904	54 178	3,8	1920	3 113 990	375,7
1905	76 831	5,3	1921	499 303	52,5

Die **Hauptverbreitung** von Flecktyphus und Recurrens erfolgte auf dem *Eisenbahnwege*, in den *Wartesälen*, ferner in den *Flüchtlingshäusern* und *-lagern* sowie in den bekannten *Nachtasylen der Großstädte*, aber auch in den Krankenhäusern (vgl. S. 19 und 20). Die *Verlausung* der Flüchtlinge spottete jeder Beschreibung. Ich glaube, man hätte in Rußland ohne Schwierigkeit Herrn Prof. *Hase* Konkurrenz machen können, der bei einem russischen Gefangenen in Deutschland 3800 Läuse gefangen haben soll, und selbst jenen Autoren, die, wie *Pletnew* in seinem neuesten schönen Buche „Flecktyphus“ (Moskau 1922) mitteilt, bei einem österreichischen Gefangenentransport von 120 Mann die Menge der Läuse auf 15 Liter abgeschätzt hatten.

Marzinowsky (zit. nach *Flerow*) schildert den Fall der Verlausung eines „sauberen“ *Hauses*, in dem man nicht wußte, woher die Läuse an Fußböden, Betten und Wäsche kamen. Alle Bewohner einer Etage, in der ein Feldscher an Flecktyphus starb, erkrankten ebenfalls an Flecktyphus. Nach dem Tode des Heilgehilfen fand man in einem Sack unter der Matratze viele abgeschnittene Zöpfe, die der Feldscher bei der Entlausung den Kranken abgeschnitten und dann zum Verkauf

¹⁾ Auch die Bewegungen von hunderttausenden repatriierten russischen und polnischen Kriegsgefangenen trugen viel zur Flecktyphusverbreitung bei.

Tabelle VIII.
Fleckfieber und Rückfallfieber
 in den am meisten heimgesuchten Teilen Rußlands (1. Januar bis 8. April 1922).

	Fleckfieber				Rückfallfieber			
	Januar 1.—28.	Februar 28. I. bis 25. II.	März 26. II. bis 1. IV.	April 2.—8.	Januar 1.—28.	Februar 28. I. bis 25. II.	März 26. II. bis 1. IV.	April 2.—8.
<i>I. Europäisch. Rußland</i>								
Gouv. Witebsk.	11 276	1 250	1 785	204	1 135	1 040	1 203	91
„ Woronesch.	1 717	1 848	2 568	327	3 017	3 150	3 762	391
„ Wjatka	3 044	3 270	6 235	941	830	669	1 306	323
„ Jekaterinburg	5 363	6 211	5 415	—*)	5 082	4 977	3 678	—
„ Moskau	2 609	2 483	3 408	—	2 454	1 627	1 969	—
Moskau Stadt.	2 404	3 255	4 211	—	2 632	2 766	2 428	—
Gouv. Nischni-Nowgorod	1 816	2 327	2 297	366	1 236	1 097	716	88
Gouv. Pensa	3 037	4 012	6 051	617	2 947	3 931	4 009	428
„ Perm	6 070	6 033	8 399	1 266	1 807	1 785	2 228	—
„ Petersburg	615	529	736	147	279	204	211	55
Petersburg Stadt	1 317	1 216	1 273	214	1 048	657	626	50
Gouv. Samara	4 078	3 827	4 205	380	5 883	3 850	5 123	316
„ Saratow	6 463	2 643	6 651	—	4 668	2 144	2 696	—
„ Smolensk	1 806	2 327	3 887	869	1 626	1 681	1 668	364
„ Tambow	2 393	2 889	3 673	—	5 907	5 037	5 188	—
Summe in sämtlichen 49 Gouvernements	76 297	90 823	111 901	11 914	68 463	69 387	68 184	6409
Hinzu kommen:								
Tatarenrepublik	5 600	—	—	—	2 719	—	—	—
Baschkirenrepublik	348	50	765	97	479	117	1 038	99
Republik Weißrußland	1 841	2 017	2 363	—	1 987	2 232	1 517	—
„ Krim	—	508	1 845	307	—	308	518	164
„ Ukraine	7 144	1 163	—	—	11 359	1 526	—	—
Summe für das ganze europäische Rußland	91 230	94 561	116 374	12 318	85 007	73 570	71 257	6 672

*) Bedeutet: Angaben fehlen.

behalten hatte. Sein Bett wimmelte von Läusen. — Diese Schilderung enthält einen Hinweis auf die eventuelle Möglichkeit der Flecktyphusübertragung durch *Kopfläuse*, an die auch sonst vielfach geglaubt wird (*Metschnikow* sowie *Anderson* und *Goldberger* u. a.). Nach *Mackie* sollen jedoch Kopfläuse kein Blut saugen. — *Andere* Flecktyphusüberträger als Läuse sind auch in Rußland *nicht* nachgewiesen.

Eine *direkte* Übertragung auf sich selbst durch Bluteinspritzung von einem Kranken hat *Moschutkowsky* vorgenommen.

Eine geradezu klassische und unübertreffliche Schilderung der *Art der Flecktyphusverbreitung* durch *Gaul*, einen der besten Kenner der Hunger- und Seuchengebiete, findet sich in der schönen Monographie: „Der Flecktyphus“ von Prof. *K. W. Flerow* (Moskau 1919). Ich gebe sie

nach einer wortgetreuen Übersetzung meiner Mitarbeiterin, der Schwester *Brigitte Balk*, im folgenden ausführlich wieder:

Gaul sagt: „Die *Übertragung* der Krankheit geschieht *nach dem Maßstabe des menschlichen Verkehrs* und weist dieselben Verhältniszahlen auf wie dessen Lebhaftigkeit. Hand in Hand mit dem Wachsen der Kultur ging eine Verbesserung der Verkehrsmöglichkeiten, die Verbilligung und Bequemlichkeit des Reisens, das Aufblühen des Handels, der Industrie usw. Es zeigte sich einerseits die große Nachfrage nach Arbeitskräften, andererseits Erleichterung und Verbilligung der Fortbewegung. Dadurch entstand die massenweise Übersiedelung der Landbevölkerung nach den Zentren, nicht nur nach den großen Städten und ihrer Umgegend, nein, selbst nach weitab gelegenen Provinzen und auch nach Gegenden, die außerhalb der Landesgrenze lagen. Bei der Widerstandskraft des Fleckfiebererregers zeigte sich dabei die Möglichkeit seiner Verschleppung in sehr weite Entfernungen; und dabei ist der Umstand bemerkenswert, daß derartige Völkerwanderungen stets eine Gegend mit wirtschaftlich defekten Verhältnissen zum Ursprung haben: die *Not* vertreibt die Bevölkerung; und wo *Not* herrscht, ist viel Schmutz, Verkommenheit und häufig das Fleckfieber . . .

Außer den erwähnten *freiwilligen Übersiedelungen* gibt es andere, die ohne die Initiative des Übersiedlers geschehen: hierzu gehören *Überführungen von Gefangenen*. Von jeher sind derartige Abteilungen bekannt als Verbreiter des Fleckfiebers, und diesen Ruf haben sie heute noch. In den letzten 10, besonders aber in den letzten 5 Jahren spielen die *Gefängnisse* und die überführten Gefangenen die Hauptrolle in der Flecktyphusübertragung in allen Gebieten Rußlands.

Eine wichtige Rolle in dieser Hinsicht spielen ferner die *Eisenbahn- und Wegearbeiter*, erstens durch ihre unhygienischen Lebensverhältnisse, zweitens weil die Arbeiterlager sich hauptsächlich an den wichtigsten Verkehrsstraßen befinden.

Abgesehen von den Arbeitern spielen häufig die *Eisenbahnen* selbst die Hauptrolle bei der Typhusverbreitung. In dieser Eigenschaft traten sie während der *Epidemie von 1919* besonders scharf hervor. Der Flecktyphus verbreitete sich *längs der Eisenbahnstrecken*. Während der Monate Januar und Februar 1919 sind als an der Bahn erkrankt 18 041 Personen registriert.

In Rußland spielen außerdem eine wichtige Rolle bei der Fleckfieber-Übertragung die *Flüchtlinge*, die bei ihren Wanderungen in furchtbaren sanitären Verhältnissen leben. *Karwowsky* hat die Entwicklung der ungeheuren Epidemie in

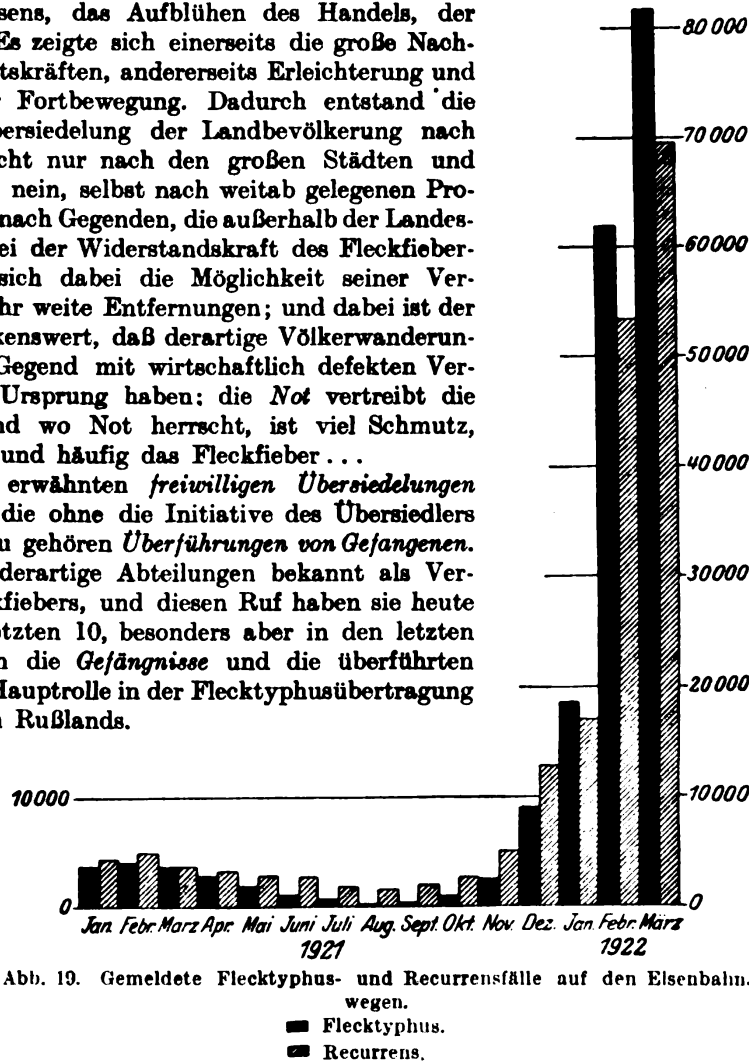


Abb. 19. Gemeldete Flecktyphus- und Recurrensfälle auf den Eisenbahnen.
 ■ Flecktyphus.
 ▨ Recurrens.

der Stadt *Wjasma* (Gouvernement *Smoljensk*) beobachtet: Die ersten Fleckfieber-Erkrankungen kamen unter den Flüchtlingen vor, die an das Kreiskrankenhaus von *Wjasma* gewiesen wurden, da sie in der Bahn auf der Station *Wjasma* an der Strecke *Moskau-Brest* erkrankt waren. Durch sie steckte sich das Krankenhauspersonal an, und zwar die Waschfrau, die Köchin, und danach geschah die Übertragung in die Stadt. Durch die in der Stadt erkrankten Pflegerinnen steckte sich eine Ärztin an, sie starb. Darauf zeigten sich zahlreiche andere Erkrankungen in der Stadt, dann im weiteren Kreise, und diese bildeten den Anfang der furchtbaren Epidemie, die im Kreise *Wjasma* gewütet hat.

In *Moskau* zeigt sich eine anwachsende Zahl der Erkrankungen nach allen großen Festen, nach Zusammenkünften bereits infizierter Arbeiter. Die Epidemien in *Moskau* in den Jahren 1917, 1918 und 1919, besonders die beispiellose vom Jahre 1919 ereignete sich unter folgenden Umständen: Die sich immer schwerer gestaltenden Lebensverhältnisse und die Unmöglichkeit der Erlangung von Lebensmitteln veranlaßten Massen der Bevölkerung, sich in die Provinzen zu begeben, um Mehl und andere Vorräte zu besorgen. Das durch den Krieg bereits stark mitgenommene Eisenbahnwesen wurde durch diese Überflutung von Passagieren noch mehr ruiniert und konnte schon sehr bald den Anforderungen nicht mehr genügen. Der Mangel an Waggons bewirkte eine unglaubliche Ansammlung von Volksmassen auf den Bahnhöfen, wo man ebenso wie in den Waggons oft mehrere Tage auf die Abfahrt eines Zuges warten mußte. Diese sog. „*Meschetschniki*“ (Leute mit Säcken) fuhren unter den elendesten Verhältnissen in nicht-desinfizierten Tjepluschken (Güterwagen) in äußerster Bedrängtheit und Enge. Am Bestimmungsort fanden sie dann auch keine Bequemlichkeiten, lebten schlecht, wie und wo es sich gerade machte, nährten sich dürftig, kleideten sich nie um, wechselten keine Wäsche, wuschen sich oft durch Monate hindurch nicht und waren in jeder Weise besonders empfänglich für Infektionen jeglicher Art. Diese traten denn auch auf. Es entwickelte sich bei diesen „Sackträgern“ eine fabelhafte Verlausung, und im Zusammenhang mit den Reiseverhältnissen, Enge, Schmutz, Verlausung und Elend begann die Entwicklung des Fleckfiebers. Eben mit diesen nach Brot fahrenden Menschen begannen sich seit Ende 1917 unsere Krankenhäuser zu füllen, dann erschienen auch Leute aus der selbhaften Bevölkerung, und so begann die schwere Epidemie, die erst Ende 1918 zu erlöschen begann. — Im Oktober 1919 flammt sie dann von neuem auf und nimmt noch nie dagewesene Ziffern an, da inzwischen die Lebensverhältnisse sich nicht verbessert, sondern im Gegenteil verschlimmert haben. In *Moskau* trat dann noch der unheilvolle Wohnungswechsel der Arbeiter hinzu, der sich ohne jede sanitäre Überwachung vollzog. Die Wohnungen wurden weder gereinigt noch desinfiziert, es geschahen Übersiedlungen in Flecktyphuswohnungen ohne jede vorherige Desinfektion. Mangel an Heizmaterial und die außerordentliche Kälte machten es den Bewohnern unmöglich, sich zu waschen und zu entlausen. So vermehrten sich die Läuse zu unglaublichen Mengen, und die Epidemie mußte diese furchtbaren Dimensionen annehmen.“

Vortrefflich illustriert wird die Flecktyphus- und Recurrensverbreitung entlang den Eisenbahnwegen durch Abb. 19.

Nicht zu unterschätzen sind ferner meiner Ansicht nach die von anscheinend gesunden oder unbemerkt erkrankten Kindern, z. B. auch in Schulen, ausgehenden Ansteckungsmöglichkeiten. Einer solchen ist vermutlich auch unser treuer Mitarbeiter *Gaertner* zum Opfer gefallen, der in einem russischen Kinder-Badezug an gebadeten Kindern Messungen und andere Untersuchungen gemacht hatte und 10 Tage später zugleich mit seinem begleitenden Dolmetscher, Herrn *Seeger*, an Fleck-

typhus erkrankte. Es ist ja eine *bekannte Tatsache*, daß Kinder — ähnlich wie bei Abdominalis — *leicht und unauffällig* erkranken können. Dies wurde auch in Rußland bei den jetzigen Epidemien in vollem Umfange wieder bestätigt. Die Erkrankungen verliefen oft in 2—3 Tagen ohne hohes Fieber und selbst *ohne Exanthem*. Je jünger die Kinder waren, desto geringer waren die Erscheinungen.

Ganz besonders groß war die *Infektionsgefahr* in den **Eisenbahnwaggons**, in denen mitunter bis zu 40 und mehr unkontrollierte Flüchtlinge ohne jede Körperreinigung wochenlang zusammenhausten. Von solchen in Minsk angekommenen Wolgadeutschen sah ich bis zu $\frac{2}{3}$ an Flecktyphus und Recurrens darniederliegen. Ganze Familien erkrankten auf der Eisenbahnflucht; viele starben unterwegs und in den Ankunftsplätzen. — Unser Freund und Mitarbeiter *Hilger*, Delegierter des Roten Kreuzes, holte sich vermutlich auch auf einer mit mir gemachten Fahrt im Schlafwagen seinen Flecktyphus.

Während unter der flüchtigen, widerstandslosen *Hungerbevölkerung* der Flecktyphus eine *erhebliche Mortalität* verursachte, war in den Krankenhäusern und bei *besser Ernährten* häufig die Flecktyphussterblichkeit wesentlich geringer, manchmal nur 7—8% und selbst weniger. — *Groß* dagegen war sie meist bei den befallenen *Nichtrussen*, so bei den erkrankten Mitgliedern der fremden Hilfsaktionen, von denen trotz guter Pflegebedingungen eine Anzahl dem Flecktyphus zum Opfer gefallen sind (ich schätze eine Mortalität von mindestens 25% unter den Erkrankten). — Auffallend hoch war auch die Flecktyphussterblichkeit bei den *Kopfarbeitern*, namentlich aber bei den *Ärzten* und dem *Krankenpflegepersonal*, was ja auch schon bei *anderen* Epidemien aufgefallen war. Nach *Murchison* erkrankten von 1220 Ärzten im ersten Viertel des vorigen Jahrhunderts in *Irland* 560 Ärzte und *starben* 132 (*fast* 25%). — Im Kriege erkrankten in *Serbien* 350 Ärzte und *starben* 120 (34%). — Im Gouvernement *Moskau* betrug im Jahre 1918/19 die Sterblichkeit der Ärzte 22%, des Untersonnals 10%.

Tabelle IX. a) Flecktyphussterblichkeit in Charkow im Jahre 1919 (nach *Igumnow*).

	Gesamtzahl	Erkrankt	%	Gestorben	%
Ärzte	263	47	17,9	9	19,1
Feldschere	661	52	7,9	9	17,3
Untersonnal	148	42	28,3	2	4,7

b) Flecktyphussterblichkeit in Kremenschug (nach *Kogan*)

	Im Jahre 1919		Im Jahre 1920		Im Jahre 1921	
	erkrankt %	gestorben %	erkrankt %	gestorben %	erkrankt %	gestorben %
Ärzte	29,8	23	26,7	11	7,4	38
Gehilfen	17,3	10,3	20,8	2,9	12,5	10
Schwester	39,3	7	31,3	2,1	24	8
Zivilbevölkerung	6,4	2	12,3	5	8,1	7

Tabelle X. Monatstabelle der Fleckfieber-Erkrankungen.

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	Septemb.	Oktober	Novemb.	Dezenb.	Summa
1912	11 049	11 678	11 346	12 337	9 900	5 410	3 932	3 328	3 155	4 139	6 075	7 688	90 037
1913	12 703	13 631	14 828	13 908	12 400	8 608	5 811	4 593	4 654	6 198	8 086	9 231	114 651
1914	10 003	10 716	12 841	12 573	10 021	6 062	3 987	2 975	3 238	3 499	4 769	6 182	86 866
1915	7 673	8 035	9 158	9 349	7 718	5 201	4 288	4 387	4 707	7 026	9 723	11 907	89 172
1916	15 914	15 644	16 065	13 905	11 436	6 851	3 647	2 306	1 789	2 299	4 209	7 604	101 669
1917	9 792	10 675	9 884	11 872	15 940	7 906	3 477	2 950	2 476	2 140	3 074	2 607	82 793
1918	7 157	7 496	13 623	13 942	12 149	10 472	6 701	4 441	4 182	6 735	11 821	31 446	130 165
1919	92 319	171 283	279 643	288 906	275 435	198 955	117 598	57 746	43 876	66 995	120 314	232 971	1 946 041
1920	491 490	655 848	505 356	389 586	288 426	152 865	82 729	41 509	35 550	28 475	42 762	62 904	2 777 500
Sa.	658 100	905 006	872 744	766 378	643 425	402 330	232 170	124 235	103 627	127 506	210 833	372 540	5 418 894

Die Erfahrungen aus anderen Ländern über das vorzugsweise Auftreten von Flecktyphus in den *Winter- und ersten Frühjahrsmonaten* wurden auch in den russischen Epidemien bestätigt, wie aus den Tab. X und XI zu ersehen ist. Dazu ist jedoch zu bemerken, daß sich mitunter, so auch in diesem Jahre, die Erkrankungen in großer Zahl bis in die Sommermonate hinein fortsetzten und daß die Epidemie keineswegs im Sommer ganz erlosch.

Während unseres Aufenthaltes in Rußland wurden neuere ätiologische Untersuchungen von Prof. *Barykin*, dem bekannten Moskauer Bakteriologen, bekanntgegeben. Im Zentralblatt f. Bakt., Ref., 74, S. 7 ff. 1922, habe ich mit *Nauck* bereits darüber referiert; eine ausführliche Arbeit erscheint im Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene. Es handelt sich um einen dem *Plotzsch* und auch den *Rickettsien* nicht unähnlichen, aus dem Blute der Kranken kultivierten Mikroorganismus, dessen ätiologische Bedeutung ich zwar noch nicht für erwiesen, aber für der Nachprüfung wert halte, zumal er auch aus infizierten Meerschweinchen gezüchtet wird und für diese Tiere typisch pathogen gewesen sein soll. Auf das *Kulturverfahren*, den Mikroorganismus selbst und die Tierexperimente kann ich hier nicht näher eingehen. Interessenten finden das Wichtigste hierüber in den oben genannten Publikationen. — Hervorheben möchte ich nur noch, daß nach *Barykins* Experimenten die Läuse schon 24 Stunden nach dem Saugen infektiös

waren, also ohne die von *Nicolle* angegebene Entwicklungsdauer von 5—7 Tagen.

Tabelle XI.

Flecktyphuserkrankungen nach jahreszeitlichem Zugang in den Jahren 1918—1920.

Winter (Dezember—Februar):	1 652 913
Frühjahr (März—Mai):	2 067 066
Sommer (Juni—August):	673 016
Herbst (September—November):	360 710

Endgültig klären ließe sich die Erregerfrage im gegenwärtigen Stadium nur durch *Menschenversuche* mit den verschiedenen angeblichen Erregern, insbesondere den Kulturen, wie das auch *Zabolotny* auf dem Moskauer Kongreß forderte. *Zabolotny* hält bisher keinen der beschriebenen Mikroorganismen für den Flecktyphuserreger und lenkt erneut die Aufmerksamkeit auf die von ihm und seinen Mitarbeitern „*Kokkoplasmen*“ genannten *Leukocyteneinschlüsse* (vgl. Kongreßbericht l. c. S. 5).

In dem schon zitierten *Pletnewschen* Buche sind u. a. einige neuere Untersuchungsergebnisse über **Blutveränderungen bei Flecktyphus** aus der *Pletnewschen* Klinik in Moskau wiedergegeben: So fand *Bobrow* *bedeutende Schwankungen der Blutplättchenzahlen beim Flecktyphus: Verringerung* vom 6. Krankheitstage an; nach dem Fieberabfall schnelles Wiederaansteigen, sogar bis über die ursprüngliche Zahl.

Nach *Kutyryn* ist die *Viscosität* des Blutes beim Flecktyphus stark *erhöht*, besonders stark bei den schweren Fällen. Dabei spielen vielleicht, namentlich bei den hyperpyretischen Formen, Wasserverluste eine große Rolle.

Die *Gerinnungsfähigkeit* des Blutes ist nach *Jegorow* vom 5. Krankheitstage ab verringert. Die Verzögerung der Gerinnbarkeit nimmt im Verlaufe der Krankheit zu, insbesondere bei starker Toxämie. Nach dem Abfall der Temperatur kehrt die Gerinnungsfähigkeit zur Norm zurück.

Pletnew selbst macht auf verschiedene *Temperatur- und klinische Verlaufstypen* des Flecktyphus aufmerksam und glaubt aus der Beendigung der Krankheit durch kritischen oder lytischen Temperaturabfall 2 verschiedene *Krankheitsbilder* ableiten zu können. Vielleicht gäbe es 2 verschiedene „Variationen des Flecktyphuserregers“, von denen die eine den kritischen, die andere den lytischen Verlauf der Krankheit bedingt; vielleicht seien Mikrobion Barykin (vgl. S. 30) und Rickettsia Prowazeki verschiedene Erscheinungsformen ein und desselben Erregers.

Als häufige *Komplikation* des Flecktyphus sahen wir **Parotitiden**, die zum Teil vereiterten, sowie **Fuß-Gangränen** (Abb. 13). Auch sind nicht selten **Rippenknorpelerkrankungen** nach Flecktyphus sowie nach

Rückfallfieber, nach letzterem auch andere **Knorpelnekrosen**, beobachtet (*Petrasczewskaja, Goljanitzky, Linberg, Geimanowitsch u. a.*).

Frühere, in der russischen Literatur mitgeteilte und die Beobachtungen bei den letzten Epidemien zeigen, daß das Überstehen des Flecktyphus *keine absolute Immunität* verleiht. Einwandfrei sind u. a. bei Ärzten und Pflegepersonal, wie besonders *Flerow* und *Pletnew* in ihren Flecktyphus-Monographien angeben, 2- und selbst 3 malige Erkrankungen beobachtet, die zweite Erkrankung mitunter bereits nach einem halben Jahr. Auch sind Todesfälle bei Wiedererkrankungen berichtet.

Prophylaktisch und therapeutisch gibt es wenig Neues beim Flecktyphus. Im allgemeinen hält man in Rußland von prophylaktischer und therapeutischer **Blut- und Serumbehandlung** nicht viel, wenn auch einige Erfolge berichtet werden. So sah *Zabolotny* bei Behandlung von etwa 100 Fällen beim Sanitätspersonal mit Rekonvaleszentenserum eine Mortalität von nur 6% gegenüber 10–12% bei Nichtbehandelten (siehe Kongreßbericht S. 6).

Eine *nachhaltige* Wirkung von Proteinkörpertherapie (Pferdeserum, Aolan, Yatren-Casein u. a.) konnte auch von uns nicht festgestellt werden, wenn auch manchmal eine gewisse günstige Beeinflussung einzutreten schien.

Besser schienen dagegen die Erfolge mit *intravenösen Einspritzungen von Quecksilberpräparaten*. Bei den von mir veranlaßten Versuchen mit *Novasurolinjektionen* — je 1 Ampulle intravenös an 2 Tagen mit 1 Tag Zwischenpause — ist nicht selten ein *schneller abortiver Verlauf* beobachtet worden. Weitere Versuche sind im Gange. Vorläufig ist jedoch kein abschließendes Urteil möglich. Bei *Nachprüfungen* sind alle Fälle mit *Nierenbeteiligung* von der Novasurolbehandlung *auszuschließen*, ebenso vorgeschrittene Fälle am 8. bis 11. Krankheitstage. Ich hätte diese noch im Stadium der Arbeitshypothese befindlichen Versuche noch nicht mitgeteilt, wenn ich nicht kurz vor meiner Rückkehr aus Rußland erfahren hätte, daß bereits früher und kürzlich erneut von russischen Ärzten ähnliche günstige Abortiverfolge mit anderen *Quecksilberpräparaten* erzielt worden sind, so u. a. von *Alexandrow, Barykin* und *Retschmensky*¹⁾. — Auch nach intravenösen *Argoflavininjektionen* sahen wir einige Male Abortivverlauf, am ehesten — wie bei den Novasurolinjektionen — nach frühzeitiger Anwendung am 4. oder 5. Krankheitstage, sofort nach Feststellung der Diagnose.

Russische Ärzte wandten vielfach *Kochsalzinfusionen* (eventuell nach Aderlaß) sowie *Adrenalin* als symptomatische Mittel an: $\frac{1}{2}$ –1 mg Adrenalin subcutan oder in 10–25 ccm NaCl-Lösung intravenös; auch per os 10–15 Tropfen oder in Klysmen 20–25 Tropfen auf 2–3 Eßlöffel NaCl-Lösung (*Pletnew*).

¹⁾ Zit. bei *Pletnew*, Flecktyphus. Moskau 1922.

Ähnlich wie die Flecktyphuspandemie, so hatten auch die **Rückfallfiebererkrankungen** seit dem Jahre 1917 gewaltig zugenommen. Es wurden gemeldet: Im Jahre 1919 227 227 und im Jahre 1920 1 031 624 Fälle. Da Rückfallfieber noch häufiger nicht erkannt bzw. nicht gemeldet wird als Flecktyphus, so ist ein Irrtumskoeffizient von mindestens 4—5, also eine Erkrankungszahl von mindestens 5—6 Millionen in den beiden Jahren 1919 und 1920 anzunehmen. Auch in den Jahren 1921 und 1922 nahmen die Erkrankungen noch zu. Die *Sterblichkeit* beim Rückfallfieber war zum Glück wesentlich geringer, etwa 2—4% der Erkrankten.

Das gehäufte Vorkommen von *Recurrens* in Rußland, insbesondere in *Nachtasylen*, war uns schon aus der Vorkriegsliteratur bekannt, aus der wir auch wußten, daß Rußland und Irland die europäischen *Hauptherde* von *Recurrens* und Flecktyphus waren. In den von mir besuchten Gegenden Rußlands gilt — selbst bei Ärzten — vielfach außer den Läusen auch noch die **Wanze** als eventueller *Recurrens*-überträger. Die Verwanzung der russischen Wohnungen und Eisenbahnen ist ja auch kein Novum. — Unser Kollege *Gaertner*, dem ich in Kasan die Prüfung der eventuellen Überträgerrolle der Wanzen als Arbeitsthema gestellt hatte, konnte leider seine diesbezüglichen Untersuchungen nicht zu Ende führen.

Bei den Blutuntersuchungen sahen wir in dicken Tropfenpräparaten nicht selten ganz *ungeheure Spirochätenmengen*, wie Reinkulturen, Präparate, wie ich sie während des Krieges auch in der Türkei und auf dem Balkan gesehen habe.

Aristowsky und *Blagowetschensky* berichten (siehe Kongreßbericht) aus Kasan ein relativ einfaches *Recurrensspirochäten-Kulturverfahren*: Zu 8 ccm physiologischer NaCl-Lösung werden einige kleine gekochte Hühnereiweißstückchen hinzugefügt und 2 mal bei 100° sterilisiert. Dann kommen 4 ccm steriles, frisches Kaninchen- oder Pferdeserum hinzu. Zusatz von Pferdeblutkoagulum ist, auch für Subkulturen, sehr wertvoll. Die Kasaner Züchter haben bis zu 30 Spirochätenpassagen in diesen Nährböden erzielt. Ich konnte mich durch Nachprüfung auch überzeugen, daß die Spirochäten sowohl aus dem Menschen- wie aus dem Mäuseblut in dem beschriebenen Nährboden gut wachsen und wochenlang am Leben bleiben. Die Subkulturen erwiesen sich aber als schwierig.

Über **Nichtreagieren** von *Recurrens*infektionen auf **Neosalvarsan** 0,45 g und selbst 0,6 g ist vielfach berichtet. Persönlich glaube ich — ebenso wie bei den Chininversagern in Rußland und in Kriegszeiten — weniger an arzneiresistente oder gar -feste Mikroorganismenstämme als an Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit und Abwehrreaktion der geschwächten Menschen. — *Tuschinsky* berichtete auf dem Moskauer

Kongreß, daß er gute Behandlungsergebnisse erzielte, wenn er — entgegen den bisherigen Anschauungen — das Neosalvarsan 0,6 g am 4. oder 5. *Intervalltage* gab. Alsdann blieben Salvarsanreaktionen aus und Rezidive waren äußerst selten. Falls sich diese Resultate bestätigen sollten, dann würden sie auch gegen eine *Salvarsanresistenz* sprechen.

Bemerken möchte ich hier noch, daß ich — wie schon früher — mitunter auch in dicken Tropfenpräparaten *im Intervall* vereinzelt *Spirochäten* nachweisen konnte.

In diesem Zusammenhange sei noch erwähnt, daß nach einer Mitteilung *Pletnews* in den letzten Jahren in Rußland viel *Ikterus* (meist ohne Fieber) und viel akute *gelbe Leberatrophie*-Fälle behandelt worden sind, die nicht mit Salvarsan in Verbindung gebracht werden können, weil damals Salvarsan in Rußland kaum existierte.

Ganz besonderes Interesse boten die neueren Untersuchungen über schwere **Komplikationen von Recurrens mit paratyphusartigen Infektionen**, über die in Rußland in den letzten Jahren viel gearbeitet worden ist. Insbesondere haben sich die Petersburger Kollegen Prof. *Kulescha* und Dr. *Iwaschinzew*¹⁾ große Verdienste um die klinische und bakteriologische Erforschung dieser Krankheitsbilder erworben. Ihre Untersuchungsergebnisse lernte ich bei den Forschern selbst und durch ihre späteren Vorträge kennen: In den letzten Jahren sind in Rußland viele schwere, bis zu 50% und mehr tödlich verlaufene, sehr häufig mit Ikterus und septischen, zum Teil auch mit Darmerscheinungen einhergehende Recurrenserkrankungen vorgekommen, die klinisch zum Teil sehr an das aus tropischen und subtropischen Ländern bekannte sog. „*biliöse Typhoid*“ erinnern. *Kulescha* und besonders *Iwaschinzew* sind allerdings der Ansicht, daß beide Krankheiten nicht identisch seien, vor allem nach *Iwaschinzew* pathologisch-anatomisch nicht. — *Kulescha*, *Iwaschinzew* u. a. fanden als Ursache dieser schweren Komplikation und der im Anschluß an Recurrensinfektionen auftretenden Erkrankungen einen *Bacillus der Paratyphusgruppe*, der sich in den meisten Fällen in Reinkultur aus dem Blute züchten ließ. Die kultivierten Bacillen stimmten mit keinem der bisher in Rußland bekannten Vertreter der Paratyphusgruppe in *allen* Eigenschaften genau überein, wenn auch, vor allem *morphologisch*, die allergrößten Ähnlichkeiten bestanden. Meerschweinchen gingen nach Infektion mit diesen Bacillen bald unter septischen Erscheinungen zugrunde. — Diese Befunde der russischen Autoren erinnern an die von *Anigstein* in Polen sowie von *Cantacuzène* in Rumänien erhobenen und auf der Warschauer Sanitätskonferenz im März 1922 mitgeteilten. Auch hat der russische Mikroorganismus große Ähnlichkeit mit dem von *Neukirch* und *Schiff* während des Krieges

¹⁾ Siehe auch Zentralbl. f. Bakt., Referate, **74**, S. 21 ff. 1922.

aus Kleinasien beschriebenen Bacillus der Paratyphusgruppe sowie dem Bacillus *Glaeser-Voldagsen*.

Bekanntlich wurde bisher von vielen Autoren auch das „biliöse Typhoid“ in den warmen Ländern als eine septische Komplikation von *Recurrens* angesehen und bekanntlich traten Epidemien von biliösem Typhoid auch früher zu Hungerzeiten und bei unter elenden Verhältnissen lebenden Bevölkerungsklassen (z. B. auch in Gefängnissen) auf. Auffallend war, daß die jetzt beschriebenen schweren Erkrankungen in Rußland meist Leute aus *den Hungergebieten* betrafen. — Weitere eingehende Untersuchungen müssen sich nach meiner Ansicht auch besonders daraufhin erstrecken, ob nicht diese paratyphösen septischen Erkrankungen auch *ohne Recurrens* vorkommen können, d. h. ob es sich nicht eventuell um eine *selbständige paratyphöse Erkrankung* handelt, bei der eventuell *Recurrens* nur in zeitlichem Zusammentreffen eine Begleiterrolle spielt, und ferner, ob nicht Fälle von *Weilscher Krankheit* unter den septischen Ikterusfällen versteckt sind. Ich selbst konnte in Rußland keine Weil-Erkrankungen kulturell oder sonst durch *Leptospiren-Nachweis* bestätigen; dagegen soll von russischen Bakteriologen das Vorkommen in einigen Gegenden *nachgewiesen* worden sein.

Zeitweise war in den Jahren 1920 und besonders 1921 die *Cholera-gefahr* sehr groß. Das Jahr 1921 hatte die *höchsten Zahlen* der letzten 10 Jahre; selbst während des Krieges wurden nicht mehr als 50 000 Fälle pro Jahr gegenüber 176 886 Fällen im Jahre 1921 gezählt. — Auch im Jahre 1922 trat in einzelnen Gegenden, insbesondere in der Ukraine (Kiew, Charkow u. a.), in den Schwarzmeergebieten und in der Kirghisenrepublik die Cholera schon *frühzeitig*, sogar in den Wintermonaten, auf. Bis Ende Mai waren bereits weit über 4000 Fälle gemeldet, denen in den folgenden Monaten zahlreiche weitere, auch einige in Moskau und Petersburg eingeschleppte, folgten. Nach den letzten Nachrichten forderte in der Ukraine im Juli die Cholera Hunderte von Opfern täglich; allein *Odessa* hatte täglich über 100 Erkrankungen. Bisher (Ende August) ist es aber zu der für dieses Jahr gefürchteten *größeren allgemeinen Epidemie nicht* gekommen, dank zum Teil vielleicht den in manchen Gegenden durchgeführten *Schutzimpfungen*, dank aber auch der vorläufigen *Besserung* der Ernährungslage in vielen Gegenden, dank schließlich vor allem dem Umstande, daß die meisten Infektionen **Kontaktinfektionen mit geringer Virulenz** und daß bisher anscheinend *keine Wasserwege infiziert* waren. Die Verbreitung war offenbar aus Cholerazentren im Innern Rußlands (Wolgagebiet) auf dem *Landwege*, besonders entlang den *Eisenbahnlinien* durch Flüchtlinge erfolgt. So erkrankten **außer Flüchtlingen** auch besonders die mit ihnen in Berührung Gekommenen, u. a. viele *Eisenbahnangestellte und -arbeiter*.

Tabelle XII. Gemeldete Cholerafälle in Rußland¹⁾.
(Nach den statistischen Angaben des Volkskommissariats für Gesundheitswesen.)

Gegenden:	Total 1921	Januar 1922	Februar 1922	März 1922	April 1922	Summe
Nord-Gegend	20	0	0	0	0	20
Nord-West-Gegend	53	0	0	0	0	53
Petersburg-Stadt	(36)	0	0	0	0	(36)
West-Gebiet	34	0	0	0	0	34
Ukraine	10 341	154	197	545	343	11 580
Krim	46	0	0	0	0	46
Zentral-Südgebiet	20 046	0	38	42	29	20 155
Zentral-Gegend	1 858	0	0	1	0	1 859
Moskau-Stadt	(312)	0	0	0	0	(312)
Zentral-Osten	1 458	12	0	0	0	1 460
Wolgagebiet	41 804	3	0	31	1	41 839
Gouv. Samara	(15 690)	(3)	(0)	(22)	(0)	(15 715)
Uralgebiet	36 025	6	1	99	4	36 135
Schwarzmeergebiet	6 837	38	52	194	62	7 183
Kaukasus	7 424	0	1	53	9	7 487
Kirghisen-Republik und Turkestan	19 456	5	91	75	—	19 637
Sibirien	9 024	0	0	0	0	9 024
Rote Armee	4 427	174	—	—	—	4 601
Rote Marine	169	0	—	—	—	169
Eisenbahnwege	20 017	21	12	154	15	20 219
Flußwege	3 111	0	0	0	0	3 111
Gefängnisse	338	0	0	0	0	338
Summe	182 488	413	392	1194	463	184 950

Anmerkung. Diese Zahlen können auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen (vgl. S. 1 u. 2). — Das beweist auch ein anderer Bericht des Volkskommissariats für Gesundheitswesen, nach dem in den letzten 6 Wochen vor dem 6. Mai in Rußland und Ukraine 3301 Cholerafälle gemeldet sein sollen.

Die *russischen Resultate der Cholera-Schutzimpfungen* im Kriege und auch in den letzten Jahren werden übereinstimmend als *gut* angesehen. Einstimmig wurde auf dem Bakteriologenkongreß ihre Durchführung bei drohender Epidemiegefahr gefordert. — Allerdings mußte zugegeben werden, daß im Gefolge der Schutzimpfungen die *Zahlen der Bacillenträger* unter den Schutzgeimpften wesentlich *zugenommen* hatten und daß andererseits die *Virulenz* der auch *morphologisch veränderten* Vibriolen *abgenommen* zu haben scheint. Auch waren die degenerierten Vibriolen vielfach schwer nachzuweisen.

Mit Rücksicht auf die bei der Schutzimpfung unter der hungernden Bevölkerung oft auftretenden *starken Impfreaktionen* wurde die *öftere Impfung mit kleineren Dosen* empfohlen, insbesondere auch bei der

¹⁾ Zusammengestellt in „Renseignements épidémiologiques“. Genf, Société des Nations.

Typhusschutzimpfung. — Für *Kinder* gilt bisher folgendes Schutzimpfungsschema: Bis 3 Jahre 0,2, bis 7 Jahre 0,3, bis 10 Jahre 0,4 und weiter jedes Jahr um 0,1 ccm steigend.

Die *Cholera*mortalität betrug durchschnittlich nicht über 50%, in letzter Zeit in der Ukraine bis 70%.

In der *Cholera*therapie wurden von manchen russischen Ärzten (z. B. *Iwaschinzew*) vor allem zahlreiche, große Kochsalzinfusionen (mehrere Liter hintereinander) bis zu 10–15 l am Tage empfohlen. Sie sollen sehr oft zauberhafte Erfolge gezeitigt haben.

Mit manchen der sog. **tropischen und subtropischen Protozoenkrankheiten** sind einige Gegenden des östlichsten asiatischen Rußlands, insbesondere in Turkestan, Afghanistan und dem Kaukasus, reichlich bedacht. **Trypanosomiasen** (Dourine) und **Piroplasmosen** kommen in manchen Gegenden vor, ferner auch **Tierspirochätosen**: so z. B. vernichtet die *Gänse*spirochätose ganze Bestände im Kaukasus. — Ferner sind **Leishmaniosen**, sowohl Kala-azar wie *Leishmania infantum* und *Hautleishmaniosen* keine Seltenheit. In Moskau stellte ich einen klinisch sicheren, auch von Prof. *Marzinowsky* bestätigten *Kinder-Kala-azar-Fall* aus Turkestan fest. — Auch sah ich in dem von *Marzinowsky* geleiteten Moskauer Tropeninstitut *Hautleishmaniosen* bei verschiedenen Institutsmitgliedern in *allen* Entwicklungsstadien. Sie wurden — außer in Kulturen — auf diese Weise für Demonstrationszwecke fortgezüchtet, u. a. auch am Unterarm des Institutsleiters, der mir freundlichst schöne Bilder aus verschiedenen Entwicklungsstadien schenkte (vgl. Abb. 20).

Ganz besonderes Interesse hatte während des Krieges und auch nachher in Rußland — wie in vielen anderen Ländern — die **Malaria**. Ihre *Ausdehnung* hat gewaltig in den verschiedensten Gebieten, nördlich bis nach *Archangelsk* (65° nördl. Breite) hin, zugenommen. In vielen bisher noch freien Gegenden ist Malaria eingeschleppt. So hatten auch Moskau und Petersburg zahlreiche Fälle und Herde. In *Moskau* (56° nördl. Breite) sollen u. a. nach *Pletnew* zahlreiche *einheimische Tropicafälle* festgestellt worden sein. Ich selbst sah — allerdings im *Winter* — nur *Tertian*abefunde und diese auch viel *weniger zahlreich*, als ich nach den vielen *Malaria*nachrichten erwartet hatte. So z. B. konnte ich zusammen mit *Gaertner* unter 150 in Kasan untersuchten Kindern nur *einen* *Tertian*parasitenträger im November/Dezember ermitteln, trotzdem Kasan im Sommer schwer von Malaria heimgesucht gewesen sein soll. *Recurrent*spirochäten-Befunde waren — jedenfalls im Winter — viel häufiger als *Malaria*parasiten. — Zweifellos beruhten die hohen angegebenen *Malaria*zahlen zum größten Teil nur auf *klinischen* Diagnosen. Daß dabei *Irrtümer* möglich sind und daß auch in Rußland manche *Recurrent*-, Grippe-, typhöse und andere Erkrankungen als *Malaria* registriert worden sind, unterliegt für mich keinem Zweifel. *Systeme*

matische Blutuntersuchungen während der Malariasaison sind daher zur Erlangung genauere epidemiologischer und statistischer Unterlagen unbedingt erforderlich. Ich halte die vorliegenden statistischen Angaben für sehr ungenau und verzichte daher auf ihre Wiedergabe.

Sehr interessant waren die Mitteilungen von Dr. *Strodsky* auf dem Moskauer Kongreß über seine **Malariastudien in Transkaukasien**. Er konnte daselbst *Zonen* mit überwiegendem Nachweis von *Plasmodium malariae* im Norden (in Nordmugan), mit *Plasmodium immaculatum* in den mittleren Gegenden (Südmugan) und mit vorherrschendem *Plasmodium vivax* im Süden (Nord- und Südenkoran) feststellen und

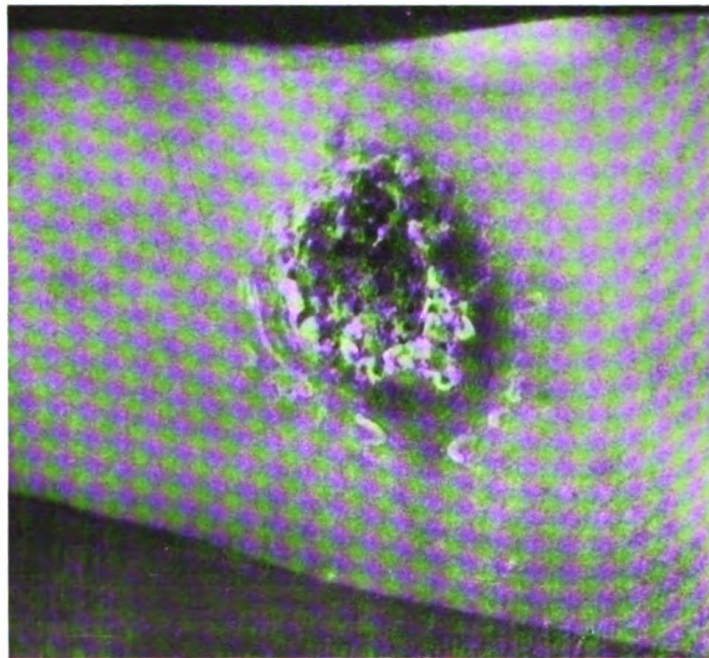


Abb. 20. Durch künstliche Impfung hervorgerufene *Leishmania tropica* (Prof. *Marzinowsky*; Tropeninstitut, Moskau).

führte diese Tatsachen gegen den Unitarismus an. — Auch berichtete *Strodsky* über *anophelesreiche Malariazonen ohne Mückenbrutplätze*. *Strodsky* glaubte dies durch eine „migratio per continuitatem“ aus den mückenreichen, feuchten Küstengebieten in die höher gelegenen trockenen Steppengebieten erklären zu können, wobei allerdings eine Wanderung auf 20—30 km in Frage käme. — Dieser Erklärungsversuch erscheint mir sehr gewagt. Sollten in jenen Gegenden nicht vielleicht Zisternen u. ähnl. als Mückenbrutplätze in Frage kommen?

Schwarzwasserfieber kam auch, namentlich im fernen Osten, vor, wenn auch weniger häufig als in manchen tropischen Gegenden. — Vielfach hörte ich von guten Behandlungsergebnissen mit großen Chinindosen, die an die *Steudelsche* Behandlung in Ostafrika erinnerten.

Ähnlich wie in anderen Ländern, so soll auch in Rußland die Malaria häufig sehr *hartnäckig* gegenüber dem Chinin und auch sehr *schwer* verlaufen sein, namentlich da, wo *völliger Chininmangel* herrschte. — Auch soll nach einer mündlichen Mitteilung *Pletnews* viel *Frühjahrs-malaria* (nach verlängerter Inkubation?) aufgetreten sein.

Malariasanierungsmaßnahmen waren bisher nirgends in größerem Maßstabe durchgeführt worden. In Lichtbildervorträgen wies ich daher auf deren Erfolge, namentlich meine eigenen im Kriege, und ihre Notwendigkeit hin. Auch sonst wurden unsere verschiedensten *Lichtbildervorträge und Demonstrationen* in Kasan, Petersburg und Moskau sowie auf dem Moskauer Bakteriologenkongreß von Ärzten und Wissenschaftlern dankbar entgegengenommen.

Neben den körperlichen und wirtschaftlichen Sorgen und Leiden quälte die russischen und deutschstämmigen **Ärzte und Wissenschaftler** vor allem auch der *Hunger nach geistiger Befriedigung*, nach medizinischer, besonders *deutscher* medizinischer **Literatur**. Ihn zu stillen haben wir uns redlich bemüht. — Unsere russischen Kollegen, von denen einige mit Wärme und Dankbarkeit die deutsche medizinische Wissenschaft als die Mutter der russischen bezeichneten, sind zum großen Teil arm, insbesondere an wissenschaftlicher Ausrüstung.

Erstaunlich waren gleichwohl die mit den primitivsten, selbstgefertigten Hilfsmitteln in ungeheizten Laboratorien, vielfach ohne Gas und Elektrizität erzielten *hervorragenden wissenschaftlichen Forschungsergebnisse*, die wir bei Männern wie *Kolzow, Krawkow, Kulescha* und *Iwaschinzew, Lazarew, Marzinowsky, Maximow, Pawlow, Pletnew, Scharkowenkow, Tarassewitsch, Zabolotny* u. a. kennenlernten und zum Teil durch Veröffentlichung in der medizinischen Literatur der wissenschaftlichen Welt zuführen konnten.

E. Die erforderlichen hygienischen, Hunger- und anderen Hilfsmaßnahmen. (Rückblicke und Ausblicke.)

Wie schon angedeutet, war unter den obwaltenden verzweifelten Umständen die Ausführung wirksamer Seuchenbekämpfungsmaßnahmen in Rußland *so gut wie unmöglich*. Denn es fehlte ja vor allem das wichtigste Hilfsmittel dafür, das *Brot*. Mit Brot hätte man zum mindesten *Reinlichkeitsmaßnahmen* (Entlausungen usw.) zum Teil erzwingen können, etwa durch Bekanntgabe einer Verordnung, daß nur solche Leute ihre Brotration bekämen, die sauber und läusefrei seien. Allerdings gehören zur Körper-, Wäsche- und Kleiderreinigung auch *Seife und Heizmittel*. *Alles fehlte*. Unter solchen Umständen war daher auch mit Desinfektionsmitteln und Medikamenten nichts Wesentliches auszurichten. Wir mußten deshalb von Versuchen, den ausgehungerten, kraftlosen Gestalten durch systematische Reinigungs-

und Desinfektionsmaßnahmen auch „das letzte zu nehmen, was sie noch besaßen“, nämlich ihre Läuse, Abstand nehmen.

Daß auch in Rußland unter *gutgenährten* Menschen *Entlausungsmaßnahmen leicht durchzuführen* waren, dafür hatten wir zahlreiche Beispiele, so u. a. beim russischen Personal unseres Sanitätszuges, von dem trotz engen Zusammenwohnens und 2maliger Einschleppung von Flecktyphus und Recurrens durch Neueingestellte keiner infiziert wurde. Auch von unseren beiden, im Außendienst in Kasan infizierten Expeditionsmitgliedern, die von uns wochenlang in unserem Sanitäts-

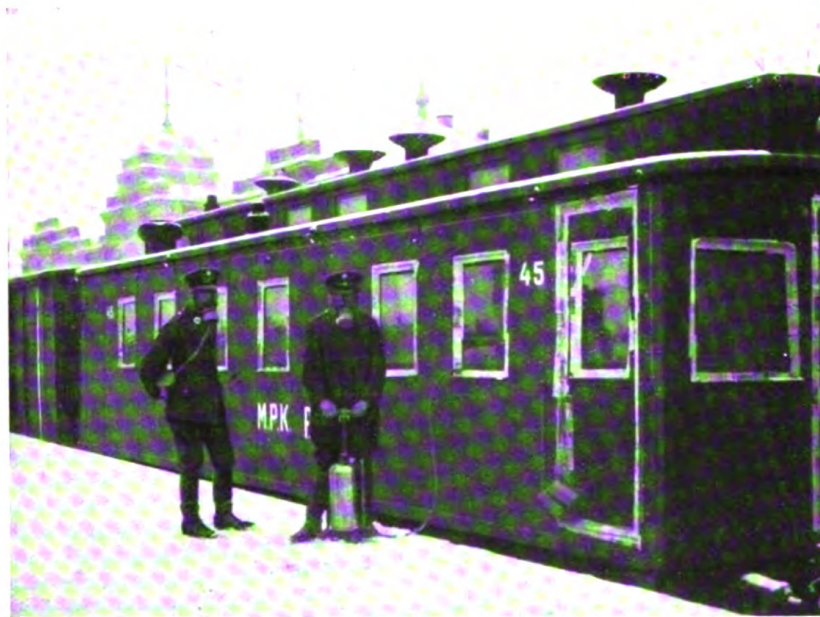


Abb. 21. Vernichtung von Ungeziefer mittels Zyklongas.

zuge gepflegt und behandelt wurden, ging nach sofortiger Desinfektion keine Infektion aus.

Bei der *Entlausung der Eisenbahnwaggons* bewährte sich — unter genauer Beobachtung der Vorschriften — „*das Zyklon-Gas-Verfahren*“ recht gut (Abb. 21). Auch die Wanzen und Kakerlaken wurden mit Zyklon mitsamt ihrer Brut restlos vernichtet, wie *Gaertner* wiederholt feststellte. — Die Waggons bzw. Kupees konnten 20—24 Stunden nach der Durchgasung wieder bezogen werden, wenn auch das Reizgas noch 24—48 Stunden später zu spüren war.

Auch bezüglich einer nicht minder wichtigen hygienischen Frage, in der *Wasserversorgung*, bestanden vielfach, selbst in den Großstädten, z. B. in Petersburg, Moskau und Kasan, üble Mißstände, infolge von Rohrbrüchen, Defekten der Filter und sonstiger Mängel in den Wasserwerken, z. B. *Mangel von Chlor* in Petersburg für die Wasserdesinfektion

sowie von *Klärmitteln* (Aluminiumsulfat u. a.). In einem im übrigen gut geleiteten Petersburger Wasserwerk sahen wir, daß das Wasser meist nur *kurze Zeit* mit Chlor desinfiziert und nicht vorschriftsgemäß geklärt und filtriert werden konnte. — Infolge zahlreicher Rohrbrüche und der Unmöglichkeit der Ausführung größerer Reparaturen ging in Moskau, Petersburg und Kasan dauernd viel Wasser verloren, so daß die Werke viel größere Mengen bereiten mußten als unter normalen Verhältnissen. So bedürfen nicht nur die Wasserwerke selbst, sondern auch die *Leitungssysteme* umfangreicher, zahlreiche Millionen Goldrubel kostender Reparaturen. — Dasselbe gilt von den **Kanalisationen**, die nicht nur in ihren Hauptkanälen, sondern auch in den Häusern zum Teil defekt



Abb. 22. Primitive Wasserversorgung in Kasan. Wasserausgabe in Wasserhäuschen.

oder zerstört waren. In Petersburg z. B. herrschten daher in manchen Häusern *unbeschreibliche Zustände* infolge Entleerung der Abwässer usw. in Keller, Höfe, leere Etagen usw. Hinzu kam noch, daß es infolge Mangels oder Fehlens von geeigneten Transportmitteln lange Zeit eine geordnete **Fäkalien- und Müllabfuhr** nicht gab. Auf die gesundheitlichen Folgen solcher Zustände einzugehen, dürfte sich erübrigen. — *Auch hier tut schleunige Hilfe not.*

Die **Sanierung der Großstädte** muß mit der *Wiederherstellung von Wasserleitung und Kanalisation, Desinfektions- und Entlausungsanstalten sowie der Krankenhäuser und Ambulanzen* beginnen. Dazu aber ist unbedingt die Hilfe der *ausländischen Industrie und Technik* nötig; denn die russische liegt seit Jahren fast vollständig danieder.

Eine weitere Kardinalfrage für den Wiederaufbau Rußlands bildet die schleunige Wiederherstellung des Transport-, vor allem des **Eisenbahntransportwesens**. Hierzu sind tausende und abertausende Waggons,

Lokomotiven, Reparaturwerkstätten und Reparaturmittel für die Schienenwege und das rollende Material sowie enorme Mengen *Heizstoffe* erforderlich. Auch diese Bedürfnisse können nur mit *ausländischer Hilfe* und *ausländischen Mitteln* befriedigt werden.

Dasselbe gilt von der **eigentlichen Hunger- und Seuchenbekämpfung**. — Das wurde auch auf der Warschauer Sanitätskonferenz im März 1922 erkannt. Zum ersten Male seit dem Kriege saßen wir Hygieniker *aller* europäischen Nationen in Warschau am Verhandlungstisch und berieten, wie dem in Hunger und Seuchen erstickenden Nachbarn geholfen und wie die für ganz Europa drohenden Gefahren abgewendet werden könnten. — Die Konferenz befürwortete einmütig als einzige Rettung für Rußland und das in die Seuchenverheerung miteinbezogene Polen



Abb. 23. Der Sanitätszug des Deutschen Roten Kreuzes auf der Fahrt nach Kasan.

eine gemeinsame großzügige Hilfsaktion, zu der **sämtliche Nationen Europas** nach ihren Kräften beisteuern sollten.

In einer Schlußresolution wurde auf deutschen Antrag noch betont, daß neben den hygienischen Maßnahmen auch weiterhin sich alle Nationen an der Bekämpfung der Grundursache der jetzigen Nöte, des *Hungers*, beteiligen müßten.

Bereits *vor* der Warschauer Konferenz hatten wir, ebenso wie andere Hilfsbereite — ich nenne nur *F. Nansen* — in Hilferufen an alle Welt auf die *Notwendigkeit einer allgemeinen Hilfsaktion für Rußland* hingewiesen. Unserer, vom Deutschen Roten Kreuz im September 1921 entsandten, der ersten in Rußland eingetroffenen ärztlichen Hilfsexpedition¹⁾

¹⁾ Über die *Tätigkeit des Deutschen Roten Kreuzes* in Rußland ist an anderen Stellen, vor allem in den „Blättern des Deutschen Roten Kreuzes“, wiederholt von meinen Expeditionsmitgliedern *Dr. Fischer, Halberkann, Karstens, Nauck* und *Zeiß* sowie von mir ausführlich berichtet worden.

folgten zahlreiche andere, von denen insbesondere die Am. Relief, die Nansen-Hilfe, die Quäker, die Internationale Kinderhilfe, das Schwedische Rote Kreuz, die Internationale Arbeiterhilfe und der Amsterdamer Gewerkschaftsbund am meisten Lebensmittelhilfe leisten und zusammen täglich Millionen Menschen speisen konnten.

Unter eigener Überwachung gelangten die zahlreichen Hilfstransporte sicher ins Hungergebiet und dort unter Kontrolle der Hilfsaktionen zur Verteilung. — Weiterhin leisteten auch die verschiedenen *russischen Regierungs- und Wohltätigkeitsorganisationen*, wie z. B. das *Russische Rote Kreuz*, umfangreiche Hilfe. *F. Nansen* sagt: „Die Sowjetbehörden haben mehr geleistet, als man sich allgemein vorstellt. Ihrem Einfluß und ihrer Hilfe ist vor allem das *Einbringen der Wintersaaten* im Wolgagebiet zu danken.“



Abb. 24. Lebensmitteltransport des Deutschen Roten Kreuzes auf dem Wege zu den Wolgakolonistendörfern.

Mit großem *Heroismus* haben die hungernden Bauern mit ihren Familien die Saat unter die Erde gebracht. In einem Bericht aus Saratow heißt es: „Die Bauern haben kein Arbeitsvieh mehr und schleppen ihre Pflüge eigenhändig auf das Feld“ und weiter: „Mit erstaunlichem Erfindungsgeist wenden sie die phantastischsten Methoden an, um den widrigen Wirtschaftsverhältnissen zum Trotz eine möglichst große Anbaufläche zu besäen: man sieht die Bauern mit ihren Familien aufs Feld hinausziehen, wo mit Hilfe von Hacke und Schaufel auf ganz primitive Art und mit kolossalem Kraftaufwand Furche für Furche gezogen wird; wo die Egge fehlt, erfolgt die Lockerung mit einer Harke.“

F. Schlußbetrachtung.

Wer die fürchterliche Tragödie an der Wolga gesehen und miterlebt hat, der vermag die wirtschaftlichen Folgen der Kriege und der Hungers- und Seuchennot für Rußland nur mit banger Sorge auszudenken. Ohne weiteres leuchtet das Urteil erfahrener russischer Volkswirtschaftler ein, daß das Wolgagebiet und auch die Ukraine sich von diesem schweren

Schlag, selbst unter den günstigsten klimatischen und wirtschaftlichen Bedingungen, *erst nach mehreren Wirtschaftsepochen* erholen könnte, wohlgemerkt: *günstige* Bedingungen vorausgesetzt. Wenn auch der aus vielen Hungerbezirken gemeldete, zum Teil allerdings durch Heuschrecken gefährdete *gute diesjährige Erntestand* für den Augenblick in manchen Kreisen vielleicht die größte Not zu lindern vermag, so ist damit noch keineswegs die Kornkammer Europas gerettet. Selbst der denkbar günstigste Ernteaussaat würde infolge wesentlicher Verringerung der Aussaat noch lange nicht einer Durchschnittsernte früherer Jahre entsprechen. *Zudem haben Hunger und Krankheiten die Bevölkerung vollkommen erschöpft.* Diese Folgen lassen sich nicht mit einem Schlage beseitigen. Hunderttausende der kräftigsten und leistungsfähigsten Bauern sind teils dem Hunger und den Seuchen zum Opfer gefallen, teils siechen sie mit ihren Nachkommen dahin, teils aber sind sie auch aus ihren angestammten Sitzen herausgerissen und ausgewandert: „*die meisten und produktivsten Wirtschaften sind zerstört*“. Die durch den Krieg, insbesondere durch die bis in jene Gebiete ausgedehnten Bürgerkriege schon früher stark reduzierten *Bestände an Melk- und Arbeitsvieh* sind in vielen Gegenden durch den Hunger fast völlig aufgerieben. So soll — um nur ein Beispiel zu geben — nach einem neueren Berichte in der Tatarenrepublik die Zahl der Pferde um 83%, in den Gouvernements Samara und Saratow stellenweise um noch höhere Prozente vermindert sein.

Auch noch aus anderen Gründen dürfte der *Wiederaufbau der Landwirtschaft* den größten Schwierigkeiten begegnen. Auf die hierbei mitsprechenden Fragen des ländlichen Bewirtschaftungssystems, evtl. Aufhebung der früheren Zwangswirtschaft, die allgemeinen vorbeugenden Maßnahmen gegen die sich periodisch wiederholende Dürre, vor allem die Frage einer intensiveren Bodenbearbeitung u. a. kann *ich* nicht näher eingehen. Davon verstehe ich zu wenig. — Als *Hygieniker* interessiert mich aber vor allem die Hauptfrage: Wie kann der Landarbeiterstand wieder *arbeitskräftig* und *arbeitsfreudig* werden? — Zu diesem Zwecke sind u. a. *sozialhygienische Aufgaben* in weitestem Umfange für die in manchen Gouvernements durch jahrzehntelanges chronisches Hungern und Unterernährtsein schwach, energie- und willenlos gewordenen Bauern unverzüglich in Angriff zu nehmen. Ich denke dabei nicht nur an bessere ärztliche Versorgung und konsequente Bekämpfung der Seuchenzentren in jenen Wolgadistrikten, sondern insbesondere auch an das Problem der Herbeiführung einer zukünftigen regelmäßigen, guten und vielseitigen Lebensmittelversorgung der *landarbeitenden Volksschichten* in Rußland, auch in *trockenen* Jahren. Zum Wiederaufbau Rußlands gehört also unbedingt: *ein arbeitsfreudiger, kräftiger, gesunder, selbst-tätiger Bauernstand.*

Auf dem von über 400 Ärzten und Wissenschaftlern aus allen Teilen Rußlands besuchten VI. allrussischen Bakteriologen- und Epidemiologenkongreß in Moskau richteten sich die russischen Kollegen — unter voller Würdigung und Anerkennung der bis dahin von verschiedenen Nationen geleisteten Hilfe — an die ärztlich-sanitären Organisationen Westeuropas und Amerikas mit folgendem denkwürdigen Aufruf: „Der Hunger in Rußland verschlimmert sich. Die reichsten Gebiete verwandeln sich in Wüsten; die Städte und Dörfer sterben aus. Die Anzahl der Hungernden beläuft sich auf etwa 40 Millionen. Die bestehende Hilfe ist äußerst unzureichend. Die Cholera beginnt, und es mehren sich die übrigen Epidemien. Dieser Zustand bedroht wie ein Gewitter ganz Europa. Eine weitgehende, allgemeine unverzügliche Hilfe ist erforderlich: eine Lebensmittel- und Sanitätshilfe. Der VI. allrussische Kongreß der Bakteriologen und Epidemiologen wendet sich an alle ärztlichen und sanitären Organisationen mit der Bitte, ihre Stimme ertönen zu lassen zur Rettung des ersterbenden Landes!“

So flehten im Mai 1922 zu uns Ärzten und zum Weltgewissen die russischen Ärzte und Wissenschaftler in den Zeiten der größten Not. Die von ihnen skizzierten Gefahren sind, wie schon angedeutet, trotz vorübergehender Besserung noch lange nicht beseitigt: sie schweben vielmehr auch weiterhin wie ein Damoklesschwert über Rußland und Europa, zumal da sicher im kommenden Winter der Hunger und die Seuchen ihr grausames Zerstörungswerk wieder fortsetzen werden. Daher ist eine weitere, allgemeine, fortdauernde Hilfe Menschen- und zugleich für uns Europäer Selbsterhaltungspflicht. Dabei vergesse man auch nicht die Notlage der *russischen Ärzte* und ihren geistigen Hunger nach medizinischer Literatur, sowie ihren unendlich großen Mangel an anderen Hilfsmitteln für Wissenschaft und Praxis. Ohne Rüstzeug können auch die tapfersten Sanitätspioniere nichts ausrichten.

So beurteile ich als Arzt und Hygieniker die gegenwärtige Lage in Rußland und die Bedingungen und Notwendigkeiten für die Hunger- und Seuchenbekämpfung sowie für den Wiederaufbau Rußlands. Möchten die gegebenen Streiflichter über diese Fragen zu weiterem Nachdenken anregen und zugleich zeigen, daß neben den wirtschaftspolitischen und industriellen Fragen beim Wiederaufbau Rußlands auch *ärztliche Probleme*, vor allem die der *Seuchenbekämpfung* sowie *allgemein- und sozialhygienische* eine sehr wichtige Rolle spielen. — *Volkswirtschaftler und Sozialhygieniker, Wissenschaftler und Praktiker, Arzt und Ingenieur, Industriearbeiter und Bauer, Techniker und Heilgehilfe, Kranken- und Fürsorgeschwester müssen dabei Hand in Hand arbeiten.*

Hamburg, im August 1922.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel [Vorsteher: Prof. R. Doerr].)

Studien zum Bakteriophagenproblem.

II. Mitteilung.

Die Konzentration des lytischen Prinzips und ihre Beziehungen zum Ablauf der Bakteriophagenreaktion.

Von

Hans Meuli.

Mit 2 Textabbildungen.

Entkleidet man die verschiedenen Beschreibungen und Begriffsbestimmungen des Phänomens der Bakteriophagie oder der übertragbaren Lyse aller Einzelheiten, welche nicht unbedingt zum Wesen des Vorganges gehören, so bleibt schließlich als Kern des gesamten experimentellen Tatsachenmaterials die Aussage zurück, daß jeder Bakteriophagenprozeß eine gegenseitige Beeinflussung *lebender Bakterienzellen* und *eines von lebenden Bakterien abtrennbaren Stoffes* repräsentiert; bei den Bakterien kommt die stattgehabte Bewirkung durch eine Störung ihrer normalen Funktionen, die sich bis zum Tode und zur Auflösung der Zellen steigern kann, zum Ausdruck, bei dem auslösenden Stoff durch eine gewaltige Zunahme seiner Konzentration. Die *Natur der Reaktion* ist vorderhand völlig unbekannt, so daß sich die Hypothesenbildung in extremen, nur durch die Anlehnung an naheliegende Analogien aus den Gebieten der Infektion, Immunität und Fermentforschung einigermaßen eingengten Grenzen bewegen kann. Das Studium der Literatur lehrt übrigens, daß man sich bisher weniger mit der Natur der Bakteriophagenreaktion als mit den *Eigenschaften einer Reaktionskomponente, des bakteriophagen oder lytischen Prinzips*, befaßt hat; schon Twort und d'Hérelle haben Experiment und Spekulation ganz im letzteren Sinn orientiert, und die folgenden Autoren sind von der einmal eingeschlagenen Richtung nur selten und meist nicht entschieden genug abgewichen. Man findet daher in einer großen Zahl von Publikationen breit angelegte Erörterungen, ob das lytische Prinzip ein Ultramikrobe oder ein unbelebtes Agens ist, welche Teilchengröße ihm zukommt, falls es in wässrigen Flüssigkeiten dispergiert erscheint, welche Resistenz es gegen die verschiedenen äußeren Einflüsse besitzt, in welchem Grade es sich zu vermehren vermag und wie sich diese Zunahme messen läßt usw.; die

Vorgänge an den empfindlichen Bakterien treten dagegen stark in den Hintergrund, indem man sich meist begnügt, die *Bakteriolyse* ohne weitere Begründung als die essentielle Veränderung zu betrachten und sie mit den Auflösungen infizierter oder durch Fermente geschädigter Zellen auf eine Stufe zu stellen. Es ist zweifellos möglich, auch auf diesem Wege zu einer weitgehenden Aufschließung des Bakteriophagenproblems zu gelangen; aber man wird zugeben, daß die Methode einseitig und daher auch nicht frei von Fehlerquellen ist.

Von solchen Überlegungen geleitet haben *Doerr* und *Grüninger* (vgl. die erste in der Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. veröffentlichte Mitteilung) versucht, die *Bakteriophagenreaktion als Funktion der Zeit darzustellen*. Da die Reaktion an sich einer derartigen Untersuchung unzugänglich war, wurden die Veränderungen an den beiden wesentlichen Reaktionskomponenten, den *lebenden Bakterien* und dem *bakteriophagen Agens*, analysiert, und zwar zunächst in rein quantitativer Hinsicht, durch Feststellung der *Zahl der lebenden Keime* einerseits und durch *Bestimmung der Lysinkonzentration* andererseits. Die sonstigen Reaktionsbedingungen (H-Ionenkonzentration, Zusammensetzung des Nährbodens, Temperatur) waren vorerst so gewählt, daß sie ein Optimum des Reaktionsablaufes ermöglichten; später wurden sie variiert und die durch die jeweilige Variation bedingte Beeinflussung des Reaktionsgeschehens konstatiert.

Auf die Ergebnisse braucht hier nicht in extenso eingegangen zu werden. Nur des leichteren Verständnisses halber sei ein bei optimalen Reaktionsbedingungen ($p_H = 7,65$, Temperatur = 37°) angestellter Versuch rekapituliert.

Versuch.

In einen im Wasserbad von 37° stehenden Kolben mit 200 ccm Bouillon wurden zur Zeit $t = 0$ Colibakterien (14 000 lebende Keime pro Kubikzentimeter Bouillon) und ein zugehöriges übertragbares Lysin eingetragen; die Konzentration des letzteren im Kolben war so eingestellt, daß $0,1 = 10^{-1}$ ccm des Kolbeninhaltes in 9 ccm Bouillon noch gerade Auflösung (Bakteriophagie) hervorrief, wenn eine Öse 16stündiger Colibouillonkultur eingesät wurde. Die Lysinkonzentration entsprach somit nach der von *Werthemann* vorgeschlagenen Bezeichnung dem Lysinexponenten 1. Nun wurden nach verschiedenen Zeitintervallen Proben aus dem Kolben entnommen und für jede Probe bestimmt:

- a) die Zahl der lebenden Colibakterien (im Gelatineplattenverfahren),
- b) die Konzentration des lytischen Prinzips mit Hilfe der von *Appelmans* eingeführten, von *Werthemann* modifizierten Dilutionsmethode.

Die nachstehende Abb. 1 (der Mitteilung von *Doerr* und *Grüninger* entlehnt) gibt die Resultate in graphischer Darstellung wieder; die ausgezogene Linie verbindet die ermittelten Werte für die Lysinexponenten, welche zu den Logarithmen der Lysinkonzentrationen in engster Relation stehen, die gestrichelte die jeweils im Kubikzentimeter Bouillon vorhandenen Zahlen lebender Colikeime.

Betreffs der Diskussion der beiden Kurven sei auf die Arbeit von Doerr und Grüninger verwiesen.

An dieser Stelle soll nur ein Moment genauer ins Auge gefaßt werden, nämlich der Umstand, daß die Lysinkonzentration nach anfänglich rapider Zunahme (Verzehnfachung in je 15 Minuten) plötzlich stationär wird und in der Folge auf einem und demselben Niveau verharrt. Die Erklärung dieser Erscheinung wäre relativ einfach, wenn sie nur für den beschriebenen Fall d. h. für den Komplex der hier gewählten Versuchsbedingungen zu gelten hätte. Aus der Abbildung geht hervor, daß die Arretierung des Lysinanstieges mit dem Aufhören der Bakterienvermehrung bzw. mit dem Überwiegen des Bakterienunterganges über die Vermehrung fast zusammenfällt, und die kausale Verknüpfung dieser gleichzeitigen Vorgänge liegt nicht nur nahe, sondern

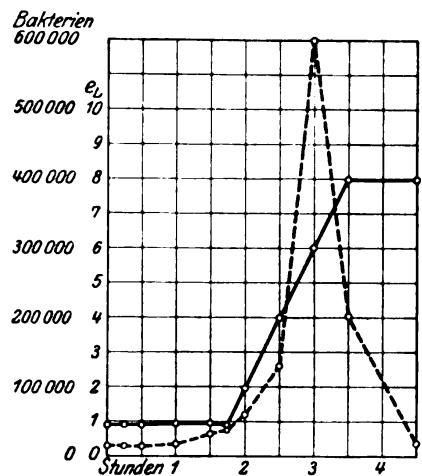


Abb. 1.

muß sogar bei der zwangsläufigen Abhängigkeit von Bakterienleben und Lysinzunahme als gut begründet angesehen werden. Die Sachlage kompliziert sich aber erheblich durch die weitere Beobachtung, daß die Lysinproduktion immer bei demselben Werte halt macht, auch dann, wenn man von den Versuchsbedingungen, welchen Abb. 1 entspricht, beträchtlich abweicht. Die Durchsicht der Versuchsprotokolle von Doerr und Grüninger oder ein Blick auf die Abbildungen in ihrer Arbeit zeigt bereits, daß die maximale bzw. terminale Lysinexponenten dem Lysinexponenten 8 entsprach, gleichgültig, ob die Bakterienvermehrung relativ gering oder sehr beträchtlich war und ob das Lysin gleichzeitig mit den Bakterien oder erst 3 bis 5 Stunden später zur Versuchsbouillon zugesetzt wurde. Dazu kamen noch sehr viele, zu den verschiedensten Zwecken ausgeführte Einzeltitrationen bakteriophagenhaltiger Bouillons, bei denen immer wieder der Lysinexponent 8 erhalten wurde, vorausgesetzt natürlich, daß man die Bakteriophagenreaktion vollständig ablaufen ließ und nicht durch vorzeitiges Titrieren statt des Endtiters einen Zwischentiter bestimmte. Terminale Lysinexponenten, welche vom Werte 8 verschieden waren, gehörten zu den Seltenheiten. Die beobachteten Abweichungen schwankten (für den untersuchten Colistamm und den zugehörigen Bakteriophagen) zwischen 7 und 9, waren also im Verhältnis zur Gesamtkonzentration und bei Berücksichtigung der Ungenauigkeiten des Titrationsverfahrens nicht sehr groß.

muß sogar bei der zwangsläufigen Abhängigkeit von Bakterienleben und Lysinzunahme als gut begründet angesehen werden. Die Sachlage kompliziert sich aber erheblich durch die weitere Beobachtung, daß die Lysinproduktion immer bei demselben Werte halt macht, auch dann, wenn man von den Versuchsbedingungen, welchen Abb. 1 entspricht, beträchtlich abweicht. Die Durchsicht der Versuchsprotokolle von Doerr und Grüninger oder ein Blick auf die Abbildungen in ihrer Arbeit zeigt bereits, daß die maximale bzw. terminale Lysinexponenten dem Lysinexponenten 8 entsprach, gleich-

Man erhielt sonach den Eindruck, daß der Zunahme des lytischen Prinzips eine ganz bestimmte obere Grenze gezogen erscheint, welcher der Reaktionsablauf — von den Reaktionsbedingungen bis zu einem gewissen Grade unabhängig — zustrebt.

Einer Anregung von Doerr folgend, habe ich diese Verhältnisse genauer zu analysieren und die ersten aus ihnen ableitbaren Konsequenzen festzustellen gesucht, wobei sich mehrere interessante Tatsachen ergaben, interessant nicht nur an sich, sondern auch im Hinblick auf das Gesamtproblem der Bakteriophagie.

Wenn man eine bakteriophagenhaltige Bouillon nach dem Dilutionsverfahren von Appelmans und Werthemann austitrieren will, geht man bekanntlich so vor, daß man eine Reihe von Eprouvetten mit je 9 ccm steriler Bouillon hernimmt, in die erste 1 ccm der zu titrierenden Ausgangsbouillon, in die zweite 1 ccm aus der ersten usf. einträgt, dann die ganze Reihe mit je einer Öse einer 16stündigen Bouillonkultur des für das Lysin empfindlichen Bacteriums beimpft und die beschickten Röhrchen bei 37° hält, bis die Reihe eine scharfe, sich nach rechts nicht mehr verschiebende Grenze zeigt; die Röhrchen links von der Grenze weisen einen klaren, jene rechts von der Grenze einen trüben Inhalt auf, indem in den ersteren eine Bakteriophagenreaktion abgelaufen ist, während in den letzteren ungestörte Bakterienvermehrung erfolgte. Das letzte, noch klare Röhrchen der Reihe gibt durch die Menge der zu titrierenden lysinhaltigen Ausgangsbouillon, welche in ihm rechnungsgemäß enthalten ist, das Maß für die Konzentration des Lysins in dieser Ausgangsbouillon an.

In sämtlichen klar gebliebenen oder klar gewordenen Eprouvetten einer derartigen Auswertungsreihe spielt sich also eine Bakteriophagenreaktion ab, und zwar stets unter denselben Bedingungen; nur ein Faktor verändert sich von Röhrchen zu Röhrchen, indem die initiale Lysinkonzentration jeweils um das Zehnfache abnimmt oder — was das nämliche besagt — indem der Lysinexponent (zur Zeit $t = 0$) von links nach rechts jeweils um 1 sinkt. Ergänzen wir die Reihe noch nach links um ein Röhrchen, welches 9 ccm konzentriertes Lysin (unverdünnte Ausgangsbouillon) enthält, so wird sie ein nach beiden Seiten abgegrenztes Intervall repräsentieren, welches von der höchsten bis zur geringsten (noch wirksamen) Lysinkonzentration reicht und innerhalb dessen jedes Glied zu Beginn des Versuchs in drei (dasselbe besagenden) Schreibweisen charakterisiert werden kann. Jedes Röhrchen läßt sich nämlich bezeichnen a) durch die absolute Menge konzentrierter Ausgangsbouillon, welche in ihm enthalten ist; b) durch den Lysinexponenten, den man bei der Titration nach der Methode von Appelmans und Werthemann finden würde bzw. tatsächlich feststellt und 3. durch die Angabe des rechnungsmäßigen Verdünnungs-

grades. Für eine Ausgangsbouillon vom Lysinexponenten 8 würde eine solche komplette Reihe 10 Röhren umfassen und gäbe — in den drei eben erwähnten Formen angeschrieben — folgendes Bild:

Tabelle I.

Nr. des Röhrens	Menge der konz. Ausgangsbouillon in ccm	Lysinexponent des Röhrens	Konzentration der Ausgangsbouillon
1.	$0,9 \cdot 10^{+1}$	— 8	1 : 1
2.	$0,9 \cdot 10^0$	— 7	1 : 10
3.	$0,9 \cdot 10^{-1}$	— 6	1 : 100
4.	$0,9 \cdot 10^{-2}$	— 5	1 : 1000
5.	$0,9 \cdot 10^{-3}$	— 4	1 : 10 000
6.	$0,9 \cdot 10^{-4}$	— 3	1 : 100 000
7.	$0,9 \cdot 10^{-5}$	— 2	1 : 1 000 000
8.	$0,9 \cdot 10^{-6}$	— 1	1 : 10 000 000
9.	$0,9 \cdot 10^{-7}$	0	1 : 100 000 000
10.	$0,9 \cdot 10^{-8}$	+ 1	1 : 1 000 000 000

Ein elftes Röhren würde nicht mehr dem betrachteten Intervall angehören d. h. $0,9 \cdot 10^{-9}$ ccm der untersuchten Bouillon (entsprechend einer Verdünnung von 1 : 10 Milliarden) würden nicht mehr genügen, um den Ablauf einer Bakteriophagenreaktion zu ermöglichen; die Frage nach der Größe des Lysinexponenten hätte für ein elftes Glied dieser Reihe überhaupt keinen Sinn.

Die obige Tabelle illustriert den Zustand der einzelnen Eprouvetten hinsichtlich ihres Lysingehaltes zur Zeit $t = 0$, also am Beginn der Bakteriophagenreaktion. *Wie gestalten sich aber die Verhältnisse nach Ablauf dieser Reaktion? Ist die Konzentration des bakteriophagen Prinzips (des Lysins) nunmehr in jedem Röhren verschieden, wie man aus Wahrscheinlichkeitsgründen anzunehmen geneigt wäre?*

Um darüber ins klare zu kommen, braucht man nur für jedes der 10 Röhren nach Ablauf der Bakteriophagenreaktion den Lysintiter zu bestimmen, indem man von jedem eine neue Verdünnungsreihe ausgehen läßt und im übrigen genau so verfährt, wie das die Angaben von *Appelmans, Werthemann, Doerr* und *Grüniger* vorschreiben. Will man dem Einwand begegnen, daß der Inhalt der Röhren trotz abgelaufener Lyse nicht steril sein muß, sondern daß die Bouillons noch lebensfähige, vielleicht sogar *resistente* oder *lysino gene Colikeime* enthalten können, welche das Ergebnis der Titrations zu stören vermöchten, so kann man diese Fehlerquelle ausschalten, indem man alle Eprouvetten durch 1stündiges Erwärmen auf 57° von lebenden Colibacillen befreit; indes ergaben vergleichende Versuche, daß die Unterlassung dieser Vorsichtsmaßregel das Ergebnis nicht alteriert.

Dieses Ergebnis entsprach nun in keiner Weise der Erwartung. *Meist war der Lysinexponent nach Ablauf der Reaktion in sämtlichen*

10 Röhrcben ganz gleich und belief sich für das erste wie für das zehnte Röhrcben auf 8, oder es machte (in selteneren Fällen) das letzte positive Röhrcben insofern eine Ausnahme, als der Lysinexponent den Wert 9 zeigte, eine Abweichung von der Regel, die wohl zunächst nicht ins Gewicht fällt.

Führt man somit ein Experiment der eben geschilderten Art vollständig durch, so bekommt man 10 sekundäre Auswertungsreihen, welche in ihrer Konfiguration vollständig der primären, in der Tabelle veranschaulichten Reihe ähneln; ebenso kann man von den sekundären Reihen tertiäre abzweigen, und auch diese haben wieder das gleiche Gepräge d. h. in jedem Röhrcben der sekundären Auswertungsreihen verläuft die Bakteriophagenreaktion so, daß ein und derselbe Endtiter (Lysinexponent 8) erreicht und nicht überschritten wird.

Diese Versuche wurden so oft wiederholt, daß über die Gesetzmäßigkeit der Resultate kein Zweifel obwalten kann. Die angewendete Temperatur betrug stets 37° (Thermostat!); ob auch bei Zimmertemperatur oder noch niedrigeren Wärmegraden ein konstanter Endtiter erzielt wird und ob derselbe mit dem bei 37° beobachteten identisch ist, konnte vorläufig noch nicht geprüft werden. Auch sei ausdrücklich hervorgehoben, daß nur mit einer Colirasse („Coli sensibel“) und einem Bakteriophagenstamm (Colibakteriophage von Bordet) gearbeitet wurde¹⁾, so daß der Geltungsbereich des Gesetzes für andere Bakterien-Bakteriophagenkombinationen erst abgesteckt werden muß. Wohl aber haben wir uns überzeugt, daß die Menge der Bakterienaussaat innerhalb gewisser, ziemlich weiter Grenzen irrelevant ist.

Versuch.

Von einer Bakteriophagenbouillon wurden drei identische Verdünnungsreihen im Verhältnis von 1:9 angelegt. Die erste diente zur Feststellung des Titers nach Appelmans und Werthemann und wurde in der gewöhnlichen Weise mit einer Öse einer 16stündigen Colibouillonkultur beimpft. In jedes Röhrcben der zweiten Reihe kam etwa ein Hundertstel dieser Bakterienmenge, in jede Eprouvette der dritten das Hundertfache (also 100 Ösen). Die Bakterieneinsaat verhielten sich somit wie 100:1:10 000.

In allen drei Reihen war das 10. Röhrcben nach völligem Ablauf der Reaktion klar, das 11. durch Bakterienwachstum stark getrübt. Der Lysinexponent belief sich also in allen drei Fällen auf 8.

¹⁾ Später konnten aber doch noch zahlreiche Experimente mit einem Shigastamme („Dysenterie Lauda“) und einem zugehörigen lytischen Prinzip, das uns Prof. Bail in liebenswürdigster Weise überlassen hatte, ausgeführt und zum Teil im Texte der vorliegenden Mitteilung berücksichtigt werden. Es ergab sich, daß sowohl die Angaben von Doerr und Grüniger als auch die hier beschriebenen Beobachtungen auch für die Bakteriophagenreaktionen der Shigabakterien richtig sind, was bei den großen biologischen Differenzen, die zwischen diesen unbeweglichen Toxinbildnern und den typischen Colirassen bestehen, für die allgemeine Gültigkeit der erzielten Resultate und der daraus deduzierten Schlüsse spricht.

Es wurde nun das 2. und das 10. Röhrechen der zweiten und dritten Reihe in der gewöhnlichen Art austitriert und auch hierbei immer wieder derselbe Lysin-titer ($e_L = 8$) ermittelt.

Sieht man von den provisorischen, durch die Variationsbreite der Versuchsbedingungen gegebenen und zum Teil bereits erwähnten Einschränkungen ab, so würde das aus diesen Beobachtungen ableitbare Gesetz in folgender Art formulierbar sein:

Die terminale Konzentration, welche das lytische Prinzip im Verlaufe einer Bakteriophagenreaktion erreicht, ist eine konstante, von der Ausgangskonzentration unabhängige Größe. Sie ändert ihren Wert nicht, wenn man die zu Beginn der Reaktion vorhandene Menge lebender und für das Lysin empfindlicher Bakterien in weiten Grenzen variiert (etwa zwischen 100 und 1 000 000 lebender Keime im Kubikzentimeter des Reaktionsvolums).

Lassen wir den zweiten Satz zunächst beiseite und überlegen wir die Tragweite des so eigentümlichen Verhältnisses der initialen zur terminalen Lysinkonzentration. Es leuchtet wohl sofort ein, daß die Unabhängigkeit der terminalen von der initialen Lysinkonzentration nur unter der Voraussetzung denkbar ist, daß sich das Reaktionsgeschehen oder der Reaktionsablauf je nach der initialen Lysinkonzentration ändert. In jeder Eprouvette einer Auswertungsreihe, wie sie beispielsweise in Tab. I wiedergegeben ist, spielt sich nach der Beimpfung mit empfindlichen Bakterien ein anderer Prozeß ab; sonst könnte ja die Lysinkonzentration im ersten Röhrechen nicht die gleiche bleiben, während sie im zehnten Röhrechen um das Milliardenfache anwächst. Worin bestehen aber die Differenzen?

Es war zu vermuten, daß die postulierten Unterschiede des Reaktionsablaufes wenigstens zum Teil manifest werden würden, wenn man die von Doerr und Grüninger benutzte Versuchsanordnung auch hier zur Anwendung bringen und in regelmäßigen Zeitintervallen die Zahl der lebenden Keime in der Volumeinheit des Reaktionsmilieus sowie die jeweilige Bakteriophagenkonzentration bestimmen würde.

Für den vorliegenden Zweck war es natürlich notwendig, alle Versuchsbedingungen möglichst gleich zu halten und der Fragestellung entsprechend lediglich die initiale Lysinkonzentration innerhalb der äußersten Grenzen (zwischen den Lysinexponenten -8 resp. -9 und $+1$) zu variieren. Die Analysen des Reaktionsablaufes, welche Doerr und Grüninger durchgeführt haben, betreffen durchwegs Fälle, in welchen der initiale Lysintiter ein sehr niedriger war. Der Lysinexponent betrug im Beginne ihrer Versuche 0 , -1 oder -2 , Werte, welche den Röhrechen $7-9$ der Tab. I korrespondieren; die konzentrierten Lysinbouillons, welche, wie erwähnt, meist den Lysinexponenten 8 besitzen, waren also im Verhältnis von $1 : 10^{-6} - 10^{-8}$ verdünnt worden.

Dieses Vorgehen war die selbstverständliche Konsequenz des Umstandes, daß *Doerr* und *Grüninger* über die Vermehrung des bakterio-phagen Prinzips und ihre Relation zum Bakterienwachstum Aufschluß zu erhalten wünschten; versuchstechnisch schien es daher zwecks *Erzielung großer Ausschläge* rationell, von *sehr stark diluierten Lysinlösungen* auszugehen und ihre Umwandlung in hochkonzentrierte zu verfolgen. Infolgedessen gelten aber auch die Resultate, über welche *Doerr* und *Grüninger* berichten und die sich in den beiden Kurven der Abb. 1 widerspiegeln, zunächst nur für niedrige initiale Lysinlösungen und bedürfen einer *Ergänzung, welche den Reaktionsablauf für maximale, hohe und mittlere initiale Lysintiter* festsetzt; die genannten Autoren haben selbst darauf hingewiesen und die Bedeutung der offen gelassenen Lücke richtig eingeschätzt.

Dem Gesagten zufolge lag somit die Aufgabe vor, den Reaktionsablauf mit quantitativer Methodik für jene Fälle zu studieren, welche durch die Röhren 1–6 der Tab. I dargestellt werden. Aus ökonomischen Gründen beschränkte ich mich auf eine Auswahl und untersuchte nur vier besonders interessante Varianten, nämlich:

1. die Bakterieneinsaat in maximal konzentrierte Bakteriophagenbouillon,
2. die Einsaat in eine Verdünnung von 1 : 100,
3. die Einsaat in eine Verdünnung von 1 : 10 000 und
4. die Einsaat in eine maximal verdünnte Bakteriophagenbouillon, d. h. also jene Fälle, welche den Röhren 1, 3, 5 und 10 der Tab. I gleichwertig waren. Tatsächlich wurde hiermit, wie noch gezeigt werden soll, das Auslaugen gefunden, indem sich alle nicht geprüften Zwischenwerte zwanglos in die Reihe der untersuchten Fälle interpolieren lassen.

Der erste Versuch bezog sich — wie betont — auf das *Verhalten der in maximal konzentrierte Bakteriophagenbouillon eingesäten Bakterien*.

Versuch.

In einen Kolben mit 200 ccm Bouillon ($p_H = 7,3$), der im Wasserbad steht (37°), wird eine Spur konzentriertes Lysin ($e_L = 8$) und 1 Öse 16stündiger Colibouillonkultur eingetragen. Nach 12 Stunden ist die Bouillon klar und der Kolben wird nun *1 Std. auf 57° (behufs Abtötung überlebender Bakterien) erhitzt*; sein Inhalt erweist sich als steril und *ergibt bei einer als Vorversuch angestellten Titration den Lysinexponenten 8*.

Nun wird dem Kolben eine bestimmte Menge einer 16stündigen Colibouillonkultur zugesetzt (ca. 3 Ösen), nachdem vorher der Inhalt durch Einstellen ins Wasserbad auf 37° vorgewärmt worden war. Die Probeentnahmen erfolgen nach 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 360 Minuten und nach 20 Stunden; das Material wird verwendet zum Gießen von Gelatineplatten (mit je 0,1 ccm) und zur Bestimmung des Lysintiters nach *Appelmans* und *Werthemann*. Die Ergebnisse zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle II.

Abgelaufene Zeit	Lysinexponent	Keimzahl pro cem
0 Minuten	8	250 000
30 ..	7	110 000
60 ..	—	90 000
90 ..	8	34 000
120 ..	—	4 000
150 ..	—	2 700
180 ..	8	2 500
210 ..	—	10 000
240 ..	7	25 000
300 ..	—	110 000
360 ..	8	2 000 000
20 Stunden	7	∞

Eine graphische Darstellung mit Beibehaltung der dimensionalcn Verhältnisse der Abb. 1 ergab das aus Abb. 2 zu entnehmende Bild.

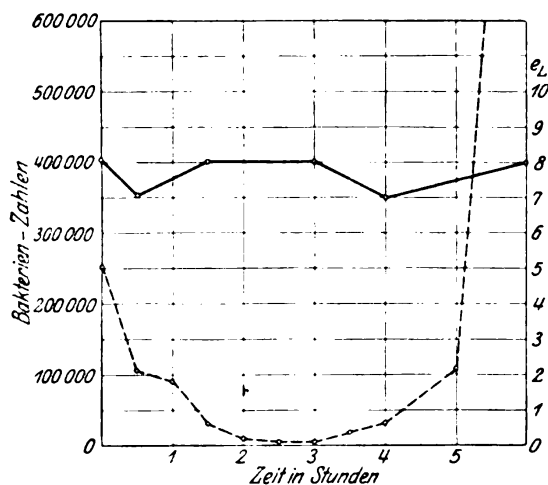


Abb. 2.

Abb. 2. Verhalten des Lysintiters und der Keimzahlen bei Einsaat der empfindlichen Bakterien in eine Bouillon von maximaler Lysinkonzentration ($e_L = 8$). Die ausgezogene Linie verbindet die zu verschiedenen Zeiten ermittelten Werte für die Lysinexponenten, die gestrichelte die Zahlen der in der Volumeneinheit des Reaktionsmilieus (im Kubikzentimeter) vorhandenen lebenden Keime. Die auf der Abszissenachse aufgetragenen Maßeinheiten entsprechen Stunden.

In einem zweiten, ganz analogen Versuch wurde eine *wesentlich geringere Menge lebender Colibakterien* in die konzentrierte Lysinbouillon eingesät, ohne daß sich an dem Gang der Ereignisse eine prinzipiell bedeutsame Änderung konstatieren ließ. Die Zusammenstellung der beobachteten Werte ergab die Tab. III.

Tabelle III.

Abgelaufene Zeit	Lysinexponent	Keimzahl pro cem
0 Minuten	8	3 000
30 ..	7	400
60 ..	8	30
90 ..	8	20
120 ..	—	250
300 ..	8	80 000
480 ..	8	2 500 000

Schließlich variierten wir die Anordnung eines dritten, sonst gleichartigen Experimentes noch in der Richtung, daß wir die Bakterien in eine konzentrierte Lysinbouillon brachten, welche von Haus aus sicher steril war (geprüft durch Aussaat auf Nährgelatine); dadurch entfiel die Notwendigkeit des vorausgehenden Erhitzens auf 57°, welches möglicherweise einen Einfluß auf den Ablauf der später eingeleiteten Bakteriophagenreaktion besitzen konnte. Die Lysinbouillon hatte den Exponenten 9, enthielt somit das Lysin tatsächlich in der höchsten, beim Stamm „Coli sensibel“ festgestellten Konzentration. In diesem Versuche wurden ferner die Keimzahlen nicht durch Aussaat von 0,1 ccm der entnommenen Proben bestimmt, sondern Gelatine-zählplatten mit nur 0,001 ccm, also mit dem hundertsten Teile des sonst benutzten Bouillonquantums, angefertigt. Es hatte sich nämlich bei genauerer Analyse der antibakteriophagen Wirkung von Gelatine und anderen Kolloiden gezeigt, daß die Koloniezahlen (auf den Kubikzentimeter Bouillon berechnet) wachsen, je kleiner die mit der Gelatine vermengten Bouillonvolumina sind, und zwar in um so stärkerem Maße, je mehr Lysin die auf ihren Keimgehalt geprüfte Bouillon enthält. Offenbar verhindert ein allzu hoher Lysingehalt der Gelatineplatten die Vermehrung von Keimen, die schon leicht geschädigt, aber in lysinarmer Gelatine noch immer gut entwicklungsfähig sind. Diesem Umstande wurde eben Rechnung getragen, indem die ausgesäten Bouillonquanten nicht mehr als 0,001 ccm betragen. Hervorgehoben sei endlich, daß der Titration des Lysins bei jeder Bouillonprobe eine 45 Minuten lange Erhitzung auf 57° vorausgeschickt wurde, so daß eine Fälschung der Titrationsresultate durch die Intervention lysinogener Keime nicht zu befürchten war. Trotz aller aufgezählten Kautelen nahm aber die Bakteriophagenreaktion den gleichen Verlauf wie in den zwei voranstehenden Versuchsreihen. Tab. IV gibt darüber Aufschluß.

Tabelle IV.

Abgelaufene Zeit	Lysinexponent	Keimzahl pro ccm
0 Minuten	9	282 000
10 „	9	190 000
30 „	8	130 000
60 „	8	60 000
90 „	8	28 000
120 „	8	6 000
150 „	9	4 000
180 „	9	1 000
210 „	9	1 000
240 „	8	1 000
300 „	8	1 000
360 „	9	5 000
510 „	8	110 000

Vergleicht man Abb. 1 mit Abb. 2, so fällt sofort der *gänzlich geänderte Reaktionstypus* in die Augen. In Worten ausgedrückt zeigt der Reaktionsablauf für den Fall der Bakterieneinsaat in maximal konzentrierte Lysinbouillon folgende Eigenschaften:

1. *Der Lysintiter hält sich während der ganzen Reaktionszeit auf gleicher Höhe unabhängig von den Absterbe- und Vermehrungsprozessen der Mikroben.* Die Absenkungen, welche das Lysinniveau scheinbar von Zeit zu Zeit erfährt, sind relativ unbedeutend, inkonstant und unregelmäßig (ohne erkennbares Zeitgesetz) über das Beobachtungsintervall verteilt und daher aller Wahrscheinlichkeit nach nur durch die Unvollkommenheiten in der Bestimmungsmethode des Lysintiters verursacht.

2. *Die Zahl der lebenden Bakterien im Kubikzentimeter nimmt vom Augenblicke der Einsaat an ab bis zum Ende der 2. bis 3. Stunde.* Das Tempo dieser Abnahme ist zunächst ein sehr rasches, verlangsamt sich aber allmählich, so daß eine Parabel als graphischer Ausdruck des Vorganges resultiert, welche schließlich mit ihrem horizontalen Ast der Abszissenachse stark angenähert ist und mit derselben annähernd parallel verläuft. An die erste Periode der *Bakterienabnahme* schließt sich in diesem Falle eine zweite Phase des *konstanten niedrigen Bakterienniveaus*. Die Kurve kann aber auch die Abszissenachse schneiden und endigt dann selbstverständlich in diesem Schnittpunkte, wenn die Bakterienabnahme bis zur kompletten Sterilisation der Lysinbouillon fortschreitet. Wie oft dieses Ereignis bei Bakterieneinsaat in maximal konzentrierte Lysinbouillon eintritt und von welchen Umständen es abhängt, ob die Bakterienabnahme zum Untergang aller Mikroben führt oder nicht, vermögen wir auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen nicht sicher zu entscheiden.

3. *Bleibt die komplette Entkeimung des Reaktionsvolums aus, so beginnen sich die der Vernichtung ent schlüpften Keime wieder lebhaft zu vermehren. Die Keimzahlen steigen an, zunächst langsam, dann mit rapide wachsender Geschwindigkeit, obwohl der Lysintiter des Reaktionsmilieus seine Höhe einige Zeit beibehält.*

Betrachten wir nun vorerst den diametral entgegengesetzten Fall der Einsaat von Bakterien in *eine maximal verdünnte Lysinbouillon*. Dieser Fall ist dann gegeben, wenn die Bouillon im Versuchskolben den Exponenten $+1$ hat d. h. wenn eine bis zur kompletten Lyse fortschreitende Bakteriophagenreaktion in dieser Bouillon nur stattfinden kann, falls sie nicht weiter verdünnt, sondern direkt mit Bakterien beimpft wird; die Einstellung auf diese Grenzkonzentration ist nicht gerade leicht, aber gelingt doch immerhin auf Grund der angestellten Berechnungen mit Hilfe eines ausgewerteten Lysins so regelmäßig, daß darin ein Beweis für die Zuverlässigkeit der Titrimethode von

Appelmans und *Werthemann* erblickt werden darf. Der nachstehende Versuch wurde mit einem Shigastamm und einem Shigalysin angesetzt. Die Bestimmung der Keimzahlen erfolgte durch Gelatinezahlplatten; die mit der Gelatine jeweils vermengten Bouillonvolumina beliefen sich auf 0,01, in der zweiten Hälfte des Versuches auf 0,001 ccm; vor den Lysintitrationen wurden die entnommenen Proben durch 1stündiges Erhitzen auf 57° (im Wasserbade) entkeimt. Außer dem „Versuchskolben“ war ein „Kontrollkolben“ aufgestellt, welcher bloß Bouillon (ohne Lysin) enthielt und zur gleichen Zeit wie der Versuchskolben mit derselben Menge einer 16stündigen Shigabouillonkultur beimpft wurde. Die Tab. V läßt die Bakterienvermehrung in beiden Kolben und die Lysinzunahme im Versuchskolben erkennen.

Tabelle V.

Kontrollkolben:		Versuchskolben:	
Bakterien in ccm	Zeit	Bakterienzahl in ccm	Lysinexponent
340	0 Minuten	400	- 1
	120 ..	—	- 1
60 000	180 ..	90 000	- 2
900 000	240 ..	1 300 000	- 2
2 000 000	300 ..	2 400 000	- 4
3 800 000	330 ..	4 000 000	- 6
10 000 000	360 ..	400 000	- 8
—	390 ..	10 000	- 9
—	420 ..	0	- 10
64 000000	450 ..	0	- 9
—	570 ..		

Im allgemeinen stößt man also hier auf Verhältnisse, wie sie *Doerr* und *Grüniger* für niedrige initiale Lysinkonzentrationen beschrieben haben: die *Inkubation der Lysinzunahme*, die lange Zeit hindurch ungestörte *Bakterienvermehrung* (man vergleiche die Keimzahlen des Kontrollkolbens, welcher kein Lysin enthielt!), das *Einsetzen und rapide Fortschreiten der Bakterienauflösung nach dem Überschreiten eines bestimmten, etwa dem Lysinexponenten - 6 entsprechenden, Lysinpiegels* in der Kulturflüssigkeit, kurz alle von den genannten Autoren als wesentlich hervorgehobenen Momente sind scharf ausgeprägt. Nur lassen sich graduelle Unterschiede konstatieren, die, wie noch gezeigt werden wird, keineswegs als zufällig betrachtet werden können. Die Bakterienvermehrung hält nämlich, wenn man von der niedrigsten, noch wirksamen Lysinkonzentration ausgeht, viel länger (5¹/₂ Stunden) an, und die Bakterienzahlen pro Kubikzentimeter erreichen infolgedessen das Zehntausendfache der eingesäten Mengen und hohe absolute Werte (ca. 4 Millionen); bei der initialen Lysinkonzentration $e_L = - 1$ (die dem 100fachen der Konzentration $e_L = + 1$ entsprach) vermehrte

sich die Einsaatmenge nur um das 40fache, die maximale Bakterienzahl im Kubikzentimeter war schon in 3 Stunden erreicht und belief sich nur auf 600 000.

Es ist klar, daß zwischen den beiden eben analysierten Extremen des Reaktionsablaufes bei maximaler und minimaler Lysinkonzentration Übergänge existieren müssen. Dieselben werden zum Vorschein kommen, wenn man für die initiale Lysinkonzentration intermediäre Werte wählt. Denn von jeder beliebigen Anfangsverdünnung aus wird ja der terminale Wert $e_L = 8$ resp. 9 erreicht; es muß also notwendigerweise ein verschiedener Grad von Neuproduktion des Lysins nachweisbar sein, welcher so beschaffen ist, daß er gerade das jeweilige Manko auf die terminale Maximalkonzentration ergänzt. Um ein Bild von dem Reaktionsgeschehen in solchen Fällen zu erhalten, untersuchten wir, wie einleitend erwähnt, die initialen Konzentrationen $e_L = -4$ und $e_L = -6$.

Versuch.

200 ccm sterile Bouillon erhielten einen Zusatz von 0,02 ccm konzentrierten Lysins ($e_L = -8$). Die Verdünnung auf das 10 000fache mußte in der Bouillon einen Lysinexponenten von -4 ergeben; die Titration lieferte tatsächlich diesen Wert. Der die Bouillon enthaltende Erlenmeyerkolben wurde in ein Wasserbad von 37° eingestellt und nach vollzogenem Temperatúrausgleich mit 1 Öse einer 14stündigen Colibouillonkultur beimpft. Die entnommenen Proben wurden auf ihren Keimgehalt und auf ihre Lysinkonzentration geprüft.

Tabelle VI.

Abgelaufene Zeit	Lysinexponent	Keimzahl
0 Minuten	4	5 500
30 „	3	6 800
60 „	3	7 500
120 „	3	75 000
150 „	4	110 000
180 „	6	420 000
210 „	—	10 000
240 „	7	1 500
420 „	7	7 500
480 „	7	35 000
15 Stunden	—	1 200 000

Versuch.

200 ccm sterile Bouillon wurden mit 2,0 ccm konzentrierten Lysins ($e_L = -8$) versetzt; der Lysinexponent dieser 100fachen Verdünnung betrug -6 (berechnet und gemessen). Keimzählung mit Aussaatmengen von 0,001 ccm; Titerbestimmungen an den vorher durch einstündiges Erwärmen auf 57° entkeimten Proben. Sonst war die Versuchsanordnung dieselbe wie in den früheren Experimenten.

Tabelle VII.

Zeit	Lysinexponent	Keimzahl
0 Minuten	6	560 000
10 „	7	510 000
30 „	6	660 000
60 „	—	680 000
90 „	8	65 000
120 „	9	3 000
150 „	8	2 000
180 „	8	1 000
210 „	8	—
240 „	8	—
300 „	8	1 000
480 „	8	38 000
660 „	8	500 000
26 Stunden	8	∞

Die Vorgänge nach der Einsaat von Bakterien in eine mittlere Lysinkonzentration ($e_L = -4$), wie sie sich in der Tab. VI widerspiegeln, bieten nichts Bemerkenswertes; sie weichen nicht vom Reaktionstypus ab, den *Doerr* und *Grüninger* für niedere Ausgangskonzentrationen beschrieben haben und der in Abb. I dargestellt ist.

Interessanter ist das Verhalten der beiden Reaktionskomponenten, wenn man die Bakterien in eine sehr hohe, aber nicht maximale Lysinkonzentration einträgt. Die Bakterien vermehren sich auch in diesem Falle, aber nur in bescheidenem Ausmaße; dann setzt die Lysinzunahme bis zum Maximum und ungefähr gleichzeitig der Bakterienzerfall ein; wie man aus Tab. VII entnehmen kann, schützt eine sehr hohe initiale Lysinkonzentration durchaus nicht vor der *Entstehung* einer „Sekundärkultur“.

Faßt man diese Resultate der Erhebungen über die Beeinflussung des Ablaufes der Bakteriophagenreaktion durch die initiale Lysinkonzentration zusammen, so wird es evident, daß sich de facto in jeder Konzentration andere Vorgänge abspielen, die sich aber in eine von zwei extremen Typen begrenzte Reihe einordnen lassen, deren Glieder durch fließende Übergänge miteinander verbunden sind.

Je niedriger die initiale Lysinkonzentration ist, desto stärker und desto längere Zeit müssen sich die Bakterien unter gleichzeitiger Zunahme des Lysins vermehren, bis der Zerfall, die Bakteriolyse beginnen kann. Das wird durch die Zusammenstellung einiger Werte, welche in den Versuchen ermittelt wurden, besonders deutlich:

Tabelle VIII.

Initialer Lysinexponent	Notwendige Zeit bis zum Eintritt der Bakteriophagie
+ 1	330—360 Minuten
0	240—270 „
— 4	180—210 „
— 6	60—90 „
— 8 (maximal)	0 „

Sät man die Bakterien in eine *maximale* Lysinkonzentration ein, *dann* *beginnt sofort der Zerfall*; die *Bakterienvermehrung bleibt ganz aus, mit ihr aber auch eine weitere Zunahme der Lysinkonzentration*. Damit ist zunächst eine Erklärung¹⁾ gegeben, warum der Lysintiter einer Bouillon unter bestimmten Verhältnissen und bei Verwendung desselben Bakterienstammes und des gleichen Lysins nie über einen bestimmten Wert hinauswachsen kann; sobald eben dieser Wert erreicht wird, zerfallen die Bakterien, und neuer Zusatz lebender Bakterien hat nur erneuten Zerfall zur Folge. Gleichzeitig aber bringen diese Beobachtungen erneutes Beweismaterial für die von *Bordet, Doerr, Bail* vertretene Hypothese, daß eine Lysinzunahme ohne Bakterienvermehrung nicht eintritt, und für die Behauptung von *Doerr* und *Grüninger*, daß sich das Lysin nicht aus dem einfachen Bakterienzerfall herleitet. Die Richtigkeit dieser letzteren Auffassung tritt eben dann klarer hervor, wenn man den Zerfall allein betrachten kann; die Feststellung der Vermehrung durch Keimzählungen gibt weniger deutliche Anhaltspunkte, da die jeweilige Zahl entwicklungsfähiger Mikroben ein Produkt aus Wachstums- und Absterbeprozessen darstellt.

Der Grenzfall der Einsaat in eine maximale Lysinkonzentration widerlegt aber auch *d'Hérelles* Lehre, nach der wir in den Bakteriophagen endocelluläre Bakterienparasiten zu erblicken haben. Mit dieser Lehre ist das Ausbleiben der Lysinzunahme in diesem Grenzfall unvereinbar. Ebensowenig läßt sich von *d'Hérelles* Standpunkt die Erscheinung verständlich machen, daß die Bakterien im konzentrierten Lysin sofort zu zerfallen beginnen, in den Verdünnungen, auch wenn sie nicht sehr beträchtlich sind, dagegen nicht, sondern erst, nachdem durch Bakterienwachstum und Lysinproduktion die notwendige Bedingung der für die Lyse erforderlichen hohen Lysinkonzentration erfüllt ist. Die Lyse hängt sichtlich nicht vom Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines belebten, für die Bakterien infektiösen Mikroben ab, sondern ist die direkte Folge der Erreichung einer bestimmten Konzentration eines noch unbekanntes Stoffes in dem die Mikroben umpülenden Kulturmedium.

Darf man aus der Tatsache, daß sich die Zahl der in konzentrierte

¹⁾ Ob diese Erklärung tatsächlich für alle Fälle ausreicht, soll hier nicht diskutiert werden. Beobachtungen von *Doerr* und *Berger* sowie *Doerr* und *Zdaňsky* deuten darauf hin, daß die terminale Lysinkonzentration auch dann erreicht und nicht überschritten wird, *wenn die Bakterien am Leben bleiben*. Für die Lysinproduktion scheinen ganz analoge Verhältnisse wie für die **Reaktionsänderungen** zu bestehen, welche Bakterien in flüssigen Nährböden hervorrufen; auch hier wird eine terminale, für jede Bakterienspezies typische, von der Ausgangskonzentration der H-Ionen im Kulturmedium unabhängige H-Ionenkonzentration erreicht und schließlich beibehalten, obwohl der Stoffwechsel der Mikroben fortbesteht.

Lysinbouillon eingetragenen lebenden und empfindlichen Bakterien vom ersten Momente an beständig und unter Umständen bis zur Keimfreiheit des Reaktionsvolumens vermindert, schließen, daß die Mikroben wie durch ein Desinfiziums abgetötet und aufgelöst werden? Man fühlt sich versucht, diese Frage zu bejahen. Aber schon der Umstand, daß sich eine Bouillon mit niedrigem Lysintiter ebenso verhält wie eine normale d. h. wie eine lysinfreie, ist geeignet, Bedenken zu erwecken. Wenn maximale Lysinkonzentrationen auf die Bakterien direkt abtötend wirken, so würde man von niedrigeren Konzentrationen einen schwächeren mikrobiziden Effekt oder eine Entwicklungshemmung erwarten; das ist aber nicht der Fall.

Ferner ist noch folgendes zu bedenken. In den Versuchsanordnungen, deren sich *Doerr* und *Grüninger* sowie ich selbst bedienten, betrug die Temperatur der Nährbouillon 37°; bei diesem Wärmegrad ist aber der Stoffwechsel der Bakterien sehr lebhaft, die Lebensdauer der Zellindividuen kurz. Eine Abnahme der lebenden Bakterien wird somit auch dann festzustellen sein, wenn die konzentrierte Lysinbouillon zwar nicht im geringsten mikrobizid wirkt, wenn sie aber die Teilung der Bakterien verhindert; die Bakterienzellen werden dann altern und sterben, ohne Nachkommen zu hinterlassen, sie werden allmählich *aussterben*. Es soll keineswegs behauptet werden, daß sich die Dinge de facto so verhalten; dazu fehlt die experimentelle Basis, die vielleicht durch Variieren der Temperatur gewonnen werden könnte. Aber das ist vorderhand klar, daß die Reduktion der Keimzahlen in konzentriertem Lysin vieldeutig ist und durchaus nicht die Aussage erlaubt, daß das Lysin die Bakterien direkt angreift und vernichtet wie etwa Sublimat oder Carbonsäure. Die rasche Entstehung vollkommen resistenter und in maximalen Konzentrationen des keim-schädigenden Agens ungehemmt vermehrungsfähiger Bakterienrassen würde allerdings nicht unbedingt gegen diese Auffassung sprechen, da ähnliche Beobachtungen auch bei der Gewöhnung von Bakterien und Protozoen an Sublimat, Optochin usw. gemacht wurden (vgl. hierzu *Schnabel*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 96, Heft 3. 1922); aber die Herkunft des Lysins aus den Bakterien, die wohl heute von den meisten Autoren als gesichert betrachtet wird, macht es unwahrscheinlich, daß es sich um ein Protoplasmagift im üblichen Wortsinne handelt, und läßt eher vermuten, daß ein vielleicht auf chemisch-physikalischem Wege (durch Verflüssigung oder Spaltung der Membranlipide) wirksames Produkt des krankhaft veränderten Bakterienstoffwechsels vorliegt.

Was in dieser Mitteilung auf Grund von Messungen festgestellt wurde, läßt sich bei der Betrachtung mit freiem Auge andeutungsweise erkennen. Beimpft man die in Tab. I wiedergegebene Dilutions-

reihe mit gleichen Mengen junger, lebender und empfindlicher Coli-bakterien und bebrütet dann die ganze Serie der Eprouvetten bei 37°, so zeigen nicht alle Röhren das gleiche Verhalten. Die ersten drei bis vier bleiben klar, etwa vom fünften entstehen durch Bakterienwachstum Trübungen, welche sich um so später aufhellen und daher auch vor der Aufhellung um so intensiver werden, je niedriger die Ausgangskonzentration des Lysins war. Beobachtungen dieser Art hat bereits *d'Hérelle* ausführlich beschrieben und in der späteren Literatur kehren sie mehrfach wieder. Daß das verschiedene Verhalten des Trübungsgrades durch die differente Intensität der Bakterienvegetation verursacht werde, nahmen alle Beobachtungen an und in gewissem Sinne erscheint diese Annahme durch die hier veröffentlichten zahlenmäßigen Angaben bestätigt. Nur in einem Punkte weichen wir ab, insofern als wir in der jeweils vorhandenen Trübungsstärke keinen Maßstab für die Zahl der in diesem Zeitpunkte gerade *lebenden resp. entwicklungs-fähigen* Mikroben erblicken können. Das wäre offenbar dann der Fall, wenn die *eigentliche Auflösung, welche das Transparentwerden der Bouillon bedingt, die Bakterien in einem Stadium befallen würde, in welchem sie noch leben und vermehrungsfähig sind*. Offenbar ist aber die Lyse *sekundär* und betrifft nur Bakterien, welche bereits abgestorben oder doch wenigstens ihrer Entwicklungsfähigkeit beraubt sind, ein Sachverhalt, den auch *W. C. Davison* als den richtigen hinstellt. Wir sind zu dieser Auffassung nicht nur auf Grund der Erwägungen von *Doerr* gelangt, sondern auch dadurch, daß sich Differenzen ergaben, wenn wir den Keimgehalt von Bouillon, in welchen eine Bakteriophagenreaktion ablief, fortlaufend durch das Gelatineplattenverfahren einerseits und durch makroskopische oder nephelometrische Schätzung der Suspensionsdichte andererseits zu bestimmen versuchten. Ein solches Beispiel möge an dieser Stelle Platz finden.

Versuch.

200-ccm-Bouillonkolben mit geringem Lysingehalt ($e_1 = 1$). Wasserbad von 37°. — Einsaat einer Öse 16stündiger Bouillonkultur von „Coli sensibel“. Probeentnahmen a) zwecks Zählung der entwicklungs-fähigen Keime im Gelatineplattenverfahren, b) zwecks Ermittlung des Lysintiters, c) zwecks makroskopischer Beurteilung des Trübungsgrades. Die Ergebnisse enthält

Tabelle IX.

Abgelaufene Zeit	Lysinexponent	Keimzahl	Trübungsgrad
0 Minuten	1	660	klar
120 ..	1	—	„
150 ..	1	46 000	„
180 ..	3	96 000	„
210 ..	4	270 000	„
240 ..	6	675 000	„
270 ..	7	400	deutl. Trübung
300 ..	8	10	klar
360 ..	8	0	„

Nach 240 Minuten enthielt also die Bouillon 675 000 entwicklungs-fähige Keime im Kubikzentimeter und war makroskopisch klar, nach 270 Minuten waren nur mehr 400 Keime nachweisbar, aber das Nährmedium war stark getrübt und nach 270 Minuten war wieder Klärung eingetreten, obwohl die weitere Abnahme der *lebenden* Keime viel zu gering war, um für die Aufhellung irgendwie in Betracht zu kommen. Da es wohl als unwahrscheinlich bezeichnet werden kann, daß die nach 270 Minuten beobachtete Trübung gar nicht auf die Bakterien zurückzuführen ist, und da weiter zunächst keine Veranlassung vorliegt, für dieselbe nicht die Zahl, sondern einen besonderen Zustand der Bakterien verantwortlich zu machen, bleibt nur der Ausweg übrig, daß sich die Bakterien im Zeitraum von 30 Minuten sehr lebhaft vermehrt haben und daß die neugebildeten Exemplare bald nach ihrer Entstehung abgestorben sind, ohne aber sofort der die Wiederkehr der Transparenz bedingenden Lösung zu verfallen, die erst in der nächsten halben Stunde bis zum makroskopisch wahrnehmbaren Effekt fortschritt.

In diesen Beobachtungen der Inkongruenz zwischen der Zahl der lebenden Bakterien und der nephelometrisch bestimmaren Gesamtzahl der noch ungelösten Bakterienzellen (Beobachtungen, die in einer sehr großen Anzahl von Versuchen und unter allen Kautelen angestellt wurden) stecken die Ansätze zu neuen Möglichkeiten, in das Reaktionsgeschehen und damit in das Wesen der übertragbaren Lyse weitere Einblicke zu gewinnen.

Zusammenfassung.

1. Bei der Analyse der Reaktion zwischen bestimmten Bakteriophagenstämmen (Coli- und Shigabakteriophagen) und den für dieselben empfindlichen Bakterienrassen konnte festgestellt werden, daß, von geringfügigen Abweichungen abgesehen, stets dieselbe Endkonzentration des Lysins erreicht wurde.

2. Dieser terminale Lysintiter war von der Ausgangskonzentration des Lysins und bis zu einem gewissen Grade von der Menge der in das Reaktionsmilieu eingesäten Bakterien unabhängig.

3. Der Reaktionsablauf wird hingegen von der initialen Lysinkonzentration bestimmt.

4. In konzentrierter Lysinbouillon nimmt die Zahl der lebenden Bakterien vom Augenblicke der Einsaat an beständig ab; der Lysintiter bleibt aber unverändert. Der Bakterienzerfall kann also nicht die Quelle der Lysinzunahme sein.

5. In verdünnter Lysinbouillon vermehren sich die Bakterien nach einer von der Norm nicht abweichenden Inkubationsperiode und das Lysin nimmt (von den proliferierenden Bakterien abgeschieden) zu,

bis es genügend konzentriert wird, um den sub 4. beschriebenen Effekt der Lyse herbeizuführen.

6. Je stärker die Lysinbouillon verdünnt ist, desto ausgiebiger und anhaltender ist die Bakterienvermehrung und desto mehr Zeit verstreicht, bis die Bakterienauflösung einsetzt. Sie verläuft dann mit derselben Geschwindigkeit, wie in einer von Haus aus maximal konzentrierten Lysinbouillon, hat also wohl in beiden Fällen denselben Mechanismus.

7. Der Grad der Trübung einer Bouillon, in welcher sich eine Bakteriophagenreaktion vollzieht, entspricht nicht der Zahl der *lebenden* Bakterien. Aus der Art der Inkongruenz und gewissen Besonderheiten ihres zeitlichen Verhaltens scheint hervorzugehen, daß die Auflösung nicht primär die lebenden Zellen ergreift, sondern daß letztere zunächst absterben und erst sekundär unter Aufhellung der betreffenden Suspension zerfallen.

8. Diese Ergebnisse machen eine belebte Natur des bakteriophagen Agens unwahrscheinlich.

9. Das Lysin scheint, obwohl es bei entsprechender (maximaler) Konzentration direkt den Untergang der Bakterien verursacht, kein Protoplasmagift im Sinne der chemischen Desinfektionsmittel zu sein, sondern ein (vermutlich membranschädigender) Stoff, welchen der Stoffwechsel der Bakterien unter bestimmten Bedingungen in großen Mengen liefert.

Literaturverzeichnis.

Es sei hier verwiesen auf die Literaturangaben in der Arbeit von *H. Schlossberger*, Zentralbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. IV, H. 7, S. 401. 1922. — Die nachstehend angeführten Arbeiten sind in dem Verzeichnis von *Schlossberger* nicht enthalten: *Appelmans*, Quelques applications de la méthode de dosage du bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 9. 1922. — *Appelmans* und *J. Wagemans*, Bactériophages de diverses provenances. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 13. 1922. — *Arkwright*, Variation in bacteria in relation to agglutination by salts and specific sera. Proc. of the pathol. soc. Great Britain and Ireland **23**, 358. 1920. — *Bachmann, A.* und *L. Aquino*, Sur le bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 18. 1922. — *Bail, O.*, Elementarbakteriophagen des Shigabacillus. Wien. klin. Wochenschr. 1922, Nr. 35, S. 722, Nr. 36/37, S. 743, Nr. 38/39, S. 765. — *Bail, O.* und *T. Watanabe*, Versuche über spezifische Bakteriophagenwirkung. Wien. klin. Wochenschr. 1922, Nr. 16, S. 362. — *Becherich, A.* und *P. Hauduroy*, Au sujet du titrage du bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 165. 1922. — *Becherich, A.* und *P. Hauduroy*, Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 168. 1922. — *Becherich, A.* und *P. Hauduroy*, Au sujet de l'obtention du bactériophage par antagonisme microbien. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 15, S. 881. 1922. — *Bergstrand, H.*, On the supposed life-cycle of bacteria. Bull. of the John Hopkins hosp. **32**, Nr. 365, S. 234. 1921. — *Bergstrand, H.*, Sur la lyse microbienne transmissible. Cpt. rend.

des séances de la soc. de biol. **86**, H. 9. 1922. — *Bergstrand, H.*, Sur la variation des bactéries. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 9, S. 492. 1922. — *Bordet und Ciuca*, Sur la théorie du virus dans la lyse microbienne transmissible et les conditions de régénération du principe actif. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 5. 1922. — *Bordet und Ciuca*, Variations d'énergie du principe actif dans l'autolyse microbienne transmissible. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 24, S. 366. 1922. — *Botez, A.*, La-bactériolyse en série par le violet de méthyle. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **85**, Nr. 27, S. 585. 1921. — *Bruynoghe, R.* und *Appelmans*, La neutralisation des Bactériophages de provenance différente. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 21, S. 96. 1922. — *Bruynghe, R.* und *J. Maisin*, Essais de thérapeutique au moyen du bactériophage du staphylocoque. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **85**, Nr. 36. 1921. — *Bruynoghe, R.* und *J. Maisin*, La phagocytose du Bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, S. 292. 1922. — *Bruynoghe, R.* und *J. Maisin*, Au sujet de la réaction consécutive à l'injection du Bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 294. 1922. — *Bruynoghe, R.* und *J. Maisin*, Réponse à la note de M. M. Gratia et Jaumin relative aux réactions produites par l'injection de bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 13. 1922. — *Callow, B. R.*, Bacteriophage phenomena with *Staphylococcus aureus*. Journ. of infect. dis. **30**, Nr. 6. 1922. — *Combiesco*, Sur le phénomène de d'Hérelle. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 20, S. 17. 1922. — *Damade, R.*, Etude d'une épidémie de dysenterie bacillaire. Thèse Facult. Médecine de Bordeaux. 1919. — *Davison*, The application of bacteriolysants to the treatment of bacillary dysentery in children. Americ. journ. of dis. of childr. Chicago (in press). — *Davison*, Observations on the nature of bacteriolysants. Americ. journ. of dis. of childr. Chicago (in press). — *Doerr, R.*, Die Bakteriophagen (Phänomen von Twort und d'Hérelle). Klin. Wochenschr. 1922, H. 30 u. 31, S. 1489 u. 1537. — *Doerr, R.* und *W. Grüniger*, Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen von Bakterien und Bakteriophagen (übertragbarem Lysin) zur Galle. Schweiz. med. Wochenschr. 1922, Nr. 31, S. 761. — *Fabry*, Autolyse microbienne transmissible obtenue par antagonisme microbien. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 24, S. 369. 1922. — *Fletcher*, Capsulate mucoid forms of paratyphoid and dysentery bacilli. Journ. of the roy. army med. corps **34**, 219. 1920. — *Francon, F.* und *R. Marquézy, R.* Le phénomène de d'Hérelle: les faits, les interprétations, les applications. Bull. méd. 1922, Nr. 3, S. 33. — *Ganter und van der Reiz*, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **137**, 348. 1921. — *Gengou*, Contribution à l'étude des substances bactériolytiques des leucocytes. Bull. de l'acad. roy. de méd. de Belgique 1920, S. 993. — *Gengou*, Les substances bactériolytiques des leucocytes et leurs rapports avec l'alexine. Ann. de l'inst. Pasteur **35**, 497. 1921. — *Gratia, A.*, La lyse transmissible du staphylocoque. Sa production, ses applications thérapeutiques. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 276. 1922. — *Gratia, A.*, Twort-d'Hérelle phenomenon. II. Lysis and Microbic variation. Journ. of exp. med. **35**, 287. 1922. — *Gratia, A.* und *O. Jaumin*, Au sujet des réactions consécutives aux injections de principe lytique staphylococcique. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 519. 1922. — *Gratia, A.* und *O. Jaumin*, Réaction fixation de l'alexine et spécificité antigénique des principes lytiques. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 99. 1922. — *Gratia, A.* und *O. Jaumin*, Remarques apropos de la communication de M. M. Bruynoghe et Appelmans. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 99. 1922. — *Gratia, A.* und *de Namur*, Individualité des principes lytiques staphylococciques de provenances différentes. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 364. 1922. — *D'Hérelle, F.*, Sur la culture du microbe bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **83**, 52. 1920. — *D'Hérelle, F.*

Sur les antilyssines d'origine bactérienne. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 7 1922 — *D'Hérelle, F.*, Sur la présence du bactériophage dans les leucocytes. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 9. 1922. — *D'Hérelle, F.*, Sur la prétendue production d'un principe lytique sous l'influence d'un antagonisme microbien. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 12 1922. — *D'Hérelle, F.*, Sur une cause d'erreur pouvant intervenir dans l'étude du bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 27. 1922. — *Jaumain und Meulemann*, Absorption du principe lytique par les microbes tués. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, H. 24. 1922. — *Kruif, P. H. de*, Dissociation of Microbic. species. Journ. of exp. med. I. **33**, 773. 1921; II., III., IV., **29**, 34, 37 u. 38. 1921. — *Lisbonne, M. und L. Carrère*, Antagonisme microbien et lyse transmissible du bacille de Shiga. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 11. 1922. — *Maymone, B.*, Biological variation of *B. shigae* observed during an epidemic of bac. dys. Ann. d'ig. **29**, 653. 1919. — *Metalnikow, S.*, Dysentérique et bactériophage de d'Hérelle chez les génénilles de *Galleria mellonella*. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **83**, 676. 1920. — *de Necker*, De l'influence de la chaleur sur le principe bactériophage. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, H. 13. 1922. — *Nicolle, M.*, Action du *Bacillus subtilis* sur diverses bactéries. Ann. de l'inst. Pasteur **21**, 613. 1907. — *Oliviero*, Diskussion zum Vortrag von Philibert. Rev. de pathol. comparée 1921, Nr. 192, S. 16. — *Orticoni*, Diskussion zum Vortrag von Philibert. Rev. de pathol. comparée 1921, Nr. 192, S. 17. — *Otto und Winkler*, Über die Natur des d'Hérelleschen Bakteriophagen. Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 12, S. 383. — *Pfreimbter, Sell, Pistorius*, Eine neue Methodik zum Nachweis des „d'Hérelleschen Virus“. Münch. med. Wochenschrift 1922, Nr. 14, S. 495. — *Philibert, A.*, Le principe bactériophage (phénomène de d'Hérelle). Rev. de pathol. comparée 1921, Nr. 192, S. 1. — *Pico (C.-E.)*, Sur la nature du principe bactériophage de Twort-d'Hérelle. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 1106. 1922. — *Pico (C.-E.)*, Le principe lytique est-il contenu dans les bactéries? Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 687. 1922. — *Pico (C.-E.)*, Précédents historiques sur la lyse microbienne transmissible. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 685. 1922. — *Pinoy*, Dictyostelium mucoroides und *Bac. fluorescens*. Ann. de l'inst. Pasteur **21**, 628. 1907. — *Pinoy*, Sur les myxobactéries. Ann. de l'inst. Pasteur **35**, 486. 1921. — *Piorkowsky, G.*, Beitrag zur Streptokokkenfrage. Anwendung des d'Hérelleschen Phänomens auf Streptokokken. Med. Klinik 1922, Nr. 15, S. 474. — *Prausnitz, K.*, Über die Natur des d'Hérelleschen Phänomens. Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 33, S. 1639. — *Rhodes, B.*, The phenomenon of bacteriophage. Journ. of laborat. a. clin. med. **7**, 288. 1922. — *Saldanha, A.*, Phénomène de d'Hérelle. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, Nr. 11. 1922. — *Seiffert, W.*, Das d'Hérellesche Phänomen. Med. Klinik 1922, Nr. 31, 33, 34. — *Wassermann, A. v. und M. Ficker*, Über die Rolle von Aktivatoren bei der Bildung von giftigen Spaltprodukten im Darminhalt. Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 23, S. 1159. — *Watanabe, T.*, Über die Natur des bakteriophagen Virus. Wien. klin. Wochenschr. 1922, Nr. 3, S. 53. — *Watanabe, T.*, Über die Wirkung von Styphykokkenbakteriophagen. Wien. klin. Wochenschr. 1922, Nr. 27, S. 603. — *Weinberg, M. und P. Aznar*, Autobactériolyse et le phénomène de d'Hérelle. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 833. 1922. — *Weinberg, M. und P. Aznar*, Quelques faits nouveaux sur les autobactériolyses. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 136. 1922. — *Werthemann, A.*, Über das Verhalten der Lysine (Bakteriophagen) in der Zirkulation von Warm- und Kaltblütern. Arch. f. Hyg. 1922. (Im Druck.) — *Zingher, A.*, The bacteriophage reaction of d'Hérelle. Proc. of the New York pathol. soc. (U. S. A.) **21**, Nr. 1/5, S. 2. 1921. — Abgeschlossen am 15. X. 1922.

(Aus dem Hygienischen Institut der Königl. ungar. Universität in Budapest.)

Über Resistenzänderungen der roten Blutkörperchen bei physischer Arbeit.

Von

L. v. Liebermann und D. Acél.

Aus diesem Institut publizierte Versuche von *D. Acél*¹⁾ über die Resistenz der roten Blutkörperchen bei Stickstoffdefizit und bei der Inanition haben ergeben, daß die Erythrocyten bei Inanition gegen hypotonische Salzlösungen nach einer schnell vorübergehenden nicht immer auffallend in Erscheinung tretenden *Resistenzverminderung* eine *beträchtliche Resistenzhöhung* erleiden, die bis zum Tode der Versuchstiere ansteigt.

Eine Erklärung dieser Erscheinung wäre die, daß da im Hungerzustand die eigene Körpersubstanz angegriffen und zerstört wird, auch die roten Blutkörperchen davon betroffen werden und zwar zunächst die von vornherein minder resistenten.

Es blieben dann nur die resistenteren übrig, was also in der beobachteten allgemeinen Resistenzhöhung der Erythrocyten zum Ausdruck kommt.

Überlegt man sich nun, was bei *physischer Arbeit* im Organismus vorgeht, so kommt man zum Schluß, daß die Steigerung des Stoffwechsels (wenn während der Arbeit keine Nahrungszufuhr stattfindet), zunächst auf Kosten des vorhandenen Nahrungsvorrats geschieht, daß aber bei dessen rascherem Verbrauch, wie ein solcher bei angestrenzter, bis zur Ermüdung oder Erschöpfung führender Arbeit angenommen werden kann, auch die eigene, organisierte Körpersubstanz angegriffen, d. h. ein Zustand geschaffen wird, welcher der Inanition ähnlich ist.

Wir hatten uns also die Frage vorgelegt, ob auch nach angestrenzter Arbeit, gleichwie in der Inanition, anfangs eine Verminderung, dann eine Erhöhung der Erythrocytenresistenz nachzuweisen ist?

Die im folgenden mitgeteilten Versuche haben die Frage im bejahenden Sinne entschieden, so, daß wir in diesen Resistenzänderungen ein objektives Merkmal der Ermüdung nach angestrenzter physischer Arbeit besitzen gleichviel, ob der Gedankengang, der uns zu diesen Ver-

¹⁾ Biochem. Zeitschr. **95**, 211. 1919.

suchen veranlaßte, der richtige war, oder ob nicht vielmehr andere Umstände — Bildung gewisser auf die Erythrocyten wirkenden Stoffwechselprodukte — eine größere Rolle spielen. Wir verweisen diesbezüglich auf unsere Bemerkungen am Schlusse dieser Mitteilung.

Vor Beginn des Versuches wurden die verwendeten Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) einige Tage in Käfigen gehalten und bekamen zweimal täglich ihre gewohnte reichliche Nahrung (Hafer und frisches Grünfutter). Vor dem Versuche wurde die Resistenz der roten Blutkörperchen der Versuchstiere festgestellt. Für den Versuch brachten wir die Tiere in eine Tretmühle, in der zwei Walzen eine endlose Leinwandrolle bewegten. Die Tiere wurden hier durch die sich andauernd bewegende Leinwandrolle zur Bewegung gezwungen. Die Kaninchen machten mehr springende, die Meerschweinchen dagegen laufende Bewegungen. Die Leinwandrolle wurde solange in Bewegung gehalten, so lange es die Tiere ertragen konnten. Bei eintretender Erschöpfung legten sie sich auf die Leinwand und ließen sich weder von der sich weiter bewegenden Unterlage beeinflussen, noch davon, daß letztere sie an die Wand des Apparates schleuderte. In diesem Erschöpfungszustand wurde die Resistenz der roten Blutkörperchen bestimmt, die Tiere darauf in die Tretmühle zurückgesetzt und versucht, ob der Versuch mit ihnen fortzusetzen war. In einigen Fällen gelang die Fortsetzung, in den meisten nicht. Nach dem Versuche kamen die Tiere, um auszu-ruhen, zurück in ihre Käfige. Die Resistenz der roten Blutkörperchen wurde auch während der Ruhezeit in verschiedenen Zeitabständen bestimmt. Zur Untersuchung verwandten wir die *Liebermannsche Methode*¹⁾, mittels derer das am Hämoglobingehalte gemessene Verhältnis der Masse der roten Blutkörperchen bestimmt wird, die sich in einem bestimmten Zeitraum in einer hypertonen Kochsalzlösung von bestimmter Konzentration löst, zu jener, die unter denselben Verhältnissen ungelöst bleibt. Dieses Verhältnis wird entweder in Form einer Quotienten (R.Q. Resistenzquotient), oder so ausgedrückt, daß man angibt, wie viel Prozente der gesamten Masse der Erythrocyten ungelöst, d. h. resistent geblieben ist. Wir haben der Übersichtlichkeit wegen das letztere gewählt.

Die Resistenz der roten Blutkörperchen wurde parallel in Salzlösungen von zweierlei Konzentration festgestellt. Für Kaninchenblut verwendeten wir 0,5 und 0,45 proz. Kochsalzlösungen. Bei den Meerschweinchen verwendeten wir bei einigen 0,45 und 0,4 proz., bei anderen 0,43 und 0,4 proz. Kochsalzlösung.

Es ist von sehr großer Bedeutung für den Versuch, daß die Tiere während desselben unter vollkommen gleichen äußeren Verhältnissen

¹⁾ L. v. Liebermann, Resistenzänderungen der roten Blutkörperchen. Biol. Zentralbl. 32, Nr. 12. Dtsch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 10.

gehalten werden. Besondere Sorgfalt soll ihrer guten und pünktlich eingehaltenen Nahrungszufuhr zugewendet werden. Wir haben beobachtet, daß schon die kleinste Abweichung von der gewohnten Nahrungsordnung Veränderungen in der Resistenz der roten Blutkörperchen hervorrufen kann, besonders wenn man die Zeit der Fütterung ändert und so das Tier während der gewohnten Zeit des Essens, wenn auch nur kurze Zeit hungert.

Die mit *Kaninchen* und *Meerschweinchen* erhaltenen Resultate sind in nachstehender Tabelle zusammengefaßt. Einige Versuche an *Menschen* folgen weiter unten.

	0,5% NaCl Lös. Resistenz in %	0,45% NaCl Lös. Resistenz in %
<i>Kaninchen Nr. I</i> (Gewicht: 1700 g).		
48 Stunden vor der Arbeit	53,91	8,2
Unmittelbar vor der Arbeit	61,03	6,9
Nach 4 Minuten Arbeit	20,00	9,9
Nach weiteren 3 Minuten Arbeit	23,48	5,66
1½ Stunden nach der Arbeit	80,00	8,2
7½ " " " "	91,66	43,18
29 " " " "	55,5	10,56
50 " " " "	45,44	14,24
78 " " " "	66,6	5,18
90 " " " "	68,3	8,2
<i>Kaninchen Nr. II</i> (Gewicht: 2120 g).		
24 Stunden vor der Arbeit	68,0	22,17
Unmittelbar vor der Arbeit	75,0	16,6
Nach 5 Minuten Arbeit	18,03	6,28
Nach weiteren 1½ Minuten Arbeit	18,03	7,06
1½ Stunden nach der Arbeit	40,2	18,03
8 " " " "	73,3	33,33
26 " " " "	77,7	31,5
48 " " " "	64,2	13,8
<i>Meerschweinchen Nr. 1</i> (Gewicht: 800 g).		
24 Stunden vor der Arbeit	16,6	11,1
Unmittelbar vor der Arbeit	18,03	5,83
Nach 16 Minuten Arbeit	11,1	7,4
Nach weiteren 16 Minuten Arbeit	73,3	18,03
1½ Stunden nach der Arbeit	77,7	7,4
8 " " " "	66,1	6,5
26 " " " "	26,63	8,2
48 " " " "	28,5	5,21
72 " " " "	37,5	5,66
<i>Meerschweinchen Nr. 2</i> (Gewicht: 600 g).		
Vor der Arbeit	47,36	0
Nach 10 Minuten Arbeit	38,46	0
1½ Stunden nach der Arbeit	47,36	0
7 " " " "	72,97	0
22 " " " "	72,2	16,6
48 " " " "	53,48	0
72 " " " "	56,52	0
4 Tage " " " "	66,65	0

	0,45% NaCl Lös. Resistenz in %	0,4% NaCl Lös. Resistenz in %
<i>Meerschweinchen Nr. 3 (Gewicht: 600 g).</i>		
Vor der Arbeit	64,28	0
Nach 8 Minuten Arbeit	29,07	0
1 Stunde nach der Arbeit	54,5	0
9 Stunden „ „ „	83,3	0
21 „ „ „ „	64,28	0
2 Tage „ „ „	70,58	0
5 „ „ „ „	68,35	0
<i>Meerschweinchen Nr. 4 (Gewicht: 435 g).</i>		
Vor der Arbeit	92,3	0
Nach 12 Minuten Arbeit	18,16	0
1 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Arbeit	80,0	13,28
8 „ „ „ „	93,7	13,2
32 „ „ „ „	94,1	80,0
2 Tage „ „ „	93,1	33,3
4 „ „ „ „	91,66	24,81
6 „ „ „ „	88,88	6,54
11 „ „ „ „	87,8	0
15 „ „ „ „	92,3	0
<i>Meerschweinchen Nr. 5 (Gewicht: 400 g).</i>		
Vor der Arbeit	71,42	0
Nach 10 Minuten Arbeit	27,28	0
1 Stunde nach der Arbeit	54,54	0
7 Stunden „ „ „	84,2	11,73
32 „ „ „ „	66,6	0
3 Tage „ „ „	54,54	0
5 „ „ „ „	80,0	0
10 „ „ „ „	75,0	0
14 „ „ „ „	83,3	0
<i>Meerschweinchen Nr. 6 (Gewicht: 450 g).</i>		
Vor der Arbeit	47,3	0
Nach 5 Minuten Arbeit	18,03	0
Nach weiteren 5 Minuten Arbeit	33,33	0
1 Stunden nach der Arbeit	54,54	0
7 „ „ „ „	88,8	54,54
32 „ „ „ „	57,8	13,78
3 Tage „ „ „	61,53	0
8 „ „ „ „	64,2	0
12 „ „ „ „	66,6	0
<i>Meerschweinchen Nr. 7 (Gewicht: 435 g).</i>		
Vor der Arbeit	62,96	9,9
Nach 8 Minuten Arbeit	21,87	0
Nach weiteren 6 Minuten Arbeit	28,57	0
1 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Arbeit	77,7	18,03
7 „ „ „ „	83,3	50,0
2 Tage „ „ „	83,3	64,2
4 „ „ „ „	69,76	0
8 „ „ „ „	63,63	0

Zuerst von den Salzlösungen größerer Konzentration ausgehend, konnte folgendes Versuchsergebnis festgestellt werden:

Während der Arbeit und gleich nach dieser nimmt die Resistenz der roten Blutkörperchen stark ab, um nach 1—1½ Stunden wieder zu steigen (z. B. Kaninchen II, Meerschweinchen 2, 3, 4, 5). Es kann auch vorkommen, besonders bei lange andauernder Arbeit, daß die Resistenzverminderung der roten Blutkörperchen schon während der Arbeit wieder von einer Steigerung abgelöst wird (z. B. Kaninchen I, Meerschweinchen 1, 6, 7). Die Resistenzhöhung der roten Blutkörperchen dauert verschiedene Zeit lang. Die Versuchsergebnisse zeigen eine Variation von der 7. Stunde nach der Arbeit, bis zur 22. (z. B. Kaninchen I, Meerschweinchen 1, 2, 3, 5). In einem Falle dauerte die Resistenzhöhung während zweier Tage. Die Resistenz geht nach der Erhöhung wieder auf die Norm oder annähernd auf diese zurück (z. B. Kaninchen I, Meerschweinchen 3, 5, 7). Am Steigerungshöhepunkt überschreitet die Resistenz die Normalwerte um vieles (z. B. Kaninchen I, Meerschweinchen 1, 2, 6). Wo dies nicht zutrifft, liegt der Grund in der schon normalerweise größeren Menge resistenter Blutkörperchen.

Betrachten wir die Salzlösungen geringerer Konzentration, so sehen wir, daß bei einem Teil der Meerschweinchen (Nr. 1 und 3) keine Veränderung nachweisbar war. Wo Unterschiede vorhanden waren, mußten wir all dies mehr der Resistenzhöhung nach getaner Arbeit zuschreiben. Nur in 2 Fällen ging Resistenzverminderung einer Resistenzhöhung voraus (Kaninchen II, Meerschweinchen 7). Dies ist verständlich, weil die Zahl der resistenten Blutkörperchen in Salzlösungen geringerer Konzentration sowieso gering ist, daher eine Verminderung schwerer nachgewiesen werden kann.

In den Salzlösungen geringerer Konzentration war die Resistenz der roten Blutkörperchen entweder gleichlaufend (Kaninchen II, Meerschweinchen 4, 7), mit denen in stärkerer Konzentration, oder sie setzte verspätet ein (Kaninchen I, Meerschweinchen 5, 6). Die Zeitdauer der Resistenzhöhung war auch hier verschieden; sie schwankte zwischen 7 Stunden und 2 Tage (Kaninchen II, Meerschweinchen 6, 7). In einem Falle hielt sie 6 Tage an. Die Resistenzhöhung überschritt auf ihrem Höhepunkt die normalen Werte (Kaninchen I, Meerschweinchen 4, 5, 6, 7).

Wir haben vorher erwähnt, daß bei Kaninchen II und Meerschweinchen 4 keine Resistenzhöhung in Salzlösungen größerer Konzentration auch im Verhältnis zu den Normalwerten, nachgewiesen werden konnte, weil schon unter normalen Verhältnissen viel resistente rote Blutkörperchen vorhanden waren. In diesen Fällen wurden die Versuche durch das Verhalten der Blutkörperchen desselben Tieres in Salzlösungen geringerer Konzentration, in welchen die Resistenzhöhung gut wahrnehmbar war, schön ergänzt.

Daß der Blutverlust durch häufige Blutentnahme nicht die Ursache der Resistenzveränderung der roten Blutkörperchen ist, war schon auf Grund älterer Untersuchungen wahrscheinlich, aber auch darum, weil zu den einzelnen Blutbestimmungen so wenig Blut (2 Tropfen) nötig war, daß es als Blutverlust gar nicht in Betracht kommen konnte.

Aus einer älteren Versuchsreihe hatte sich schon ergeben, daß die zu solchen Bestimmungen nötige Blutmenge, durch ihre Entnahme keinen Einfluß auf die Resistenz ausübt. Einer weißen Maus, die in einem Falle als Kontrolle diente, wurde binnen 4 $\frac{1}{2}$ Tagen sechsmal Blut entnommen, und die Resistenz schwankte in diesen Tagen in 0,55proz. Kochsalzlösung zwischen 57,08—66,0%. In einem anderen Versuche benutzten wir als Kontrolle ein Meerschweinchen. Die Resistenz seiner roten Blutkörperchen wurde 14 Tage lang beobachtet. Bei diesem Meerschweinchen schwankte die Resistenz immer in bestimmten Grenzen (11,1—27,5%). Dasselbe ist auch aus unseren folgenden Versuchen ersichtlich. Die zu diesen benützten Meerschweinchen haben keine Arbeit geleistet und wurden gut genährt.

	0,48% NaCl Lös. Resistenz in %	0,4% NaCl Lös. Resistenz in %
A) <i>Meerschweinchen</i> (Gewicht: 320 g).		
Vormittags 10 Uhr	55,55	0
Nach 10 Minuten	43,35	0
Nach 1 Stunde	52,38	0
B) <i>Meerschweinchen</i> (Gewicht: 380 g).		
	0,45% NaCl Lös. Resistenz in %	0,48% NaCl Lös. Resistenz in %
Vormittag 11 Uhr 30 Minuten	9,5	8,25
Vormittag 11 Uhr 50 Minuten	6,58	4,7
Nachmittag 6 Uhr 30 Minuten	11,0	0
Am anderen Nachmittag 4 Uhr	0	0

Im Versuche „A“ schwankte die Resistenz zwischen 45,35—55,55%, im Versuche „B“ zwischen 0—8,25% in 0,43proz. Lösung, und zwischen 0,11% in 0,45proz. Lösung.

Aus diesen Kontrollversuchen können wir schließen, daß die mehrmalige Blutentnahme während der Versuche — mit der hier nötigen Blutmenge — die Resistenz der roten Blutkörperchen nicht beeinflusst; diese schwankt ständig in engen Grenzen.

Wie schon erwähnt, *haben wir auch an Menschen Versuche vorgenommen.*

Wir bemühten uns, die Versuchspersonen anstrengende und ungewohnte Arbeit möglichst schnell verrichten zu lassen. Drei Leute ließen wir eine bestimmte Höhe steigen, wo die getane Arbeit aus dem Gewichte der Versuchspersonen und aus der Höhe des von ihr zurückgelegten Weges berechnet wurde. Ein Mann, der eine sitzende Beschäftigung hatte, mußte eine bestimmte Strecke Weg zu Fuß gehen. Die Resultate sind folgende:

	0,46% NaCl Lös. Resistenz in %	0,4% NaCl Lös. Resistenz in %
I. K. J., 19 Jahre alt. Gewicht: 49 kg.		
Vor der Arbeit	93,3	9,09
Nach 4900 kg/m Arbeit binnen 14 Minuten	81,81	7,4
6 Stunden nach der Arbeit	fast 100	20,6
II. G. A., 40 Jahre alt. Gewicht: 64 kg.		
Vor der Arbeit	28,5	5,6
Nach 6400 kg/m Arbeit binnen 17 Minuten	21,38	0
1 $\frac{1}{4}$ Stunden nach der Arbeit	0	0
6 „ „ „ „	29,62	0
24 „ „ „ „	20,63	0
III. T. I., 51 Jahre alt. Gewicht: 65 kg.		
Vor der Arbeit	31,97	0
Nach raschem Gehen von 1660 m	15,26	0
2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Arbeit	47,36	0
1 Tag „ „ „	35,4	0
IV. I. F., 18 Jahre alt. Gewicht: 60 kg.		
Vor der Arbeit	28,57	0
Nach 10 200 kg/m Arbeit binnen 18 Minuten	58,67	9,09
1 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Arbeit	58,67	9,9
17 „ „ „ „	38,46	0

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Resistenzverminderung nach getaner Arbeit in zwei Fällen gut ausgeprägt war (II, III). In einem Falle (I) konnten wir nur eine geringe Tendenz beobachten, im IV. Falle aber stieg die Resistenz ohne nachweisbare Verminderung in die Höhe.

Die nach Verminderung folgende Resistenzhöhung war in den Fällen I, III und IV gut ausgeprägt, im letzteren Falle war die Resistenzhöhung auch bei Salzlösungen geringerer Konzentration sichtbar. Im Fall II war die auf die Verminderung folgende Resistenzhöhung nur so groß, wie der vorherige normale Wert.

Auch die Resultate dieser Versuche zeigen, daß eine größere anstrengende Arbeit die Resistenz der roten Blutkörperchen steigert. Der Resistenzsteigerung geht in den meisten Fällen eine Resistenzverminderung voran.

Versuche zur Erklärung dieser Erscheinungen.

Gibt es Anhaltspunkte dafür, daß unsere schon eingangs gegebene Erklärung der Resistenzsteigerung der Erythrocyten bei Inanition und nach angestrenzter Arbeit richtig ist?

Wenn es wahr ist, daß die minder resistenten vernichtet werden und nur die resistenteren übrig bleiben, worauf ja schon die, wenn auch kurz dauernde anfängliche Resistenzverminderung hindeutet, so ist zu erwarten, daß das Serum des in dieser Versuchsperiode entnommenen Blutes, gelöstes Hämoglobin enthält, das bei dem Zerfall der minder resistenten Erythrocyten frei geworden ist.

In dieser Richtung ausgeführte Versuche haben die Richtigkeit dieser Voraussetzung sowohl bei angestrenzter Arbeit als bei der Inanition bestätigt.

1. *Arbeit.* Wir haben einem 2400 g schweren Kaninchen vor der Arbeit Blut aus der Ohrvene entnommen, dieses zentrifugiert und festgestellt, daß das Serum normal, d. h. *nicht rötlich gefärbt war.* Aber schon nach 6 Minuten lang dauernder Arbeit in der oben beschriebenen Tretmühle, war das Serum des auf die gleiche Weise entnommenen Blutes schwach rötlich, nach 9 Minuten noch stärker gefärbt und nach 30 Minuten Ruhe so stark rot, daß es mit dem halben Volum Wasser verdünnt werden mußte, um ebenso gefärbt zu sein wie es nach 6 Minuten war. Nach 6stündiger Ruhe entnommenes Blut gab wieder ungefärbtes Serum wie vor der Arbeit.

Ein zweiter Versuch mit einem anderen Kaninchen hat ähnliches ergeben.

2. *Hunger.* Wir haben in 3 Versuchen mit drei verschiedenen Kaninchen während des Hungers stets früher oder später das Auftreten hämoglobinhalten Serums festgestellt, doch war es auffallend, daß die Färbung erst spät auftrat und stets geringer war als bei unseren Arbeitsversuchen. Blutiges Serum erscheint erst nach bedeutenderer Gewichtsabnahme. Andere Besonderheiten sind den folgenden Daten zu entnehmen.

<i>Kaninchen I.</i>		Gewicht	1830 g.	Serum vor dem Versuch	ungefärbt.
Nach 1 tägigem Hungern	Gewicht	1820 g	Serum	ungefärbt.
„ 2 „	„	1720 g	Serum	schwach rötlich.
„ 3 „	„	— g	Serum	ungefärbt. (?)
„ 4 „	„	1680 g	Serum	ungefärbt.
<i>Kaninchen II.</i>		Gewicht	2300 g.	Serum vor dem Versuch	ungefärbt.
Nach 1 tägigem Hungern	Gewicht	2280 g	Serum	ungefärbt.
„ 2 „	„	1960 g	Serum	ungefärbt.
„ 3 „	„	1910 g	Serum	schwach rötlich gefärbt.
<i>Kaninchen III.</i>		Gewicht	1680 g.	Serum vor dem Versuch	3 Tage lang untersucht jedesmal
ungefärbt.					
Während des Hungers bis	1650 g	Gewicht	Serum	rot gefärbt.
„	1570 g	„	Serum	wieder ungefärbt.
„	1540 g	„	Serum	wieder rot.

Wie dieser letztere Versuch zeigt, können also auch Nachschübe stattfinden.

Wir möchten bei der Erklärung des Zustandekommens der Resistenzverminderung, bzw. der Hämolyse in vivo während der Arbeit und in der Inanition, besonderes Gewicht auf die schon erwähnte Beobachtung legen, daß die Hämolyse bei angestrenzter Arbeit sehr rasch eintritt und auch höhere Werte erreicht als beim Hunger. Das weist auf eine Verschiedenheit der Ursachen hin und es ist naheliegend, an eine schädigende Wirkung der Stoffwechselprodukte und Ermüdungsstoffe auf die Erythrocyten zu denken. Wir haben demgemäß den Einfluß von Kohlensäure und Milchsäure auf die Resistenz der Erythrocyten in der Weise unter-

sucht, daß wir in Pergamentdiffusionshülsen befindliche defibrinierte Kaninchenblutproben 1. in physiologischer NaCl-Lösung eingestellt haben, die mit Kohlensäuregas gesättigt wurde, 2. in solche der 0,1 proz. Milchsäure zugesetzt war; 3. in solche, die keinen sonstigen Zusatz erhalten hat. Nach 2- und 7stündigem Stehen dieser Proben bei Zimmer-temperatur wurde die Resistenz der Erythrocyten gegen 0,5 und 0,45 proz. hypotonischer NaCl-Lösung bestimmt. Zur weiteren Kontrolle geschah die Resistenzbestimmung auch mit dem Blute unmittelbar nach dem Defibrinieren.

Folgende kleine Tabellen zeigen die Anordnung und die Resultate der Versuche.

I. 2 ccm defibr. Blut in Pergamenthülse eingestellt in 50 ccm physiol. NaCl.-L. mit CO₂ gesättigt.

II. 2 ccm defibr. Blut in Pergamenthülse eingestellt in 50 ccm physiol. NaCl.-L. + 0,1% Milchsäure.

III. 2 ccm defibr. Blut in Pergamenthülse eingestellt in 50 ccm physiol. NaCl.-L. ohne Zusatz.

IV. Defibriniertes Blut.

	Resistenz nach 2 Stunden gegen		Resistenz nach 7 Stunden gegen	
	0,5 proz.	0,45 proz.	0,5 proz.	0,45 proz.
	NaCl-Lösung		NaCl-Lösung	
I.	28,5%	20%	28,5%	1,9%
II.	Nahezu 100%	Nahezu 100%	50%	28,5%
III.	Nahezu 100%	Nahezu 100%	Nahezu 100%	Nahezu 100%
IV.	Nahezu 100%	Nahezu 100%	Nahezu 100%	Nahezu 100%

Die Resistenz der Erythrocyten wird also sowohl von Kohlensäure als von Milchsäure sehr stark geschädigt, am mächtigsten von der rasch diffundierenden Kohlensäure. Es ist demnach gestattet anzunehmen, daß eine Steigerung der Produktion von Stoffwechselprodukten bei angestrenzter Arbeit eine der Hauptursachen der Resistenzverminderung der Erythrocyten ist. Aber es ist nicht von der Hand zu weisen, daß die Resistenz durch Hunger geschädigter Blutkörperchen auch schon durch die normale Kohlensäureproduktion herabgesetzt werden kann.

Zusammenfassung.

1. Bei angestrenzter physischer Arbeit wird die Resistenz der Erythrocyten gegen hypotonische Salzlösungen anfangs für kurze Zeit vermindert, dann aber beträchtlich erhöht.

2. Versuche stützen die Erklärung, daß die Resistenzhöhung eine Folge des Zugrundegehens minder resistenter Blutkörperchen ist.

3. Die der Resistenzhöhung vorausgehende Resistenzverminderung kann zum Teil einer erhöhten Produktion von Kohlensäure und der Entstehung gewisser Ermüdungsstoffe (Milchsäure) zugeschrieben werden.

Wird die Sterblichkeit vor vollendeter Aufzucht durch Geschwisterzahl und soziale Lage der Eltern beeinflußt?

III. Mitteilung ¹⁾).

Von
Prof. Hans Reiter, Rostock.

In einer früheren Arbeit hatte *Hamburger* den Einfluß der Gebürtigkeit und der sozialen Lage auf die Aufzuchtverhältnisse untersucht. Unsere eigenen Beobachtungen bildeten bezügl. des Einflusses der *Gebürtigkeit* eine Bestätigung seiner Untersuchungen, die Prüfung des Einflusses der *sozialen Lage* auf die Kindersterblichkeit zeigte differente Ergebnisse. In unserer II. Mitteilung sind die Gründe hierfür klargelegt. Wir kamen zu folgender Formulierung: „Unser Ergebnis bestreitet keineswegs eine ungünstige Beeinflussung der Aufzuchtverhältnisse durch eine ungünstige soziale Lage, stellt nur fest, daß diese Beeinflussung an unserem Rostocker Material gegenüber der Gebürtigkeit wenig zum Ausdruck kommt.“

Am Schluß dieser gleichen Mitteilung hatten wir geschrieben: „Es wäre zu begrüßen, wenn in dieser Fragestellung weiter geforscht würde, doch darf dabei auch die Bedeutung der örtlichen Verhältnisse für die Ergebnisse nicht außer acht gelassen werden.“

In Heft 9 der *Öffentlichen Gesundheitspflege* 1922²⁾, das mir leider wesentlich verspätet zugegangen ist, kommen *Dresel* und *Fries* auf unsere I. Mitteilung in ausführlichster Weise zurück, machen diese gewissermaßen zum Ausgangspunkt ihrer Untersuchungen in *Heidelberg* und lehnen auf Grund ihrer Beobachtungen unsere Ergebnisse, weil angeblich durch falsche Untersuchungstechnik gewonnen, im wesentlichen ab. Die Durchsicht ihrer Mitteilung und eine nochmalige Überarbeitung unseres Materials hat mich davon überzeugt, daß beide Arbeiten durchaus *für unsere* Auffassung sprechen. Im folgenden soll Beweis hierfür erbracht werden:

Dresel und *Fries* halten sich in ihren Hinweisen auf unsere Arbeit leider nicht streng an das von uns Gesagte.

¹⁾ Vgl. *Öffentliche Gesundheitspflege* 1921, S. 48 und 390.

²⁾ Da die Zeitschrift *Öffentliche Gesundheitspflege* mit dem Dezemberheft 1922 ihr Erscheinen leider einstellt, ist ein Eingehen auf die Arbeit von *Dresel* und *Fries* an der dortigen Stelle in ausführlicher Weise nicht möglich.

Nirgends in unserer Arbeit findet sich eine Formulierung, daß Angehörige der Handwerker-, Angestellten- und Beamtenklasse mit einem Einkommen von 2—3000 M. durch uns als „minderwertig deklassiert“ werden.

Nach *Dresel* und *Fries* kann unsere Untersuchungsanordnung „niemals scharfe Gegensätze in der Geburten- und Sterblichkeitshöhe abhängig von der sozialen Lage der Eltern ergeben, da die von ihnen (uns) mitverwertete breite Mittelschicht die Grenzwerte ausgleichend ergänzt“. *Dresel* und *Fries* verzichteten daher auf eine Einteilung nach Einkommenshöhe und gruppieren nach „Berufsschichten“: 1. Akademiker (Hochschul- und Mittelschulprofessoren, Ärzte, Pfarrer, Richter, Rechtsanwälte), 2. Angehörige freier Berufe (Techniker, Architekten, Bauunternehmer), 3. Beamte und Lehrer (mittlere Beamte und Volksschullehrer), 4. Kaufleute (selbständige Gewerbetreibende und Ladenbesitzer), 5. Handwerker (selbständiger Handwerker), 6. Angestellte (bei der Staatsbahn, Straßenbahn, kaufmännische Angestellte).

Bezüglich der von uns gezogenen Grenzlinie (bei 3000 M.) sei auch hier noch einmal darauf hingewiesen, daß die Wohnverhältnisse Rostocks zur Zeit der Untersuchung eine ziemlich scharfe Trennung zwischen „wenig bemittelt“ und „wohlhabend“ gestatteten. Heute liegen infolge der Geldentwertung die Dinge anders. *Dresel* und *Fries* haben offenbar übersehen, daß wir ja außer der Einteilung nach *Einkommen* noch eine zweite Gliederung nach *Berufsständen* vorgenommen haben. Wir sind daher in der Lage, auch den von *Dresel* und *Fries* geforderten Maßstab an *unser* Material anzulegen. Ob er der zweckmäßiger ist, lasse ich dahingestellt, wir hielten jedenfalls eine Einteilung nach *mehreren* Gesichtspunkten für wertvoller. „*Die soziale Lage*“ ist ein Komplex von Erscheinungen, in dem es scharfe Grenzlinien gegen rechts und links oder oben und unten gar nicht gibt und nicht geben kann. (Außerdem häuft sich in den Extremen eine Reihe von Momenten, die nur in *indirekter* Beziehung zur sozialen Lage stehen.) Die Schwierigkeit einer exakten Formulierung läßt sich ebensowenig umgehen oder vermindern bei einer Einteilung nach Ständen, die als „Berufsschichten“ bezeichnet werden. Das geht gerade mit aller Deutlichkeit aus der von *Dresel* und *Fries* gewählten Gruppierung hervor, bei der man über die Zweckmäßigkeit der Zuteilung bestimmter Berufe zu dieser oder jener Hauptkategorie sehr im Zweifel sein kann! Eins ist gewiß, daß durch *diese Einteilung* gerade das, was *Dresel* und *Fries* an unserer Untersuchung vermissen: „Scharfe Gegensätze“, ebensowenig erreicht wird. In jeder Berufsklasse gibt es besser und schlechter gestellte — ist das so belanglos, daß man berechtigt ist, dies *völlig* zu übersehen? Ferner darf man nicht vergessen, daß die Bevölkerungszusammensetzung in *Heidelberg* eine ganz andere ist als in *Rostock*, — auch *innerhalb* der von ihnen getrof-

fenen Einteilungen. Vielleicht hat auch die kirchliche Zugehörigkeit eine größere Bedeutung, als man ihr a priori zuzuerteilen geneigt ist.

Eine ganz falsche Vorstellung wird durch die Erwähnung der *Hamburger* Befunde erweckt, — dort handelt es sich um *Konzeptionen*, nicht um Kinderzahl der Arbeiterbevölkerung, die aber einen Vergleich mit der wohlhabenden Bevölkerung kaum zulassen, weil die Größe des Ausgangsmaterials zu verschieden ist (119 zu 1042), was *Hamburger*, mit dem ich übrigens vor Veröffentlichung unserer II. Mitteilung mündlich die einschlägigen Fragen weitgehend diskutiert habe, auch gar nicht beabsichtigt.

Dresel und *Fries* stellen im folgenden ihre und unsere Ergebnisse gegenüber, wobei bedeutet:

- „A“ für *Reiter* und *Helm*: Familien mit Einkommen *unter* 3000 M.,
für *Dresel* und *Fries*: Familien von Angestellten und Arbeitern;
„B“ für *Reiter* und *Helm*: Familien mit Einkommen *über* 3000 M.,
für *Dresel* und *Fries*: Familien von Akademikern, Beamten,
Lehrern und Kaufleuten.

Tabelle I.

	Gruppe a (1—3 Kinder)	Gruppe b (4—6 Kinder)	Gruppe c (über 6 Kinder)
A. <i>Reiter</i> und <i>Helm</i>	25,6	40,3	34,1
<i>Dresel</i> und <i>Fries</i>	16,3	36,0	47,7
B. <i>Reiter</i> und <i>Helm</i>	35,8	45,1	19,1
<i>Dresel</i> und <i>Fries</i>	50,0	37,5	12,5

Abgesehen davon, daß man natürlich an und für sich Unvergleichbares nicht miteinander vergleichen kann, beziehen *wir* unsere Zahlen auf die *Gesamtzahl aller Kinder* der Familien *unter* oder *über* 3000 M. Einkommen, also 2042 resp. 1752 Kinder, während *Dresel* und *Fries* ihre Berechnung auf die *Kinderzahl der betreffenden Stände allein* einstellen, d. h. 930 resp. 1078 Kinder. Qualität und Quantität des Untersuchungsmaterials verändert sich demnach bei *Dresel* und *Fries* in einem für die Statistik *ungünstigen* Sinne, andererseits wird die große Gruppe der *Handwerkerkinder*, die bei *Dresel* und *Fries* ein *Drittel aller Kinder* ausmachen, bei der Gegenüberstellung *völlig vernachlässigt!* Es würde sich bei *Dresel* und *Fries* für diese ergeben:

Gruppe a) (1—3 Kinder) 31,8%, Gruppe b) (4—6 Kinder) 46,2%,
Gruppe c) (über 6 Kinder) 21,9%.

Diese Zahlen liegen *unseren* Zahlen viel näher als die von *Dresel* und *Fries* ausgewählten. *Dresel* und *Fries* haben die Zahlen dieser Gruppe völlig außer acht gelassen, die durch ihre Umfassung von $\frac{1}{3}$ ihres gesamten, dazu *kleineren* Untersuchungsmaterials nicht unbedeutend sind.

Wie falsch es ist, aus der Differenz unserer Zahlen auf eine falsche Technik zu schließen, ergibt sich, wenn wir *unser Material* nach der von *Dresel* und *Fries* geforderten Methode verarbeiten: Wir finden unter „A“ in Gruppe a) statt 25,6: 26,9; in Gruppe b) statt 40,3: 38,0; in Gruppe c) statt 34,1: 34,9, also Zahlen, die unseren ursprünglichen fast gleichen. Dabei sind nur die Angestellten mit einem Einkommen unter 3000 M. verrechnet, was erst recht im Sinne von *Dresel* und *Fries* verändern sollte.

Dresel und *Fries* sprechen von „unscharfem Ergebnis“, während bei einer Zergliederung des Materials nach ihrer Methode gerade unsere Angaben bestätigt werden.

Analysieren wir im folgenden das Untersuchungsmaterial von *Dresel* und *Fries* und das *unsrige nach den gleichen Gesichtspunkten*:

Es verteilten sich

bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 939 Arbeiterkinder	bei <i>Dresel</i> u. <i>Fries</i> 501 Arbeiterkinder
auf Gruppe a) 21,09%	auf Gruppe a) 0,90%
„ „ b) 41,32%	„ „ b) 34,90%
„ „ c) 37,70%	„ „ c) 56,10%

Es verteilten sich

bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 154 Angest.-Kinder, Einkommen d. Eltern unter 3000 M.,	bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 64 Angest.-Kinder, Einkommen d. Eltern über 3000 M.,
auf Gruppe a) 62,34%	auf Gruppe a) 25,00%
„ „ b) 19,48%	„ „ b) 50,00%
„ „ c) 18,18%	„ „ c) 25,00%

also

bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 154 + 64 Angest.- Kinder überhaupt:	bei <i>Dresel</i> und <i>Fries</i> 429 Angest.-Kinder
auf Gruppe a) 51,30%	auf Gruppe a) 24,90%
„ „ b) 28,40%	„ „ b) 37,50%
„ „ c) 20,20%	„ „ c) 37,50%

Fassen wir *Angestellten- und Arbeiterkinder* zusammen, wie es *Dresel* und *Fries* vorzogen, so verteilen sich

bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 1093 Angest.- und Arbeiterkinder:	bei <i>Dresel</i> u. <i>Fries</i> 930 Angest.- und Arbeiterkinder:
auf Gruppe a) 26,90%	auf Gruppe a) 16,30%
„ „ b) 38,00%	„ „ b) 36,00%
„ „ c) 34,90%	„ „ c) 47,70%

Bezüglich der *Handwerkerkinder* finden wir folgendes:

Es verteilten sich

bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 541 Handw.-Kinder, Einkommen d. Eltern unter 3000 M.,	bei <i>Reiter</i> u. <i>Helm</i> 327 Handw.-Kinder, Einkommen d. Eltern über 3000 M.,
auf Gruppe a) 26,80%	auf Gruppe a) 28,30%
„ „ b) 37,89%	„ „ b) 43,70%
„ „ c) 35,30%	„ „ c) 27,90%

also

bei Reiter u. Helm 868 Handw.-Kinder überhaupt		bei Dresel u. Fries 1180 Handw.-Kinder	
auf Gruppe a)	27,40%	auf Gruppe a)	31,80%
„ „ b)	40,00%	„ „ b)	46,20%
„ „ c)	32,50%	„ „ c)	21,90%

Aus den Gegenüberstellungen ergibt sich einwandfrei, daß die *Angestellten- und Arbeiterverhältnisse* bezügl. der Gebürtigkeit in *Rostock und Heidelberg* völlig verschieden liegen, und daß die von *Dresel* und *Fries* gefundenen Abweichungen von unseren Werten *nicht auf eine falsch eingestellte Untersuchungstechnik zurückzuführen sind*. Die Gebürtigkeitsverhältnisse im *Handwerkerstand* zeigen dagegen ziemlich weitgehende Analogien.

Über die Gruppe „B“ läßt sich überhaupt keine Diskussion eröffnen, da meines Erachtens jede Berechtigung, sie mit unserer Gruppe B zu vergleichen, fehlt, innerlich und äußerlich.

Im zweiten Teil ihrer Arbeit gehen *Dresel* und *Fries* auf unsere Ergebnisse über die *Kindersterblichkeit* ein. Hier gestalten sich die Vergleiche außerordentlich interessant:

Dresel und *Fries* „können nur eine ziemlich stetige Zunahme der Sterblichkeit von der Eins- zur Mehrgebürtigkeit feststellen“. Wir hatten¹⁾ unsere Ergebnisse dahin zusammengefaßt, daß wir sagten: „Höhere Gebürtigkeit geht im allgemeinen parallel mit höherer Kindersterblichkeit. Je mehr Kinder in der einzelnen Gebürtigkeitsklasse zur Feststellung kommen, desto ungünstiger wird durch sie im allgemeinen die Sterblichkeitsstatistik beeinflußt. Ausnahmen dieser Erscheinung werden beobachtet, sind aber selten. Die Einkommenverhältnisse beeinflußten im allgemeinen überraschend wenig den Ertrag von Kinderaufzucht. In einzelnen bestimmten Berufsklassen, in denen zwei deutlich verschiedene Schichten zur Beobachtung gelangten, war ein gewisser Einfluß der Höhe des Einkommens aber unverkennbar.“

Ich gebe zunächst eine Gegenüberstellung der Untersuchungen in *Rostock und Heidelberg* aus der Arbeit der Heidelberger Autoren wieder;

Tabelle II.

	Geboren	Gestorben	Prozentzahl
A. Reiter und Helm	2042	347	16,9
Dresel und Fries	930	174	18,7
B. Reiter und Helm	1752	233	13,2
Dresel und Fries	1300	94	7,23

Diese Tabelle von *Dresel* und *Fries*, in der A und B das Gleiche bedeutet wie oben vermerkt, faßt die Ergebnisse vorher mitgeteilter An-

¹⁾ Erste Mitteilung.

gaben über die Gesamtgeburten und Gesamtkindertodesfälle der einzelnen Berufe, geordnet nach dem Prozentsatz der Kindersterblichkeit zusammen, bringt also an und für sich nichts Neues. Nun schließen *Dresel* und *Fries ohne weiteres*: „Wir sehen also im Gegensatz zu *Reiter* und *Helm*, daß die soziale Lage der Eltern die Sterblichkeit der Kinder weitgehend beeinflusst.“

Dresel und *Fries* verzichten von vornherein auf eine Analyse ihrer „Ergebnisse“. Trotzdem halten sie sich aber für berechtigt, unser Material, das viel weitgehender zerlegt und bearbeitet worden war, ohne jede ordnungsgemäße Nachprüfung mit wenigen Worten beiseite zu schieben!

Doch gehen wir im Folgenden auf unsere Befunde noch in anderer Richtung ein, die ebenfalls wesentlich zur Klarstellung der Verhältnisse im Rahmen des Möglichen beitragen wird:

Tabelle III.

	Sterblichkeit nach Einkommen und Ständen		Sterblichkeit nach Ständen allein
	Einkommen unter 3000 M.	über 3000 M.	
	%	%	%
1. Arbeiterkinder	Gruppe a) 8,8	—	Gruppe a) 8,8
„	b) 15,4	—	„ b) 15,4
„	c) 23,4	—	„ c) 23,4
2. Handwerkerkinder . .	„ a) 12,4	15,0	„ a) 13,4
„	b) 16,1	13,9	„ b) 15,8
„	c) 23,0	18,6	„ c) 21,6
3. Angestelltenkinder . . .	„ a) 6,0	(0,0)	„ a) 5,3
„	b) (10,0)	(9,4)	„ b) (9,7)
„	c) (39,2)	(6,2)	„ c) (27,3)
4. Kinder freier Berufe .	„ a) (17,6)	(5,7)	„ a) 7,4
„	b) (7,5)	(11,3)	„ b) 9,3
„	c) (23,0)	(20,0)	„ c) 21,7
5. Beamtenkinder	„ a) (9,9)	6,8	„ a) (7,5)
„	b) 19,4	12,5	„ b) 15,0
„	c) (16,6)	17,5	„ c) 17,2
6. Kaufleutekinder	„ a) (0,0)	12,2	„ a) 11,4
„	b) (22,7)	14,6	„ b) 14,8
„	c) (66,6)	25,0	„ c) 31,8

In der Tabelle sind nebeneinandergeordnet die Kindersterblichkeit nach Berufsarten und Einkommen unter und über 3000 M., weiterhin ohne Berücksichtigung des Einkommens, allein nach Berufsarten. Ferner ist eine Gruppierung vorgenommen nach der Kinderzahl, d. h. die Kinderzahl von 1—3 einer Familie ist in Gruppe a, die Kinderzahl von 4—6 einer Familie in Gruppe b, und die höhere Kinderzahl einer Familie in Gruppe c zusammengefaßt, also eine Einteilung, wie sie der Veröffentlichung I und dem ersten Abschnitt der vorliegenden entspricht. Alle Angaben, die aus einem Material resultieren, das kleiner ist als 90 Fälle, wurden in Klammern gesetzt.

Betrachten wir die zweite Hälfte der Tabelle III, die eine Gruppierung *allein nach den Ständen* geordnet zeigt, so sehen wir überall das prinzipiell gleichartige Bild:

Geringe Kindersterblichkeit in Gruppe a, größere in Gruppe b, größte in Gruppe c. Das ist das Characteristicum sämtlicher Zahlen. Eine eindeutige Mehrbelastung bestimmter Stände läßt sich nicht feststellen. Die Arbeiterkinder der Gruppe a stehen günstiger als die der Handwerker und Kaufleute und differieren kaum von denen der freien Berufe und Beamten, etwas mehr von den Angestelltenkindern. In Gruppe b verhalten sich Kinder der Arbeiter, Handwerker, Beamten und Kaufleute völlig gleich, günstiger liegen die Verhältnisse nur bei Kindern der Angestellten und freien Berufe. In Gruppe c verhält sich die Sterblichkeit der Arbeiterkinder günstiger als die der Angestellten und Kaufleute, liegt nur ein wenig ungünstiger als die Sterblichkeit der Kinder von Handwerkern und freien Berufen und nur die Beamtenkinder scheinen sich um ein beträchtlicheres besser zu stehen. Aber: alle Abweichungen der Sterblichkeitsziffern innerhalb der Gruppen a, b, c differieren bei den einzelnen Berufsständen nur wenig. Ausschlaggebend ist bei der ganzen Zusammenstellung die Zugehörigkeit zur Gruppe, d. h. mit anderen Worten: Die Zugehörigkeit zur Gebürtigkeitsgruppe bedingt in allererster Linie die Lebensaussicht, die Zugehörigkeit zu einem bestimmten Stande modifiziert diese Lebensaussicht nur in einer eng zu ziehenden Grenze.

Nehmen wir innerhalb der Berufsgruppen eine weitere Einteilung nach der Höhe des Einkommens vor, wie es in der ersten Mitteilung geschehen ist, dann beobachten wir 11 mal in 15 Fällen eine *ungünstige Auswirkung schlechterer Einkommensverhältnisse. Alle Berufsgruppen werden hiervon ziemlich gleichmäßig betroffen*, aber auch bei dieser Aufteilung und Zusammenstellung ist die *Gebürtigkeitsgruppe in der Regel ausschlaggebend über alle anderen Einflüsse*, kleine Abweichungen sind zum Teil auf die Kleinheit der Zahlen zurückzuführen.

Wenn *Dresel* und *Fries* in der oben wiedergegebenen Tabelle II andere Werte als wir gefunden haben, *so liegt der Grund darin, daß sie die Gebürtigkeit überhaupt nicht in Berücksichtigung gezogen haben, gerade das Moment, das wir in unserer ganzen Bearbeitung am allerstärksten betont hatten, für die Ergebnisse verantwortlich machen mußten und auch auf Grund der hier gegebenen Zergliederungen mit einer noch stärkeren Betonung verantwortlich machen müssen.*

Über die tieferen Ursachen der hier gefundenen Tatsachen zu diskutieren, gehört nicht in den Rahmen dieser Arbeit und müßte weiteren analytischen Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Wenn *Dresel* und *Fries* auf die Möglichkeit hinweisen, daß eine hohe Mortalität zu einer höheren Natalitätsziffer führt, so könnte man gewiß

an eine solche Wechselwirkung denken, doch dürfte diese Erklärung mehr für Gruppe a, viel weniger für Gruppe c in Betracht kommen, also für uns eine wesentliche Bedeutung nicht besitzen.

Wenig fruchtbar erscheint es mir aber, Beobachtungen ohne jede Begründung lediglich mittels spekulativer Erörterungen in einen Kausalnexus mit fest erkannten Tatsachen zu bringen. Wir sollten heute außerordentlich vorsichtig sein, aus subjektiven Eindrücken und Anschauungen wissenschaftliche Dogmen aufzurichten zu wollen. Deshalb kann ich auch die von *Dresel* und *Fries* unter Ergebnissen (3) formulierten Sätze nicht billigen. *Es fehlt für sie bisher jede exakte einwandfreie Untersuchung und demnach auch die wissenschaftlich fundierten Beweise, ein kritisches Eingehen auf sie erübrigt sich.*

Ich komme zu folgenden *Schlußfolgerungen*: Die in den Arbeiten von *Reiter* und *Helm* auf Grund von Untersuchungen in *Rostock* formulierten Ergebnisse, deren Berechtigung von *Dresel* und *Fries* kürzlich bestritten wurde, werden durch die vorliegende Mitteilung *im vollen Umfange bestätigt, vertieft und erweitert: Die Zugehörigkeit zur Gebürtigkeitsgruppe bedingt in allererster Linie die Lebensaussicht, die soziale Lage der Eltern modifiziert diese Lebensaussicht nur in sehr eng zu ziehender Grenze.*

Erwiderung zu vorstehender Arbeit von H. Reiter.

Von

E. G. Dresel, Heidelberg.

Durch die mir von den Herausgebern der Zeitschrift in dankenswerter Weise vermittelte Einsicht in *Reiters* Manuskript ist es mir möglich zu *Reiters* Einwendungen Stellung zu nehmen.

Da die Befunde von *Reiter* und *Helm* über den Einfluß der sozialen Lage auf die Gebürtigkeit und Sterblichkeit vor vollendeter Aufzucht von den herrschenden Anschauungen abweichen, legten wir uns die Frage vor, ob 1. die angewandte Untersuchungsmethode oder 2. das Rostocker Material daran Schuld sei. Wir glauben das erstere und glauben auch heute noch trotz *Reiters* Einwendungen, daß wir die Grenzsetzung von 3000 M. Einkommen ablehnen müssen, weil damit keine scharfe Grenze zwischen sozialen Schichten gegeben ist. Die wirtschaftlichen Verhältnisse der Familien, ausgedrückt durch ein Einkommen von unter oder über 3000 M. reichen dazu nicht aus, weil die Mehrzahl der Familien gerade dicht unter oder über 3000 M. Einkommen haben könnte und somit keine scharfen Gegensätze gegeben sind, deren Gegenüberstellung die aufgeworfene Frage klären könnte.

Deshalb nahmen wir Abstand von einer *Einkommengrenze* und teilten unser Material nach *Berufsgruppen* auf. Selbstverständlich schwankt innerhalb einer Berufsgruppe das Einkommen, aber die Zugehörigkeit zum gleichen Beruf schafft gerade durch gleiche Bildung, Erziehung und durch ein gleiches Standesbewußtsein eine gewisse Übereinstimmung, die die Unterschiede im Einkommen weitgehend ausgleicht. Deshalb mußten wir, um Gebürtigkeit und Sterblichkeit möglichst *verschiedener* sozialen Schichten vergleichen zu können, eine Mittelschicht, wie die der Handwerker, fortlassen, was *Reiter* nicht anerkennen will. Hätten wir sie nicht fortgelassen, so hätten wir, wie *Reiter* ja an unserem Material nachweist, das gleiche unscharfe Ergebnis erhalten, wie er bei seinem Material.

Reiters Tabelle 3 in obiger Arbeit kann uns auch nicht von der Richtigkeit seiner Schlußfolgerungen überzeugen, nämlich, „daß die Zugehörigkeit zur Gebürtigkeitsgruppe in allererster Linie die Lebensaussicht bedingt, daß die soziale Lage der Eltern diese Lebensaussicht nur in sehr eng zu ziehender Grenze modifiziert“. Wir haben absichtlich unser Material nicht so weitgehend zergliedert, wie *Reiter* es in vorstehender Tabelle 3 tut. Leider läßt er die absoluten Zahlen darin fort,

die sich in seiner ersten Veröffentlichung (Öffentliche Gesundheitspflege 1921 S. 56—57) finden, und gibt nur die Prozentzahlen. Wenn da z. B. in 3) Angestelltenkinder über 3000 M. Einkommen unter c (mehr als 6 Geburten) nur zwei Familien in Betracht kommen oder unter 4) freie Berufe c nur 5 Familien, oder unter 6) Kaufleutenkinder mit weniger als 3000 M. Einkommen unter c nur zwei Familien, so können diese kleinen Zahlen so weitgehende Schlüsse nicht rechtfertigen.

Selbst wenn nun in Rostock und Heidelberg die Angestellten- und Arbeiterverhältnisse bez. der Gebürtigkeit tatsächlich völlig verschieden lägen und nicht etwa diese Verschiedenheit nur auf der Art der Materialgewinnung beruht, so wird damit die Rostocker Untersuchungsmethode noch nicht als eine allgemein anwendbare charakterisiert. Für Heidelberg hätte sie jedenfalls keine eindeutige Antwort auf die aufgeworfene Frage gebracht. Es kommt aber darauf an für die Bearbeitung dieser wichtigen Frage nach dem Einfluß der sozialen Lage auf die Gebürtigkeit und Sterblichkeit der Kinder ein nicht nur für Rostock brauchbares Verfahren zu finden. Die von uns angewandte Untersuchungsmethode scheint uns trotz *Reiters* Einwendungen brauchbarer zu sein.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Dahlem [Direktor:
Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. A. v. Wassermann].)

Über einen neuen Toxinbildner aus der Rauschbrandgruppe.

Von

Dr. **Katzumi Kojima.**

Mitte Februar vorigen Jahres habe ich aus dem Fleisch eines an Rauschbrand verendeten Rindes einen bis jetzt noch nicht beschriebenen Toxinbildner isoliert.

Das Fleischmaterial verdankte das Institut der Güte von Dr. *Ernst* in Oberschleißheim bei München, der es 12 Stunden nach dem Tode entnommen und in steriler Watteverpackung sofort dem Institut übermittelte. Da unmittelbar nach dem Tode die Gedärme entfernt worden waren, so haben wir in diesem Falle, was ja ziemlich selten ist, ein ganz einwandfreies Untersuchungsmaterial vor uns. Es kam in drei 1—2 kg schweren Stücken an.

Das erste Stück hatte, was die Farbe betrifft, ein fast normales Aussehen, während bei dem 2. und 3. Stück tiefdunkel- bis schwarzrote Verfärbung mit Blutergüssen zu erkennen war. Bei allen drei Stücken beobachtete ich, daß stark emphysematöse Veränderungen mit unzählbaren kleinen, dicht beieinander liegenden Gasbläschen fast die ganze Muskulatur durchsetzten. Beim Schneiden trat Knistern auf. In dem mikroskopischen Bilde zeigten sich, besonders im ersten Stück große stark granuliert Stäbchen, die hier und da in der Mitte oder am Ende eiförmige Sporen trugen, an diesen Stellen war der Bakterienleib meist etwas aufgetrieben, wodurch die Stäbchen eine Schiffchen- oder Rakettform erhielten. Ich hatte den Eindruck, daß es sich um eine Reinkultur handelte, denn irgendwelche anderen Formen waren nicht wahrzunehmen.

Ich habe einen kleinen Teil aus dem ersten Stück herausgeschnitten, bei 37° getrocknet, in der Reibschale pulverisiert und dann im *Koch*-schen Dampftopf 15 Minuten erhitzt. Hierauf wurden Blutagarplatten (Verfahren nach *Zeissler*) und 2% Traubenzuckeragar-Schüttelkulturen angelegt. Auf den Blutagarplatten bekam ich kein Wachstum, während in dem Traubenzuckeragar ganz anders aussehende Kolonien als die der Rauschbrandtypen *Kitt* und *Foth* wuchsen. Von dem zweiten Teil des ersten Stückes und von dem zweiten Stück des Materials konnte ich

aber später außer dem eben genannten Bacillus einen typischen Rauschbrandstamm (Foth) isolieren. Nachdem ich aus dem Traubenzuckeragar die oben beschriebenen Kolonien isoliert hatte, habe ich die gewonnene Reinkultur morphologisch, biologisch und tierexperimentell untersucht und ferner über die Toxin- und Antitoxinbildung gearbeitet.

I.

Die Stäbchen sind etwas kleiner als der Milzbrandbacillus. Nach Messung mit Messokular betrug die Breite 0,8—1 μ , die Länge ca. 3—4 μ . Sie sind gerade — mit Ausnahme in dem unten zu erwähnenden Nährböden — und besitzen abgerundete Enden.

In der 24stündigen *Hiblerschen* Hirnbreikultur finden sie sich in der Mehrzahl einzeln, häufig auch zu zweit aneinanderliegend. In diesem Alter und in diesem Nährboden sind sie von gleichmäßiger Größe. Sie sind gut beweglich, wackelnd, mit nur geringen Abweichungen von der Lokomotionsrichtung. Sie überschlagen sich niemals, Rückwärtsbewegungen wurden nicht beobachtet. Die Bewegung blieb auch noch nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde gut erhalten. In einer von der Muskulatur des Versuchstieres hergestellten Emulsion oder in einer Kultur des frisch aus dem Tier isolierten Bacillus sieht man oft sehr träge, manchmal gar keine Bewegungen. Bei späteren Weiterzüchtungen erhalten sie ihre Beweglichkeit wieder. *Weinberg* und *Séguin* haben bei dem von ihnen beschriebenen Bacillus oedematiens beobachtet, daß eine lebhaftere Beweglichkeit einer Verunreinigung der Kultur zugeschrieben werden muß. Mein Bacillus wies bei Verunreinigungen im Gegenteil nur geringe Bewegung auf.

In älteren Hirnbreikulturen kommt es zur Ketten-, nicht zur Fadenbildung. Die Ketten bestehen aus den gleichmäßig geformten, oben beschriebenen Stäbchen, nur zeigen sich die Endflächen jetzt senkrecht auf der Längsachse aufgesetzt.

Sporen werden sowohl in der Mitte als auch am Ende der Stäbchen gebildet. Sie sind nicht sehr reichlich wahrnehmbar. Am frühesten beobachtete ich sie nach 3—4 Tagen bei 37° in 2proz. Traubenzuckerbouillon mit Eiereiweiß, Fibrin oder Muskelstückchen von Meerschweinchen. In diesen Nährböden bildet der Bacillus ebenfalls Ketten. Bei der Sporenbildung kommt es mitunter zu einer mäßigen Auftreibung des Zelleibes. Die fertige Spore ist etwas breiter als die vegetative Form. Die Sporen (aus Hirnbrei oder getrocknetem Muskelstück) sind gegen Hitze bei 100° im Dampftopf 20 Minuten resistent.

In verschiedenen Nährböden ist das morphologische Verhalten im allgemeinen das gleiche, nur ist in dem flüssigen Nährboden, besonders nach *Tarozzi*, meist eine Verkleinerung der Form nach der Breite und Länge wahrnehmbar, d. h. die Formen sind etwas kürzer und deutlich

schmäler. Auf Zuckeragar ist es auffallend, daß sie sich oft etwas krümmen, und daß es zur Bildung von S- oder G- und bei weiterer Aneinanderlagerung zu etwa M-Formen kommt. Hier sieht man oft auch sehr lange wellig gekrümmte Ketten. Das gleiche sah ich manchmal in 2proz. Zuckerbouillon.

Im Tierkörper findet man besonders im Ödemsaft die gleichen Charakteristika wie in den Tarozzikulturen. Erwähnt sei noch, daß Blähformen sehr selten auftreten, und daß auf der Leberserosa keine Kettenbildung gesehen wurde, daß die Stäbchen hier vielmehr fast regelmäßig einzeln, manchmal zu zweit gelagert sind.

Die Färbung der Stäbchen gelingt leicht mit den üblichen Farben. Sie sind gut grampositiv, auch im Tierkörper. In den Reinkulturen neigen sie um so mehr zur Gramlabilität, je länger die Kultur fortgezüchtet wird. Bei frischer Übertragung auf das Tier tritt das grampositive Verhalten meist sofort in die Erscheinung.

Die Stäbchen haben zahlreiche (12—30 und mehr) peritrich angeordnete Geißeln, die in Wellenlinien gekrümmt, meistens vereinzelt, manchmal aber auch zu Bündeln vereinigt sind. Man färbt am besten nach der Zettnowmethode.

Der Bacillus bildet in 2proz. *Traubenzuckergelatine* nach dem 4. bis 5. Tage bei 24—25° (hochschmelzbare Gelatine nach *Fickers* Rezept) anfangs geschlossene punkt- bis stecknadelkopfgroße kugelige Kolonien, deren innere Struktur knäuelartig erscheint. Die Kolonien sind kompakt, gelblich weiß und undurchsichtig, beim weiteren Wachstum fasn die peripheren Partien aus, aber dicht und zart, so daß sie ein Ansehen wie Wollknäuel erhalten, gleichzeitig wird die Kolonie verflüssigt, und es entstehen kleine transparente Hohlräume mit Bodensatz. In der Gelatine entwickeln sich Gasbläschen, die beim weiteren Wachstum die Säule zersprengen. Später folgt allmähliche Verflüssigung des ganzen Röhrchens.

Im *Traubenzuckeragar* sieht man in den ganz jungen Kulturen ebenfalls kompakte undurchsichtige Kolonien, nach 24 Stunden sind sie stecknadelkopfgroß, kugelig, einzelne linsenförmig. Sehr bald beginnt am Rande eine Ausfaserung. Die Kolonien wachsen sehr schnell heran. In sehr konsistentem und durch längeres Sterilisieren gebräuntem Zuckeragar sind sie von braungelber Farbe, in nicht gebräuntem Zuckeragar sind sie bei auffallendem Lichte grau. Nach 2—3 Tagen fasn sie sämtlich aus, erreichen einen Durchmesser von 2¹/₂ mm und mehr. Da, wo sie dichter stehen, zeigen sie im Innern einen dichten Kern, im übrigen aber sind sie stark aufgelockert, die mittleren und peripheren Teile erscheinen durchsichtiger. Stehen die Kolonien sehr weit auseinander, so kann der dichte Kern fehlen. Die Ausfaserung zeigt nicht radial angeordnete Fäden mit spitzen Enden, sondern mehr knäuel-

förmigen Charakter, mit gebogenen gekräuselten Randfäden. In der Stichkultur in hochgeschichtetem Zuckeragar oder Gelatine wächst er den Stichkanal entlang, ungefähr 2 cm unter der Oberfläche beginnend, sich nach unten immer mehr verbreitend. Bei weiterem Wachstum bilden sich, von dem Stich ausgehend, nach allen Seiten in Agar dickere, in Gelatine etwas feinere Ausläufe.

Der Bacillus bringt Milch langsam zu schwacher Gerinnung, aber sie ist kein guter Nährboden für ihn, nach mehreren Tagen stellt er das Wachstum ein.

Koaguliertes Serum, Fibrin und gekochtes Eiweiß werden nicht peptonisiert. Im flüssigen Nährboden bildet er Säure, die aber nicht so stark wie bei anderen Rauschbrandgruppen wird. Ein stinkender, fader oder irgendein putrifischer Geruch ist nicht in der Kultur wahrzunehmen, ebensowenig schwärzt er Hirnbrei. Er wächst nur unter anaeroben Bedingungen.

II.

Der pathologische Befund beim Versuchstier ist dem der Rauschbrandinfektion ziemlich ähnlich, es tritt aber bei unserem Bacillus eine höhere Intoxikation in den Vordergrund. Der intravenösen Verabreichung erliegt das Versuchstier viel schneller als der subcutanen oder intramuskulären. Bei der letzteren findet man eine starke Entzündung, die wie beim Rauschbrand sich auf die benachbarten Bezirke verbreitet, besonders in der Muskulatur und im Unterhautzellgewebe, auch findet man Bakterien im Blut und in den Brust- und Bauchorganen. In dem feineren Gefäßsystem des Magen- und Darmtraktes nimmt man starke Injektion wahr. Die Nieren sind tief dunkelrot verfärbt, die Leber sieht oft gelblich aus, die Milz fand ich nicht vergrößert.

Infiziert man ein Versuchstier (Meerschweinchen, Kaninchen) mit kleiner Menge (0,005—0,1 ccm) frischer Hirnbreikultur oder mäßiger Menge (0,2—0,5 ccm) älterer Kultur, so sieht man an der Impfstelle eine ziemlich beschränkte Entzündung mit umfangreichem, fast im ganzen Brust- und Bauchbezirke verbreitetem Ödem des Unterhautgewebes, welches eine farblose, wasserklare Flüssigkeit enthält, die beim Aufschneiden herausläuft. Diese Flüssigkeit ist häufig gallertartig und koaguliert langsam. In diesem Falle geht das Tier nach mehreren Tagen ein, und in dem Ödemsaft findet man oft sehr wenig Stäbchen. Außerdem beobachtet man bei solchem subakuten tödlichen Verlauf massenhaftes Transudat im Brust- und Bauchfell, Herzbeutel, Unterhautzellgewebe sowie mehr oder weniger Entzündung des Verdauungsapparates. Diese Befunde treten gleichfalls auf, wenn man mit einer kleinen Menge des keimfreien Kulturfiltrates Tiere behandelt. Starke hämorrhagische Entzündung tritt im allgemeinen nicht in die Erschei-

nung, sie beschränkt sich auf die Impfstelle und nächste Umgebung. Falls sich eine starke hyperämische Veränderung wie beim Rauschbrand fand, so beobachtete ich immer eine Mischinfektion, und zwar mit Streptokokken.

III.

Der Bacillus bildet in flüssigen Nährmedien ein hochwirkendes Gift. Ein hämolytisches Gift habe ich bis jetzt noch nicht beobachtet.

Das Toxin kann man am besten mit der von *Ficker* zur Toxin-gewinnung des *Ödembacillus* angewendeten Methode (2proz. Traubenzuckerbouillon mit Schlämmkreidezusatz unter Luftabschluß) herstellen. 0,001 dieses Filtrates tötet ein mittelgroßes (1800–2000 g) Kaninchen innerhalb 24–40 Stunden bei intravenöser Verabreichung. Bei subcutaner Injektion wirkt es etwas langsamer (in 3–5 Tagen). Beim Meerschweinchen sieht man dasselbe, es scheint aber im Verhältnis zum Körpergewicht etwas weniger wirksam zu sein. 0,01 ccm des Filtrates subcutan gegeben tötet ein mittelgroßes Meerschweinchen (300–400 g) in 2–4 Tagen. Für Mäuse ist es ebenfalls sehr giftig, 0,0005 des Filtrates intravenös injiziert, tötet eine Maus (16–18 g) in 40 Stunden.

Das Toxin ist thermolabil, es verliert bei einer 30 Minuten langen Erwärmung im Wasserbad von 60° seine giftige Wirkung.

Die tödliche Wirkung des Toxins tritt nach einer gewissen Inkubation, frühestens nach 20–30 Minuten, meistens aber nach einigen Stunden auf, auch wenn eine sehr große Menge (0,3–0,5 ccm, die ca. 1000fach tötende Dosis für eine Maus) eingespritzt wird. Da das Toxin sehr giftig ist, so ist es nicht leicht, kleine Tiere mit ihm zu immunisieren. Nach vielen vergeblichen Versuchen ist es mir gelungen, durch ein modifiziertes Gift eine Toxinfestigkeit zu erreichen.

Das Kulturfiltrat wurde im Wasserbade bei 60° eine halbe Stunde erwärmt und einer Reihe Mäusen intravenös injiziert.

Versuch 1.

- Maus 18 g 0,3 ccm: nach 2 Wochen 0,0005 unerhitztes Gift ive; ohne Erscheinung, lebt.
 „ 16 g 0,3 ccm: nach 2 Wochen 0,002 ccm ive unerhitztes Gift; ohne Erscheinung, lebt.
 „ 15 g 0,3 ccm: nach 10 Tagen 0,002 ccm ive unerhitztes Gift; ohne Erscheinung, lebt.
 „ 15 g 0,2 ccm: nach 2 Wochen 0,002 ccm ive unerhitztes Gift; nach 30 Stunden †.
 „ 16 g 0,1 ccm: nach 2 Wochen 0,002 ccm ive unerhitztes Gift; über Nacht †

Kontrollen:

- Maus 19 g ohne Vorbehandlung 0,0005 ccm ive, nach 40 Stunden †.
 „ 16 g „ „ 0,001 ive, nach 20 Stunden †.

Hieraus ersieht man, daß durch eine einmalige Vorbehandlung mit 0,3 ccm erhitztem Gift eine Maus gegen die 1–5fache minimal tödende Dosis zu immunisieren ist. Dies ist beim Rauschbrand- Kitt- und Ödemtoxin niemals der Fall.

Ferner wurde eine Reihe Kaninchen nach der gleichen Methode immunisiert. Mittelgroße Kaninchen ertragen ohne Schaden steigende Dosen von 1–20 ccm erhitzten Filtrates intravenös. Nach 7–10 maliger Vorbehandlung zeigt das Immunserum schon eine ziemlich hohe Schutzkraft gegen das Toxin.

Versuch 2.

Maus	17 g	0,003	ccm	Toxin	– 0,1	Normal Kan. Ser.,	nach 16 Stunden	†.
..	18 g	0,002	ccm	..	– 0,1	nach 20 Stunden	†.
..	16 g	0,001	ccm	..	– 0,1	nach 20 Stunden	†.
..	16 g	0,0005	ccm	..	– 0,1	nach 40 Stunden	†.
..	16 g	0,003	ccm	Toxin	– 0,1	Immun Kan. Ser.,	lebt.	
..	15 g	0,002	ccm	..	– 0,1	lebt.	
..	14 g	0,001	ccm	..	– 0,05	lebt.	
..	13 g	0,0005	ccm	..	– 0,05	lebt.	

Kontrollen:

Maus	18 g	0,001	ccm	Toxin ohne Serum,	nach 30 Stunden	†.
..	16 g	0,0005	ccm	nach 24 Stunden	†.

Durch genaue Austitrierung ergab sich, daß 0,1 ccm des hier erhaltenen Immunserums 0,02 ccm Toxin (eine ca. 40fach letale Dosis) neutralisiert.

Einen weiteren Versuch, die Tiere mit erhitzter Vollkultur zu immunisieren, gelang mir bis jetzt noch nicht, aber es ist wohl möglich, dies unter entsprechenden Kautelen zu erreichen.

IV.

Ich habe weiter untersucht, ob dieses Toxin ein *spezifisches* ist, und zwar, ob man es von den anderen Toxinen so z. B. Kitt-(Ödem) und Foth-Rauschbrandtoxin durch Toxin-Antitoxin-Reaktion differenzieren kann, in der Tat ist dies der Fall. Hier werden diesbezügliche Versuche kurz skizziert.

Versuch 3.

Maus	16 g	0,002	ccm	Toxin	– 0,05	Immunserum,	lebt.
..	15 g	0,001	ccm	..	– 0,05	..	lebt.
..	16 g	0,02	ccm	..	– 0,1	..	lebt.
..	15 g	0,01	ccm	..	– 0,1	..	lebt.
..	15 g	0,005	ccm	..	– 0,05	..	lebt.
Maus	16 g	0,01	ccm	Toxin	– 0,1	Kitt-Immunserum,	über Nacht †.
..	17 g	0,005	ccm	..	– 0,1	..	über Nacht †.
..	16 g	0,002	ccm	..	– 0,1	..	nach 20 Stunden †.
..	17 g	0,001	ccm	..	– 0,1	..	nach 30 Stunden †.
..	16 g	0,0005	ccm	..	– 0,1	..	nach 30 Stunden †.

Maus	18 g	0,01	ccm	Toxin	+ 0,1	Foth	Kan.	Immuneserum,	über Nacht	†.
„	17 g	0,005	ccm	„	- 0,1	„	„	„	über Nacht	†.
„	15 g	0,002	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	über Nacht	†.
„	15 g	0,001	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 20 Std.	†.
„	16 g	0,0005	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 32 Std.	†.
Maus	16 g	0,005	ccm	Toxin	+ 0,1	Fränkel	Kan.	Immuneserum	über Nacht	†.
„	18 g	0,002	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 20 Std.	†.
„	15 g	0,001	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 20 Std.	†.
„	16 g	0,0005	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 30 Std.	†.
Maus	17 g	0,001	ccm	Toxin	+ 0,1	Normal	Kan.	Serum	nach 20 Stunden	†.
„	16 g	0,0005	ccm	„	+ 0,1	„	„	„	nach 40 Stunden	†.

Was die Frage anlangt, zu welcher Bakterienart dieser Bacillus zu rechnen ist, so möchte ich heute nur auf folgendes hinweisen.

Er unterscheidet sich von dem Rauschbrand- und Ödembacillus morphologisch in der Größe, Gestalt, Bewegungsweise, biologisch in der Kolonieforn und in dem Wachstum auf Nährböden (er wächst auf Blutplattenagar fast gar nicht), außerdem ist sein Verhalten in pathologischer Beziehung insofern von dem letzteren verschieden, als bei ihm eine stärkere Intoxikationserscheinung in den Vordergrund tritt.

Ferner ist er von den von *Hibler* beschriebenen Bakterienarten VI, VII, IX, XI, XV zu unterscheiden. Art IX und XV zeigen keine pathogene Wirkung für Meerschweinchen und Kaninchen. Sie gehören zu der Putrifikusgruppe. Bei Art XI zeigt sich eine höhere Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzung (über eine Stunde bei Siedepunkt), während die Sporen der übrigen Arten der Erhitzung (8 Minuten im strömenden Dampf) einen bedeutend schwächeren Widerstand leisten als die des hier beschriebenen Bacillus. Ferner findet man bei den Arten VI, VII und XI keine Verflüssigung der Gelatine.

Von dem Bacillus botulinus unterscheidet er sich dadurch, daß letzterer Hirnbrei schwärzt, außerdem weisen seine Sporen sowie die des Novybacillus und die der Art XI eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze auf.

Er unterscheidet sich von den von *Klein* beschriebenen Bacillus enterit. sporogenes und Bacillus cadaver. sporog. durch Sporenresistenz, denn die Sporen dieser Stämme wurden nach *Hibler* durch 8 Minuten langes Kochen vernichtet.

Von dem Bacillus phlegm. emphys. Fränkel unterscheidet er sich durch Begeißelung, Beweglichkeit und Sporulation, außerdem bildet jeder von ihnen ein besonderes spezifisches Toxin.

Nach allem hier Erwähnten ist der in Frage kommende Bacillus nicht nur morphologisch, biologisch und in der Tierpathogenität eine besondere Bakterienart, sondern und vor allem bildet er auch ein spezifisches Toxin, welches nur durch homologes Serum neutralisiert wird.

Bei der Unsicherheit, die auf dem Gebiete der Anaeroben in Identifizierungsfragen herrschte und noch heute herrscht, ist es ein großer Fortschritt, daß durch die bei den Gasödemerregern von *v. Wassermann*, *Ficker*, *Klose* u. a. geübten Toxin-Antitoxinversuche Möglichkeiten der Identifizierung gegeben wurden. Auch im vorliegenden Falle hat sich dies Vorgehen unter Berücksichtigung der morphologischen, biologischen und tierpathogenen Eigenschaften bestens bewährt.

Zusammenfassung.

1. Es wurde ein Bacillus aus dem Fleisch eines an Rauschbrand eingegangenen Rindes isoliert, der eine, dem Rauschbrand ähnliche Erkrankung hervorruft und in den morphologischen, biologischen und tierpathogenen Eigenschaften sich von den bisher beschriebenen pathogenen Bakterienarten unterscheidet.

2. Er bildet in verschiedenen Nährmedien ein hochwirksames Toxin, das spezifisch ist.

3. Durch geeignetes Verfahren kann man mit dem Toxin aus dem Tierkörper ein spezifisches Antitoxin gewinnen.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ *Weinberg* und *Séguin*, La gangrène gazeuse. Paris, Masson 1918. —
²⁾ *Ficker*, *M.*, Med. Klinik 1917, S. 1181. — ³⁾ *v. Hibler*, Untersuchungen über die path. Anaeroben. G. Fischer, Jena 1908. — ⁴⁾ *Zeissler*, *J.*, Menschliche Wundinfektionen und Tirsseuchen. R. Schoetz, Berlin 1920. — ⁵⁾ *Kolle-v. Wassermann*, Handbuch d. path. M. Bd. 4. 1912. Die Kapitel: Mal. Ödem, Gasbrand, Bac. botulinus.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
[Direktor: Prof. *Hahn*].)

Über die Prüfung von Desinfizientien.

Von
Dr. med. vet. **Alfred Müller.**

Die Prüfung der Desinfizientien an Bakterien durch *Koch*¹⁾ und eine große Anzahl Forscher nach ihm beruhte hauptsächlich auf der Annahme einer chemischen Wirkung des Desinfiziens auf den Bakterienleib. Die ursprünglich glänzenden Resultate gründeten den Antisepticas einen Ruf, der, wie später immer mehr verfeinerte Methoden einwandfrei zeigten, lediglich auf der zu primitiven Versuchsanordnung beruhte. So mußten die jüngsten Untersuchungen sogar feststellen, daß das als Desinfiziens bisher im Vordergrund stehende Sublimat, soweit es als keimtötendes Mittel in Betracht kommt, sporenbildenden, pathogenen Keimen (Milzbrand) gegenüber nahezu vollständig versagen kann.

Ein wenig beachteter Versuch, den *Geppert*²⁾ 1889 anstellte, bildete die Grundlage für die Zweifel an der für so sicher angenommenen chemischen Einwirkung der Desinfizientien. Er nahm als erster eine chemische und physikalische Entgiftung der Testbakterien vor und konnte als Resultat seiner Untersuchungen folgenden Satz aufstellen: „Die Sporen sind noch infektiös zu einer Zeit, wo sie künstlichen Nährböden gegenüber schwere Wachstumsschädigungen zeigen.“ *M. v. Gruber*³⁾ machte 1891 die Entgiftung der Testbakterien vor der Verimpfung auf das Versuchstier oder den künstlichen Nährboden zur unerläßlichen Versuchsbedingung, eine Methode, mit der spätere Untersucher, wie *Gegenbauer*⁴⁾, *Ottolenghi*⁵⁾, *Croner* und *Naumann*⁶⁾, *Krönig* und *Paul*⁷⁾, *Alfred Müller*⁸⁾, *Engelhardt*⁹⁾ Abtötungszeiten erreichten, die die Annahme einer chemischen Veränderung der Bakterien durch das Sublimat sehr in Frage stellten. Denn wenn eine 0,1 proz. Sublimatlösung in 100 Tagen (*Gegenbauer*¹⁰⁾ und eine 5 proz. Sublimatlösung in 21 Tagen (*Alfred Müller*¹¹⁾ Milzbrandsporen abzutöten nicht vermag, so kann bei der kurzdauernden Einwirkung der praktischen chirurgischen Desinfektion zum mindesten die chemische Einwirkung nur eine untergeordnete Rolle spielen.

In der Tat gelang es *Süpfle* und *Müller*¹²⁾, sowie *Engelhardt*¹³⁾ nachzuweisen, daß die Adsorption bei der Aufnahme des Sublimats durch die corpusculären Bakterien von wesentlicher Bedeutung ist. Durch stärkere Adsorbentien (Tierblutkohle) gelingt es, die Keime wieder vom adsorbierten Sublimat unter geeigneten Bedingungen zu befreien und ihre Entwicklungsfähigkeit wieder herzustellen.

War so die Mechanik der Desinfektion, also die Wechselbeziehungen zwischen Desinfiziens und Keim, für den Beobachter in ein neues Licht gerückt, so lag der Gedanke nahe, unter diesen neuen Gesichtspunkten das Verhalten des Tierkörpers den pathogenen „andesinfizierten“ Keimen gegenüber zu prüfen, eine Untersuchung, die ich auf Veranlassung von *M. Hahn* nachstehend ausgeführt habe.

Versuche.

Als Versuchstiere wurden Mäuse gewählt; als Testbakterien Milzbrandsporen Stamm Freiburg und Berlin, als Desinfiziens 0,1 proz. Sublimatlösung. Die Versuchsanordnung wurde nach manchen vergeblichen Versuchen wie folgt festgesetzt:

Versuch 1.

Acht Petrischalen einer auf Weizenextraktagar nach 72 Stunden versporteten Milzbrandkultur werden mit 10 ccm einer 0,5 proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt, filtriert und je 1 ccm Sporensuspension mit 1 ccm einer 0,2 proz. Sublimatlösung desinfiziert. Eine Kontrollmaus wird mit unbehandelten Sporen infiziert und ist nach 10 Stunden an Milzbrand tot.

Nach einer Desinfektionszeit von 48 Stunden wird ein Röhrchen des Desinfektionsgemisches mit 50 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung zentrifugiert und die überstehende klare Flüssigkeitsmenge abgegossen. Vom Sporenniederschlag werden 0,4 ccm einer Maus intraperitoneal verimpft. Die Maus bleibt leben. Bouillonkultur aus dem Sporenniederschlag negativ.

Die Desinfektion war entweder genügend oder die Entgiftung durch Waschen mit 50 ccm NaCl-Lösung ungenügend.

Versuch 2.

Die zu prüfende Milzbrandkultur ist 4 Tage alt, auf Weizenextraktagar gut versport. Die Herstellung der Sporensuspension geschieht wie bei Versuch 1, ebenso die Desinfektion mit 0,2 proz. Sublimatlösung. Nach einer Desinfektionsdauer von 3 Tagen wird die Entgiftung mit 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen. Die Versuchsm Maus „a“ erhält 0,5 ccm Sporenniederschlag intraperitoneal. Sie bleibt am Leben.

Bei einer weiteren Maus „b“ gelangt das gleiche Desinfektionsgemisch nach der gleichen Desinfektionszeit von 3 Tagen zur Anwendung; jedoch wird beim Waschen der Sporen in 100 ccm Wasser $\frac{1}{2}$ g Tierblutkohle hinzugefügt. Vom Niederschlag werden 0,5 ccm der Maus „b“ intraperitoneal verimpft. Nach 16 Stunden ist die Maus tot.

Die Ausstriche aus Milz- und Lebertumor zeigen im Mikroskop Milzbrandfäden. Ein Milzabstrich auf Schrägagar ergibt Milzbrand in Reinkultur.

Die Kontrollmaus dieses Versuches war nach 16 Stunden tot. Bouillonkultur des Testmaterials von Maus „a“ und „b“ gehen *nicht* an.

Versuch 3.

Das Bakterienmaterial besteht aus einer dreimal 24 Stunden versporteten Milzbrandkultur. Zur Abschwemmung von 8 Petrischalen werden 10 ccm destill. Wasser verwendet; zur Desinfektion 0,2 proz. Sublimatlösung bei gleichen Mengen Sporensuspension und Desinfektionsflüssigkeit. Die Dauer der Desinfektion beträgt 30 Stunden, darauf werden die Desinfektionsgemische nach den folgenden Methoden gewaschen und abzentrifugiert.

a) 2 ccm Desinfektionsgemisch + 100 ccm 0,5 proz. NaCl-Lösung. Je 0,4 ccm des Sporenniederschlag werden verimpft an Maus 1 und 2.

Maus 1 tot nach 8 Stunden. Milzbrand.

Maus 2 tot nach 30 Stunden. Milzbrand.

Bouillonkultur aus dem Niederschlag negativ.

b) 2 ccm Desinfektionsgemisch + 100 ccm 0,5 proz. NaCl-Lösung + 0,5 g Tierblutkohle Merk.

Je 0,4 ccm des Niederschlages werden verimpft an Maus 1 und 2.

Maus 1 tot nach 10 Stunden. Milzbrand.

Maus 2 tot nach 30 Stunden. Milzbrand.

Bouillonkultur aus dem Niederschlag negativ.

c) 2 ccm Desinfektionsgemisch + 100 ccm 0,5 proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 0,8 proz. Schwefelammoniumlösung.

Je 0,4 ccm des Niederschlages werden verimpft an Maus 1 und 2.

Maus 1 tot nach 30 Stunden. Milzbrand.

Maus 2 tot nach 42 Stunden. Milzbrand.

Bouillonkultur aus dem Niederschlag negativ.

d) 2 ccm Desinfektionsgemisch + 50 ccm Rinderblutserum.

Je 0,4 ccm des Niederschlages wird verimpft an Maus 1 und 2.

Maus 1 lebt.

Maus 2 lebt.

Bouillonkultur negativ.

Schluß aus Versuch 2 und 3. Durch 100 ccm 0,5 proz. NaCl-Lösung gelingt es das Sublimat so weit auszuwaschen, daß zwar kein Wachstum auf Bouillon, wohl aber im Tierkörper erfolgt. Das Resultat wird durch Zusatz von quecksilberbindenden Körpern $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ Tierblutkohle nicht geändert. Dagegen scheint das Waschen mit Rinderblutserum, wahrscheinlich wegen der geringeren Löslichkeit des Sublimats im Serum, das Sublimat nicht so weit aus den Bakterien zu entfernen, daß sie wieder tierpathogen werden. Ein zweiter Versuch mit Rinderblutserum verlief durchaus im gleichen Sinne.

Auffällig ist der häufig sehr schnell eintretende Tod der Versuchstiere, der vielleicht auf eine Mitwirkung der Giftstoffe von abgetöteten Bakterienleibern hinweist, die bei diesen Versuchen mit großen Bakterienmengen nicht auszuschalten ist. Kleine Mengen von Bakterien sind aber bekanntlich bei diesen Versuchen nicht brauchbar, weil sonst die Verluste beim Waschen zu groß werden. Dagegen ist eine giftige Mitwirkung des Desinfiziens bei der geringen Menge von stark verdünnter (2 : 100 000) Waschflüssigkeit, die den zentrifugierten Bakterien noch anhaftet, nur

denkbar in der Weise, daß das im Tierkörper von den Bakterien an die Säfte wieder abgegebene Sublimat einen beschleunigenden Einfluß auf den Eintritt des Todes ausübt. Immerhin kann die an das Blut aus diesem Giftdepot abgegebene Menge von Sublimat nach den Waschversuchen mit Rinderblutserum in der Zeiteinheit nicht sehr groß sein (siehe Versuch 3, Tier d). Sie genügt keinesfalls zur Tötung der Tiere, die angesichts des positiven Milzbrandbefundes nur auf das Überleben scheinbar abgetöteter Sporen zurückgeführt werden kann.

Resultat: Die Prüfung der Desinfektionsmittel darf nach den obigen und früheren Resultaten nicht auf die Nachkultur in künstlichen Nährboden beschränkt bleiben. Es ist vielmehr zu fordern, daß der Tierversuch mit desinfizierten und gewaschenen Bakterien in viel größerem Umfange als bisher zur Prüfung herangezogen wird, dabei darf in erster Linie nicht die Methode der künstlichen Wundinfektion (*Morgenroth* usw.) als entscheidend angesehen werden, bei der mannigfache Zufälligkeiten eine Rolle spielen können, sondern die sicherste Infektionsmethode, d. h. die subcutane oder intraperitoneale, und der sicherste Endeffekt, nämlich Leben oder Tod des Versuchstieres.

Literaturverzeichnis.

¹⁾ Koch, R., Mitt. a. d. Kais. Gesundheitsamt 1. 1881. — ²⁾ Geppert, Berl. klin. Wochenschr. 1889—1891. — ³⁾ Gruber, M. v., VII. Internat. Kongreß. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 11, 115. — ⁴⁾ Gegenbauer, Arch. f. Hyg. 87. — ⁵⁾ Ottolenghi, Zeitschr. f. Desinfektion 1908—1911. — ⁶⁾ Croner und Naumann, Dtsch. med. Wochenschr. 1911. — ⁷⁾ Krönig und Paul, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 25. 1897. — ⁸⁾ Müller, Alfred, Arch. f. Hyg. 89. — ⁹⁾ Engelhardt, Arch. f. Hyg. 90. — ¹⁰⁾ Gegenbauer, l. c. — ¹¹⁾ Müller, Alfred, l. c. — ¹²⁾ Süpfle und Müller, Arch. f. Hyg. 89. — ¹³⁾ Engelhardt, l. c.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Geheimrat *Hahn*].)

Der Nachweis der Abtötung durch Kultur und Tierversuch bei mit Hitze behandelten Bakterien.

Von
Leo Bleyer.

Die Reversibilität chemischer Schädigungen der Bakterien im Stadium adsorptiver Anreicherung des betreffenden Desinfektionsmittels war schon seit längerem Gegenstand zahlreicher eingehender Untersuchungen. Von den in neuerer Zeit erschienenen Arbeiten sei insbesondere auf *Süpfle* und *Müller*¹⁾, *Süpfle* und *Dengler*²⁾, *Gegenbauer*³⁾ und *Bruno Lange*⁴⁾ verwiesen, welche die Notwendigkeit eines möglichst restlosen Entzuges bzw. Entgiftung des Desinfektionsmittels vor der Aussaat und der Verwendung optimaler Nährböden für die Beurteilung des Desinfektionserfolges überzeugend klar gelegt haben, ferner auf die zusammenfassende Abhandlung von *Hahn*⁵⁾. In letzterer sind Versuche *Müllers* und *Rodewalds* erwähnt, welche den Parallelismus zwischen Wachstum im Tierkörper und auf den künstlichen Nährmedien nach Behandlung der Bakteriensuspensionen mit Sublimat, Carbolsäure und Trypaflavin prüften und in einzelnen Fällen Inkongruenzen zwischen beiden in dem Sinne fanden, daß die Tiere der Infektion erlagen, die künstliche Kultur aber nicht gelang. Zur Ergänzung dieser Ergebnisse schien es notwendig, auch bei physikalischer Schädigung der Bakterien in Form von Hitze zu untersuchen, ob dieselbe im Tierkörper in Analogie mit den chemischen Einwirkungen eine Rückbildung erfährt und eine Erholung der evtl. nur scheinototen, auf künstlichem Wege nicht mehr vermehrungsfähigen Bakterien stattfindet. Im folgenden werden orientierende Versuche, die auf Veranlassung des Herrn Geheimrat *Hahn* in dieser Richtung ausgeführt wurden, in Kürze mitgeteilt.

Als Testobjekt dienten in Anbetracht ihrer ziemlich konstanten Virulenz für Mäuse Streptokokken. Die 24stündigen Serumbouillonkulturen wurden nach gründlicher Durchschüttelung in homogener

¹⁾ Arch. f. Hyg. **89**, 351 und 363.

²⁾ Arch. f. Hyg. **85**, 189 und **87**, 232.

³⁾ Arch. f. Hyg. **86**, 289.

⁴⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, Heft 1, S. 82.

⁵⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **98**, 569.

Trübung auf mehrere Röhrcchen abgefüllt und sodann im Wasserbade 1 Stunde hindurch verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Nach erfolgter Abkühlung und Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung zu gleichen Teilen wurde von den einzelnen Proben 0,5 ccm einer weißen Maus subcutan am Rücken injiziert und die zur künstlichen Nachkultur bestimmten Nährböden mit demselben Material in gleicher Menge wie die Tiere beimpft. Um der Lebensfähigkeit der eingesäten Keime ganz sicher zu sein, wurde von dieser ersten Kultur nach 1—2 Tagen noch eine zweite angelegt. Die mikroskopische Untersuchung der gestorbenen Mäuse wurde an Milz (M), Leber (L) und Herzblut (H) vorgenommen, die Weiterzüchtung aus den inneren Organen in Serumbouillon. Verlauf und Ergebnis der Versuche erhellen ohne weiteres aus der Tabelle.

Streptokokken Nr.	Erhitzung auf	Tier gestorben nach	Mikroskop. Befund			Kultur aus dem Tier	Künstliche Kultur	
			L	M	H		1.	2. (Sub-)
(1) 73	K (20°)	12 Std.	+	+	+	+		
	60°	lebt nach 14 Tagen	+	+
	65°	36 Std.	+	+	+	-	+	+
(2) 94	K (20°)	36 Std.	+	+	+	+	.	.
	50°	24 "	+	+	+	+	+	.
	56°	4 Tagen	+	+	+	+	+	.
(3) 97	K	7 Tagen	+	+	-	+	.	.
	60°	lebt nach 14 Tagen	+	.
	65°	lebt nach 14 Tagen	+	.
(4) 73	K *)	36 Std.	-	+	+	+	.	.
	50°	3 Tagen	-	+	+	+	.	.
	56°	36 Std.	-	+	+	+	.	.
	60°	lebt nach 14 Tagen
	65°	lebt nach 14 Tagen
(5) 73	K	16 Std.	+	+	+	+	+	.
	50°	48 "	+	+	+	+	+	.
	56°	60 "	+	+	-	+	+	.
	60°	48 "	-	+	+	+	+	.
	70°	60 "	+	+	-	+	+	.
(6) 73	K	18 Std.	+	+	-	+	.	.
	80°	lebt nach 14 Tagen
	75°	lebt nach 14 Tagen
	70°	3 Tagen	+	+	+	+	.	.
	65°	2 "	+	+	+	-	+	.

*) Auf gewöhnlicher Bouillon gewachsen.

Zunächst schwankte die Temperaturhöhe, bei der sich die virulenzvermindernde Wirkung geltend macht, in den einzelnen Versuchen nicht

unerheblich. So schützte in Fall 1 Erwärmung der Suspension auf 60° das eine Tier bereits vor dem Tode, während das andere trotz höherer Erhitzung auf 65° der Infektion erlag. Auch in anderen Versuchen zeigten sich solche Schwankungen, indem Tiere mit höher erhitzten Aufschwemmungen früher starben als solche mit niedriger erhitzten. Die Ursache dafür mag darin liegen, daß jede Kultur Keime verschiedenen Alters und ungleicher Lebendstüchtigkeit und damit auch verschiedener Resistenz gegen schädigende Einflüsse von außen enthält, und es innerhalb der angewandten relativ niedrigen Temperaturen nicht möglich war, den Tieren Gemische von in ihrer Vitalität gleichmäßig veränderten Bakterien einzuverleiben.

In keinem Fall aber erlagen die Tiere der Infektion, ohne daß nicht auch die künstliche Nachkultur bei Verwendung optimaler Nährböden gelungen wäre. Die Wichtigkeit letzterer zeigen eindringlich Versuch 4 und 5, bei denen die bloße Aussaat auf gewöhnliche Bouillon eine künstliche Wachstumsunfähigkeit und Wiederbelebung im Tierkörper vortäuscht hätte. Dieses Ergebnis steht nicht im Einklang mit einer älteren Angabe *Gotschlichs*¹⁾, der von Erhitzungsversuchen mit Pestbacillen berichtete, daß zuweilen trotz negativen Kulturresultates die Virulenz für das Tier erhalten blieb. Den Begriff des „optimalen“ Nährbodens erörtert er dabei allerdings nicht. Der Grund, warum in einigen Fällen seine Nachkulturen steril blieben, dürfte abgesehen von der Verschiedenheit des Testmaterials gegenüber unseren Versuchen wohl darin zu suchen sein, daß er es unterließ, die günstigsten Züchtungsbedingungen für sein Virus zu ermitteln und sich mit gewöhnlicher Bouillon begnügte.

1) Handbuch Kolle-Wassermann Bd. III, S. 450. 1913.

(Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung der Elektro-Osmose-Gesellschaft Berlin.)

Über die Immunisierung gegen Schweinerotlauf mit einem neuen keimfreien Impfstoff und über Schweinerotlaufserum.

Von

Prof. W. G. Ruppel und Dr. O. Ornstein.

Alle Bestrebungen, den Rotlauf der Schweine durch Schutzimpfungen mit spezifischen Mitteln zu bekämpfen, gründen sich auf die alte Erfahrung, daß das Überstehen einer Infektionskrankheit Immunität hinterläßt. Man war deshalb bemüht, bei gesunden Schweinen durch künstliche Infektion mit lebenden Erregern vorübergehend Krankheit zu erzeugen. *Louis Pasteur* war der erste, der diesen Weg beschritt. Für den Rotlauf der Schweine wählte er als Abschwächungsmittel Passagen durch den Organismus von Tauben und Kaninchen, wodurch zwar eine Steigerung der Virulenz für diese Tierarten, aber eine Abschwächung der Pathogenität der Kulturen für Schweine erreicht wurde. Die abgeschwächten Kulturen benutzte er zur Herstellung sog. Vaccins, welche den Schweinen eine Grundimmunität verleihen sollten, um sie gegen die nachfolgenden Infektion mit vollvirulenten Rotlaufbacillen zu festigen.

Was die Abschwächung der Kulturen anbelangt, so bestand dieselbe aus einer qualitativen oder funktionellen Abschwächung, welche sich lediglich auf eine Verminderung der Pathogenität beschränkte, während die Entwicklungsfähigkeit der Keime voll erhalten blieb. In dieser Beziehung unterscheidet sich die Arbeitsweise *Pasteurs* prinzipiell von den Bestrebungen späterer Autoren, welche zur Abschwächung der Rotlaufkulturen chemische oder thermische Mittel wählten. Nach der Arbeitsweise dieser Autoren wurden Kulturen erhalten, die nur in quantitativer Beziehung als abgeschwächte anzusprechen waren, indem in den resultierenden Kulturmassen teilweise abgestorbene, teilweise lebende Krankheitserreger enthalten waren. Von den auf diesem Wege hergestellten Impfstoffen sei an dieser Stelle nur das Porkosan erwähnt, bei welchem die Abschwächung der Kulturen durch die Einwirkung von Glycerin erzielt worden war. Sowohl

das *Pasteursche* Verfahren wie auch jene Methoden, welche auf chemischem oder thermischem Wege abgeschwächtes Material zur Herstellung von Impfstoffen verwendeten, haben bei der Bekämpfung des Rotlaufes der Schweine nur vorübergehend eine Rolle gespielt, denn es zeigte sich sehr bald, daß die Anwendung derartiger Impfstoffe mit direkten Gefahren für die zu impfenden Schweine verbunden war, und zwar namentlich deshalb, weil man den Grad der Abschwächung der Kulturen nicht genau zu kontrollieren vermochte. Die Mißerfolge, welche man beobachtete, bestanden infolgedessen einestheils in direkten Verlusten infolge der Impfung, andererseits aus Verlusten an Schweinen, welche durch die Vorbehandlung ungenügend immunisiert waren und infolgedessen der natürlichen Ansteckung nicht zu widerstehen vermochten. Verdrängt wurden diese älteren Methoden durch das zunächst von *Leclainche* vorgeschlagene und später hauptsächlich von *Lorenz* propagierte Verfahren einer kombinierten Schutzimpfung mit spezifischem Immunserum und lebender Rotlaufkultur. Das Prinzip, auf welches sich die *Lorenzsche* Schutzimpfung gründete, weicht von den theoretischen Grundlagen der älteren Impfmethode nicht ab; auch dieses neuere Verfahren bezweckt eine leichte Erkrankung der zu impfenden Schweine und erreicht die Abschwächung der Infektion dadurch, daß es die Widerstandsfähigkeit der zu impfenden Tiere durch die Einverleibung von spezifischem Serum erhöht. Auch gegen das *Lorenzsche* Verfahren wurden im Laufe der Jahre recht lebhaft Bedenken geäußert; erinnert sei an dieser Stelle nur an die durch die Arbeiten von *Voges* und *Schütz* hervorgerufene Polemik. Diese beiden Autoren unterzogen das *Lorenzsche* Verfahren einer eingehenden experimentellen Kritik. Sie wendeten gegen das Verfahren hauptsächlich ein, daß das richtige Verhältnis von Serum und Kultur nur mit großer Schwierigkeit festgestellt werden kann, denn die Resistenz des Organismus darf ja durch die Einverleibung des Serums nur bis zu einem gewissen Grade erhöht werden, um durch die lebende Kultur noch Krankheitserscheinungen auslösen zu können, welche zur Immunität führen sollen. Außerdem warnen *Voges* und *Schütz* vor der Verwendung lebender Keime als Impfschutzmittel, weil hierdurch eine Propagierung des Rotlaufes in an sich seuchefreien Gebieten hervorgerufen werden kann. *Voges* und *Schütz* kommen deshalb zu dem Schluß, daß das Ideal der Bekämpfung des Schweinerotlaufes in der Anwendung eines vollkommen keimfreien Impfstoffes zu suchen wäre.

Auch *Rickmann* bekämpft das *Lorenzsche* Verfahren, indem er hauptsächlich auf die Möglichkeit der Verschleppung des Rotlaufes hinweist und auf Grund von statistischen Angaben nachweist, daß das *Lorenzsche* Verfahren mit Recht für die Zunahme des Rotlaufes

unter den Schweinebeständen Deutschlands verantwortlich gemacht wird.

Überblickt man die statistischen Angaben, welche über die Erfahrungen mit dem *Lorenz*schen Verfahren vorliegen, so findet man, daß tatsächlich über sehr zahlreiche Mißerfolge dieser Impfmethode berichtet wird, welche bei der Abschätzung des Wertes der Methode recht bedenklich stimmen müssen. Die Mißerfolge bestehen entweder in Verlusten an Schweinen im unmittelbaren Anschluß an die Impfung, wodurch angedeutet wird, daß der durch das Serum verliehene passive Schutz nicht genügte, um die durch die gleichzeitig verimpfte Kultur hervorgerufene Krankheit genügend einzuschränken, die Mißerfolge bestanden ferner in Verlusten durch die natürliche Infektion und bewiesen, daß der durch Serum und Kultur verliehene Impfschutz nicht immer den erhofften Erfolg einer langdauernden Immunisierung hat. Die Mißerfolge beruhten schließlich auf der Aktivierung latenter anderweitiger Krankheitsprozesse, wie der Schweineseuche und der Schweinepest.

Erinnert sei hier an die Berichte von *Jost* und *Helpers* über die in den Jahren 1897—1899 vorgenommenen Schutzimpfungen an 217 376 Schweinen; von welchen nicht weniger als 92 Schweine an Rotlauf und 40 Schweine an anderen Krankheiten unmittelbar nach der Impfung verendeten, während trotz der Impfung 126 Schweine der natürlichen Infektion mit Rotlauf zum Opfer fielen.

Es sei ferner auf die Veröffentlichungen aus den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens hingewiesen, in welchen namentlich in dem Jahrgang 1911 zahlreiche Mißerfolge des *Lorenz*schen Impfverfahrens mitgeteilt wurden; aus den Berichten sei folgendes Beispiel herausgegriffen:

Im Kreise Rosenberg wurden auf einem Gute 84 Schweine mit Serum und Kultur geimpft, 80 dieser Tiere erhielten 14 Tage später zur Verlängerung des Impfschutzes noch eine zweite Kulturimpfung. Diese 80 Schweine erkrankten sämtlich zwischen dem 2. und 4. Tage infolge der Nachimpfung. Trotzdem sofort Serum zu Heilzwecken angewendet wurde, verendeten nicht weniger als 31 Tiere. Ein weiterer Mißerfolg wurde im Kreise Friedland beobachtet, wo von 54 geimpften Schweinen 36 Tiere 5 Tage später an akutem Rotlauf erkrankten; 2 der Tiere verendeten trotz weiterer Serumbehandlung, während alle übrigen Tiere in kachektisches Siechtum verfielen.

Dies sind nur einige Beispiele für die zahlreichen Mißerfolge und Zufälligkeiten, welche durch die Anwendung des *Lorenz*schen Impfverfahrens eintreten können. Sie gipfeln, um es noch einmal zu wiederholen, stets in der Gefahr einer direkten Infektion, also in dem Auftreten von sog. Impftrotlauf, in dem Versagen des Impfschutzes und damit zusammenhängenden Verlusten an natürlichem Rotlauf, in dem Akutwerden latenter Infektionen (Schweineseuche und Schweinepest) und schließlich in der nicht von der Hand zu weisenden Tatsache, daß durch die Anwendung lebender Kulturen

eine Propagierung des Rotlaufes in an sich seuchefreien Gebieten veranlaßt werden kann.

Ein weiteres Bedenken gegen die Anwendung lebender Rotlaufkulturen liegt in der Tatsache, daß das Manipulieren mit diesem Infektionsstoffe eine Gefahr für das Leben und die Gesundheit der impfenden Tierärzte und der als Helfer zugezogenen Personen bedingt. Es sind gerade in der letzten Zeit mehrfach Fälle von Infektionen mit Schweinerotlauf beim Menschen beobachtet worden, die zwar in den meisten Fällen nur lokalen Charakter hatten und durch die Anwendung von hochwertigen Immunsereen prompt bekämpft werden konnten; es sind aber auch Fälle bekannt, in welchen trotz der Anwendung von Serum chronische Erkrankungen entstanden, welche zu ernsthaften Störungen der Gesundheit der betr. Patienten führten. Auch tödlich verlaufende Fälle sind bekannt.

Es ist gegen das *Lorenzsche* Schutzimpfverfahren wiederholt der Vorwurf geltend gemacht worden, daß es vor seiner Einführung in die Praxis nicht genügend experimentell begründet worden sei. Dieser offenbare Mangel an experimentellen Grundlagen findet z. T. durch die Tatsache eine Erklärung, daß die künstliche Infektion von Schweinen mit Rotlauf nur ausnahmsweise gelingt, und zwar versagen in dieser Beziehung nicht nur subcutane und intravenöse Verimpfungen, sondern auch Fütterungen mit Kulturmaterial, welches für andere Versuchstiere, wie Mäuse und Kaninchen, bei parenteraler Einverleibung stark pathogen ist. Im Anschluß an diese Tatsache muß auch an die Befunde von *Olt* erinnert werden, welcher in den Tonsillen und im Darminhalt vollkommen gesunder Schweine aus verseuchten Gegenden regelmäßig für Mäuse pathogene Rotlaufbacillen nachweisen konnte.

Wie lassen sich nun mit diesen Befunden, die bei der praktischen Anwendung der *Lorenzschen* Simultanimpfung so häufig beobachteten Fälle von Impfrotlauf und von Krankheitsfällen erklären, die 2 bis 3 Wochen nach der Serum- und Kultur-Einspritzung erfolgen?

Wir glauben, daß eine Reihe von uns, allerdings bei Mäusen gemachte Beobachtungen zur Aufklärung dieser an sich rätselhaften Erscheinungen beitragen kann.

Zum Verständnis unserer Versuche muß vorausgeschickt werden, daß es nicht gelingt, unvorbehandelte Mäuse durch enterale Einverleibungen an sich virulenter Rotlaufbacillen erfolgreich zu infizieren. Mäuse, denen wir Kulturmengen per os beibrachten, die bis zu 10 ccm üppig gewachsener Bouillonkultur entsprachen, blieben regelmäßig am Leben, ohne auch nur die geringsten Krankheitssymptome zu zeigen. Wir wurden nun durch eine mehr zufällig gemachte Beobachtung darauf hingewiesen, daß es gelingt, Mäuse für enterale

mit einem neuen keimfreien Impfstoff und über Schweinerotlaufserum. 105

Infektion mit lebenden Rotlaufkeimen durch geeignete Vorbehandlung empfänglich zu machen, also für diesen Infektionsmodus zu sensibilisieren:

Acht Mäuse hatten subcutane Injektionen reichlicher Mengen von Aufschwemmungen durch Hitze abgetöteter Rotlaufbacillen in physiologischer Kochsalzlösung erhalten. Vier von diesen vorbehandelten Tieren wurden 15 Tage später mit 0,001 ccm Rotlaufbouillonkultur gleichzeitig mit zwei Kontrollmäusen intrap. infiziert. Alle vorbehandelten Tiere, die infizierten und die nichtinfizierten, verblieben während des Versuches in demselben Glase. Die absichtlich infizierten Mäuse verendeten 1—2 Tage früher als die Kontrolltiere, wodurch sich bei diesen Tieren eine auf die Vorbehandlung zu beziehende erhöhte Empfänglichkeit für die Rotlaufinfektion dokumentierte. Aber auch die nicht absichtlich infizierten, aber gleichfalls mit dem abgetöteten Material vorbehandelten Mäuse erlagen 4—8 Tage später einer typischen Rotlaufinfektion. Die letztere konnte nur auf enteralem Wege, und zwar durch die Aufnahme der notorisch bacillenhaltigen Exkremente der an Rotlauf erkrankten Tiere, entstanden sein.

Im weiteren Verfolg dieser Überlegung erhielten je zwei Mäuse subcutane Injektionen von 0,5 bzw. 0,1 bzw. 0,05 ccm eines bestimmten auf elektro-osmotischem Wege hergestellten Impfstoffes, über dessen spezielle Qualitäten wir später noch eingehend berichten werden. 15 Tage nach der Vorbehandlung wurden an alle Tiere lebende Rotlaufbacillen verfüttert. Die Tiere, welche mit 0,5 resp. mit 0,1 ccm des Impfstoffes vorbehandelt waren, verendeten innerhalb 3—6 Tagen nach der Fütterung an typischem Rotlauf, während die Tiere, die nur 0,05 ccm des Impfstoffes erhalten hatten, am Leben blieben und keinerlei Krankheitssymptome aufwiesen.

Bei einer weiteren Versuchsreihe erhielten drei Mäuse subcutane Injektionen von 0,02 bzw. 0,01 bzw. 0,001 ccm eines spezifischen Pferderotlaufserums, von welchem 0,01 ccm Mäuse gegen die nachfolgende intraperitoneale Infektion mit 0,01 ccm virulenter Kultur zu schützen vermochte. Drei weitere Mäuse wurden mit 0,3 bzw. 0,1 bzw. 0,05 ccm eines von uns nach besonderer Methode hergestellten Kaninchenserums, dessen schützende Dosis 0,3 ccm betrug, subcutan injiziert. 15 Tage nach dieser Vorbehandlung wurden alle sechs Mäuse mit Rotlaufbouillonkultur gefüttert; von den sechs Mäusen erlagen drei der Infektion, und zwar die Tiere, welche die durch den Tierversuch ermittelten Schutzdosen oder mehr Serum erhalten hatten.

Aus diesen Versuchen müssen wir den Schluß ziehen, daß sowohl bei ungenügender aktiver, wie auch bei abklingender passiver Immunität ein Stadium im Organismus der Tiere vorhanden ist, in welchem

sie für die enterale Infektion mit Rotlauf empfänglich sind. Es ergibt sich hieraus ohne weiteres, daß die *Lorenzsche* Simultanmethode, aber auch die Anwendung von Serum als Schutzmittel ohne die gleichzeitige Verwendung von Kultur mit nicht unbeträchtlichen Gefahren für die geimpften Schweine verbunden sind. Diese Gefahr erstreckt sich aber auch auf die im gleichen Bestande befindlichen nichtgeimpften Tiere. Durch die Simultanimpfung werden die Schweine zu Bacillenträgern und Bacillenausscheidern, wodurch sie alle jene Schweine gefährden würden, bei denen durch irgendwelche Momente jenes Stadium erhöhter Empfänglichkeit vorhanden ist, welches wir bei Mäusen künstlich hervorzubringen vermochten.

Die Immunisierung von Mäusen mit lebenden Rotlaufkulturen.

Um einen Einblick in das Wesen der *Lorenzschen* Schutzimpfung zu erhalten, mußte zunächst die Frage experimentell entschieden werden, ob es überhaupt gelingt, Tiere mit lebenden Rotlaufkulturen mit einiger Sicherheit zu immunisieren.

Für die Beantwortung dieser Frage standen uns zwei Wege zur Verfügung: Einmal konnten Mäuse mit abgestuften Verdünnungen lebender Bouillonkulturen vorbehandelt werden, dann aber verfügten wir über ein besonderes, von uns ausgearbeitetes Verfahren, durch welches es gelingt, die Anzahl lebender Keime in einer Bouillonkultur oder in einer Kulturaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung gradatim zu verringern.

Dieses spezielle Verfahren gestattet es, Bakterien jeder Art unter Vermeidung jeglicher chemischer oder thermischer Einflüsse gradatim ihrer Entwicklungsfähigkeit zu berauben. Wir bedienen uns zu diesem Zwecke der Einwirkung von elektrischem Gleichstrom und verfahren so, daß wir die abzutötenden Bakterien in der Form von Bouillonkulturen oder von Aufschwemmungen in Kochsalzlösung der Einwirkung des elektrischen Stromes zwischen geeigneten Diaphragmen aussetzen. Als geeignete Diaphragmen bezeichnen wir hierbei Systeme von Membranen, bei welchen für die Abwanderung der Anionen und Kationen aus der dem Strom ausgesetzten Flüssigkeit annähernd Gleichgewicht besteht, so daß die Reaktionsschwankungen in den Bakterienaufschwemmungen oder Bakterienkulturen nur sehr geringe sind. Durch die von uns verwendete Apparatur wird es ermöglicht, jede Beeinflussung der Bakterien durch elektrolytische Spaltungsprodukte zu vermeiden, und so die bakterientötende Wirkung des Stromes allein zur Geltung kommen zu lassen. Unsere Versuche haben bewiesen, daß die Abtötung für jede bestimmte Bakterienart eine besondere Stromstärke, ausgedrückt in Ampère pro Quadratmillimeter-

Elektrodenfläche und eine ganz bestimmte Zeitdauer erfordert, Temperaturen von über 30° C wurden während der Versuche stets vermieden und es wurde für den Abtransport der gebildeten Anionen und Kationen durch kräftige Spülung mit Wasser in den Seitenräumen gesorgt, welche die stromzuführenden Elektroden enthalten. Es sei hier beiläufig bemerkt, daß die Abtötung von Schweinerotlaufbacillen auf diesem Wege regelmäßig gelingt und daß bei weiterer Einwirkung elektrischer Ströme auf die abgetöteten Bacillen ein Austritt des Zellprotoplasmas, also eine Extraktion erfolgt, welche wir als Elektroplysmolyse bezeichnen.

Bei Verwendung abgestufter Kulturverdünnungen, ebenso wie bei der Verimpfung von elektro-osmotisch behandeltem Material, welches man während der Einwirkung des elektrischen Stromes von Zeit zu Zeit aus dem zwischen den zwei Diaphragmen eingeschlossenen Mittelraum unserer Dreizellenapparate entnimmt, gelingt es, zu Grenzdosen zu gelangen, welche, wiewohl sie noch nachweisbare lebende Keime enthalten, trotzdem keine tödlichen Wirkungen mehr zu entfalten vermögen. Von diesen Grenzdosen müßte man erwarten, daß sie bei den überlebenden Tieren Immunität erzeugen. Die bei unseren Versuchen (vgl. Tab. I—IV) überlebenden Tiere wurden nach Ablauf

*Tabelle I.
Immunisierung von Mäusen gegen Rotlaufbacillen durch lebende Keime.*

Mäuse erhielten:	Intraperitoneal	Subcutan	1. Nachprüfung nach 90 Tagen	2. Nachprüfung nach 115 Tagen	8. Nachprüfung nach 158 Tagen	Befund
0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur	tot 3 ¹ / ₂	tot 3 ¹ / ₂
0,01 ccm desgl.	tot 4 ¹ / ₂	lebt	überlebt	tot 3*)	.	*) Darmentzündung, stark vergrößerte Milz m. Streptokokken u. Stäbchen, keine Rotlaufbacillen
0,001 ccm desgl.	tot 5 ¹ / ₂	tot 4 ¹ / ₂
0,001 ccm desgl.	.	lebt	tot 4 ¹ / ₂ **)	.	.	***) Rotlauf-septicämie
0,001 ccm desgl.	lebt	.	überlebt	überlebt	überlebt***)	***) getötet n. 166 Tagen, Befund völlig negativ
Kontrolle 1	.	.	tot 2 ¹ / ₂	.	.	.
Kontrolle 2	.	.	tot 2 ¹ / ₂	.	.	.

3¹/₂ usw. bedeutet: tot nach 3¹/₂ Tagen an Rotlaufinfektion.

Tabelle II. (O. V. 1271).

Impfung von Mäusen mit gleichen Mengen Bouillonkultur innerhalb einer elektro-osmotischen Absterbeordnung*).

Minuten	Agargußplatte 0,1 ccm	2 Mäuse subcutan 0,001 ccm		Befund	Prüfung mit 24 std. Rotlaufbouillonkultur 0,0001 ccm subcutan nach 48 Tagen	
0	++++	tot 3 $\frac{1}{2}$	tot 3 $\frac{1}{2}$	Rotlauf	.	.
3	++++	tot 4	tot 4	Rotlauf	.	.
7	++++	tot 4 $\frac{1}{2}$	tot 4 $\frac{1}{2}$	Rotlauf	.	.
10	+++	tot 3	tot 3 $\frac{1}{2}$	Rotlauf	.	.
15	++	tot 4	tot 4 $\frac{1}{2}$	Rotlauf	.	.
19	+	tot 4 $\frac{1}{2}$	tot 4 $\frac{1}{2}$	Rotlauf	.	.
22	+**)	tot 5 $\frac{1}{2}$	tot 15**)	Rotlauf	.	.
26	vereinzelte Kolonien**)	lebt	lebt	.	tot 4	tot 5
35	.	lebt	lebt	.	tot 6	tot 8
41	.	lebt	lebt	.	tot 6	tot 10
46
50
Kontrollen:	tot 4	.
	tot 5	.
	tot 6	.

*) Stromstärke, -spannung und Temperatur (nicht über 30° C) in diesen und folgenden Versuchen nicht eingetragen.

***) Nur noch gramnegative Bacillen auf Agar, desgleichen aus Mäusen gezüchtet. Die gramnegativen Rotlaufstäbchen, die von Agar gewachsen waren, sind in der 2. Passagetur wieder grampositiv; ebenso die aus der nach 15 Tagen an Rotlauf gestorbenen Maus gezüchteten ausschließlich gramnegativen Stäbchen. Beide Stämme wurden in der ersten Agarpassage nach 48 Stunden wieder grampositiv und zeigten unveränderte Virulenz neben dem Ausgangsstamm!

Tabelle III. (O. V. 1301).

Zeit	Bouillon 0,1	2 Mäusen subcutan			Nach 86 Tagen geprüft 0,001 subcutan		
		0,1	0,01	0,001			
2 ^h 37'	+	.	tot 30*)	lebt	.	.	tot 3
	.	.	lebt	lebt	.	tot 2 $\frac{1}{2}$	0
5 ^h 35'	—	.	lebt	.	.	tot 2 $\frac{1}{2}$.
	.	.	lebt	.	.	tot 2 $\frac{1}{2}$.
6 ^h 50'	—	.	lebt	.	.	tot 2 $\frac{1}{2}$.
	.	.	lebt	.	.	tot 3	.
7 ^h 55'	—	lebt	.	.	tot 3	.	.
	.	lebt	.	.	tot 3	.	.
Kontrollen	tot 2 $\frac{1}{2}$.	.
	tot 2 $\frac{1}{2}$.	.

*) Keine Rotlaufbacillen! Interkurrent gestorben!

einer zur Bildung aktiver Immunität ausreichenden Zeit mit sicher tödlichen Dosen lebender Rotlaufkulturen infiziert, aber es zeigte sich, daß bei diesen Tieren nur ausnahmsweise ein genügender Schutz gegen die nachfolgende Infektion entstanden war. Wir kommen zu dem Schluß, daß die Immunisierung von Tieren mit lebender Kultur gegen Rotlauf nur sehr schwer durchführbar ist, weil entweder die Tiere bereits der vorbehandelten Impfung erliegen, oder weil bei Verminderung der Dosen die in den Impfmengen vorhandene Keimzahl unzureichend ist, um ausreichende Immunität zu erzeugen.

Tabelle IV. (O. V. 1278).

Impfung von Mäusen mit abgestuften Mengen Bouillonkultur innerhalb einer elektro-osmotischen Absterbeordnung.

Zeit in Tagen	Agarguß- platte 0,001 ccm	Mäuse subcutan						Prüfung nach 86 Tagen mit 0,001 ccm 24std. Rotlaufbouillonkultur subcutan					
		(0,1) 1.		(0,01) 2.		(0,001) 3.		1.		2.		3.	
0	+	0	0	0	0	lebt	lebt	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}
2	+	0	0	0	0	0	0
6	+	tot 3 ^{1/2}	tot 4	tot 5	lebt	lebt	lebt	.	.	.	lebt	tot 3 ^{1/2}	0
20	+	tot 4	tot 4	lebt	lebt	lebt	lebt	.	.	lebt	tot 5	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}
38	+	0	0	0	0	0	0
48	nur mehr vereinz. Keime	0	0	0	0	0	0
55	nur mehr vereinz. Keime	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	tot 3	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}
85	.	lebt	tot 32 (Rot- lauf?)	lebt	tot 8 ^{1/2} (keine Rotlauf- bacill.)	lebt	lebt	.	.	tot 3 ^{1/2}	.	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}
98	.	0	0	0	0	0	0
120	.	lebt	lebt	tot 11 (inter- kurrent)	lebt	tot 5 (inter- kurrent)	lebt	tot 5	tot 3 ^{1/2}	.	tot 3 ^{1/2}	.	tot 3 ^{1/2}
20 4Std. äter)	.	lebt	tot 7 (inter- kurrent)	lebt	lebt	lebt	lebt	tot 3 ^{1/2}	.	tot 5	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}	tot 3 ^{1/2}
Kontrollen :		tot 3 ^{1/2}
		tot 3 ^{1/2}

*Tabelle V.
Schutzprüfung nach Serovaccination.*

Fraktionen bzw. Vollserum	mg Eiweiß mit Serum bzw. Fraktionen einverleibt 1 Std. später 0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur							Nach 21 Tagen Nachprüfung der überlebenden Tiere m. 0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur intraperitoneal	
	0,4	0,45	0,88	0,91	1,65	2,3	4,1		
Albumine 353	tot 2 ¹ / ₂	tot 4	.	.
Pseudoglobuline 353	tot 4	tot 4 ¹ / ₂	tot 5 ¹ / ₂	tot 4 ¹ / ₂	lebt	lebt	.	tot 4 ¹ / ₃	lebt *)
Euglobuline 353	tot 4 ¹ / ₂	tot 12 ¹ / ₂	lebt	tot 2 ¹ / ₂	.
Vollserum 353	.	tot 4 ¹ / ₂	.	tot 6 ¹ / ₂	lebt	tot 12 ¹ / ₂	.	(tot 2 ¹ / ₂)	.
Kontrollen	tot 2 ¹ / ₂	.	tot 2 ¹ / ₂	.

*) 18 Tage später zum dritten Male 0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur intraperitoneal verimpft. Überlebt!

*Tabelle VI.
Schutzprüfung nach Serovaccination.*

Maus	Serummengen in ccm (+ 0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur)				Nachprüfung							
					nach 43 Tagen 0,001 ccm subcutan				nach 79 Tagen 0,0001 ccm intraperitoneal			
	0,01	0,02	0,04	0,08								
1	tot 4	lebt	lebt	lebt	.	0	0	tot 3 ¹ / ₂	.	0	0	.
2	lebt	lebt	lebt	lebt	tot 3 ¹ / ₂	0	0	lebt	.	tot 2 ¹ / ₂	tot 3	lebt
3	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	0	0	tot 43	tot 3	tot 2 ¹ / ₂	tot 3	.
4	lebt	lebt	tot 13	lebt	getötet*)	0	0	getötet**)	.	tot 3 ¹ / ₂	.	.
Kontrollen, infiziert mit 0,01 ccm 24-std. Rotlaufbouillonkult.	tot 2 tot 2				tot 3 ¹ / ₂ tot 3 ¹ / ₂				tot 2 ¹ / ₂ tot 2 ¹ / ₂			

*) Im Blut starke Phagocytose und Agglutination nachweisbar.

***) Im Blut ganz schwache Phagocytose, keine Agglutination nachweisbar.
0 = Nicht in Versuch genommen.

Immunisierung mit einem auf elektro-osmotischem Wege hergestellten, keimfreien Impfstoff.

Unterwirft man Aufschwemmungen von Rotlaufbacillen oder auch Bouillonkulturen der gleichen Bacillenart nach dem vorher eingehend

geschilderten Verfahren der Einwirkung des elektrischen Stromes, so erleiden die Bacillen, nachdem sie zunächst ihre Gramfestigkeit und sodann ihre Vermehrungsfähigkeit verloren haben, einen plasmolytischen Zerfall, wobei der protoplasmatische Inhalt der Zellen in Freiheit gesetzt und in dem Dispersionsmittel (Kochsalzlösung oder Bouillon) gelöst wird. Bei weiterer Einwirkung des elektrischen Stromes werden diese Bestandteile des Zellprotoplasmas, und zwar bei einer ganz bestimmten, ungefähr dem isoelektrischen Punkt der Lösung entsprechenden Wasserstoffionenkonzentration in einen lyophoben und einen lyophilen Anteil zerlegt. Der lyophobe Anteil, der in Gestalt einer groben Flockung zur Abscheidung gelangt, wird am besten mit Hilfe der Zentrifuge gesammelt und kann in schwach alkalischen Wasser aufgelöst werden. Im lyophoben Anteil sind stets noch einige wenige intakte, aber abgetötete Rotlaufstäbchen neben nicht mehr färbaren Bacillenschatten vorhanden. Es zeigte sich nun, daß mit dieser Scheidung in einen lyophilen und einen lyophoben Anteil des Zellprotoplasmas gleichzeitig eine Trennung der verschiedenen Antigene des Rotlaufbacillus erfolgt war. Während nämlich das klare, von der Flockung abgesonderte Centrifugat bei Versuchstieren neben Agglutininen und Präcipitinen nur komplementbindende Reaktionsprodukte zu bilden vermag, ist einzig und allein der lyophobe Anteil dazu befähigt, Tieren einen wirksamen Schutz gegen die Infektion mit Rotlauf zu verleihen und wirksame, d. h. schützende und heilkräftige Immunsera zu erzeugen.

Auf Grund unserer zahlreichen Versuche glauben wir berechtigt zu sein, die mit schwach alkalischem Wasser resp. phenolisierter Kochsalzlösung hergestellten Lösungen des lyophoben Anteiles, die man in jeder gewünschten Konzentration erhalten kann, als einen idealen, oder wenigstens doch als den besten Rotlaufimpfstoff anzusprechen, über welchen wir bisher verfügen.

Dieser Impfstoff ist ausgezeichnet durch seine vollständige Unschädlichkeit. Mäuse vertragen Dosen, die 32 ccm Bouillonkultur entsprechen, ohne jede Vergiftungserscheinung (Tab. VII).

Zur aktiven Immunisierung erhalten die Tiere ein- bis zwei- oder mehrmalige Injektionen des Impfstoffes, und zwar scheint die Latenzzeit, die zwischen dem Auftreten der Immunität und der Schutzimpfung notwendig ist, bei ein- bis zweimaliger Vorbehandlung 4—5 Wochen, bei mehrfacher Vorbehandlung dagegen nur 14 Tage zu betragen. Dem Auftreten der Vollimmunität geht auch bei diesem Impfstoffe ein Stadium der Überempfindlichkeit voraus (Tab. VII).

Tabelle VII. (O. V. 1267, 1270, 1301.)

Aktive Immunisierung mit elektro-osmotisch dargestelltem Rotlaufimpfstoff.

(Die Abtötung der Rotlaufkultur erfolgte bei den drei geprüften Impfstoffen in drei verschiedenen Versuchen.)

Gruppe und Zahl von Mäusen		Vorbehandlung	1. Nachprüfung 85 Tage nach Beginn der Vorbehandlung 0,0001 ccm intrapertoneal	2. Nachprüfung 77 Tage nach Beginn der Vorbehandlung 0,001 ccm intrapertoneal
Serie I	1.	} 1 mal Impfstoff 1301 von 0,1—1,6 ccm }	tot 4 ¹ / ₂	0
	2.		lebt	0
	3.		lebt	0
	4.		lebt	tot 3 ¹ / ₂
	5.		lebt	lebt
Serie II	1.	} 1—4 mal Impfstoff 1301 von 0,2—1,6 ccm insgesamt }	lebt	0
	2.		lebt	0
	3.		lebt	0
	4.		lebt	lebt
	5.		lebt	lebt
Serie III	1.	} wie vorher (phenolis. Impfstoff) }	lebt	0
	2.		lebt	0
	3.		lebt	0
	4.		lebt	lebt
	5.		lebt	lebt
Serie IV	1.	} wie vorher (Impfstoff 1267) }	lebt	0
	2.		lebt	0
	3.		lebt	0
	4.		lebt	tot 5 ¹ / ₂
	5.		lebt	lebt
Serie V	1.	} wie vorher (Impfstoff 1270) }	lebt	0
	2.		lebt	0
	3.		lebt	0
	4.		lebt	lebt
	5.		lebt	lebt
Kontrollen I	1.	} vor 79 Tagen serovacciniert }	tot 2 ¹ / ₂	.
	2.		tot 3	.
	3.		lebt	.
	4.		tot 3	.
	5.		tot 3 ¹ / ₂	.
	6.		tot 2 ¹ / ₂	.
	7.		tot 3	.
Kontrollen II	1.	} Normaltiere }	tot 2 ¹ / ₂	tot 4
	2.		tot 3 ¹ / ₂	tot 4
	3.		tot 3	tot 4
	4.		lebt	tot 4

Bemerkenswert ist die aus den Versuchen ersichtliche Tatsache, daß die Infektion immunisierter Tiere mit angemessenen Kulturmengen eine beträchtliche Verstärkung des Immunitätsschutzes herbeiführt.

Das Rotlaufserum und die passive Immunität.

Der Mechanismus der Wirkung des spezifischen Schweinerotlaufserums ist noch nicht vollkommen aufgeklärt. Man hat in diesem Serum zwar alle jene Reaktionsprodukte nachweisen können, die man schlechtweg als spezifische Immunstoffe bezeichnet. Mit dem eigentlichen Schutzwert, der einzig und allein durch den Tierversuch nachgewiesen werden kann, stehen aber offenbar weder Agglutinine noch Bakteriotropine, noch die komplementbindende Substanz in einem kausalen Zusammenhange. Der Beweis für diese Tatsache wird dadurch geliefert, daß Sera mit hohem Gehalt an Agglutininen und Tropinen und hohem Komplementbindungsvermögen häufig nur sehr geringe Schutzwerte aufweisen und daß der Anstieg der Titres von Agglutininen, Tropinen und komplementbindender Substanz dem Ansteigen des eigentlichen Schutzwertes durchaus nicht immer parallel zu erfolgen braucht.

Wir benutzten für unsere vergleichenden Untersuchungen Pferdesera, welche durch subcutane oder durch intravenöse Injektionen lebender Rotlaufkulturen gewonnen waren. Wir zogen ferner zu unseren Untersuchungen die Sera von Kaninchen heran, welche durch intravenöse Injektionen mit dem vorher beschriebenen, auf elektro-osmotischem Wege hergestellten Impfstoff behandelt worden waren. Es sei hervorgehoben, daß es hier wohl zum ersten Male gelungen ist, mit totem Material wirksames Rotlaufserum herzustellen.

Die Resultate unserer vergleichenden Untersuchungen sind aus den beigefügten Tabellen (VIII und IX) zu ersehen.

Tabelle VIII.
Vergleich des Serums von Rotlaufpferden — Sera 97, 341 und 353.

Pferdesera	Agglutination	Komplementbindung	Tropinwirkung	Schutzwirkung gegen 0,01 ccm 24std. Rotlaufbouillonkultur bei der Maus
341*)	0,00005 (+++)	0,012 (++++)	0,00003 (++)	0,01
97**)	0,0001 (+++)	0,006 (++++)	0,00003 (++)	0,04
353**)	0,00002 (+++)	0,003 (++++)	0,00003 (++)	0,05
*) Durch subcutane Injektion lebender Rotlaufkulturen gewonnen.				
**) Durch intravenöse Injektion gewonnen.				
<i>Vergleich der Kaninchen-Rotlaufsera 29 und 31*).</i>				
29	1 : 1000 (+)	0,003 (++)	0,0003 (+++) 0,0001 (+)	0,1
31	1 : 1000 (+)	0,006 (++)	0,0003 (+++) 0,0001 (++) 0,00003 (+)	etwa 1,0

*) Mit Hilfe des keimfreien, auf elektro-osmotischem Wege hergestellten Impfstoffes gewonnen.

Tabelle IX.
Komplementbindungsversuch.

Serum- mengen ccm	Serum 858 8,25%	Albu- mine 1,71%	Pseudo- globu- line 4,57%	Euglobuline 1,97%	Die 8 Fraktionen gemischt wie im Ausgangsserum 8,25%	Normal- pferde- serum	
0,025	+++	++++	- -	- +	+++	++++	- +
0,012	+	++++	- -	- -	+	++++	- -
0,006	-	++++	- -	- -	-	++++	- -
0,003	-	++++	- -	- -	-	+++	- -
0,0015	-	+++	- -	- -	-	+++	- -
0,00075	-	+	- -	- -	-	+	- -
0,00038	-	-	- -	- -	-	-	- -

In der linken Kolonne ist jeweils die Eigenhemmung, in der rechten die spezifische Hemmung eingetragen.

Tropinversuch.

	0,001 ccm	0,0008 ccm	0,0001 ccm	0,00008 ccm	0,00001 ccm	0,000008 ccm	NaCl- Kontrolle
Vollserum . . .	++++	++++	+++	+++	++	+	-
Euglobuline . .	++	++	+	+	-	-	-
Pseudoglobuline	++++	++++	+++	++	-	-	-
Normalserum . .	-	-	-	-	-	-	-

Einen weiteren Beweis aber für die Tatsache, daß die *in vitro* nachweisbaren Reaktionsprodukte mit den eigentlichen Schutzkräften eines Immunserums nicht identisch sind, erblicken wir in der Tatsache, daß diese Produkte in den Immunseris mit einer anderen Eiweißfraktion verbunden sind, wie die eigentlichen, durch das Tierexperiment nachweisbaren Schutzstoffe.

Zur Isolierung der einzelnen Eiweißfraktionen aus den verschiedenen Seris bedienen wir uns eines elektro-osmotischen Verfahrens, welches wir an anderer Stelle eingehend besprochen haben¹⁾. Die vergleichenden Untersuchungen der Fraktionen ergab nun, daß das Albumin frei von jeder Antikörperwirkung ist, daß dagegen das Pseudoglobulin fast den gesamten Schutzwert sowie die stärkere Tropinwirkung besitzt, während das Euglobulin ausschließlich den Komplementbindungswert und die stärkere Agglutinationswirkung aufweist. Unsere vergleichenden Untersuchungen wurden selbstverständlich unter Zugrundelegung gleicher Eiweißmengen angestellt, da man unter dieser Voraussetzung tatsächlich vergleichbare Resultate erzielen kann.

Die Tatsache, daß allen Rotlaufseris die Fähigkeit anhaftet, an sich, also ohne die vermittelnde Wirkung von Antigen, Komplement zu verankern, im Verein mit der weiteren Tatsache, daß bei den mit ungenügenden Serumdosen vorbehandelten Versuchstieren ein ausgesprochenes Stadium der Überempfindlichkeit gegen eine Infektion mit Rotlauf vorhanden ist, scheint uns ein Beweis dafür zu sein, daß

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 97, 188. 1922.

in jedem Rotlaufserum noch namhafte Antigenreste enthalten sind. Die Selbsthemmung eines Serums aber ist ausschließlich an das Euglobulin des Serums gebunden. Wir glauben deshalb, daß die Anwendung eines auf elektro-osmotischem Wege hergestellten Pseudoglobulins an Stelle von Vollserum von großer praktischer Bedeutung wäre, denn mit der Isolierung dieser Eiweißfraktion beseitigt man nicht nur eine ganze Reihe von Ballaststoffen, die mit der eigentlichen Schutz- und Heilkraft eines Serums nichts zu tun haben und erzielt hierdurch eine nicht unerhebliche Konzentration der spezifischen Wirkung, sondern man entfernt aus dem Serum gleichzeitig mit den Agglutininen jene Antigenreste, deren Gegenwart beim Abklingen des passiven Schutzes eben durch das Auftreten eines Stadiums erhöhter Empfänglichkeit gegenüber der Infektion für geimpfte Tiere verhängnisvoll werden kann (Tab. IX a).

Tabelle IX a.

Sera 353 und 97 und Fraktionen in Schutzversuchen bei der Maus.

In die Tabelle eingetragen in mg Eiweiß, subcutan, 1 Std. danach 0,01 ccm 24 std. Rotlaufbouillonkultur intraperitoneal.

	Eiweiß in mg					Einheiten in 1 g Eiweiß	In 100 ccm des Serums bzw. der darin enthalte- nen Fraktionen
	1,65	2,285	4,125				
Albumine (1,71%)	·	+2 ¹ / ₂	+4	·	·	·	·
	·	+3	+5	·	·	·	·
Pseudoglobuline (4,57%)	lebt	lebt	·	·	·	606	2769
	+15 ¹ / ₂	+15 ¹ / ₂	·	·	·	·	·
Euglobuline (1,97%)	+4 ¹ / ₂	+12 ¹ / ₂	lebt	·	·	242	477
	+11	+14 ¹ / ₂	lebt	·	·	·	·
Serum 353 (8,25%)	·	+12 ¹ / ₂	·	·	·	333	2747 *)
	·	+14 ¹ / ₂	·	·	·	·	·
Kontrollen	·	·	+2 ¹ / ₂	·	·	·	·
	·	·	+3	·	·	·	·
	0,8	1,7	3,3	·	·	·	·
Serum 97 (8,27%)	+4	+4	+14	·	·	303	2506 *)
	+5 ¹ / ₂	+6	+14	·	·	·	·
	0,8	1,2	2,3	·	·	·	·
Pseudoglobuline (5,81%)	+4	+6 ¹ / ₂	+8 ¹ / ₂	·	·	435	2527 **)
	+7	+7 ¹ / ₂	+10 ¹ / ₂	·	·	·	·
	·	·	0,8	1,6	3,2	·	·
Euglobuline (1,97%)	·	·	+5 ¹ / ₂	+6 ¹ / ₂	+7 ¹ / ₂	313	617
	·	·	+5 ¹ / ₂	+6 ¹ / ₂	+18	·	·
Kontrollen	·	·	·	·	+1 ¹ / ₂	·	·
	·	·	·	·	+1 ¹ / ₂	·	·

*) Das frische Ausgangsserum hatte sich während der Bearbeitung des Versuches etwas abgeschwächt.

**) Beim Ansatz etwas zu günstig gerechnet.

Ergebnisse.

Überblicken wir die in den Versuchen mitgeteilten Resultate, so erscheint zunächst der Schluß gerechtfertigt, daß für die Möglichkeit der Immunisierung an Tieren mit lebender Rotlaufkultur keine sicheren experimentellen Grundlagen geschaffen werden können, denn die schwankende Virulenz der Rotlaufkulturen gleichzeitig mit der individuell ungleichen Empfänglichkeit der Versuchstiere verhindert gleichmäßige und eindeutige Resultate. Nur vereinzelte Mäuse werden immun, wobei es jedoch noch fraglich bleibt, ob es sich nicht um eine chronische Infektion handelt.

Ähnlich verhält es sich mit der Serovaccination, welche bei den meisten Tieren keinen Schutz hinterläßt, dagegen viele Tiere chronisch infiziert und überempfindlich macht.

Dagegen verleiht die Vorbehandlung mit dem auf elektro-osmotischem Wege hergestellten Impfstoff Mäusen einen hohen Grad von aktiver Immunität gegen die experimentelle Infektion, welche letztere den Immunitätsschutz noch zu steigern vermag.

Beim Rotlaufserum geben die Agglutinine und die komplementbindenden Substanzen, aber auch die Tropine keinen sicheren Anhaltspunkt für die Beurteilung des Schutzwertes, da der Gehalt an diesen Stoffen nach unseren Untersuchungen der Schutzkraft nicht parallel geht.

Die Schutzkraft eines Rotlaufserums ist lediglich mit der Pseudoglobulinfraktion verbunden.

Die Isolierung des Pseudoglobulins auf elektro-osmotischem Wege bedingt eine nicht unerhebliche Konzentration des spezifischen Schutzwertes, gleichzeitig aber die Beseitigung von unwirksamen Ballaststoffen und Antigenresten, welche das Leben der mit Serum behandelten Tiere durch die Erzeugung eines Stadiums erhöhter Empfänglichkeit gegenüber der Rotlaufinfektion gefährden können.

Praktische Versuche, den auf elektro-osmotischem Wege hergestellten, keimfreien Impfstoff und das nach spezieller elektro-osmotischer Methode aus hochwertigem Rotlaufserum isolierte Pseudoglobulin zur Bekämpfung des Rotlaufes der Schweine zu verwenden, sind in die Wege geleitet.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
[Direktor: Prof. *Hahn*].)

Über die Widerstandsfähigkeit von Geflügelcholera und Streptokokken gegenüber Sublimat, Carbolsäure und Trypaflavin.

Von
Dr. med. **Karsten Rodewald.**

Auf Veranlassung von *M. Hahn* wurden im Anschluß an die vorstehende Arbeit von *Alfred Müller* Versuche über die chemische Desinfektion von Geflügelcholera und Streptokokken unter Benutzung des Tierversuchs angestellt. Bezüglich der Literatur und der Methodik sei auf die vorstehende Arbeit verwiesen. Die Auswahl der zu desinfizierenden Bakterien, Geflügelcholera und Streptokokken, erfolgte unter dem Gesichtspunkte ihrer Pathogenität für Mäuse. Nur stark virulente Bakterienarten eignen sich für diese Versuche, deren Durchführung eine besonders sorgfältige sein muß und deren Methodik, wie ausdrücklich hervorgehoben sei, einige Übung erfordert. Bei Bakterienarten, deren Virulenz schwankt, wie dies z. B. für die Mäusevirulenz der Staphylokokken gilt, werden die Resultate durchaus unzuverlässig.

I. Geflügelcholera und Sublimat.

Aus einer Reihe von 5 Versuchen, die im Prinzip alle gleich verliefen, sei der folgende mitgeteilt: 22 Agarplatten mit Geflügelcholera, mit NaCl-Lösung abgeschwemmt, durch Filtrieren von gröberen Brocken befreit, 30 ccm davon mit 30 ccm Sublimat 2 : 1000 versetzt. Nach 2, 3 und 19 Stunden und häufigem Umschütteln werden Proben entnommen. Zur besseren Abtrennung der Bakterien wird ein Calciumphosphatniederschlag, eine Prozedur, die sich in besonderen Versuchen als harmlos erwies, in den Proben erzeugt, zentrifugiert und 4 mal mit je 40 ccm Wasser unter Zentrifugieren gewaschen. Der Bakterienrückstand wird auf Nährböden übertragen, die, wenn sie nach mehrtägiger Beobachtung steril blieben, zur Kontrolle etwaiger Entwicklungshemmung mit unbehandelten Bakterien beimpft wurden. Sie zeigten dann regelmäßig üppiges Wachstum, so daß eine Entwicklungshemmung im gewöhn-

lichen Sinne auszuschließen ist. Andererseits wurden mit den gewaschenen und desinfizierten Bakterien Mäuse geimpft, von denen diejenigen *zugrunde gingen*, die bis zu 3 Stunden desinfizierte Bakterien erhalten hatten, während die *Nährböden* schon bei Verimpfung der 1 Stunde lang desinfizierten Bakterien *kein Wachstum mehr* zeigten. Andere Versuche ergaben, daß schon nach 7 Minuten *Desinfektion kein Wachstum auf Nährböden mehr* eintrat. Die Kontrollmaus starb nach 24 Stunden, die nach 19 Stunden *Desinfektion* geimpfte Maus schon nach 12 Stunden, augenscheinlich an einer Verletzung lebenswichtiger Organe und nicht an Geflügelcholera, *die sich bei allen übrigen Tieren durch Kultur oder weiteren Tierversuch nachweisen ließ*. Ein Zusammenhang zwischen der Länge der Desinfektionszeit und der Lebensfrist der geimpften Tiere ließ sich nicht feststellen. Die Tiere starben in unregelmäßig verlaufenden Fristen; vielleicht spielt hier die Giftwirkung der einverleibten toten Bakterienleiber — denn eine große Menge der Bakterien ist in all diesen Versuchen durch das Desinfektionsmittel unzweifelhaft abgetötet — mitunter eine beschleunigende Rolle.

Schluß: *Bei Anwendung von Sublimat 1 : 1000* erlischt das Wachstum von Geflügelcholera trotz Waschens mit großen Mengen von Wasser in dichten Suspensionen *schon nach 7 Minuten*, die *Pathogenität* für Mäuse aber *erst nach 3 Stunden*.

II. Streptokokken. Sublimat 1 : 1000.

Als Beispiel sei auch hier nur ein Versuch angeführt: Bodensatz von 4 typisch gewachsenen Kulturen in je 80 ccm Bouillon. Die Streptokokken waren durch Tierpassage stark virulent gemacht. Probeentnahme nach 15, 30, 60 und 120 Minuten, waschen, Calciumphosphatniederschlag, Prüfung auf Nährböden und an Tieren, wie im vorigen Versuch, Resultat: *Kein Wachstum* auf Nährböden mehr *nach 15 Minuten*, *Tierpathogenität* noch nach 60 Minuten *vorhanden*, während nach 120 Minuten das geimpfte Tier am Leben bleibt.

III. Geflügelcholera und 3 proz. Carbolsäure.

Versuchsordnung wie in den früheren Versuchen. Ein Vorversuch zeigte, daß bei Verwendung von $\frac{1}{2}$ proz. Carbolsäure das kulturelle Wachstum auch nach 45 Minuten noch nicht erloschen war. Für den Versuch mit 3 proz. Carbolsäure wurden 18 Agarplatten verwandt und die Desinfektionswirkung wie oben geschildert, geprüft.

Resultat: Bei 3 proz. Carbolsäure *kein Wachstum* mehr auf Nährböden nach 15 Minuten, dagegen *Tod der Tiere noch nach einstündiger Einwirkung*. Nach 2 Stunden ist auch die Tierpathogenität erloschen.

IV. Streptokokken und 3proz. Carbolsäure.

Probeentnahme nach 7, 15, 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden.

Resultat: Das *kulturelle Wachstum* erlischt *nach 7 Minuten*, die *Tierpathogenität* *noch nicht nach 30 Minuten*, nach 1stündiger und 2stündiger Einwirkung ist auch die *Tierpathogenität* erloschen.

V. Geflügelcholera und Trypaflavin 1:1000 und 1:200.

Die Wahl dieses Desinfektionsmittels erfolgte, weil gerade beim Trypaflavin die Angaben der einzelnen Autoren über die zur Abtötung erforderliche Konzentration außerordentlich schwanken (1:200 bis 1:50 Millionen). Zur Verwendung gelangten die Kulturen von 12 Agarplatten. Bei einem Desinfektionsversuch mit 1:2000 hatte sich gezeigt, daß entgegen früheren Angaben noch nach 30 Minuten langer Einwirkung Wachstum in Bouillon eintrat. Bei Verwendung einer Lösung von 1:200 erlosch das *kulturelle Wachstum* schon nach *15 Minuten*, während die *Tierpathogenität* noch *nach 6 Stunden* erhalten blieb. Eine 24stündige Einwirkung genügte, um auch die *Tierpathogenität* zu vernichten.

VI. Streptokokken und Trypaflavin 1:1000 und 1:200.

Nachdem Vorversuche ergeben hatten, daß eine Lösung des Trypaflavins 1:1000 innerhalb von 4 Stunden das kulturelle Wachstum der Streptokokken nicht zu vernichten vermochte, wurden Lösungen von 1:200 angewandt, die aber selbst bei einer 20stündigen Einwirkungsdauer nach ausgiebigem Waschen der Bakterien sich in bezug auf kulturelles Wachstum und *Tierpathogenität* noch als unwirksam zeigten. Erst eine Erhöhung der Desinfektionsdauer der Lösung 1:200 auf 1, 2 und 3 Tage erbrachte den Beweis, daß *nach 48 Stunden* das *kulturelle Wachstum* erloschen war, während die *Tierpathogenität* erst *nach 72stündiger Einwirkung* vernichtet wurde. Zur Verwendung gelangten in diesem Versuche 8 Bouillonkölbchen mit typisch gewachsenen Streptokokken.

Schlußbemerkung: Es ergibt sich also auch aus diesen Versuchen, entsprechend den vorstehenden Resultaten von *Alfred Müller* mit Milzbrandsporen, daß bei Prüfung von nichtsporenbildenden Bakterien, wie Streptokokken und Geflügelcholera, und bei Verwendung von drei Desinfektionsmitteln, die wie das Sublimat, Trypaflavin und Carbolsäure ganz verschiedenen Körperklassen angehören, die Heranziehung des Tierversuches in der geschilderten Form sich als unumgänglich notwendig erweist, wenn man ein Urteil darüber gewinnen will, ob wirklich Abtötung vorliegt. Man wird also auch allen bisherigen Angaben bezüglich der zu Abtötung von Bakterien erforderlichen Konzentration und Einwirkungszeit skeptisch gegenüber stehen müssen, wenn

nicht die hier befolgte Methode — ausgiebiges Waschen der desinfizierten Bakterien mit großen Flüssigkeitsmengen und der Tierversuch — zur Prüfung herangezogen worden sind. Allerdings ist hier zu unterscheiden zwischen der häufig mehr theoretische Zwecke verfolgenden Laboratoriumsprüfung und der Verwendung des Desinfektionsmittels in der chirurgischen Praxis. In der letzteren wird man häufig auch mit geringeren Konzentrationen auskommen können, als sie bei der theoretischen Prüfung als zur völligen Abtötung notwendig festgestellt worden sind, weil einmal die Zahl der infizierenden Bakterien eine geringere ist, andererseits die Abwehrkräfte des Körpers sich an dem Kampfe gegen die Bakterien beteiligen (s. die Ausführungen *Hahns* in der Festschrift für *Flügge*, Zeitschr. f. Hyg. 98. Dasselbst auch eine Übersichtstabelle). Die Laboratoriumsprüfung aber muß so beschaffen sein, daß sie uns sicheren Aufschluß über die zur Abtötung notwendige Konzentration und Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels gibt. Dafür dürfte nach den hier niedergelegten Versuchen der Tierversuch nicht zu entbehren sein.

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ [Laboratorium:
Prof. Dr. Jos. Koch].)

Über die submerse Vermehrung der Tuberkelbacillen in flüssigen Nährböden.

II. Mitteilung.

Von
Eduard Boecker,
Assistent am Institut.

Während in den bekannten Schwimmlasenkulturen von Tuberkelbacillen auf Glycerinbouillon alsbald Stillstand des Schuppenwachstums und der Bacillenvermehrung eintritt, wenn die aufgelegten Bacillenasen infolge eines unglücklichen Zufalles zu Boden sinken, findet in verschiedenen eidotterhaltigen Kulturflüssigkeiten üppige submerse Vermehrung submers eingesäter Tuberkelbacillen statt (*Besredka*). Die Nährböden, in denen sie bisher zur Beobachtung gelangt ist — ich habe eine größere Anzahl von solchen hergestellt und geprüft; siehe u. a. die weiter unten beschriebenen —, weisen in physikalisch-chemischer Hinsicht (H-Konzentration, Dispersität, osmotischer Druck) bei praktisch gleicher Ergiebigkeit beträchtliche, zum Teil enorme Unterschiede auf; es sei nur an die stark alkalische *Besredka*sche Dotterlösung im Vergleich mit der von mir mitgeteilten schwach sauren Glycerinbouillon mit Dotterzusatz und 0,5% Gehalt an NaCl erinnert. Dieser Umstand macht es wahrscheinlich, daß der Bedingungskomplex, welcher den Tuberkelbacillen ermöglicht, sich submers zu vermehren, weniger an eine besondere physikalisch-chemische Beschaffenheit des Kulturmediums gebunden als mit dem Vorliegen bestimmter organischer Substanzen gegeben ist; sei es, daß die letzteren besonders zusagende Nahrungsstoffe darstellen oder daß sie möglicherweise als Sauerstoffüberträger fungieren. In Anbetracht des hohen Gehaltes des Eidotters an organischen P-Verbindungen (Nucleoproteiden, Glycerinphosphorsäure, gewissen Lipoiden) liegt es nahe, zunächst in dem Vorhandensein dieser Substanzen im Nährsubstrat das begünstigende Moment zu vermuten. Diese Idee erwies sich insofern als fruchtbar, als sie zur Aufindung eines neuen, für submerse Züchtung von Tuberkelbacillen geeigneten Kulturmediums führte. Die Herstellung desselben ging von

der Überlegung aus, daß eine Emulsion von tierischer Leber als einem an organischen P-Verbindungen, speziell Lipoiden reichen Organ möglicherweise das gleiche wie die dotterhaltigen Nährböden leisten würde.

Kaninchenleber wird im Mörser zerstampft, durch ein feines Sieb gedrückt, in ca. 15 Gewichtsteilen 2 proz. Glycerinlösung aufgeschwemmt und diese relativ grobe Suspension, zu je 50 ccm in Kölbchen verteilt, an 2 aufeinander folgenden Tagen je 1 Stunde im Dampftopf erhitzt: die infolge der Erhitzung verklumpenden Gerinnsel werden durch Schütteln verteilt. Submers eingesäte Tuberkelbacillen vermehren sich in diesem Nährboden bei täglicher kurzer Umschüttelung zwar nicht ganz so schnell wie in den dotterhaltigen Flüssigkeiten, aber unter Bildung der gleichen Wachstumsverbände wie dort. Bemerkenswerterweise konnte in dem durch Papierfiltration nach der Sterilisierung von den Gerinnseln befreiten, noch stark trüben Filtrat der Emulsion bei submerser Beimpfung keine Vermehrung der Bacillen festgestellt werden. Für Schwimmsrasenkulturen ist dieses Filtrat dagegen sehr geeignet; es kann in Laboratorien, in denen viele Versuchstiere verbraucht werden, einen billigen Ersatz für die sehr teure Glycerinbouillon abgeben.

Als zweites Nährsubstrat mit nativem Gehalt an organischen P-Verbindungen wurde sterilisierte *Kuhmilch* geprüft. In Milch eingebrachte Tuberkelbacillenschuppen pflegen sich bei täglicher Umschüttelung (im Gegensatz zu ihrem Verhalten in Wasser, Glycerinbouillon, physiol. Kochsalzlösung u. dgl.) allmählich in einzelne Bacillen aufzulösen, die sich dann auf der Oberfläche von Milchkügelchen ansammeln. Ziehl-Neelsen-Präparate von Probeausstrichen ergeben daher sehr charakteristische Bilder. Die Milchkügelchen haben die Neigung, an die Oberfläche der Milch aufzusteigen, wo sie sich bei längerer Bebrütung zu schwer verteilbaren Rahmklumpen vereinigen. Sicherem Aufschluß über den Bacillengehalt der bebrüteten Milch erhält man daher nur, wenn man sie vor der Probeentnahme kräftig mit Glasperlen durchschüttelt. 47 mit 4 Tuberkelbacillenstämmen (worunter 1 boviner) angestellte Züchtungsversuche ergaben folgendes Resultat: In sterilisierter Kuhmilch, mit und ohne Zusatz von 2 proz. Glycerin, findet in der Mehrzahl der Fälle, jedoch auch bei einem und demselben Stamm nicht regelmäßig, submerser Vermehrung statt. Sie erreicht in optimalen Fällen einen Grad, welcher als deutliche Anreicherung zu bezeichnen ist. So enthielt ein mit annähernd 45 Millionen Bacillen beimpftes Kölbchen mit 50 ccm Milch nach 21 tägiger Bebrütung bei 37° und täglicher Umschüttelung 810 Millionen Bacillen; ein mit 36 Millionen beimpftes nach derselben Zeit 278 Millionen; in einem dritten zahlenmäßig festgelegten Fall hatte sich die Einsaat von 90 Millionen nach 13 Tagen verdreifacht. In einer Anzahl von Versuchen, bei denen

jedoch keine Zählungen vorgenommen wurden, war die Vermehrung augenscheinlich eine wesentlich stärkere als in den 3 mitgeteilten Fällen; in anderen ließ sich nicht einmal ein der Einsaat entsprechender Bacillengehalt wiederfinden. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß der wechselvolle Ausfall der Züchtungsversuche in Milch zum Teil auf die sehr verschiedene Beschaffenheit und Zusammensetzung der am hiesigen Ort erhältlichen Marktmilch zurückzuführen ist. Die in der Milch gewachsenen Tuberkelbacillen sind bisweilen auffallend schlank und lang, die — übrigens spärlich gebildeten — Wachstumsverbände von äußerst lockerem Gefüge, gleichsam zerfließlich. Das mikroskopische Bild ist durch die erwähnte Belegung der Milchkügelchen, meist der größeren, mit Tuberkelbacillen charakterisiert.

Von einer größeren Anzahl von verschiedenen dotterhaltigen flüssigen Nährböden — Modifikationen der von *Besredka* angegebenen — soll nur einer mitgeteilt werden, welcher sich durch besonders einfache Herstellung bei großer Leistungsfähigkeit empfiehlt. 1 Teil Dotter wird in 60 Teilen Leitungswasser gelöst und die Lösung an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde im Dampftopf erhitzt. Die verklumpenden Gerinnsel sind nach jeder Erhitzung durch Schütteln der Kölbchen möglichst fein zu zerteilen. Man erhält so eine zwar trübe, mit blättrigen und krümeligen Gerinnseln erfüllte, gleichwohl aber für viele Zwecke, insbesondere für Vorprüfung von chemotherapeutischen Mitteln in vitro sehr geeignete Kulturflüssigkeit. Trübungen infolge von verunreinigender Mikrobenflora sind von der natürlicherweise vorliegenden bei einiger Übung leicht zu unterscheiden.

Über die charakteristischen Wachstumsverbände der in dotterhaltigen Medien gezüchteten Tuberkelbacillen habe ich in Bd. 95 dieser Zeitschrift (1922, S. 344) berichtet. Nachdrücklich sei darauf hingewiesen, daß sich von solchen Kulturen — am besten bei Verwendung von Glycerinbouillon mit Dotterzusatz — überaus elegante, für *Kurs- und Demonstrationszwecke* geeignete mikroskopische Präparate herstellen lassen. Je 1 große Öse der geschüttelten Kultur und von Glycerineiweiß werden auf dem Objektträger vermischt und auf ca. 2 qcm Fläche verstrichen. Färbung nach *Ziehl-Neelsen*; Betrachtung am besten bei schwacher Vergrößerung.

Wie a. a. O. mitgeteilt wurde, gehen in den dotterhaltigen Medien auch relativ kleine Einsaaten an. So wurde inzwischen durch direkte Einimpfung einer winzigen gewaschenen Flocke eines Sputums von mittlerem Bacillengehalt in 50 ccm Glycerinbouillon mit Dotterzusatz nach 14tägiger Bebrütung eine stark bewachsene Kultur erzielt — übrigens der einzige positive Ausfall von 9 derartigen Versuchen mit ebenso vielen Sputa. 5 von diesen Kulturen blieben dauernd von jeder Mikrobenflora frei. Wie kurz erwähnt sei, ließen sich in 8 Kölbchen

mit dotterhaltigen Kulturflüssigkeiten, die je mit 1 ccm Blut von 8 tuberkulösen Menschen (II. und III. Stadium) beimpft worden waren, auch nach längerer Bebrütung keine Tuberkelbacillen nachweisen.

Die Vermehrungsrate der Tuberkelbacillen in den Nährböden nach *Besredkascher* Art reicht bei weitem noch nicht an die Geschwindigkeit heran, mit der sich die meisten bekannten Bakterien bei zusagenden Bedingungen vermehren. Gleichwohl lassen die bisher erzielten Fortschritte es als durchaus möglich erscheinen, daß die übliche Auffassung, nach welcher langsame Vermehrung zu den immanenten Charakteren des Tuberkelbacillus gehört, eines Tages einer Revision unterzogen werden muß. Die für das Erklärungsbedürfnis so bequeme Parallelität, die bis vor kurzem zwischen der langsamen Vermehrung der Tuberkelbacillen in Kulturen einerseits und dem meist langsamen Fortschreiten der Tuberkuloseinfektion andererseits festgestellt werden konnte, besteht jedenfalls heute schon nicht mehr.

(Aus der Serologischen Abteilung der Höchster Farbwerke und dem Laboratorium der Medizinischen Poliklinik der Universität Frankfurt a. M.)

Die Verteilung der Toxine im Körper.

Von

R. Bieling und A. Gottschalk.

In einer Reihe früher mitgeteilter Untersuchungen war die Bedeutung der Körperorgane bei der intravitalen Wirkung von Antiseren gegen Körperzellen darzutun versucht worden¹⁾. Die hier folgenden Untersuchungen über die Verteilung, Ausscheidung und Vernichtung bakterieller Toxine im Körper sollen die dort angeschnittene Frage nach der intravitalen Antigenwirkung von einer anderen Seite her erfassen.

Nicht die Wirkung eines Antikörpers (Antiserum) gegen ein im Organismus normalerweise vorhandenes Antigen (also z. B. die roten Blutkörperchen) war zu untersuchen, vielmehr sollte ein bakterielles Antigen von dem einfachen Typ des Toxins einverleibt werden, um dann zu verfolgen, wie dieses Gift durch die natürlichen und die künstlich gesteigerten Abwehrvorrichtungen des Organismus unschädlich gemacht bzw. entfernt wird. Dabei soll der Blick nicht nur auf die serologisch faßbaren, bereits fertigen Antikörper des Serums gerichtet werden. Vielmehr sollen die Beziehungen der einzelnen Körperorgane zu dem eingespritzten Toxin und die in ihnen vorhandenen potentiellen antitoxischen Energien bestimmt werden. Einblicke in den Mechanismus der Antikörperbildung zu gewinnen und die Bedeutung der einzelnen Körperorgane in ihrem Zusammenwirken hierbei zu erkennen, ist also auch das Ziel dieser Versuche.

Methodisch wurde hier so vorgegangen, daß zuerst einmal die Verteilung der Gifte auf die verschiedenen Organe des Körpers festgestellt und auf Grund der hierbei ermittelten Tatsachen dann versucht wurde, durch Belastungsproben mittels Gifteinspritzung einen Einblick in den Mechanismus der natürlichen Resistenz und der künstlichen Immunität des Körpers zu erhalten.

¹⁾ *Bieling* und *Isaac*, *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.* 1921, Nr. 25, S. 1; 1922, Nr. 26, S. 251; 1922, Nr. 28, S. 154 und 180.

Daß verschiedene Körperorgane wie Leber, Niere, Milz, Knochenmark und Lunge des Kaninchens befähigt sind, intravenös eingespritztes Tetanustoxin an sich zu ziehen, geht bereits aus Protokollen hervor, welche *Wolff-Eisner*¹⁾ veröffentlichte, nachdem schon früher *Metschnikoff*²⁾ die intravitale Bindung von Tetanustoxin an Hoden bzw. Ovarien sowie an Leukocyten von Hühnern gezeigt hatte. Für die folgenden Untersuchungen war es jedoch erforderlich, diese intravitale Bindungsvorgänge quantitativ zu bestimmen, da nur so die verschiedenartige Bedeutung der einzelnen Körperorgane für die Giftverteilung, Ausscheidung und ihre Vernichtung zu bestimmen war. Vereinzelt sind auch Befunde über Giftsubstanzen im Urin Tetanischer mitgeteilt worden, ohne daß jedoch die Toxinnatur dieser von anderen Untersuchern vermißten Gifte sicher gestellt wäre. Die Versuche von *Pettit*³⁾, welcher wirksames Diphtherietoxin nach Injektion im Urin wiederfand, sind an der wenig giftempfindlichen Ratte angestellt.

Weiterhin ist dann von *Wassermann* und *Takaki* und anschließend von einer Reihe anderer Autoren die Giftneutralisation von Organzerreibungen im Reagensglas untersucht worden, daß dieses Reagensphänomen für die Beurteilung der in Frage stehenden Probleme keinen entscheidenden Aufschluß geben kann, und es soll daher auf die Erörterung der an solche Versuche geknüpften Schlußfolgerungen für die Erklärung verschiedener Immunitätsvorgänge verzichtet werden.

Verteilung des Toxins im Körper $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion.

Die Versuche über die Verteilung des *Diphtherietoxins* wurden in folgender Weise durchgeführt.

Ein bei direkter Gifteinstellung etwa dreifaches Diphtheriegift (1 ccm einer Verdünnung 1 : 300 tötet bei subcutaner Injektion ein Meerschweinchen von 250 g in 4 Tagen) wurde für die ganze Versuchsreihe benutzt. Dieses Gift war infolge längerer Ablagerung relativ konstant geworden, wie dies die stets angesetzten Kontrolluntersuchungen während der 5 Monate, in welchen die Versuche liefen, zeigten. Von diesem Diphtherietoxin wurden bestimmte Mengen Meerschweinchen intrakardial injiziert, und die Tiere während der Inkubation nach wechselndem Zeitintervall entblutet. Dann wurde das Serum gewonnen, und die Organe des Tieres vom Bindegewebe und Blut befreit, gewogen, in einer Reibschale zerrieben und mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und zentrifugiert. Der dabei gewonnene opalescente, jedoch von Partikelchen freie Abguß wird als Organverdünnung $\frac{1}{2}$ bezeichnet. Bei sehr kleinen Organen, wie Milz und Nebenniere, wurden mehrfach Multipla des Organgewichtes an physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt und entsprechend größere Abgußmengen im Zentrifugat gewonnen. Der Gehalt des so dargestellten Organextraktes und des Serums an Diphtherietoxin wurde bestimmt, indem nach der Methode von *Römer* fallende Mengen im Volumen 0,1 Meerschweinchen intracutan injiziert wurden.

Ein Versuchsprotokoll möge als Beispiel dienen.

¹⁾ *Wolff-Eisner*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **47**, 218ff. 1908.

²⁾ *Metschnikoff*, Ann. de l'inst. Pasteur **11**, 807/8. 1897.

³⁾ *Pettit*, Ann. de l'Inst. Pasteur **28**, 663. 1914.

Tabelle I.

Ein Meerschweinchen von 255 g erhält 0,25 ccm dreifaches Diphtheriegift intrakardial und wird 20 Minuten nach der Injektion entblutet zur Serumgewinnung. Die Organe des Tieres werden gewogen, im Mörser zerrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt in folgender Weise:

Milz	0,070 g	Brei + 6 × 0,070 ccm	phys. Kochsalzlösung
Nebenniere	0,053 g	„ + 5 × 0,053 „	„ „ „
Niere	1,584 g	„ + 1,584	„ „ „
Leber	2,000 g	„ + 2,000	„ „ „
Gehirn	1,890 g	„ + 1,890	„ „ „

Intracutanreaktion mit Toxin zur Kontrolle sowie mit Serumverdünnungen und Verdünnungen der Organextrakte.

	1 d	3 d	4 d	7 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ stark	RJ 1 cm Nekr.	RJ 1 cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{2000}$	RJ	RJ stark	J 5 mm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{4000}$	R(J)	RJ Spch. II	J 4 mm Schorf	Nekr.
Serum $\frac{1}{2}$	RJ stark	RJ $1\frac{1}{2}$ cm Nekr.	RJ $1\frac{1}{2}$ cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{4}$	RJ	RJ Nekr.	RJ $1\frac{1}{2}$ cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{8}$	RJ	RJ Nekr.	RJ 1 cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{16}$	R(J)	RJ Nekr.	RJ $\frac{1}{2}$ cm Nekr.	Nekr.
Milz $\frac{1}{7}$	RJ(H)	RJH	RJ 4 mm Schorf	0
$\frac{1}{14}$	RJ	RJ Sp. II	RJ winzig. Nekr.	0
Nebenniere $\frac{1}{6}$	RJ	RJ	RJ	0
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	RJN	RJ 1 cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{4}$	RJ	RJN	RJ 1 cm Nekr.	Nekr.
$\frac{1}{8}$	R(J)	RJ	RJ	0
$\frac{1}{16}$	R(J)	R(J)	R(J)	0
Leber $\frac{1}{2}$	RJ	RJH	RJ Schorf 5 mm	0
$\frac{1}{4}$	R(J)	R(J)	R(J)	0
$\frac{1}{8}$	R	R	0	0
Gehirn $\frac{1}{2}$	RJ	R(J)	R(J)	0
$\frac{1}{4}$	R	R	(R)	0
$\frac{1}{8}$	R	R	0	0
Normalserum $\frac{1}{1}$	R(J)	R(J)	0	0

Zeichenerklärung: R = Rötung, J = Infiltration, H = Hämorrhagie, N = Nekrose, () = das betreffende Symptom ist schwach. Die Längenmaße geben den Durchmesser der Nekrose an bzw. den größten und kleinsten Durchmesser derselben.

Mit Verdünnungen des Serums und mit Extrakten aus den verschiedenen Organen wurden also intracutane Reaktionen derselben Art erzielt wie mit reinem Diphtherietoxin. An der Stelle der Injektion entstanden in der Haut der Meerschweinchen 5–10 pfennigstückgroße Rötungen und Infiltrationen; bei starkem Giftgehalt entwickelte sich Hämorrhagie, welche zu einer dunkelbraunroten Nekrose der Haut führte.

Es war nun der Beweis zu erbringen, daß diese Reaktion tatsächlich auf den Toxingehalt zurückgeführt werden muß. Zu diesem Zweck wurde die Wirkung von verdünnten Meerschweinchenserum normaler Tiere bei intracutaner Injektion geprüft. Dabei zeigte sich nur eine winzige Infiltration und Rötung am 1. und 2. Tag, während das Serum der mit Diphtheriegift behandelten Meerschweinchen noch in Verdünnungen bis zu 1 : 16 und mehr die typische Diphtheriegiftnekrose in der Haut hervorrief (vgl. Tab. I unten).

In einem weiteren Kontrollversuch wurde die Wirkung von Extrakten aus normalen Meerschweinchenorganen festgestellt.

Tabelle II.

Ein Meerschweinchen von 260 g erhält 1,0 ccm einfaches Diphtheriegift intrakardial und wird nach 25 Minuten entblutet. Außerdem werden zur Kontrolle zwei normale Meerschweinchen entblutet.

Intracutane Reaktion mit Toxin sowie mit Serum und Organextrakten des behandelten und der unbehandelten Tiere.

	2 d	3 d	4 d	6 d	8 d
Toxin $\frac{1}{1000}$. . .	RJ	RJ	RJ	0	0
$\frac{1}{2000}$. . .	RJ	RJ	RJ	0	0
$\frac{1}{4000}$. . .	R	RJ	RJ	0	0
Serum $\frac{1}{2}$	RJJ	RJH	RJN	N	$1\frac{1}{2}$ cm N
$\frac{1}{8}$	RJJ	RJH	RJH	N	$1\frac{1}{4}$ cm N
$\frac{1}{16}$	RJ	RJH	RJH	N	$\frac{3}{4}$ cm N
$\frac{1}{32}$	RJ	RJ	RJH	RJN	2 mm N
$\frac{1}{64}$	R(J)	RJ	RJ	RJ	0
Milz $\frac{1}{4}$	RJJ	RJJ	RJ	RJ	0
$\frac{1}{8}$	RJJ	RJJ	RJ	RJ	0
$\frac{1}{16}$	R(J)	R(J)	(R)	0	0
$\frac{1}{32}$	R	(R)	(R)	0	0
Nebenniere $\frac{1}{5}$	RJ Häm.	RJH	RJ Schorf $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{4}$	Schorf	0
$\frac{1}{10}$	RJ	RJ	RJ Spur Schorf	Spur Schorf	0
Niere $\frac{1}{2}$	RJJ	RJJ	RJN	N	$\frac{3}{4}$ ccm N
$\frac{1}{4}$	RJJ	RJJ	RJN	N	$\frac{3}{4}$ cm N
$\frac{1}{8}$	RJ	RJJ	RJ	J	1—2 mm N
Leber $\frac{1}{2}$	RJ	(R)J	(R)J	J	0
$\frac{1}{4}$	R	(R)	(R)	0	0
Hirn $\frac{1}{2}$	R(J)	R	0	0	0
$\frac{1}{4}$	R	R	(R)	0	0
Norm					
Nebenniere $\frac{1}{3}$?	0	0	0	.
Milz $\frac{1}{2}$	0	0	0	0	.
Niere $\frac{1}{2}$	0	0	0	0	.

Am 2. Tag nach der intracutanen Injektion einer Milz- oder Nieren-aufschwemmung $\frac{1}{2}$ und einer Nebennieren-aufschwemmung $\frac{1}{3}$ aus

Organen normaler Tiere war also überhaupt keine Rötung vorhanden. Die Nebenniereninjektion hat eine linsengroße, gelbliche Papel hervorgerufen, welche sich deutlich von den Diphtheriegiftreaktionen unterscheidet. Die Differenzen gegenüber der Wirkung von Organextrakten toxinbehandelter Tiere waren ganz offensichtlich. Trotzdem wird man vorsichtigerweise die Anwesenheit von Diphtheriegift aus dem Erscheinen einer geringgradigen Rötung oder einer rasch vorübergehenden Infiltration geringen Grades nicht mit Sicherheit erschließen dürfen. Dagegen ist jede lang andauernde starke Reaktion und vor allem jede mit leichter Hämorrhagie, welche zur Schorfbildung führt, oder schwerer Hämorrhagie, die in Nekrose übergeht, verbundene Reaktion als sichere Toxinwirkung anzusehen.

Erhärtet wird dieser Schluß weiterhin dadurch, daß die Wirkung der Organextrakte diphtheriegiftbehandelter Meerschweinchen durch Antitoxin aufgehoben wird, wie dies der folgende Versuch zeigt.

Tabelle III.

Ein Meerschweinchen von 250 g erhält 1,0 ccm siebenfaches Diphtherietoxin intrakardial und wird nach 35 Minuten entblutet. Die Leber wiegt 9,7 g und wird nach dem Zerreiben mit 4,85 ccm physiol. NaCl-Lösung versetzt und klar zentrifugiert $\rightarrow \frac{2}{3}$ Verdünnung; die Milz wiegt 0,35 g und wird nach dem Zerreiben mit 0,7 ccm physiol. NaCl-Lösung versetzt und klar zentrifugiert = $\frac{1}{3}$ Verdünnung.

Je 0,2 ccm der Leberaufschwemmung werden mit 0,2 ccm fallender Verdünnungen von Immunsrum bzw. Normalserum zusammengebracht und nach Durchschütteln je 0,1 ccm intracutan injiziert. Zur Kontrolle dient eine analoge Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung = $\frac{1}{3}$.

Je 0,15 ccm der Milzaufschwemmung werden mit 0,15 ccm Immunsrum $\frac{1}{5000000}$ Normalserum $\frac{1}{10000}$ bzw. NaCl-Lösung versetzt und je 0,1 ccm Mischung injiziert. Verdünnung der Milz Kontrolle = $\frac{1}{4}$. Für den Versuch wird ein ca. $\frac{1}{2}$ faches Normalserum und ein 900 faches Immunsrum verwendet.

	1 d	3 d	4 d	6 d
<i>Leber.</i>				
Normalserum $\frac{1}{5000}$	(R)J	RJ	J	(J)
$\frac{1}{1000}$	(R)J	RJ	J	(J)
Immunsrum $\frac{1}{10000000}$	(R)J	RJ	J	(J)
$\frac{1}{5000000}$	(R)J	RJ	J	(J)
$\frac{1}{1000000}$	(R)(J)	0	0	0
$\frac{1}{500000}$	0	0	0	0
$\frac{1}{250000}$	0	0	0	0
$\frac{1}{100000}$	0	0	0	0
$\frac{1}{50000}$	0	0	0	0
Kontr.: Physiol. NaCl	(R)J	RJ	J	(J)
<i>Milz.</i>				
Normalserum $\frac{1}{10000}$	(R)J	RJ	J	(J)
Immunsrum $\frac{1}{500000}$	0	0	0	0
Kontr.: Physiol. NaCl	(R)J	RJ	J	(J)

(J) = leichte Infiltration mit Epidermisschuppung.

Die Leberaufschwemmung des mit Diphtheriegift gespritzten Meer-schweinchens macht also in der Verdünnung 1 : 3 eine stark ausge-sprochene Infiltration mit Rötung ohne anschließende Nekrose. Diese Erscheinung wird durch Zusatz kleinster Antitoxinmengen aufgehoben. Die Zumischung einer Antitoxinverdünnung 1 : 500 000 hebt die Reaktion völlig auf, und selbst eine Serumverdünnung 1 : 1 000 000 macht noch eine sehr deutliche Abschwächung der Hautreaktion. Dagegen ist Normalserum selbst in einer Konzentration 1 : 1000, also in 1000 mal stärkerer Menge völlig unwirksam. Daraus ergibt sich, daß die Hautinfiltration und Nekrose, welche für die Beurteilung der Giftwirkung in den Versuchen zugrunde gelegt wird, tatsächlich auf die Toxine zurückgeführt werden muß, und daß es sich nicht um un-spezifische, wenn auch vielleicht unter der Einwirkung des Toxins entstandene Abbauprodukte in den Organen handelt. Genau dasselbe ergibt der analoge Milzversuch.

Die Übersicht über die tabellarischen Aufstellungen der erhobenen Befunde gibt nun nicht nur die Möglichkeit zu entscheiden, ob über-haupt Toxin in den untersuchten Flüssigkeiten enthalten ist, sondern es kann auch *die Menge des* in der geprüften Substanz *vorhandenen Bakteriengiftes geschätzt* werden, indem man die Reaktionsstärke der verschiedenen Verdünnungen mit der Wirkung der Giftlösung selbst vergleicht.

Wenn man an Hand der Tabelle I einmal ganz grob den Toxin-gehalt des Serums überschlägt, so zeigt sich folgendes: Die Reaktion von Serumverdünnungen von 1 : 8 liegt zwischen Toxin 1 : 500 und 1 : 2000 und mag also ca. 1 : 1000 sein. Die Reaktion von Serum $\frac{1}{16}$ entspricht ungefähr einem Toxin 1 : 2000. Serum $\frac{1}{1}$ entspricht also höchstens einer Toxinverdünnung 1 : 100. Angenommen, es wäre alles eingespritzte Toxin noch im Serum, so könnte diese Toxinver-dünnung 1 : 100, welche das Serum tatsächlich darstellt, nur erreicht werden, wenn das Tier 50 ccm Serum gehabt hätte; denn 0,5 ccm Toxin waren in die Blutbahn injiziert worden. Da aber ein Tier von 250 g höchstens 8—10 ccm Serum hat, so muß ein großer Teil des Toxins aus der Blutflüssigkeit abgewandert sein. Dies wird bestätigt durch die Untersuchung der Organflüssigkeiten. Schätzt man den Toxin-wert der Organextrakte, so muß dabei berücksichtigt werden, daß das Blut aus den untersuchten Organen nicht restlos entfernt wurde, wenn auch das Versuchstier entblutet war. Die errechneten Werte geben also keine absolute Zahl für den tatsächlichen Gehalt der blutfreien Organe, sondern nur relative Vergleichswerte. Der Überblick über die in den Tabellen aufgeführten Werte zeigt nun ohne weiteres, daß *in keinem der untersuchten Organe 20 Minuten nach der Giftinjektion eine Toxin-konzentration vorhanden ist, welche diejenige des Serums erreicht*. Weiter-

hin aber bestehen auch recht erhebliche Unterschiede in dem Toxingehalt der verschiedenen Organe. Fast *toxinfrei* ist das *Gehirn*. Man wird nicht fehlgehen, wenn man seinen Giftgehalt gleich einer Verdünnung 1 : 10 000 oder darunter annimmt, eine Menge, welche vielleicht allein auf das beigemengte Serum zurückgeführt werden kann. *Mehr Gift* enthält die *Leber*. Die Reaktion des unverdünnten Abgusses 1/2 entspricht etwa derjenigen von Toxin 1 : 8000, so daß man also den Gehalt des untersuchten Lebergewebes auf etwa 1 : 4000 Gift schätzen kann. In *dieselbe Größenordnung* dürfte die *Nebenniere* gehören. Dagegen enthielten *Milz* und *Niere* deutlich *mehr Diphtherietoxin*. Wenn man die Reaktion der Milzverdünnung $\frac{1}{7}$ und $\frac{1}{14}$ mit der Toxinverdünnung 1 : 8000 vergleicht, so wird man sicherlich nicht zu hoch greifen, wenn man den Toxingehalt der Milz auf etwa 1 : 1000 angibt, und auf ungefähr denselben Wert kommt man auch bei der Niere.

Da eine exakte Einstellung der letzten Nekrose machenden Dosis der verschiedenen geprüften Flüssigkeiten nicht vorgenommen werden konnte, so muß auf ganz genaue Wertangaben verzichtet werden. Das aber jedenfalls zeigt sich klar auch aus diesem Überschlag, daß 20 Minuten nach der Injektion von 0,25 ccm Diphtherietoxin, welche in den Kreislauf des 255 g schweren Meerschweinchens eingebracht worden waren, die größte Menge bereits aus dem Blut verschwunden ist.

Trotzdem aber ist im Blut die Giftkonzentration noch stärker als in sämtlichen untersuchten Organen, von denen Milz und Niere bedeutend mehr Gift enthielten als Leber und Nebenniere und diese beiden wieder mehr als das Gehirn.

Eine solche auf Vergleichung beruhende Schätzung der Giftmenge muß naturgemäß mit einer ziemlich großen Fehlergrenze rechnen. Die Grundlage für weitere Schlüsse kann sie nur sein, wenn von zwei Grenzbestimmungen immer die jeweils ungünstigere Kombination der Berechnung zugrunde gelegt wird, und wenn sich trotzdem noch grob zahlenmäßige Unterschiede ergeben.

Der verschiedene Giftgehalt der Organe ist nicht etwa durch einen verschiedenen Gehalt an toxischem Blut bedingt. Denn entsprechende Untersuchungen zeigten, daß die stark wirksame Milz weniger Blut enthielt als die schwächer wirksame Leber. Weiterhin wird diese Unabhängigkeit des Toxingehaltes der Organe von ihrem Blutgehalt durch die später zu besprechenden Befunde der Toxinbindung an die Organzellen bewiesen.

Das Ergebnis dieser beiden eingehend dargestellten Versuche wird nun durch die sämtlichen folgenden Versuche bestätigt, deren Ergebnis in derselben Weise wie oben gewonnen ist. Die Einstellung von Serum und Organsaft eines weiteren Meerschweinchens, welches 20 Minuten

nach der Diphtherietoxinjektion entblutet wurde, möge noch als weiteres Beispiel dienen.

Tabelle IV.

Ein Meerschweinchen von 270 g erhält 0,9 ccm dreifaches Diphtherietoxin intrakardial und wird nach 20 Minuten entblutet.

Milz . . .	0,353 g + 1,0	physiol. Kochsalzlösung = Abgußverdünnung	$\frac{1}{3,8}$
Nebenniere	0,100 g + 0,5	„ „ =	„ $\frac{1}{6}$
Niere . . .	2,600 g + 2,6	„ „ =	„ $\frac{1}{2}$
Leber . . .	4,000 g + 4,0	„ „ =	„ $\frac{1}{2}$
Gehirn . . .	2,800 g + 2,8	„ „ =	„ $\frac{1}{2}$

Intracutane Reaktion mit Toxin zur Kontrolle sowie mit Serumverdünnungen und Organextrakten.

	2 d	4 d	6 d	8 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ	RJH	Nekr. 1 : $\frac{3}{4}$ cm	Nekr.
$\frac{1}{2000}$	R(J)	0	0	0
$\frac{1}{4000}$	R	0	0	0
Serum $\frac{1}{5}$	RJN	RJN	Nekr. $1\frac{1}{2}$: $1\frac{1}{2}$ cm	Nekr.
$\frac{1}{10}$	RJ(H)	RJN	Nekr. $1\frac{1}{2}$: $1\frac{1}{2}$ cm	Nekr.
$\frac{1}{20}$	RJ	RJN	Nekr. 1 : 1 cm	Nekr.
$\frac{1}{40}$	R(J)	RJ(H)	Kleiner Schorf	0
Milz $\frac{1}{7,8}$	RJ	RJH	Nekr. $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm	Nekr.
Nebenniere $\frac{1}{6}$	RJ	RJN	Nekr. 2 mm	Nekr.
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	RJN	Nekr. $1\frac{1}{2}$: $1\frac{1}{2}$ cm	Nekr.
$\frac{1}{4}$	RJ	RJN	Nekr. 1 : 1 cm	Nekr.
$\frac{1}{8}$	R	RJN	Nekr. $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm	Nekr.
$\frac{1}{16}$	0	0	0	0
Leber $\frac{1}{2}$	R	0	0	0
$\frac{1}{4}$	R	0	0	0
Hirn $\frac{1}{2}$	(R)	0	0	0

Nicht anders als das Diphtherietoxin verteilt sich auch das *Tetanustoxin* im Körper von Meerschweinchen.

Zu diesen Versuchen wurde ein abgelagertes Tetanustoxin verwendet, welches, in der Menge von 0,4 ccm Mäusen intramuskulär injiziert, noch in der Verdünnung 1 : 400 das Tier innerhalb von 1—2 Tagen an typischem Tetanus tötete. Die Prüfung des Toxingehaltes der Körperflüssigkeiten und der Organe der mit diesem Toxin intrakardial gespritzten Meerschweinchen wurde in derselben Weise vorgenommen wie oben beim Diphtheriegift. Die Prüfung des Toxingehaltes der Meerschweinchenorgane usw. wurde an Mäusen durchgeführt, welchen 0,5 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeiten intramuskulär in die Schenkelmuskulatur injiziert wurde. Die tetanischen Erscheinungen, welche dann zuerst an der injizierten Extremität auftraten und sich bei größerem Toxingehalt über den ganzen Körper ausdehnten und schließlich den Tod der Tiere herbeiführten, waren so charakteristisch, daß hier analoge Kontrollversuche wie bei der Diphtherietoxinprüfung überflüssig erscheinen mußten. Ein Versuch möge die Technik erläutern.

Tabelle V.

Ein Meerschweinchen von 320 g erhält 1,0 ccm Tetanustoxin intrakardial und wird nach 30 Minuten entblutet.

Prüfung des Toxingehaltes des Serums und der Organextrakte durch intramuskuläre Injektion von 0,5 ccm fallender Verdünnungen bei grauen Mäusen.

	2 d	4 d	5 d	7 d	9 d	11 d
Toxin $\frac{1}{1000}$	†
$\frac{1}{4000}$	+	+	+	+	+	+
Serum $\frac{1}{10}$	†
$\frac{1}{20}$	†
$\frac{1}{40}$	+	†
$\frac{1}{80}$	+	†
Milz $\frac{1}{5}$	+	+	†	.	.	.
$\frac{1}{10}$	+	†
$\frac{1}{20}$	0	+	+	+	+	entlaufen
$\frac{1}{40}$	0	-	-	(+)	(+)	+
Leber $\frac{1}{2}$	+	†
$\frac{1}{5}$	0	+	+	+	+	+
$\frac{1}{10}$	0	-	(+)	(+)	-	†
Hirn $\frac{1}{2}$	0	-	-	-	-	-
Niere $\frac{1}{2}$	+	†
$\frac{1}{5}$	+	†
Muskel $\frac{1}{2}$	+	+	†	.	.	.
$\frac{1}{5}$	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{10}$	0	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = tetanisch, (+) = geringer Streckkrampf an der injizierten Extremität, † = tot, - = keine krankhaften Erscheinungen.

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß im Serum und in den verschiedenen Organen des mit Tetanustoxin vergifteten Meerschweinchens dieses injizierte Gift in wirksamer Form vorhanden ist. Die mit Serumverdünnungen und den Extrakten aus den Organen intramuskulär gespritzten Mäuse bekamen nach entsprechender Inkubation dieselben tetanischen Erscheinungen, wie die mit dem Gift selbst injizierten Kontrolltiere. Wiederum ergibt die Untersuchung der Organe ohne weiteres, daß ein Teil des in die Blutbahn eingespritzten Giftes aus dieser innerhalb der Versuchszeit von 30 Min. verschwunden ist. Der Gehalt der einzelnen Organe an Tetanustoxin ist verschieden groß. Am größten ist er wiederum, wie beim Diphtherietoxin, in der Milz. Hier tötet noch eine Verdünnung 1 : 10 die Maus in 4 Tagen an Starrkrampf und auch noch die Verdünnung 1 : 40 löst, wenn auch sehr verspätet, deutliche tetanische Symptome aus. Auch die Niere enthält ganz erheb-

liche Giftmengen. Der genaue Giftgehalt ist in dem Versuch nicht bestimmt. Wenn sie hinter die Milz gestellt wird, so wird dies aus den weiteren noch mitzuteilenden Versuchen abgeleitet. *Mit absteigendem Giftgehalt folgen dann die Leber, daran anschließend die Muskulatur und schließlich das toxinfreie Gehirn.* Die quantitative Verteilung des Tetanustoxin entspricht also völlig derjenigen des Diphtherietoxins nach den obigen Versuchen und die dortigen Ausführungen passen also im wesentlichen auch für das Starrkrampfgift.

Zur Bestätigung diene das folgende Protokoll eines weiteren analogen Versuchs.

Tabelle VI.

Ein Meerschweinchen von 360 g erhält 1,0 ccm Tetanustoxin intrakardial und wird nach 30 Minuten entblutet.

Intracutane Reaktion mit Toxin zur Kontrolle sowie mit Serumverdünnungen und Organextrakten.

	2 d	3 d	4 d	7 d	11 d	18 d
Toxin $\frac{1}{500}$. . .	+	†	•	•	•	•
$\frac{1}{750}$. . .	+	+	†	•	•	•
Serum $\frac{1}{1}$. . .	†	•	•	•	•	•
$\frac{1}{5}$. . .	†	•	•	•	•	•
$\frac{1}{10}$. . .	†	•	•	•	•	•
Milz $\frac{1}{4}$. . .	+	†	•	•	•	•
$\frac{1}{8}$. . .	+	+	+	+	+	†
Leber $\frac{1}{2}$. . .	+	+	+	+	†	•
$\frac{1}{5}$. . .	+	+	†	+	+	+
Hirn $\frac{1}{2}$. . .	—	—	—	† inter-	•	•
$\frac{1}{5}$. . .	—	—	—	kurrent	—	—
Niere $\frac{1}{2}$. . .	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{5}$. . .	—	—	+	+	—	†
Muskel $\frac{1}{2}$. . .	+	+	+	†	•	•
Galle $\frac{1}{5}$. . .	—	—	—	—	—	—
Urin $\frac{1}{2}$. . .	—	—	—	—	—	—

Verteilung des Toxins im Körper 4—5 Stunden nach der Injektion.

In den bisherigen Untersuchungen war die Verteilung des *Diphtherietoxins* 20—30 Min. nach Injektion festgestellt worden. Es soll nunmehr eine Reihe von Prüfungen folgen, in welchen die Meerschweinchen erst 4—5 Stunden nach der Giftinjektion getötet und untersucht wurden. Es wird sich zeigen, daß nach dieser Zeit das Bild ein völlig anderes geworden ist.

Tabelle VII.

Ein Meerschweinchen von 350 g erhält 1,0 ccm dreifaches Diphtheriegift intrakardial und wird nach $4\frac{1}{2}$ Stunden entblutet.

Intracutane Reaktion mit Toxin zur Kontrolle, sowie mit Serumverdünnungen und Verdünnungen der Organextrakte.

	2 d	3 d	4 d	6 d	8 d
Toxin $\frac{1}{1000}$. . .	RJJ	RJJ	RJ $\frac{1}{2}$ cm N	N	$\frac{1}{2}$ cm N
$\frac{1}{2000}$. . .	RJJ	RJJ	RJ Schorf	Schorf	0*)
$\frac{1}{4000}$. . .	R(J)	RJ	RJ	J	0
Serum $\frac{1}{2}$. . .	RJNN	RJN	1: $\frac{1}{2}$ cm N	N	1: $\frac{1}{2}$ cm N
$\frac{1}{4}$. . .	RJJ SpN	RJN	$\frac{1}{2}$ cm N	N	$\frac{3}{4}$: 1 cm N
$\frac{1}{8}$. . .	RJN	RJN	$\frac{1}{2}$ cm N	N	$\frac{3}{4}$: $\frac{1}{2}$ cm N
$\frac{1}{16}$. . .	RJ SpN	RJ Schorf	RJ Schorf	Schorf	0*)
Milz $\frac{1}{4}$. . .	RJ	(RJ)	(RJ)	0	0
$\frac{1}{8}$. . .	R	(R)	0	0	0
$\frac{1}{16}$. . .	0	0	0	0	0
Nebenniere $\frac{1}{5}$	RJ	RJ	RJ	0	0
$\frac{1}{10}$
Niere $\frac{1}{2}$. . .	RJJ	RJN	1: $\frac{3}{4}$ cm N	N	$\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm N
$\frac{1}{4}$. . .	RJJ	RJJ	RJ	J	0
$\frac{1}{8}$. . .	RJ	RJ	RJ	Schörfchen	0
Leber $\frac{1}{2}$. . .	RJ	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{4}$. . .	RJ	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{8}$. . .	R	R	R	0	0
Hirn $\frac{1}{2}$. . .	0	0	0	0	0

*) Unter dem abgestoßenen Schorf ist die Haut noch unbehaart und rosa.

Dieser Versuch wurde gleichzeitig mit dem in Tabelle II mitgeteilten angesetzt und zeigt dadurch noch klarer die charakteristische Veränderung, welche in der Verteilung des Diphtheriegiftes im Körper mit dem Fortschreiten der Zeit eingetreten ist. Die Tabelle läßt erkennen, daß das Serum des Meerschweinchen $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion immer noch Diphtherietoxin enthält. Die Menge hat jedoch deutlich abgenommen; denn die letzte Nekrose machende Dosis beträgt $\frac{1}{8}$ gegenüber $\frac{1}{32}$ im Vergleichsversuch nach 25 Min.

Bei dem für Tetanusgift relativ unempfindlichen Huhn kreist eingespritztes Toxin tagelang im Serum (*Vaillard*), beim empfindlicheren Kaninchen scheint es nach *Wolff-Eisners* Protokollen schon in 3 Stunden aus dem Blut zu verschwinden. Bei dem für Diphtheriegift stark empfindlichen Meerschweinchen dagegen bleibt das Gift länger in der Blutflüssigkeit als bei dem weniger empfindlichen

Kaninchen. Ein Parallelismus zwischen Giftempfindlichkeit eines Tieres und der Geschwindigkeit, mit der eingespritztes Toxin aus dem Serum abwandert, besteht also nicht. Damit werden auch die sich hierauf stützenden Schlüsse hinfällig. Das gleiche Ergebnis haben die später zu schildernden Untersuchungen mit Tetanustoxin am Meerschweinchen.

Bei den Organen fällt vor allem auf, daß die *Milz*, welche in den früheren Versuchen sich durch ihren relativen Toxinreichtum auszeichnete, *nur noch ganz wenig Gift* enthält und sich *nicht mehr von der Leber unterscheiden läßt*, die sie bei Untersuchungen nach 20 Minuten bei weitem übertraf. Auch der Giftgehalt der *Nebenniere* und *Niere* hat *abgenommen*, doch ist in der letzteren noch immer relativ viel Toxin vorhanden, eine Tatsache, welche darauf hinweist, daß die Niere vielleicht mit der Entfernung des Giftes beschäftigt ist, worauf noch zurückzukommen ist. Völlig *giftfrei* ist das *Gehirn*.

Denselben Befund ergab ein Wiederholungsversuch.

Tabelle VIII.

Ein Meerschweinchen von 250 g erhält 1,0 Diphtherietoxin intrakardial und wird nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden entblutet.

Intracutane Reaktion mit Toxin zur Kontrolle sowie mit Serumverdünnungen und Verdünnungen der Organextrakte.

	2 d	4 d	6 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ	RJN	$\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm N
$\frac{1}{2000}$	RJ	RJ	J
Serum $\frac{1}{4}$	RJ	RJN	$1 : \frac{3}{4}$ cm N
$\frac{1}{8}$	RJ	RJ	J
$\frac{1}{16}$	RJ	RJ	0
$\frac{1}{32}$	R	0	0
Milz $\frac{1}{5}$	R(J)	(RJ)	0
$\frac{1}{10}$	R	0	0
Nebenniere $\frac{1}{8}$	RJ	RJ	0
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	RJ	J
$\frac{1}{4}$	RJ	RJ	0
$\frac{1}{8}$	RJ	RJ	(J) ?
$\frac{1}{16}$	R	0	0
Leber $\frac{1}{2}$	RJ	0	0
$\frac{1}{4}$	R	0	0
Hirn $\frac{1}{2}$	0	0	0
Niere $\frac{1}{1}$	RJ Häm.	RJN	$\frac{1}{4} : \frac{1}{4}$ cm N
$\frac{1}{10}$	RJ	RJN	$\frac{3}{4} : \frac{3}{4}$ cm N

Hier wurde auch gleichzeitig der *Urin* mit untersucht, und es zeigte sich, daß derselbe tatsächlich *toxinhaltig* ist. Hierdurch wird die aus dem ersten Versuch abgeleitete Vermutung bestätigt, daß das injizierte Toxin durch die Nieren ausgeschieden wird.

Über den Giftgehalt von Muskulatur (Herz- und Skelettmuskeln) und Haut unterrichtet das folgende Versuchsbeispiel.

Tabelle IX.

Ein Meerschweinchen von 315 g erhält 1,1 ccm dreifaches Diphtherietoxin intrakardial und wird nach 5 Stunden entblutet.

	2 d	4 d	6 d	9 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ	JH	$\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm N	N
$\frac{1}{1000}$	RJ	JH	4 mm N	N
$\frac{1}{2000}$	R(J)	J	J	0
Serum $\frac{1}{4}$	RJ	JH	$\frac{5}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm N	N
$\frac{1}{8}$	RJ	J(H)	ca. $\frac{1}{2}$ cm N	N
$\frac{1}{16}$	RJ	J	0	0
$\frac{1}{32}$	RJ	J	0	0
Urin $\frac{1}{10}$	RJ	JH	$\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm N	N
$\frac{1}{20}$	RJ	JH	$\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm N	N
$\frac{1}{40}$	RJ	J(H)	JH	Schorf
$\frac{1}{80}$	RJ	J	J	0
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	JH	$\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm N	N
$\frac{1}{4}$	RJ	(J)	(J)	0
Muskel $\frac{1}{2}$	R(J)	(J)	0	0
Haut $\frac{1}{2}$	RJ	(J)	0	0

Anmerkung: Die Leber wurde versehentlich nicht mitgeprüft.

Herz und Skelettmuskulatur enthielten also etwas *weniger* freies Gift als sonst die Leber. Der Giftgehalt der *Haut* war noch *geringer* als der der Muskulatur.

Diese allgemeine Verminderung des Giftgehalts der Organe im Laufe von 4—5 Stunden nach der Injektion wird noch deutlicher in den Versuchen mit *Tetanustoxin*, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle X.

Ein Meerschweinchen von 360 g erhält 1 ccm Tetanustoxin intrakardial und wird nach 5 Stunden entblutet.

Serum- und Urinverdünnungen sowie Zentrifugate bzw. deren Verdünnungen von Zellaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung werden Mäusen intramuskulär injiziert mit folgendem Ergebnis.

	1 d	2 d	4 d	7 d
Toxin $\frac{1}{2000}$	+	+	+	+
Serum $\frac{1}{5}$	+	+	+	+
$\frac{1}{20}$	-	+	+	-
$\frac{1}{40}$	-	-	-	-
Milz $\frac{1}{4}$	-	-	-	-
$\frac{1}{8}$	-	-	-	-
Leber $\frac{1}{2}$	-	-	† ohne Tetanus	.
$\frac{1}{4}$	-	-	-	-
Hirn $\frac{1}{2}$	-	-	† ohne Tetanus	.
Niere $\frac{1}{2}$	-	+(?)	-	-
$\frac{1}{4}$	-	-	-	-
Muskel $\frac{1}{2}$	-	-	-	-
$\frac{1}{4}$	-	-	-	-
Urin $\frac{1}{2}$	-	+	+	+
$\frac{1}{5}$	+	+	-	-
$\frac{1}{10}$	+	+	(+)	+?
$\frac{1}{20}$	-	-	-	-

Während in den 20 Min.-Versuchen das *Serum* sehr reichlich Gift enthielt und selbst eine Verdünnung $\frac{1}{80}$ die Mäuse noch in 4 Tagen mit Krämpfen tötete, enthielt hier eine Verdünnung $\frac{1}{5}$ eine *untertödliche Toxinmenge*. Noch stärker fast ist der Rückgang in den Organen. Sämtliche *Organe* haben in den geprüften Konzentrationen, auch den stärksten, welche technisch anwendbar waren, keine deutlichen Zeichen von Starrkrampf mehr hervorgerufen. Auch die in den übrigen Tetanusversuchen so stark wirksame *Milz* ist in der Verdünnung $\frac{1}{4}$ ganz *unwirksam*. Die gleichzeitig ausgeführte Untersuchung des *Urins* ergab jedoch, daß in diesem *reichlich Tetanustoxin* vorhanden ist. Auch das Tetanustoxin wird also genau so, wie das Diphtherietoxin, zumindest teilweise in unveränderter Form durch die Nieren ausgeschieden.

Die *Aufstapelung* des in die Blutbahn eingespritzten Toxins *in der Milz* findet also *nur in der allerersten Zeit* nach der Injektion statt, dann sinkt der Toxingehalt der Milz rasch und erhebt sich nicht über denjenigen anderer parenchymatöser Organe, wie Leber und Nebenniere.

Dagegen enthält die *Niere* gewöhnlich *noch längere Zeit* mehr *Toxin*, und zwar wohl deshalb, weil hier eine *Ausscheidung in den Urin* stattfindet. Es ist jedoch nicht zu entscheiden, ob das in der Nierenaufschwemmung nachgewiesene Gift nicht vielleicht schon das sezernierende Epithel durchwandert hat und sich bereits in dem Harn der Harnkanälchen und Tubuli recti befindet.

Die Giftbindung in den Organen.

Das in die Blutbahn eingespritzte Bakterientoxin wandert also wenigstens zum Teil in die einzelnen Organe ab, wobei der Milz für die primäre Speicherung, der Niere für die Ausscheidung eine besondere Funktion zukommt. Auf diesen letzten Punkt wird später noch ausführlich zurückzukommen sein.

Da es nun gelingt, dieses Toxin durch einfaches Schütteln der Gewebstrümmer mit physiologischer Kochsalzlösung wieder frei zu machen, so kann es sich hier nicht um eine feste Bindung, sondern lediglich um eine lokale Adsorption handeln. Daneben findet außerdem auch eine festere Bindung an die Organzellen statt. Aus technischen Gründen konnte dies lediglich bei dem Tetanustoxin nachgewiesen werden, und zwar bezeichnenderweise wiederum in der Milz, d. h. also dem Organ, das durch seine starke Giftkapazität überhaupt besonders auffällt. Der folgende Versuch ist die Fortsetzung des vorn angeführten Versuchs Nr. V. Über die Vorbehandlung des Meerschweinchens mit Tetanusgift siehe dort.

Das bei der Gewinnung des Organsaftes zurückbleibende zerriebene Gewebe wird nun durch Gaze filtriert und zentrifugiert. Dabei setzen sich die roten Blutkörperchen in der Kuppe des Zentrifugenglases ab, während die Organzellen als grauweiße bis graubraune Schicht im Sediment oben aufgelagert sind. Sie werden gewonnen, wiederum in Kochsalz aufgeschwemmt, nochmals gewaschen und auf diese Weise eine dicke, blutkörperchenarme Zellaufschwemmung erhalten. Die Suspensionen aus Niere, Leber und Hirn sind sehr dicht, die Milz- und Muskelaufschwemmung ganz bedeutend schwächer konzentriert. 0,5 ccm einer solchen möglichst dichten Aufschwemmung werden dann grauen Mäusen intramuskulär injiziert. Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle XI.

	1 d	2 d	6 d	14 d
Milz.	—	+	+	+
Niere	—	—	—	—
Muskel	—	—	—	—
Leber	—	—	—	—
Hirn	—	—	—	—

Die Aufschwemmung von Niere, Muskel, Leber und Hirn war also wirkungslos, die damit gespritzten Tiere bekamen keinen Tetanus. Dagegen gelang es, mit der noch dazu weniger konzentrierten Milzaufschwemmung die Maus tetanisch zu machen. Die mehrfach mit frischer physiologischer Kochsalzlösung gewaschene *Milzzellenaufschwemmung* enthielt also immer noch *Tetanustoxin* in Bindung. Diese Bindung war fest genug, um der mehrfachen Waschung zu widerstehen, jedoch nicht fest genug, daß nicht das Gift nach der Injektion von den toten Zellen auf die lebenden, empfindlichen Zellen der Maus übersprungen wäre. *Dönitz*¹⁾ hatte schon vermutet, daß die Körperorgane eingespritztes Tetanustoxin binden, da die zur Neutralisation vorher injizierten Giftes notwendige Gegengiftmenge von Minute zu Minute steigt. Diese Vermutung konnte in den obigen Versuchen wenigstens für die Milz experimentell durch den Nachweis des gebundenen Toxins bestätigt werden.

Dasselbe ergibt eine analoge Untersuchung der obigen Aufschwemmungen aus dem vorn mitgeteilten Versuch XI. In diesem Versuch wurden im Gegensatz zum ersten wenigstens bei Hirn, Niere und Leber ganz erheblich stärkere Zellaufschwemmungen benutzt, wie oben. Infolgedessen macht sich bei den Tieren eine auf das injizierte, abgestorbene Gewebe zurückzuführende Schädigung bemerkbar, welche zu Ödem, Schwellung und schließlich auch zum Tod der Tiere führt. Tetanische Symptome entstanden jedoch nicht. Lediglich die mit Milzbrei gespritzten Mäuse bekamen mit über 24stündiger Inkubation einen typischen Tetanus der behandelten Extremität.

Auf Grund ihrer quantitativ verschiedenen Toxinspeicherung kann man also *drei Klassen von Organen bei der Prüfung des Toxingehalts* unterscheiden. Auf der einen Seite steht die Milz, deren Giftgehalt so groß ist, daß sie sowohl gebundenes wie freies Toxin in nachweisbarer Menge enthält. Ihr folgen die Organe Leber, Niere und Nebenniere sowie die Muskulatur und Haut, welche nach Injektion der hier benutzten Giftmengen lediglich freies Toxin enthalten. Dabei ist der Giftgehalt der beiden letztgenannten Gewebsarten am geringsten. Schließlich steht auf der anderen Seite der Reihe das Gehirn, welches nur so geringe Giftmengen enthält, daß diese bei der angewandten Technik nicht mehr bestimmt werden konnten.

Weiterhin zeigte sich, daß mehrere Stunden nach der Injektion der Gehalt an freiem Toxin in der Milz stark abgenommen hat, so daß sich ihr Giftgehalt nicht mehr wesentlich von dem der Leber unterscheidet. Freilich kann zu dieser Zeit immer noch gebundenes Toxin (Tetanustoxin) in der Milz nachweisbar sein.

¹⁾ Dtsch. med. Wochenschr. 1897, S. 428.

In welcher Form sich histologisch diese teils lockere, teils festere Bindung darstellt, wäre noch zu untersuchen. *Hahn* und *v. Skramlik*¹⁾ haben bei der Anschoppung von Typhusagglutinin in der überlebenden, künstlich durchströmten Leber Quellungserscheinungen an deren Zellen abgebildet. Diese haben eine große Ähnlichkeit mit der von *Fischer*²⁾ beschriebenen blasigen Entartung, welche als Wasserspeicherung gedeutet wird. Histologische Untersuchungen müßten entscheiden, ob bei der mehr oder minder festen intravitalen Toxinbindung durch die Körperzellen ähnliche Erscheinungen eine Rolle spielen. Die Durchspülung der überlebenden Leber mit Tetanustoxin soll jedenfalls zu keiner Veränderung führen³⁾.

¹⁾ *Hahn* und *v. Skramlik*, *Biochem. Zeitschr.* **130**, 80. 1922.

²⁾ *Fischer*, *Frankf. Zeitschr. f. Pathol.* **28**, 201. 1922.

³⁾ *v. Skramlik* und *Hünemann*, *Zeitschr. f. ges. exp. Med.* **11**, 349. 1920.

(Aus der Serologischen Abteilung der Höchster Farbwerke und dem Laboratorium
der medizinischen Poliklinik der Universität Frankfurt a. M.)

Bindung, Ausscheidung und Vernichtung von Toxinen im Körper.

Von

R. Bieling und A. Gottschalk.

Anschließend an die früher mitgeteilten Befunde über die Verteilung von Diphtherie- und Tetanustoxin im Körper des Meerschweinchens¹⁾ soll nunmehr versucht werden, die Bedeutung dieser Befunde näher zu erläutern, wobei vor allem auch die Art der Ausscheidung des Giftes aus dem Körper näher besprochen wird. Dabei mag mit dem Gehirn begonnen werden.

Giftbindung in vivo und in vitro.

Das Gehirn enthält sowohl 20—30 Min. nach der Injektion der Gifte in die Blutbahn sowie auch 4—5 Stunden später keine nennenswerten Mengen von freiem Toxin und auch kein gebundenes Toxin. Dies gilt sowohl für Diphtherie- wie für Tetanusgift.

Was nun das Tetanustoxin im besonderen anbelangt, so liegt hier die Annahme nahe, daß das Nervengewebe infolge seiner mehrfach behaupteten spezifischen Affinität zu dem Tetanusgift dieses mit ganz besonderer Energie an sich reißt, festhält und neutralisiert, so daß es nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Seit den Versuchen von *Wassermann* und *Takaki*²⁾ ist es bekannt, daß Nervengewebe, das man mit Tetanustoxin zusammenbringt, dieses neutralisiert. Die Stärke dieser Wirkung zeigt der folgende Versuch.

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1923.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1898, S. 5.

Tabelle I.

Hirn und Nieren eines normalen Meerschweinchens werden in der Reibschale zerrieben, der Brei in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch Gaze filtriert, mehrfach gewaschen und zentrifugiert, wobei die Blutkörperchen von den Organzellen entfernt werden. Die beiden Aufschwemmungen werden so eingestellt, daß 5 ccm 8 mg Trockensubstanz enthalten.

Je 0,1 ccm einer Toxinverdünnung $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{25}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$ werden mit 0,9 ccm a) Hirnaufschwemmung, b) Nierenaufschwemmung, c) physiologischer Kochsalzlösung versetzt, durchgeschüttelt. Nach ca. 10 Minuten wird 0,5 ccm weißen Mäusen intramuskulär injiziert.

	1 d	2 d	3 d	5 d	6 d	14 d
Hirn $\frac{1}{2000}$	0	0	0	0	0	0
$\frac{1}{1000}$	0	0	0	0	0	0
$\frac{1}{500}$	0	0	0	0	0	0
$\frac{1}{250}$?	0	0	+	† interkurrent?	.
$\frac{1}{100}$	0	+	+	+	+	+
Niere $\frac{1}{2000}$	0	0	+	+	+	+
$\frac{1}{1000}$	+	+	+	†	.	.
$\frac{1}{500}$	+	+	†	.	.	.
$\frac{1}{250}$	+	†
$\frac{1}{100}$	+	†
Toxinverdünnung $\frac{1}{2000}$?	(+)	+	+	+	+
$\frac{1}{1000}$	+	+	+	†	.	.
$\frac{1}{500}$	+	+	+	†	.	.

Zeichenerklärung: (+) = angedeuteter Tetanus in der injizierten Extremität; +, = ausgesprochener Tetanus in der injizierten Extremität; +,, = Tetanus hat auf die Rumpfmuskulatur übergreifen; +,,, = Tetanus der Hinterextremitäten und des ganzen Rumpfes, das Tier kann sich aus Rückenlage nicht spontan erheben; (±)? = keine charakteristischen Erscheinungen.

Behandlung des Tetanustoxin mit Nierenaufschwemmung ist also ohne jede Wirkung, dagegen verliert das Tetanusgift durch Behandlung mit Gehirnbrei mindestens $\frac{9}{10}$ seiner Wirkung. An der bindenden Kraft des Gehirnbreies auf das Tetanustoxin ist also nicht zu zweifeln. Trotzdem aber werden die weiteren Untersuchungen zeigen, daß diese *Reagensglaserscheinung für die Erklärung der Vorgänge im lebenden Körper nicht ohne weiteres herangezogen werden kann*, denn diese Bindung kann den mangelnden Giftgehalt im Gehirn nach Diphtheriegiftinjektion nicht erklären, wie der folgende Versuch ergibt.

Tabelle II.

Aufschwemmung von Gehirn- und Leberzellen, dargestellt wie oben, mit je 0,0284 g Trockensubstanz der Organzellen in 1 ccm

- a) 0,1 Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{10} + 0,9$ Hirnaufschwemmung
 b) 0,1 „ „ $\frac{1}{10} + 0,9$ Leberaufschwemmung
 c) 0,1 „ „ $\frac{1}{10} + 0,9$ physiol. Kochsalzlösung.

Nach ca. 5 Minuten Stehenlassen wird zentrifugiert und 0,1 ccm Abguß bzw. Abgußverdünnung einem Meerschweinchen intracutan eingespritzt.

	2 d	4 d	6 d	8 d
Hirn $\frac{1}{100}$	RJ	JH	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{250}$	RJ	JH	N 1 : 1 „	N
$\frac{1}{500}$	RJ	JH	N 1 : $\frac{3}{4}$ „	N
$\frac{1}{1000}$	RJ	J(H)	N 4 : 4 mm	N
$\frac{1}{2000}$	R(J)	(J)	J	0
Leber $\frac{1}{250}$	RJ	JH	N 1 : $1\frac{1}{4}$ mm	N
$\frac{1}{500}$	RJ	JH	N $\frac{1}{2} : \frac{3}{4}$ „	N
$\frac{1}{1000}$	RJ	JH	N 2 mm	N
$\frac{1}{2000}$	R(J)	J	J	0
Toxinverdünnung $\frac{1}{500}$. .	RJ	JH	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ mm	N
$\frac{1}{1000}$. .	RJ	JH	N 2 mm	N
$\frac{1}{2000}$. .	R(J)	J	J	0

Zeichenerklärung: R = Rötung, J = Infiltration, H = Hämorrhagie, N = Nekrose, () = das eingeklammerte Symptom ist weniger ausgesprochen. Die Maße geben den Durchmesser bzw. den größten und den kleinsten Durchmesser der Nekrose an.

In diesem Versuch sind mit Absicht viel stärkere Zellaufschwemmungen zur Bindung benutzt worden als in dem obigen Tetanusversuch. Dennoch hat weder die Einwirkung des Gehirnbreies noch diejenige des Leberbreies im Vergleich zu Kontrollen eine merkliche Abschwächung des Bakteriengiftes hervorrufen können. Anscheinend die gleiche Beobachtung bezüglich des Gehirns machte *Wolff*¹⁾. Der Gehirnbrei reißt also wohl das Tetanustoxin, nicht aber das Diphtherietoxin an sich. Die Giftfreiheit des Gehirns nach Diphtherietoxininjektion kann also mit solchen Bindungsvorgängen nicht in Zusammenhang gebracht werden, sie wird vielmehr in Analogie gesetzt werden müssen mit den zahlreichen und vielfachen Erfahrungen über die Verteilung chemischer Substanzen organischer und anorganischer Natur, von Farbstoffen usw., welche immer und immer wieder zeigen, daß von solchen in die Blutbahn

¹⁾ Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 37, 702. 1906.

eingespritzten Substanzen nur verschwindende Mengen ins Gehirn hineingehen. Es kann also nicht überraschen, daß das Diphtheriegift hier keine Ausnahme macht.

Für die oben demonstrierte Bindung des Tetanusgiftes an Gehirnbrei im Reagensglas steht es keineswegs fest, daß es sich hier um einen vitalen Vorgang handelt, vielmehr liegt die Annahme der einfachen Adsorption viel näher. Es erscheint aber jedenfalls nicht angängig, für die Giftfreiheit des Gehirns nach Tetanusinjektion eine Erscheinung als Ursache anzusprechen, welche für den mangelnden Gehalt des Gehirns an Diphtheriegift nach dessen intravasaler Injektion zweifellos nicht in Betracht kommt. Näher liegt vielmehr die Annahme, daß auch das Tetanusgift nur in ganz verschwindenden Mengen in das Gehirn eindringt. Das widerspricht keineswegs der Tatsache der zentralen Wirkung des Tetanusgiftes, denn z. B. auch das Morphin greift im Zentralnervensystem an, ist dort aber selbst bei der Morphinvergiftung nur in so kleiner Menge vorhanden, daß es chemisch kaum faßbar ist, im Gegensatz zu dem erheblichen Alkaloidgehalt anderer Organe. Somit erscheint es naheliegend, aus dem mangelnden Giftgehalt des Gehirns beim Meerschweinchen, welches mit *Diphtherie- oder Tetanus-toxin* behandelt wurde, den Schluß zu ziehen, daß die genannten Gifte genau wie die größte Mehrzahl der bekannten chemischen und serologischen Stoffe aus der Blutbahn *nicht oder nur in winzigen Mengen in die Gehirns substanz eindringen*¹⁾. Damit scheidet das Gehirn aus der Reihe der Organe, welche für die Speicherung und Unschädlichmachung und die Ausscheidung der injizierten Toxine in Betracht kommen, zunächst aus und es soll nunmehr auf das Verhalten der Milz näher eingegangen werden, deren auffällige Beziehungen zu den Toxinen früher schon dargelegt wurde.

Nachdem in diesen früheren Mitteilungen die Rolle der *Milz* bei der Bildung der Antikörper und bei der Ausscheidung unbrauchbar gewordener Blutkörperchen nachgewiesen worden war, lag der Gedanke nahe, daß diese Anstauung des Giftes in der Milz der Ausdruck von Ausscheidungsvorgängen sei und damit im *Zusammenhang mit der natürlichen Giftresistenz* oder der Immunität überhaupt stehe. Dieser Eindruck wurde bestätigt durch die Beobachtung, daß bei solchen Tieren, welche bereits früher einmal eine Giftinjektion erhalten hatten, bei Reinjektion auch die übrigen Organe, insbesondere die *Leber*, eine stärkere Speicherung des Giftes zeigen. Wenn nun auch keineswegs durch eine der wenigen Giftinjektionen bereits eine erheblichere Antitoxinbildung, also eine Immunität gegen dieselbe Giftwirkung erzielt wird, welche sich in dem Vorhandensein von fertigen Gegengiften im

¹⁾ Siehe *Bieling* und *Weichbrodt*, Arch. f. Psychiatr. u. Nervenkrankh. **65**, 552. 1922.

Serum darstellt, so wird doch jedenfalls durch diese erste Injektion schon eine in dieser Richtung liegende Allergie gesetzt. Diese aber äußert sich, wie die folgenden Versuche zeigen werden, darin, daß nunmehr auch andere Organe eine Giftspeicherung zeigen, wie sie bei den unbehandelten Tieren lediglich die Milz zustande bringt.

Tabelle III.

Meerschweinchen, 625 g, am 13. XII. 1921 zur Einstellung toxinhaltiger Organe benutzt (siehe Tabelle IV).

29. XII. 1921. 2 mal je 0,1 ccm Diphtherietoxin dreifach intracut. $\frac{1}{500}$.
 2 mal je 0,1 „ „ „ „ $\frac{1}{250}$.

Dasselbe wiederholt am 4. I. 1922; jedesmal Nekrose an 4 Stellen. 12. I. 1922. 2 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial; nach 20 Minuten entblutet.

Leber (16,8 g) $\frac{1}{2}$
 Niere (4,7 g) $\frac{1}{2}$
 Muskel $\frac{1}{2}$
 Nebennieren (0,32 g). $\frac{1}{5}$
 Milz (0,33 g) $\frac{1}{5}$

		2 d	4 d	6 d	8 d
Toxin	$\frac{1}{500}$	RJ	JH	N 2 mm	N
	$\frac{1}{2000}$	RJ	JN	N 1:1 $\frac{1}{4}$ cm	N
Serum	$\frac{1}{8}$	RJH	JN	N 1:1 $\frac{1}{4}$ cm	N
	$\frac{1}{16}$	RJH	JN	N 1:1 cm	N
	$\frac{1}{32}$	RJ	JH	N 2 mm	N
Milz	$\frac{1}{5}$	RJ	JN	N 1:1 cm	N
	$\frac{1}{10}$	RJ	JN	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ „	Schorf
	$\frac{1}{20}$	RJ	J	0	0
Nebenniere	$\frac{1}{5}$	RJN	JN	N 1:1 cm	N
Niere	$\frac{1}{2}$	RJN	JN	N 1:1 $\frac{1}{2}$ cm	N
	$\frac{1}{4}$	RJN	JN	N $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ „	N
	$\frac{1}{8}$	RJ	J	N 2 mm	Schorf
Leber	$\frac{1}{2}$	RJN	JN	N 1:2 cm	N
	$\frac{1}{4}$	RJN	JN	N $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ „	N
Muskel	$\frac{1}{2}$	RJ	J	N 2 mm	Schorf
Urin	$\frac{1}{8}$	RJ	J	0	0
	$\frac{1}{16}$	RJ	J	Schörfchen	0
	$\frac{1}{32}$	RJ	J?	0	0

Generated on 2019-08-03 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788980
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In diesem Versuch ergibt also die Prüfung des Leberpreßsaftes einen so großen Giftgehalt, wie er bei den Normaltieren nie beobachtet wurde. Nicht ganz so stark, aber immerhin deutlich, wird diese auf die Behandlung mit Toxin einsetzende gesteigerte Speicherung des Giftes in der Leber auch in folgenden beiden Versuchen.

Tabelle IV.

13. XII. 1921. Meerschweinchen, am 30. XI. 1921 zur Einstellung toxin-haltiger Organe benutzt (siehe Tabelle IV), erhielt

3 mal 0,1 Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{100}$ intracutan.
 1 mal 0,1 „ „ „ $\frac{1}{500}$ „
 Nach 6 Tagen 1 : 500 Nekrose ca. 3 : 3 mm } reagiert also etwas
 „ 6 „ 1 : 100 „ „ $1\frac{1}{2}$: 1 cm } schwächer als am
 „ „ „ „ „ „ „ 30. XI

19. XII. 1921. Das so vorbehandelte und stark abgemagerte Tier erhält 1,5 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial; mehrere klonische Zuckungen, dann wieder ruhig. Entblutet nach 20 Minuten.

Leber, Niere, Gehirn $\frac{1}{2}$ } zerrieben mit physiol.
 Milz, Nebenniere $\frac{1}{4}$ } NaCl-Lösung

	2 d	4 d	
Toxin $\frac{1}{500}$	RJH	JH 4 : 4 mm	Am 4. Tage ist das Tier schwer krank infolge der sehr reichlichen Diphtheriereaktionen. Die Rötungen an den Reaktionsstellen sind abgeblaßt, die Infiltration und Hämorrhagien bzw. Nekrosen jedoch gut fühlbar. Das Tier stirbt vom 4. zum 5. Tage.
$\frac{1}{2000}$ *)	0	0	
Serum $\frac{1}{8}$	RJH	JN $1\frac{1}{2}$: $1\frac{1}{2}$ cm	
$\frac{1}{16}$	RJ	JH $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm	
$\frac{1}{32}$	RJ	JH $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm	
$\frac{1}{64}$	R(J)	JH 2 : 1 mm	
Milz $\frac{1}{4}$	RJ	JH 4 : 4 mm	
$\frac{1}{8}$	RJ	J Schörfchen	
$\frac{1}{16}$	RJ	J Schörfchen	
Nebenniere $\frac{1}{4}$	RJH	JH $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm	
$\frac{1}{8}$	R(J)	J?	
Niere $\frac{1}{2}$	RJH	JH $1\frac{1}{2}$: $1\frac{1}{2}$ cm	
$\frac{1}{4}$	RJH	JN 1 : 1 cm	
$\frac{1}{8}$	RJ	JN 1 : 1 cm	
$\frac{1}{16}$	R	J	
Leber $\frac{1}{2}$	RJ(H)	JH 1 : $\frac{3}{4}$ cm	
$\frac{1}{4}$	RJ	J?	
$\frac{1}{8}$	RJ	0	
Hirn $\frac{1}{2}$	RJ	J?	

*) Nur ca. 0,05—0,1.

Tabelle V.

4. I. 1922. Meerschweinchen, am 8. XII. 1921 zur Einstellung toxinhaltiger Organe benutzt (siehe Tabelle VI).

29. XII. 1921

2 mal 0,1 Diphtherietoxin dreifach intracutan $\frac{1}{250}$
 2 mal 0,1 „ „ „ $\frac{1}{500}$.

4. I. 1922.

435 g, 1,45 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial. Entblutet nach 20 Minuten.

Leber, Niere, Gehirn $\frac{1}{2}$ verdünnt
 Milz $\frac{1}{4}$ „
 Nebenniere $\frac{1}{5}$ „

	2 d	4 d	7 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ	RJN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm
$\frac{1}{2000}$	RJ	RJ	N 1:1 cm
Serum $\frac{1}{4}$	RJ	RJN	N 1:1 cm
$\frac{1}{8}$	RJ	RJ	Schörfchen
$\frac{1}{16}$	RJ	RJ	Schörfchen
$\frac{1}{32}$	(R)	R(J)	Schörfchen
Milz $\frac{1}{4}$	RJ	RJ	Schörfchen
$\frac{1}{8}$	R	0	0
$\frac{1}{16}$	R	0	0
Nebenniere $\frac{1}{5}$	RJ	RJ	Schorf
$\frac{1}{10}$	RJ	(J)	0
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	RJ	J
$\frac{1}{4}$	R	0	0
$\frac{1}{8}$	R	0	0
$\frac{1}{16}$	R	0	0
Leber $\frac{1}{2}$	RJ	RJ	Schörfchen
$\frac{1}{4}$	R	0	0
Hirn $\frac{1}{2}$	(R)	0	0

Ja selbst die einmalige Injektion winziger Giftmengen scheint bereits die Giftspeicherung der Leber gegenüber Normaltieren zu steigern, wie der folgende Versuch zeigt.

Generated on 2019-08-03 14:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788980 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

8. XII. 1921.

1 Meerschweinchen, welches 12 Tage vorher 0,5 ccm Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{800}$ auf 250 g	} intrakardial erhalten hatte, wird mit 0,7 bzw. 0,75 ccm Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{2}$ verdünnt intrakardial injiziert und nach 20 Minuten entblutet.
1 Meerschweinchen, welches 12 Tage vorher 0,5 ccm Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{1600}$ auf 250 g	
$\frac{1}{800}$ vorbehandelt	2. $\frac{1}{1600}$ vorbehandelt
Leber, Niere $\frac{1}{2}$ verdünnt	Leber, Niere $\frac{1}{2}$ verdünnt
Milz $\frac{1}{5}$ „	Milz $\frac{1}{5}$ „
Nebenniere $\frac{1}{7}$ „	

Einstellung an einem großen Meerschweinchen.
Für beide Tiere zusammen.

	2 d	4 d	6 d	8 d	2 d	4 d	6 d	8 d
Toxin $\frac{1}{500}$. .	JR	JRN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{2000}$. .	(J)R	(R)	0	0
Serum $\frac{1}{4}$. . .	JR	JRN	N 1 : $1\frac{1}{2}$ cm	N	JR	JRN	N 1 : 1 cm	N
$\frac{1}{8}$	JR	JRN	N $\frac{3}{4} : \frac{3}{4}$ „	N	JN	JR(N)	N $\frac{3}{4} : \frac{3}{4}$ „	N
$\frac{1}{16}$. . .	JR	JRN	N $\frac{3}{4} : 1$ „	N	JR	JR	(J)	0
$\frac{1}{32}$. . .	JR	JR	Schörfchen	0	R	R	0	0
Milz $\frac{1}{5}$. . .	JR	JR	Schörfchen	Schorf 2 mm	JR	JR	N 4 : 4 mm	0
$\frac{1}{10}$. . .	R	R	0	0	R	(R)	0	0
Nebenniere $\frac{1}{7}$	JR	J?	Schorf 2 mm	0
Niere $\frac{1}{2}$. . .	JR	JRN	N $\frac{3}{4} : \frac{3}{4}$ cm	N	JR	JRN	N $\frac{3}{4} : \frac{3}{4}$ cm	N
$\frac{1}{4}$	JR	JR	Schorf 5 : 3 mm	0	JR	JR	Schorf 3 mm	Schorf
$\frac{1}{8}$	(J)R	(J)R	(J)	0	(J)R	(J)R	Schörfchen 2 mm	0
Leber $\frac{1}{2}$. . .	JR	JR	N $1\frac{1}{2} : 1$ cm	N	JR	JR	N 1 : 1 cm	N
$\frac{1}{4}$	R	0	0	0	JR	JR	?*)	?*

*) Wahrscheinlich 0; nicht sicher zu unterscheiden von einer nebenher bestehenden Nekrose infolge Bißwunde.

Übersieht man die Versuche im Zusammenhang und vergleicht das Verhalten der Leber mit dem aus früheren Versuchen an Normaltieren bekannten, so fällt auf, daß die bereits vorher einmal mit Diphtheriegift vorbehandelten Tiere im allgemeinen eine mehr oder minder ausgesprochene stärkere Giftspeicherung in der Leber zeigten. In den früheren Untersuchungen ist es nun wahrscheinlich gemacht worden, daß die Speicherung in den Organen zu einer Bindung und schließlich zu einer Zerstörung des Toxins führt. Wenn dieser Gedankengang richtig ist, so müßte gesteigerte Organspeicherung bei den vorbehandelten Tieren zu einer erhöhten Giftvernichtung im Körper führen.

Der Toxingehalt der Ausscheidungen.

Die Mengen des im Urin unverändert ausgeschiedenen Toxins müßten also bei solchen Tieren geringer sein. So ergab sich die Notwendigkeit, die *Ausscheidung* in die Blutbahn eingespritzten Toxins *durch die Nieren* einer genauen Untersuchung zu unterziehen und anschließend daran die Ausscheidung bei normalen und vorbehandelten Tieren zu vergleichen. Doch mußten vorher die Urinbefunde noch einer besonderen Untersuchung und Nachprüfung unterzogen werden.

In den früheren Versuchen hatte sich schon klar ergeben, daß durch die Nieren unverändertes Toxin in den Urin ausgeschieden wird. Dies trifft sowohl für das Diphtherie- wie für das Tetanusgift zu und wurde im folgenden fortlaufend bestätigt. Es ist jedoch noch die Frage zu entscheiden, ob nicht normaler Meerschweinchenurin an sich die Wirksamkeit des Toxins beeinflussen kann. In diesem Falle könnten quantitative Bestimmungen des Toxingehalts im Urin nichts über die Größe der tatsächlich ausgeschiedenen Giftmenge aussagen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurden 0,1 ccm Diphtherietoxin in der Verdünnung 1 : 100 in physiologischer Kochsalzlösung 1½ Stunden mit 0,4 ccm frischem Meerschweinchenharn bei 37° gehalten und dann mit dieser Versuchsverdünnung 1 : 500, sowie mit einer weiteren Verdünnung 1 : 1000 die intracutane Injektion ausgeführt.

Tabelle VII.

	2 d	4 d	6 d
1/500	RJ(H)	RJH	N 1/2 : 3/4 cm
1/1000	RJ	RJ	N 1/2 : 1/2 cm

Auch bei 1 : 1000 bildete sich noch eine Nekrose von 1/2 ccm Durchmesser aus, ebenso wie es bei den zahlreichen Kontrollversuchen mit diesem Toxin der Fall war.

Genau ebensowenig wurde die Wirksamkeit des Tetanusgiftes bei der gleichen Behandlungsweise beeinflußt, wie die Prüfung durch die intramuskuläre Injektion an der Maus ergab. Mit einer erheblicheren Beeinträchtigung des Toxins durch den Urin braucht also innerhalb der Grenzen der Versuche nicht gerechnet zu werden. Zur Kontrolle wurde weiterhin die Einwirkung von Flüssigkeit mit einem dem Meerschweinchenurin gleichen Alkaleszenzgrad auf das Diphtherietoxin untersucht.

Die H'-Konzentration des Meerschweinchenurins, frisch nach dem Auspressen, wurde mit der *Michaelisschen* Indicatormethode geschätzt. Es wurden Werte von $p_{\text{H}} = 7,8-8,0$ festgestellt. Nunmehr wurde durch Zusatz von Natronlauge zur physiologischen Kochsalzlösung eine Flüssigkeit von gleicher Alkaleszenz gewonnen, mit einer Diphtheriegiftlösung 1 : 10 gemischt, so daß eine Giftkonzentration 1 : 1000 entstand und diese sofort nach Mischen, sowie 1, 2 und 4 Stunden danach intracutan am Menschen geprüft.

Tabelle VIII.

	1 d	3 d	4 d	6 d	8 d
$1/1000$ 8,3 p_H sofort	RJ	RJ	RJ	J	0
8,0 nach dem Messen	RJ	RJ	RJ	RJH	N 2 mm
7,8	RJ	RJ	RJ	RJH	Schorf
8,3 nach 1 Stunde	(R.J)	RJ Sch.	J Sch.	RJ(N)	N 2 mm
8,0 " 1 "	(R.J)	(R.J)	J	0	0
7,0 " 1 "	(R.J)	RJ	J	RJ(N)	Schorf
8,3 " 2 Stunden	(R.J)	R	R	0	0
8,0 " 2 "	(R.J)	R	R	J	0
7,8 " 2 "	(R.J)	R	R	J	0
8,3 " 4 "	(R)	0	0	0	0
8,0 " 4 "	(R)	0	0	0	0
7,8 " 4 "	(R)	0	0	0	0

Dieser Versuch zeigt, daß in einer Flüssigkeit, deren Alkaleszenzgrad dem des Meerschweinchenurins entspricht, das Diphtherietoxin in einer starken Verdünnung in wenigen Stunden seine Wirksamkeit verliert; ganz wesentlich geringer ist die Einwirkung auf starke Konzentrationen, wie sie im Urin tatsächlich vorliegen.

Tabelle IX.

Zerstörung des Diphtherietoxins in alkalischer Flüssigkeit.

Durch Zusatz von NaOH wird physiologische NaCl eingestellt

1. so daß mit 0,8 ccm (statt 2,0) nach *Michaelis* 8,4 p_H
2. mit 2,0 ccm " " 8,3 p_H
3. mit 2,0 ccm " " 7,7 p_H entstehen.

Mit diesen Lösungen wird eine Verdünnung mit dreifachem Diphtherietoxin 1 : 10 hergestellt und in den Brutschrank gebracht. Aus dieser Stammlösung wird eine Verdünnung 1 : 1000 bereitet, und diese sofort, nach 1 Std., nach 2 Stdn., nach 4 Stdn. intracutan geprüft.

	2 d	4 d	6 d	8 d
> 8,4 p_H sofort	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ cm	N
8,3 p_H "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ "	N
7,8 p_H "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ "	N abgestoßen
> 8,4 p_H nach 1 Stunde	RJ	RJH	N $1/2 : 1/3$ cm	N
8,3 p_H " 1 "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ "	N
7,8 p_H " 1 "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ "	N
> 8,4 p_H " 2 Stunden	RJ	RJH	N $1/2 : 1/3$ cm	N
8,3 p_H " 2 "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ "	N
7,8 p_H " 2 "	R(J)	RJH	N 2 mm	N
> 8,4 p_H " 4 Stunden	R(J)	RJ	J	0
8,3 p_H " 4 "	RJ	RJH	N $1/2 : 1/2$ cm	N
7,8 p_H " 4 "	RJ	RJ	J	0

11*

Unter diesen Versuchsbedingungen war also selbst in 4 Stunden keine merkliche Abnahme des Giftgehalts festzustellen. Stärkere Toxinkonzentrationen werden demnach in ihrer Wirkung durch Lösungen mit p_{H} -7,8—8,0 nicht wesentlich beeinträchtigt.

Überblickt man die beiden Versuche, so kann man daraus sicherlich so viel ableiten, daß der Urin kein geeignetes Medium ist, um darin enthaltene geringe Mengen von Diphtherietoxin für längere Zeit zu konservieren. Es muß also gefolgert werden, daß durch die quantitative Untersuchung des Urins nicht die Gesamtheit der durch die Nieren ausgeschiedenen Giftmengen bestimmt werden kann, da immer schon eine gewisse, wenn auch kleine Menge, durch den Urin selbst zerstört ist. Eine Gesamtbilanz, d. h. eine Bestimmung der absoluten Menge der im Körper selbst zerstörten Giftmenge durch Bestimmung der Ausscheidungsmenge und Abzug derselben von der eingeführten Giftmenge ist also prinzipiell unmöglich, da ein Teil der Differenz durch nachträgliche Zerstörung im Urin zustande gekommen sein kann. Wenn auch diese Differenz anscheinend nur gering ist, so wird sie dennoch bei den späteren Besprechungen zu berücksichtigen sein.

Versuch einer Bilanz von Gifteinfuhr und -ausfuhr.

Im Verlauf dieser nun zu besprechenden Versuche konnte gezeigt werden, daß die Ausscheidung des eingespritzten Toxins auf anderem Wege wie durch den Harn, z. B. den Darm, wohl kaum stattfindet, so daß also praktischerweise die Untersuchung des Urins auf seinen Toxingehalt genügt. Andererseits aber ergab sich, daß nicht nur die parenchymatösen Organe, sondern auch Muskulatur und Haut Toxin speichern können, dessen absolute Menge wegen des Umfangs dieser Gewebsarten von Bedeutung ist. Erst wenn man alle diese Ergebnisse zusammenhält, läßt sich ein ungefährer Anhaltspunkt über das Schicksal des in den Körper eingespritzten Toxins gewinnen, wie z. B. der folgende Versuch zeigt.

Tabelle X.

18. I. 1922. Meerschweinchen 255 g, 1,0 ccm $\frac{1}{1}$ Diphtherietoxin dreifach, intrakardial; nach 5 Stunden entblutet.

Zu Versuchen genommen:

Urin	3,6 ccm	außerdem Proben von Herzmuskel und Skelettmuskel, Dünn- und Dickdarm, Serum, Galle,
Leber	13,4 g	Kot (von diesem werden 5 Stückchen mit 1,0 Aq. dest. zerrieben und zentrifugiert).
Niere	2,7 g	

Intraeutane Prüfung: Nach Injektion der Galle entsteht sofort eine starke Abblassung und grünliche Verfärbung der Hautpartien. Die entstehende Nekrose ist vielleicht auf Gallenbestandteile zurückzuführen.

	2 d	4 d	6 d	8 d
Toxin $\frac{1}{500}$	JR	JH	JN	N
$\frac{1}{1000}$	JR	JH	JH	N
$\frac{1}{2000}$	(JR)	J	J(H)	Schorf
Serum $\frac{1}{2}$	JR	JN	N 1:1 cm	N
$\frac{1}{4}$	JR	JH	N 1:1 "	N
$\frac{1}{8}$	JR	JH	N 1:1 "	N
$\frac{1}{16}$	JR	J	H	N 3:3 mm
Urin $\frac{1}{5}$	JR	JJH	N 1:1 cm	N
$\frac{1}{20}$	JR	JH	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{40}$	JR	JH	N $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ "	N
$\frac{1}{80}$	JR	J	J	0
Galle $\frac{1}{1}$	JRN	JN	N $\frac{1}{2}$: $\frac{3}{4}$ cm	N
Leber $\frac{1}{2}$	JR	J	0	0
Darm $\frac{1}{2}$	(JR)	J	J	0
Niere $\frac{1}{2}$	JR	J	J(II)	N
$\frac{1}{4}$	JR	J	J	0
Muskel $\frac{1}{2}$	JR	J	J	0
Kot ca. $\frac{1}{2}$	0	0	0	0

5 Stunden nach der Injektion war also im Serum noch recht reichlich Toxin vorhanden. Eine bedeutend konzentriertere Toxinlösung stellt jedoch zweifellos der Urin dar. Neben diesen beiden Flüssigkeiten ist der Gehalt der Organe an Gift minimal. Leber, Darm, Muskel enthalten nur winzige Giftmengen und lediglich in der Niere ist etwas mehr Gift vorhanden, wohl infolge der hier vor sich gehenden Ausscheidung. Völlig frei von Gift ist der Kot. Die Prüfung der Galle führte zu keinem Resultat, denn die bereits nach 24 Std. auftretende, in ihrem Aussehen von der Toxinnekrose ganz verschiedene Schorfbildung nach der intracutanen Injektion von unverdünnter Galle charakterisiert sich als ein von der Diphtheriegiftwirkung verschiedener Effekt, der wohl auf die normalen Gallenbestandteile zurückzuführen ist. Dementsprechend wurde bei späteren Untersuchungen festgestellt, daß Galleverdünnungen 1:5 und 1:10 unwirksam waren. Mit einer erheblicheren Giftausscheidung durch die Leber in die Galle ist also nicht zu rechnen.

Sucht man sich nun einen Überblick über die Verteilung des eingespritzten Toxins im Körper zu machen, so ist natürlich eine exakte Bilanz unmöglich. Immerhin kann man sich einen allgemeinen Überblick verschaffen, indem man die Wirkung der Organextrakte mit derjenigen verschiedener Giftverdünnungen vergleicht und so eine ungefähre Schätzung des Giftgehalts im Körper ausführt. Diese Schätzung mag unter dem Gesichtspunkte vorgenommen werden, festzustellen, wieviel Gift maximal in den Organen überhaupt vorhanden sein kann.

Die Serumverdünnung 1 : 16 steht in ihrer Wirkung zum Toxin 1 : 1000 und 1 : 2000; als Maximum sei also angenommen Serum 1 : 16 = Toxin 1 : 1000. Das Gesamtvolumen des Serums des 285 g schweren Meerschweinchens wird mit 10 ccm angenommen; das Serum enthält also maximal 0,16 ccm Toxin.

Eine Urinverdünnung 1 : 40 entspricht in ihrer Wirkung ungefähr der Toxinverdünnung 1 : 1000, wenn auch nicht ganz, denn Urin 1 : 80 wirkt schwächer als Toxin 1 : 200. Die Schätzung Urin 1 : 40 = Toxin 1 : 1000 ist also sicher nicht zu niedrig gegriffen. Die 3,6 ccm Urin (Gesamtmenge) enthalten also höchstens 0,144 ccm Toxin.

Leber-, Muskel-, Darmextrakt enthalten in einer Verdünnung 1 : 2 bedeutend weniger Gift als die Toxinverdünnung 1 : 2000. Man wird daher sicher nicht zu niedrig schätzen, wenn man den gesamten Körper (ausgenommen Serum und Urin) als einer Toxinverdünnung 1 : 1000 entsprechend ansetzt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß der Gesamthalt des Verdauungskanals, das Gehirn und die Knochen, die tatsächlich giftfrei sind, mit eingerechnet sind. Im Körper sind also maximal 0,285 ccm Toxin. Addiert man die drei Zahlen, so erhält man rund 0,6 ccm.

0,6 ccm ist also das Maximum dessen, was von diesem Toxin zur Zeit der Untersuchung im Körper des Meerschweinchens noch vorhanden ist oder durch den Urin ausgeschieden war. Die eingespritzte Menge betrug jedoch 1 ccm. Es müssen demnach mindestens $\frac{4}{10}$ der Injektionsmenge im Körper eine biologisch unwirksame Form angenommen haben, d. h. zerstört worden sein. Eine restlose Ausscheidung des einem normalen Meerschweinchen in die Blutbahn eingespritzten Diphtherietoxins findet also nicht statt, ein Teil des Giftes, und zwar *ein sehr erheblicher Teil wird im Körper zerstört*.

Ein zweiter analoger Versuch ergibt das gleiche: Sehr erhebliche Giftmenge im Urin, recht mäßige Giftmenge im Serum und nur ganz minimale Giftmenge im Körper¹⁾.

Die Leber ist in diesem Versuch infolge eines Versehens nicht mitgeprüft. Der Giftgehalt des Serums ist noch viel geringer wie oben. In den 5 Stunden seit der Injektion ist also das allermeiste Gift aus dem Blut herausgegangen. Die Giftkonzentration im Urin entspricht ungefähr derjenigen des ersten Versuchs, doch ist die absolute Menge hier sogar noch etwas geringer als vorn, da die Urinmenge geringer ist. Die noch in der Ausscheidung begriffene Niere enthält in ihren Zellen oder vielleicht nunmehr in ihren Harnkanälchen noch etwas mehr Gift. Die Konzentration in Haut und Muskel ist minimal. Wiederum ergibt sich also ein Defizit zwischen eingespritzter und wiedergefundener Toxinmenge, welche auf eine intravitale Giftzerstörung hinweist.

Dabei war bisher eine etwaige Bindung durch die Blutkörperchen nicht berücksichtigt, sondern ausschließlich die die Blutkörperchen umgebende Blutflüssigkeit untersucht worden.

¹⁾ Siehe Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1923: Die Verteilung der Toxine im Körper (Tabelle IX).

Ein Versuch mit Tetanustoxin zeigt jedoch, daß eine erhebliche Bindung von Toxin durch die Erythrocyten und Leukocyten nicht in Frage kommt; denn die Untersuchungen einer Aufschwemmung der Blutkörperchenstromata in ihren gelösten Zellbestandteilen nach Injektion sehr erheblicher Toxinmengen erwies diese als praktisch giftfrei, jedenfalls aber als giftärmer als Milz- und selbst Leberzellen.

Tabelle XI.

Ein Meerschweinchen von 530 g erhält 1,5 ccm Tetanustoxin intrakardial und wird nach $\frac{1}{2}$ Stunde entblutet. Die Milz des vor vielen Monaten schwach mit Tuberkelbacillen infizierten Tieres enthält einige stecknadelkopfgroße Knötchen und wiegt 1,6 g. Zur Untersuchung auf den Toxingehalt werden gewonnen:

1. Serum,
2. Milzabguß,
3. Leberabguß,
4. Milzgewebe, zerrieben, zweimal gewaschen und mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch Gaze filtriert.
5. Lebergewebe, zerrieben und zweimal gewaschen und mit der halben Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch Gaze filtriert.
6. Blutkörperchen, dreimal gewaschen, dicker Bodensatz 1 : 1 mit Aq. dest. aufgenommen und dann weiter mit Aq. dest. verdünnt.

0,5 ccm der verschiedenen Lösungen werden weißen Mäusen in den Hintersehenkel injiziert. Die auftretenden tetanischen Erscheinungen zeigten folgende Zusammenstellung:

	2 d	3 d	4 d	6 d
Serum $\frac{1}{50}$	+,	+'''	+'''	+'''
$\frac{1}{100}$	+,	+,	+,	+''
$\frac{1}{200}$	+,	+,	+,	+,
$\frac{1}{400}$	-	-	-	-
Milzabguß $\frac{1}{5}$	+?	-	+	+
$\frac{1}{10}$	-	-	-	-
$\frac{1}{20}$	-	-	-	-
Leberabguß $\frac{1}{2}$	-	(+)	-	-
$\frac{1}{5}$	-	-	-	-
$\frac{1}{10}$	-	-	-	-
Milzgewebe 0,5	-	+?	+,	+
0,1	-	-	-	-
Lebergewebe 0,5	-	-	-	+
0,1	-	-	-	-
Blut $\frac{1}{2}$	(-)?	-	-	-
$\frac{1}{5}$	-	-	-	-
$\frac{1}{10}$	-	-	-	-
Toxin $\frac{1}{250}$	(+)	+,	+''	+''
$\frac{1}{500}$	(+)	+,	+''	+
$\frac{1}{1000}$	(+)	+,	+,	+,
$\frac{1}{2000}$	(+)	(+)	(+)	+,

Eine Bestimmung der durch die verschiedenen Blutkörperchen gebundenen Diphtherietoxinmengen läßt sich mit der hier gewählten und notwendigen intracutanen Einstellung nicht durchführen wegen der unspezifischen, reizenden und nekrotisierenden Wirkung derartiger Zellaufschwemmungen bzw. Lösungen in der Haut. Jedenfalls aber kann eine etwaige Bindung an diese Körperzellen die oben aufgezeichnete Differenz zwischen zugeführter und nach einigen Stunden wiedergefundener Giftmenge nicht erklären. Ein völlig anderes Bild hinsichtlich der Ausscheidung ergibt sich jedoch dann, wenn man zum Versuch ein Meerschweinchen wählt, welches nicht zum erstenmal das Diphtheriegift erhält, sondern bereits mit dem Antigen vorbehandelt wurde.

Tabelle XII.

18. II. 1922. Meerschweinchen 450 g am 8. XI. 1921 als Testtier benutzt.
 8. II. 1922. 3 mal 0,1 ccm Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{500}$ intracutan
 11. II. 1922. 3 mal 0,1 „ „ „ $\frac{1}{250}$ „
 18. II. 1,5 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial; entblutet nach 5 Std.

Leber 22,0 g außerdem Skelett- und Herzmuskel,
 Niere 4,3 g sowie Haut.
 Urin 3,8 ccm

	2 d	4 d	6 d	9 d
Toxin $\frac{1}{500}$	RJ	JH	N $\frac{1}{2} : \frac{3}{4}$ cm	N
$\frac{1}{1000}$	RJ	JH	N 3 : 5 mm	(N)
$\frac{1}{2000}$	R(J)	JH	N 2 mm	(N)
Serum $\frac{1}{4}$	RJ	JH	N 1 : 1 cm	N
$\frac{1}{8}$	RJ	JH	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{16}$	RJ	J(H)	Schorf	Schorf
$\frac{1}{32}$	R	0	0	0
Urin $\frac{1}{1}$	RJH	JH	N 2 : $\frac{1}{4}$ cm	N
$\frac{1}{4}$	RJ	JH	N $\frac{1}{4} : \frac{3}{4}$ cm	N
$\frac{1}{8}$	RJ	JH	N $\frac{3}{4} : \frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{16}$	R(J)	J	Schorf	0
$\frac{1}{32}$	R?	0	0	0
$\frac{1}{64}$	R?	0	0	0
Leber $\frac{1}{2}$	RJ	JH	N 3 mm	N abgestoßen, blutig
Niere $\frac{1}{2}$	RJ	JH	N 1 : $\frac{1}{2}$ cm	N
$\frac{1}{4}$	RJ	J	(J)	0
Muskel $\frac{1}{2}$	RJ	J	(N)	0
Haut $\frac{1}{2}$	R	0	0	0

Überblickt man die Ergebnisse hinsichtlich der Toxinverteilung bei diesem mehrfach mit Diphtheriegift vorbehandelten Meerschweinchen, so ist bezüglich des Serums kein irgendwie erheblicher Unterschied zu sehen. Sein Giftgehalt entspricht völlig dem der beiden vorigen

Versuche. Was die Organe betrifft, so ist auch ihr Giftgehalt wenigstens nicht erheblich höher als bei unbehandelten Tieren. Muskel und Haut enthalten nur sehr wenig Toxin, sicher feststellbare größere Mengen enthält die Niere, welche ja auch in den früheren Versuchen als Ausscheidungsorgan sich durch größeren Giftgehalt auszeichnete. Auch die Leber scheint hier genau wie in den früheren Einhalbstundenversuchen an immunisierten Tieren mehr Gift aufgenommen zu haben, wie bei nichtimmunisierten. Auffällig aber ist der relativ sehr geringe Toxingehalt des Urins. Eine Urinverdünnung $1/16$ ist jedenfalls schon schwächer wirksam als eine Toxinverdünnung 1 : 2000. Die absolute Menge des in 3,8 ccm Urin enthaltenen Giftes ist also maximal geschätzt = 0,03 ccm gegenüber 0,144 bei den Normaltieren. Auch bei dieser Berechnung kommt der schon in den Tabellen deutliche Unterschied klar heraus. Die Toxinausscheidung in dem Urin innerhalb von 5 Stunden ist also bei dem vorbehandelten Tiere erheblich geringer als bei den Normaltieren. Genau dasselbe ergab ein zweiter gleichartiger Versuch, bei dem zudem nur eine einzige Vorbehandlung vorausgegangen war.

Tabelle XIII.

28. I. 1922. Meerschweinchen 680 g. Testtier vom 18. I. Intrakardial 1,5 ccm dreifaches Diphtherietoxin; nach 5 Std. entblutet.

Leber	19,5 g
Nieren	5,6 g
Urin	5,0 ccm (mit Waschflüss.)
Galle	0,8 ccm;

außerdem Proben von Herz- und Skelettmuskel, Haut.

	2 d	4 d	6 d	9 d
Toxin $1/500$	RJ	JH	N $1/2 : 1/2$ cm	Das Testtier † am 10. Tag
$1/1000$	RJ	J(H) ?	J	
$1/2000$	RJ	J	0	
Serum $1/2$	RJJ	JH	N $1 1/4 : 1 1/4$ cm	
$1/4$	RJJ	.	.	
$1/8$	RJ(H)	J(H)	N 3 mm	
$1/16$	RJ	J	0	
Urin $1/10$	R	0	0	
$1/20$	R	0	0	
$1/40$	0	0	0	
Galle $1/10$	0	0	0	
Leber $1/2$	RJ	(J)	0	
Niere $1/2$	RJ	JH	N 1 : $1/2$ cm	
$1/4$	RJ	JH	N 2 mm	
Muskel $1/2$	RJ	JH	N 3 mm	
Haut $1/2$	RJ	(J)	0	

Bemerkt sei jedoch noch, daß ähnlich wie im Versuch XII die Leber, hier der Muskel, vielleicht etwas reichlicher Toxin enthielt. Der Giftgehalt der Organe vorbehandelter Tiere übertrifft bei Untersuchung nach 4–5 Stunden denjenigen der zum erstenmal behandelten Tiere jedenfalls nicht mehr so erheblich, wie bei Untersuchungen nach 20 Min. Immerhin weisen die Versuche darauf hin, daß das Gift in den Organen vorbehandelter Tiere länger angestaut bleibt, wie bei Normaltieren. Aber diese Anstauung ist nicht groß genug, um allein schon den weit geringeren Toxingehalt des Urins vorbehandelter Meerschweinchen zu erklären. Schon hieraus ergibt sich ein Hinweis darauf, daß die *verstärkte Speicherung in den Organen auch mit einer verstärkten Giftzerstörung einhergeht*. Den Beweis für diese Anschauung liefert der folgende Versuch, in dem die gesamte Urinausscheidung bei dem vorbehandelten und einem normalen Tiere vergleichend bestimmt wurde.

Tabelle XIV.

24. III.

1. Meerschweinchen normal 365 g ♂ 8 Uhr 15 Min. vorm. 1,2 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial.

2. Meerschweinchen Testtier vom 18. II. (siehe Tabelle XII).

9. III. 3 mal 0,1 ccm Diphtherietoxin dreifach intracutan 1 : 1000

14. III. 3 mal 0,1 „ „ „ „ 1 : 750

18. III. 3 mal 0,1 „ „ „ „ 1 : 500

421 g ♂ 8 Uhr 45 Min. vorm. 1,4 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial.

Tier 1. Zwischen 10 und 11 Uhr 0,7 ccm Urin spontan entleert;

12 Uhr 45 Min. 1,45 „ Urin durch Katheter entleert.

2,15 ccm Gesamturin in 4 $\frac{1}{2}$ Std.

1a) 4 Uhr 44 Min. 5,0 ccm physiologische Kochsalzlösung subcutan.

1b) 5 Uhr 15 Min. 1,15 ccm Urin ausgepreßt und nachher mit Katheter nachgeprüft.

7 Uhr schwer krank, fühlt sich kalt an.

8 Uhr liegt auf der Seite, atmet schwer.

8 Uhr 15 Min. fast tot. Kopfschlag.

1c) 0,05 ccm Urin am toten Tier ausgedrückt nach Sektion.

Tier 2. Zwischen 10 u. 11 Uhr 0,55 ccm spontan entleert;

12 Uhr 45 Min. 2,42 „ ausgedrückt u. mit Katheter gewonnen.

In 4 Stunden 2,97 ccm Gesamturin.

2a) 4 Uhr 40 Min. 5 ccm physiologische Kochsalzlösung subcutan.

2b) 5 Uhr 15 Min. 1,8 ccm Urin ausgedrückt.

2c) 9 Uhr 1,9 „ „ „

2d) 10 Uhr 40 Min. † 0,2 ccm Urin nach Sektion ausgedrückt.

Urinmengen.

	Stunden nach der Injektion				Summe
	0—4 (4½)	4—9	9—12	12—14	
1. Normal . . .	2,15 ccm $p_H > 8,4$	1,15 ccm	0,05 ccm	—	3,35
2. Vorbehandelt	2,97 „ $p_H 8,3$	1,8 „ $p_H 8,1$	1,9 „ $p_H 7,8$	0,2 ccm	6,87

Zur Intracutaneinstellung der Urine 1 a, b, c und 2 a, b, c, d werden 4 große Meerschweinchen verwandt. Jedes erhält zur Kontrolle eine Injektion von 0,1 Diphtherietoxin dreifach 1 : 1000 intracutan, welche stets Rötung, Schwellung und Infiltration macht.

	2 d	4 d	6 d	8 d
<i>Testmeerschweinchen a. Prüfung der Urine 0—4 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm
Normal 1 a $\frac{1}{75}$	RJ	RJ	((J))	0
$\frac{1}{50}$	RJ	RJ	(J)	0
$\frac{1}{25}$	RJ	RJ	J	0
$\frac{1}{10}$	RJ	RJH	JN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm
Vorbehandelt 2 a $\frac{1}{75}$	R	0	0	0
$\frac{1}{50}$	R(J)	R(J)	0	0
$\frac{1}{25}$	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{10}$	RJ	RJ	0	0
<i>Testmeerschweinchen b. Prüfung der Urine 4—9 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JN	N 1 : $\frac{1}{4}$ cm
Normal 1 b $\frac{1}{75}$	0	0	0	0
$\frac{1}{50}$	0	0	0	0
$\frac{1}{10}$	0	0	0	0
$\frac{1}{5}$	R	0	0	0
Vorbehandelt 2 b $\frac{1}{75}$	R?	0	0	0
$\frac{1}{50}$	(R)	0	0	0
$\frac{1}{25}$	(R)	0	0	0
$\frac{1}{10}$	R	R(J)	Schörfchen ohne J	0
$\frac{1}{5}$	R(J)	RJ	J Schorf	0
				} Schorf ab- gestoßen
<i>Testmeerschweinchen c. Prüfung der Urine 9—12 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm
Normal 1 c $\frac{1}{25}$	0	0	0	0
$\frac{1}{10}$	(R)	0	0	0
Vorbehandelt 2 c $\frac{1}{25}$	R	0	0	0
$\frac{1}{10}$	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{5}$	RJ	RJ	(J)	0
<i>Testmeerschweinchen d. Prüfung der Urine 12—14 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	RN	N $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$ cm
Vorbehandelt 2 d $\frac{1}{25}$	R	R	0	0
$\frac{1}{10}$	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{5}$	RJ	RJ	J	0

Errechnung der maximalen Ausscheidung durch den Urin.

1. Normal:

Urin 0—4 Std. $\frac{1}{10}$ = Toxinverdünnung $\frac{1}{1000}$
 1,0 ccm Urin = 0,01 ccm Toxin, ausgeschiedene Menge = 0,0215 ccm Toxin
 4—9 Std. Spur = Sp „
 9—12 Std. Spur = Sp „
 Sa. ca. 0,025 ccm Toxin
 = 2% des injizierten Giftes.

2. Vorbehandelt:

Urin 0—4 Std.)
 4—9 „) maximal geschätzt: $\frac{1}{2}$ = Toxinverdünnung $\frac{1}{1000}$
 9—12 „) 1,0 ccm Urin = 0,002 ccm Toxin
 12—14 „)
 Sa. ca. 0,0014 ccm Toxin
 = $\frac{1}{10}$ % des injizierten Giftes.

Die Menge des ausgeschiedenen Toxins in Prozenten des eingespritzten verhält sich also: Vorbehandelt : Normal = 1 : 20.

Neutralisation des Urintoxins mit Antitoxin.

1. 0,5 ccm Urin 1a $\frac{1}{5}$ + 0,5 ccm Diphtherieantitoxin 900fach $\frac{1}{50000}$ } nach Durchmischen
 2. 0,5 „ „ 1a $\frac{1}{5}$ + 0,5 „ Normal-Pferdeserum $\frac{1}{5000}$ } 0,1 ccm intracutau

	2 d	4 d	6 d	8 d
1	R	(J)	0	0
2	RJW _n	RJW _n	JN	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm

Kontrolle siehe oben bei 1a (Einstellung am gleichen Tier).

Der Versuch zeigt, daß die Ausscheidung durch den Urin bei einem zum erstenmal gespritzten Tier 20 mal stärker ist als bei dem vorbehandelten Tier. Im ersten Fall konnten 2% des eingespritzten Giftes im Urin wieder gefunden werden, im letzteren Fall nur 0,1%.

Diese Unterschiede sind so groß, daß damit der Schluß erlaubt erscheint, daß die starke Speicherung des eingespritzten Diphtherietoxins in den Organen des vorbehandelten Tieres mit einer stärkeren Giftzerstörung in den Organen einhergeht.

Daß diese Giftzerstörung nicht etwa durch vorgebildetes Antitoxin des Blutserums bedingt sein kann, geht daraus hervor, daß analog vorbehandelte Meerschweinchen in ihrem Serum keine irgendwie erheblichen Mengen von Antitoxin besitzen. Mehrere Stichproben mit dem Serum solcher vorbehandelter Meerschweinchen ergaben bei intracutaner Auswertung gegen ein Standardantitoxin einen Wert unter $\frac{1}{10}$ fach; die Giftzerstörung kann also nicht auf bereits fertige Antitoxine zurückgeführt werden. Es muß daher angenommen werden, daß die durch die Vorbehandlung gesteigerte entgiftende Wirkung der Organe selbst eine wesentliche Rolle spielt. Hier zeigt sich also wiederum, daß die Bestimmung der im Serum vorhandenen fertigen Antikörpermengen

kein Maß der Immunität des Gesamtorganismus sein kann. Die potentielle Energie der fixen Körperzelle, welche nur durch eine Belastungsprobe feststellbar ist, kommt vielmehr für die Beurteilung der gesamten Immunität ganz wesentlich mit in Betracht.

Einfluß der Milzexstirpation.

Wenn die oben entwickelte Auffassung und Erklärung des Parallelismus zwischen der Stärke der Organspeicherung und der intravitalem Giftzerstörung zu Recht besteht, so kann die Entfernung solcher Organe, welche normalerweise eine besonders starke Giftspeicherung zeigen, zu einer Verminderung der intravitalem Zerstörung und damit zu einer Vermehrung der Giftausscheidung führen. Entsprechend der vorn festgestellten, besonders starken Anhäufung von Gift in der Milz richtet sich auf dieses Organ vor allem das Augenmerk, und es wurde daher die Giftausscheidung beim entmilzten Meerschweinchen untersucht.

Tabelle XV.

24. III. 1922. Meerschweinchen entmilzt am 22. III. 310 g ♀ 8 Uhr 30 Min. vorm. 1,0 ccm Diphtherietoxin dreifach intrakardial.

- a) 12 Uhr 45 Min. 1,85 ccm Urin ausgedrückt
 zwischen 2 u. 3 Uhr 1 Tropfen Urin entleert = 0,05 ccm
 5 Uhr 15 Min. ausgedrückt. = 0,11 ccm } 4 Uhr 40 Min. 5,0 ccm
 physiol. Kochsalzlösung
 subcutan.
- b) Gesamturin von 4 Uhr 15 M. bis 8 Uhr 45 Min. 0,16 ccm
 8 Uhr 15 Min. das kranke Tier fällt zur Seite und ist tot. Sofort Sektion und Urin ausgepreßt.
- c) 0,28 ccm.

Urinmengen.

	Stunden nach der Injektion				Summe
	0—4 (4 ^{1/2})	4—9	9—12	12—14	
Entmilzt	1,85 ccm $p_H > 8,4$	0,16 ccm	0,28 ccm	0	2,29 ccm

Zur Intracutaneinstellung der Urine a, b, c werden 4 große Meerschweinchen verwandt. Jedes erhält zur Kontrolle eine Injektion von Diphtherietoxin dreifach $\frac{1}{1000}$ intracutan, welche stets Rötung, Schwellung und Infiltration macht.

	2 d	4 d	6 d	8 d
<i>Testmeerschweinchen a. Prüfung der Urine 0—4 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JN	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm
Entmilzt a) $\frac{1}{75}$	R(J)	RJ(H)	J Schorf	Schorf abgestoßen
$\frac{1}{50}$	RJ	RJH	JN	N 3 mm
$\frac{1}{25}$	RJ	RJH	JN	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm
$\frac{1}{10}$	RJII	RJH	JN	N $\frac{1}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm

	2 d	4 d	6 d	8 d
<i>Testmeerschweinchen b. Prüfung der Urine 4—9 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JN	N 1: $\frac{1}{4}$ cm
Entmilzt b) $\frac{1}{75}$	RJ	RJH	JN	Schorf
$\frac{1}{50}$	RJ	RJ	J	J
$\frac{1}{50}$	RJW _n	RJH	JN	N $\frac{3}{4}$: $\frac{3}{4}$ cm
$\frac{1}{10}$	RJW _n	RJH	JN	N 1: 1 cm
<i>Testmeerschweinchen c. Prüfung der Urine 9—12 Std.</i>				
Toxin $\frac{1}{1000}$	RJ	RJH	JH	N $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$ cm
Entmilzt c) $\frac{1}{25}$	RJ	R(J)	0	0
$\frac{1}{10}$	RJ	RJ	J Schorfchen	0
$\frac{1}{5}$	RJW _n	RJ	J	J

Errechnung der maximalen Ausscheidung durch den Urin.

Entmilzt:

Urin 0—4 Std. $\frac{1}{50}$ = Toxinverdünnung $\frac{1}{1000}$
 1,0 ccm Urin = 0,05 ccm Toxin, ausgeschiedene Menge = 0,0925 ccm Toxin
 4—9 Std. $\frac{1}{40}$ = Toxinverdünnung $\frac{1}{1000}$
 1,0 ccm Urin = 0,04 ccm Toxin = 0,0064 „ „
 9—12 Std. $\frac{1}{4}$ = Toxinverdünnung $\frac{1}{1000}$ = 0,0021 „ „
Sa. ca. 0,1000 ccm Toxin
= 9%

Die Menge des ausgeschiedenen Toxins in Prozenten des eingespritzten verhält sich also: Vorbehandelt : normal : entmilzt = 1 : 20 : 90.

Dieser Versuch ist gleichzeitig und unter Verwendung der gleichen Testtiere ausgeführt worden, wie der obige Versuch Nr. XIV, mit dem er in Vergleich gesetzt werden kann. Es zeigt sich dabei, daß die Giftausscheidung bei dem entmilzten Meerschweinchen $4\frac{1}{2}$ mal stärker war als diejenige des Normaltieres. In den Protokollen kommt diese starke Giftausscheidung besonders deutlich zum Ausdruck. Damit würde sich also die obige Annahme, daß starke Giftspeicherung mit starker Giftzerstörung einhergeht, bestätigen. Der Ort der Giftspeicherung wäre also auch der Ort der Giftzerstörung oder zumindest der Vorbereitung zur endgültigen Zerstörung. Daraus ergibt sich die Bedeutung der Milz für die natürliche Giftimmunität gegen Diphtherietoxin, und nach den früheren Tetanusversuchen auch wohl für Tetanustoxin. Man wird sich diese Wirkung der Milz noch viel stärker vorzustellen haben, als sie nach den angeführten Exstirpationsversuchen erscheint, denn eine Reihe anderer ergänzender Versuche hat ergeben, daß nach der operativen Entfernung des Organs andere Körpergewebe vikariierend eintreten können und durch stärkere Speicherung den Ausfall der Milzfunktion wenigstens teilweise kompensieren.

Zusammenfassung.

Überblickt man die bisherigen Ergebnisse, so zeigt sich folgendes: Das Bakterientoxin (Diphtherie- und Tetanustoxin) ist eine harnfähige Substanz. Doch beginnt seine Ausscheidung durch die Nieren nicht sofort und erreicht jedenfalls nicht unmittelbar nach der Einspritzung ihr Maximum. Die ersten Stunden nach der Injektion des Giftes werden vielmehr dadurch charakterisiert, daß die Körperorgane sich mit dem Toxin beladen. Die Menge des von den Organen gespeicherten Giftes beträgt weit mehr als die Hälfte der injizierten 100—400 tödlichen Dosen. Eine besonders starke Aufstapelung des Giftes findet in der Milz statt, wenigstens in der ersten Stunde nach der Vergiftung. Die Giftkonzentration ist hier höher als in allen anderen Körpergeweben. In den nächsten Stunden nimmt nun die Menge des Toxins in den Organen wieder ab. Insbesondere enthält auch die Milz 20—30 Minuten nach der Injektion in die Blutbahn mehr Gift als 4—5 Stunden später. Die besonders starke Giftanhäufung in der Milz ist also nur vorübergehend.

Zu gleicher Zeit mit der Abnahme der Giftmenge in den Organen setzt dann die Ausscheidung durch die Nieren in den Urin ein. Nach 5 Stunden hat sie ihren Höhepunkt überschritten, später wird nur noch relativ wenig Toxin ausgeschieden. Vielleicht machen sich dann schon die allmählich stärker werdenden allgemeinen Vergiftungserscheinungen bemerkbar. Durch die Galle und direkt in den Darminhalt wird kein Toxin ausgeschieden.

Die Bestimmung des Urintoxins gibt also die Gesamtmenge des Bakteriengiftes an, welches den Körper unverändert durchwandert hat. Diese Größe, vermehrt um den im Augenblick der Untersuchung in den Organen vorhandenen Toxingehalt, ist jedoch bedeutend kleiner als die eingespritzte Giftmenge. Es wird allerdings zu berücksichtigen sein, daß die relativ groben Schätzungsmethoden zur Bestimmung des Toxingehalts eine ganz exakte Bilanz von Ein- und Ausfuhr nicht gewährleisten, dennoch aber ergibt sich jedenfalls soviel, daß ein recht erheblicher Teil des in die Blutbahn injizierten Toxins schon in kurzer Zeit weder im Blut, noch in den Körperorganen nachweisbar ist, noch auch unverändert den Körper wieder verläßt. Diese Giftmenge muß also im Körper zerstört, d. h. unwirksam gemacht worden sein.

Es wäre nun einmal möglich, daß die durch das Toxin gereizten Körperzellen Antitoxin absonderten, welches innerhalb der Blutbahn oder sonst in den Körpersäften neutralisierend wirkte. Es widerspricht jedoch unseren Kenntnissen von der Produktionsweise der Antitoxine, daß in so kurzer Zeit, ohne jede Inkubation Antikörper gebildet werden sollten, wenigstens in derartig großer Menge, daß mehrere 100 tödliche Giftdosen unwirksam gemacht werden könnten. Man wird daher annehmen müssen, daß die Toxine durch die Bindung an die Organzellen

neutralisiert werden, so wie dies *Ehrlich* gerade für dieses Antigen annahm. Eine solche Giftbindung durch die Zellen konnte in den angeführten Versuchen direkt nachgewiesen werden.

Das in die Blutbahn eingespritzte Bakterientoxin ist also während der ersten Stunde nach der Vergiftung in verschiedener Form vorhanden. Zuerst einmal in der injizierten Form im Blut kreisend, dann aber in derselben gelösten Form in der Organflüssigkeit, aus der es durch Abpressen ohne weiteres wieder darstellbar ist. Weiterhin wird dann das Gift von den Organzellen verankert, wie an dem Beispiel der Milz bei tetanusvergifteten Meerschweinchen gezeigt wurde. Diese Bindung ist so fest, daß sie einer mehrfachen Waschung des Zellbreies widersteht. Trotzdem ist das Gift in seinen wirksamen Teilen noch unverändert. Denn im Körper empfänglicher Tiere kann es auf die empfindliche Zelle überspringen und typische Krankheitssymptome hervorrufen. Diese Erscheinung steht in Parallele mit der Transgression der Hämolyse, welche nach Bindung an rote Blutkörperchen auf frisch zugesetzte Erythrocyten übergehen können. Es muß angenommen werden, daß sich an diese lockere Bindung eine feste Giftbindung anschließt, bei der das Toxin nicht mehr abspringen kann, also wirkungslos geworden ist. Dabei kommt es wohl zu jenen Schädigungen der bindenden Zellen durch das gebundene Gift, welche sich dann bei der pathologisch-histologischen Untersuchung zeigen, und die auch den raschen Tod des Versuchstieres herbeiführen. Auch bei dieser Bindung im Körper scheinen Kräfte des lebenden Körpers eine wichtige Rolle zu spielen; denn die Bindung von Toxinen durch den Zellbrei im Reagensglas verläuft sowohl quantitativ wie qualitativ völlig anders. Überhaupt wird man sich darüber klar sein müssen, daß es keineswegs sicher ist, ob nicht auch bei der Toxinneutralisation durch Antitoxin den Organen des lebenden Körpers eine notwendige Funktion zukommt, analog etwa der Komplementfunktion bei den Amboceptoren, denn eine Prüfung der Giftneutralisation durch Gegengifte ist ohne Tierkörper nicht möglich. Völlig reine Reagensglasreaktionen zwischen Toxin und Antitoxin sind bisher unbekannt. (Die Behauptung, daß der Antitoxinneutralisation eine Präcipitation parallel gehe, ist nicht richtig.) Die Anteilnahme der einzelnen Körperorgane an der Giftspeicherung und dementsprechend auch an der Giftneutralisation im lebenden Körper ist sehr verschieden groß. Die stärkste Speicherung zeigt die Milz. Ihr folgt die Nebenniere und, im beträchtlichen Abstand, Leber und Niere, sowie dann die Muskulatur und schließlich die Haut. Die geringsten Beziehungen zum Bakterientoxin zeigt das Gehirn. Man wird also annehmen müssen, daß ganz ähnlich wie bei bestimmten Alkaloidvergiftungen nur relativ kleine Mengen des in die Blutbahn einverleibten Giftes an das Zentralnervensystem gelangen, Mengen, welche allerdings

genügen, jene auffälligen und unter Umständen das klinische Bild völlig beherrschenden pathologisch-physiologischen Vorgänge hervorzurufen. Es wäre jedoch verfehlt, aus der Stärke des Eindrucks, welchen ein Symptom auf den Beobachter macht, auf die Stärke der Schädigung des für das Symptom verantwortlichen Organs schließen zu wollen. Hiernach entfällt auch die Notwendigkeit, die Antitoxinproduktion, wenigstens gegen Tetanusgift, ins Gehirn als den hervortretendsten Bindungsort zu verlegen, eine Annahme, welche aus mancherlei Überlegungen heraus unbefriedigend war. Vielmehr weisen die obigen Untersuchungen in dieser Beziehung in erster Linie auf die parenchymatösen Bauchorgane hin.

Auf die besondere Bedeutung der Milz bei der Wirkung der Antigene mit Toxinnatur im Körper ist an anderer Stelle im allgemeinen Zusammenhang schon hingewiesen worden¹⁾. Hier sei nur noch erwähnt, daß die speziellen Versuche mit Exstirpation der Milz bei der Toxinvergiftung aus äußeren Gründen vorläufig abgebrochen wurden.

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 1923.

(Aus dem früheren Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken.)

Erfahrungen aus der Ruhrepidemie von 1914—1920 in den Kreisen Saarbrücken und Saarlouis.

Von
Dr. Kreuser.

Mit 3 Textabbildungen.

Das Saargebiet bildete während des Weltkrieges einen Hauptdurchgangsbezirk für unsere Truppen zur Westfront. Durch Saarbrücken, den wichtigsten Bahnknotenpunkt, sind zahlreiche Transporte zur Front gefahren, zahlreiche Abtransporte von Kranken und Verwundeten zurückgebracht worden. In dem stark bevölkerten Gebiet fanden sich ferner viele Urlauber von allen Kriegsschauplätzen ein. Durch diese stets im Fluß befindliche Menschenbewegung wurde die Ausbreitung ansteckender Krankheiten begünstigt. Die *organisierte Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches* hat es zustande gebracht, daß eine vermehrte Verbreitung des Typhus trotz der Epidemien, die an vielen Teilen der Westfront im Herbst und Winter 1914—1915 vorgekommen sind, bei der Zivilbevölkerung nicht eingetreten ist. Ähnliche gute Erfolge wies die Organisation des Heeres-Sanitätswesens beim Auftreten der Diphtherie im Herbst 1915 bei einem Ersatzbataillon in Saarlouis auf und beim Auftreten von Genickstarre unter Truppen in Bitsch und Ottweiler im Winter 1915 auf 1916. Eine Ausnahme machte die Ruhr. Sie hat in den Jahren 1914—1920 einen trotz der angewandten Bekämpfungsmaßnahmen nicht behinderten Verlauf genommen, über den wir heute rückschauend berichten können. Wir sind berechtigt, die Krankheit heute als eine gefürchtete Tote zu betrachten, der ein Nachruf gebührt.

Das Auftreten der Ruhr in früheren Jahrzehnten ist von *Hirsch*¹⁴⁾ eingehend beschrieben worden. *Hirsch*¹⁴⁾ stellt die Tatsache fest, daß die Krankheit an manchmal eng begrenzten Örtlichkeiten den Charakter des endemischen Leidens besitzt, während sie in der Nachbarschaft epidemisch aufflackert, obwohl dort dieselben klimatischen Einflüsse, dieselbe Bodenbeschaffenheit und dieselbe Wohnart der Menschen besteht. Die Krankheit trat in Deutschland auffallend sprunghaft auf und verweilte während mehrerer Jahre in der einmal befallenen Gegend. Der

Krieg von 1870—1871 gegen Frankreich brachte mit 36652 Kranken und 2380 Toten die letzte große Epidemie. Der *Heeressanitätsbericht*²⁸) über diesen Krieg hebt hervor, daß der Krieg von 1864 gegen Dänemark (kältere Jahreszeit) ruhrfrei und der Krieg 1866 gegen Österreich (sehr kurze Dauer, Ende des Feldzugs im Monat Juli!) nahezu frei von Ruhrerkrankungen gewesen ist. Die Entstehung der Epidemie von 1870 (im Hoch- und Spätsommer) weist eindeutig auf die Belagerungsarmee von Metz als das Ruhrzentrum hin, von dem alle weiteren Erkrankungen ausgegangen sind. Das Vorkommen der Ruhr in der Umgebung von Metz läßt sich bis in das 6. Jahrhundert n. Chr. nachweisen; die Seuche wütete 1552 im Belagerungsheer Kaiser Karls V. vor Metz [*Conradi*⁸]). Auch das Auftreten der Ruhr im Saargebiet im Jahre 1914 ist mühelos auf die Gegend von Metz zurückzuführen, die Ersterkrankten waren fast alle Menschen, die zu Kriegsbeginn zu den Befestigungsarbeiten nach Metz eingezogen und nach 2—3 Monaten wieder entlassen worden waren, oder Familienangehörige dieser Armierungsarbeiter. 1870 haben die nach Tausenden zählenden Verseuchten die Krankheit nach Deutschland hineingetragen, die Ruhr flackerte 1872 vor allem in Preußen auf. In Elsaß-Lothringen ist die Krankheit nie ganz ausgestorben [*Simon*¹¹]), während im übrigen Deutschland die Erkrankungszahlen vor allem in dem Jahrzehnt von 1880—1890 [*Bornträger*⁵]), [*Kruse*¹⁸]) stark abgefallen sind.

Tabelle I. Erkrankungensfälle an Ruhr.

	Preußen	(Berlin)	Bayern	(Württem- berg)		Preußen	(Berlin)	Bayern	(Württem- berg)
1880	5968	129	171	45	1892	1013	7	19	0
1881	4046	137	175	28	1893	1140	21	13	0
1882	4048	124	116	29	1894	1074	9	11	5
1883	4034	119	109	7	1895	1955	12	15	1
1884	3800	154	106	31	1896	762	7	22	2
1885	1713	86	38	33	1897	942	3	—	—
1886	1670	73	41	15	1898	848	2	—	—
1887	1000	24	27	19	1899	1206	6	—	—
1888	932	21	35	11	1900	718	8	—	—
1889	1063	20	29	4	1901	895	17	—	—
1890	823	12	14	15	1902	250	6	—	—
1891	806	15	28	30					

Es kann nicht geleugnet werden, daß die Verhältnisse in Deutschland sich seit 1870 erheblich gebessert haben, wobei dahingestellt bleiben mag, inwieweit hierzu die auf Grund bakteriologischer Erkenntnisse erfolgte systematische Bekämpfung und zu welchem Teil die allgemeine Verbesserung der hygienischen Verhältnisse beigetragen hat. Im Saargebiet ist die Krankheit nur ganz vereinzelt aufgetreten, eine kleinere Epidemie hat *Leutz*²³) 1905 in Saarbrücken-St. Johann beobachtet, deren Ursprung ebenfalls auf die Garnison zurückzuführen war.

Neben der Bevorzugung gewisser Gegenden ist allen Beobachtern der Ruhr die Bevorzugung gewisser Jahreszeiten aufgefallen. Nach *Hirsch*¹⁴⁾ spielten sich von 546 Epidemien 404 im Sommer, 113 im Herbst, 13 im Winter und 15 im Frühjahr ab. Die Ausbreitung der Ruhr bevorzugt die warme Witterung, wenigstens dort, wo sie innerhalb der *freilebenden Bevölkerung* durch den Wechsel der Jahreszeiten beeinflussbar ist. Wenn die Ruhr dagegen in *geschlossenen Anstalten* auftritt, so zeigt sich ein anderes Bild. In einem 17jährigen Zeitraum verteilen sich die in der Irrenanstalt *Saargemünd* vorgekommenen Erkrankungen auf die einzelnen Monate:

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
11	12	15	15	11	5	14	18	15	14	14	15

[*Giggberger*¹¹⁾]. Von bedeutenden Schwankungen ist hier nichts wahrnehmbar, insbesondere keine Abnahme der Erkrankungszahl in der kalten Jahreszeit. Unsere Beobachtungen in dem Zeitraum von 1914 bis 1920 haben ergeben, daß die Seuche mit Ausnahme des Jahres 1914 stets Ende Juni und im Monat Juli an Ausbreitung gewinnt, der Höhepunkt ist im August, spätestens September erreicht, von Mitte September ab beginnt der Abfall der Erkrankungsziffer, im Oktober und November erlischt die Krankheit. Im Durchschnitt hat sich in der *Stadt Saarbrücken* die Erkrankungszahl in den einzelnen Monaten während der 6 Jahre folgendermaßen verhalten:

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
10	1	15	3	14	20	212	596	310	106	15	4

Diese epidemiologischen Verhältnisse werden durch nebenstehende Kurven (Abb. 1 und 2) veranschaulicht.

Aus der Kurve für den *Kreis Saarbrücken* ist deutlich zu erkennen, daß die Krankheit nach anfänglich seltenem Erscheinen von 1915 bis 1918 ein ständiges starkes Anschwellen zeigt, dem bis 1920 eine noch rascher verlaufende Abnahme folgt. Wenn diese Erscheinung im *Kreis Saarlouis* nicht so deutlich hervortritt, so liegt das daran, daß wir es dort mit kleineren Zahlen zu tun haben, daß schon 1915 eine Epidemie in *Lisdorf* den Verlauf der Kurve beträchtlich beeinflusst hat, und daß schließlich die starke französische Besatzung, die in der kleinen Stadt in engere Berührung mit der Bevölkerung tritt, 1920 ein Neuaufflackern verursachte. Aus beiden Kurven erhellt, daß die Epidemie die Zeit von Juli bis Oktober bevorzugt, und in beiden Kurven läßt sich die interessante Tatsache feststellen, daß die Ruhr 1914 *einen Monat später* als in den anderen Jahren aufgetreten ist. Das hängt mit dem Kriegsbeginn Anfang August zusammen, im Juli 1914 war an eine Einschleppung aus Lothringen noch nicht zu denken, im August

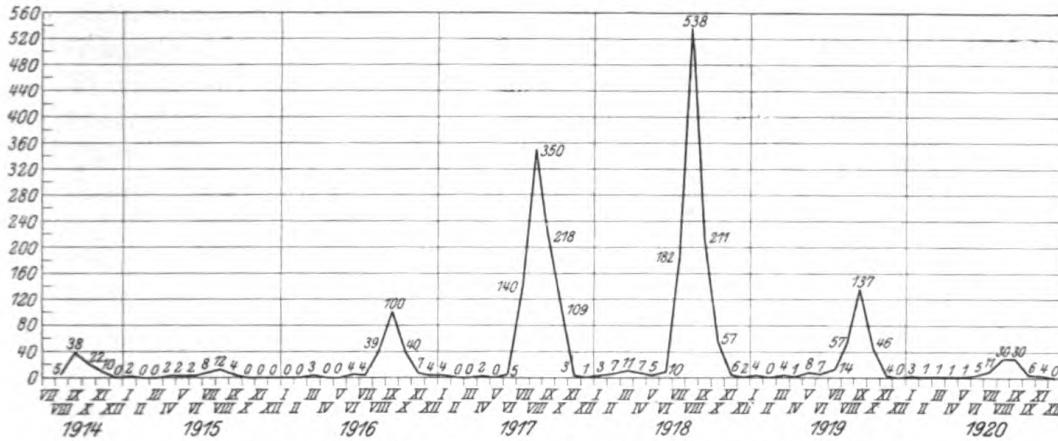


Abb. 1. Erkrankungsfälle an Ruhr im Kreise Saarbrücken Stadt und Land vom Juli 1914 bis Dezember 1920.

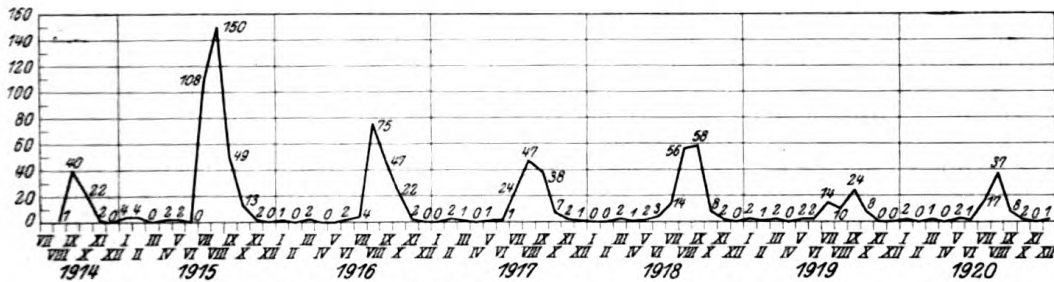


Abb. 2. Erkrankungsfälle an Ruhr im Kreise Saarlouis vom Juli 1914 bis Dezember 1920.

sind nur 4 Fälle gemeldet worden, im September und Oktober aber mit der Rückkehr von Wald- und Armierungsarbeitern aus der Metzger Gegend traten im Kreise Saarbrücken plötzlich in 17 Ortschaften Ruhrerkrankungen auf, von denen jede auf einen Kontakt mit heimgekehrten Arbeitern zurückzuführen ist. Unsere Ermittlungen bestätigen die Angaben *Bornträgers*⁴⁾, der im Osten die Einschleppung der Ruhr aus endemischen Herdgebieten beschrieben hat, und widerlegen die Ansicht *Seligmanns*³¹⁾, der weniger die Reste früherer Epidemien, die durch klimatische und andere Faktoren gefördert sind, für die Ursache der Seuchenausbreitung ansieht, als die Neuentstehung infektiösen Materiales unter dem Einfluß dieser wenig bekannten Faktoren. Wo käme aber dieses Material gerade mit dem Kriegsausbruch im Jahre 1914 her, wenn nicht von schon Erkrankten oder von Bacillenträgern! Wir möchten daran festhalten, daß die Ruhr ihre Entstehung einem epi- bis pandemischen Aufflackern aus endemischen Herden verdankt. Die Erscheinung ist dem Bakterienherd im menschlichen Körper vergleichbar, der seit langem geruht hat und durch ein Trauma wieder zu allgemeinen Erscheinungen, zu einer bakteriellen Überschwem-

mung des ganzen Körpers, führt. Wie das Zustandekommen der endemischen Herde zu erklären ist, bleibt allerdings dunkel. *Conradi*⁷⁾ hält die einheimische Bevölkerung in der Umgebung von Metz für immun infolge einer Durchseuchung, und dasselbe berichtet *Flusser*⁹⁾ aus Polen, wo die Mütter der Ansicht seien, daß jedes Kind die Ruhr, ähnlich wie die Masern oder früher die Pocken, durchmachen müsse. Eine gewisse Erklärungsmöglichkeit liegt in dem häufigen Vorkommen und dem zähen Festhalten der Ruhr in Irrenanstalten [*Giggberger*¹¹⁾, *Hänisch*¹³⁾, *Hagemann*¹²⁾, *Kuhn*, *Gildemeister* und *Woithe*²²⁾, *Schopohl*³⁰⁾]. In der Irrenanstalt handelt es sich um einen Kreis von Menschen, dessen Zusammensetzung im ganzen wenig wechselt, und der völlig der Pflege von Dritten anvertraut ist. Die wenigsten Geisteskranken halten sich selbst völlig rein, im Gegenteil viele von Ihnen sind unreinlich und haben dabei eine verhältnismäßig enge *Kontaktmöglichkeit* mit den anderen Kranken, so daß die dauernde Wiederübertragung einer Infektion wie der Ruhr, die in der Irrenanstalt als ausgesprochene Schmierinfektion gelten kann, nicht erstaunlich ist. Wenn wir diese Verhältnisse ins Große übersetzen, dann verstehen wir, daß in bestimmten Landstrichen als Folge einer ziemlich *konstanten Bevölkerungszusammensetzung* und einer *tiefstehenden Hygiene* die Ruhrinfektion dauernd festsetzt. Die fortschreitende Hygiene und kulturelle Höherstellung der europäischen Völker hat die Krankheit in Europa immer mehr zurückgedrängt, ihre Lieblingsstätten, z. B. die Umgebung von Metz oder Polen, hat sie nie verlassen.

Ebenso wie in Erdboden und Wasser die Ruhrbacillen nur ganz kurze Zeit sich lebensfähig erhalten können, ebenso gilt das von ihrem Vorkommen an Obst, Gemüse, Fleischwaren oder gar Kleidungsstücken. Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht wiederum der Kurvenverlauf der Seuche im Kreise Saarbrücken, wo die Krankheit ganz unbekümmert um den Obstreichthum des Jahres 1917, die verhältnismäßige Obstarmut des Jahres 1916 und den fast völlig obstlosen Sommer 1918 ihren von Jahr zu Jahr ansteigenden Verlauf genommen hat. Nur in engster Berührung mit kranken Menschen fällt Nahrungs- und Genußmitteln eine Übertragungs- oder Verbreitungsrolle zu. Neben der direkten Übertragung von Mensch zu Mensch kommt für die Verbreitung der Ruhr hauptsächlich die Verschleppung der Ruhrkeime durch *Fliegen* in Betracht. Das Aufflammen der Seuche fällt mit der größten Verbreitung der Fliegen zusammen. Säuglinge und Kleinkinder, die sich der Fliegen schwer erwehren können, erkranken besonders häufig. Wenn man die Anziehungskraft sieht, die im Freien abgesetzter Kot für Fliegen besitzt, und wenn man sich nachher von dem Überfall dieses Ungeziefers auf unbedeckt stehende Nahrungsmittel überzeugt, dann ist es nicht wunderbar, daß um unreinliche Ruhrkranke

herum neue Erkrankungsfälle auftreten, ohne daß eine persönliche Berührung von Mensch zu Mensch stattgefunden hat. Während unser eigener Versuch mit Drigalskiplatten, die in fliegenreichen Quartieren von Ruhrkranken für Fliegen zugänglich aufgestellt waren, negativ ausgefallen ist, ist *Böhncke*²⁾ der Versuch geglückt, und *Krontowski*¹⁶⁾ gelang der Bacillennachweis 4 Tage lang aus Fliegenkot. Aus unseren epidemiologischen Betrachtungen können wir dagegen gleichfalls die Beteiligung der Fliegen an der Ruhrausbreitung folgern. Wir haben im Sommer 1918 in Saarbrücken in dem Stadtteil Rußhütte in der Umgebung von Truppenteilen, die mit Ruhr verseucht und in Zivilquartieren untergebracht waren, eine ausgesprochene Ausstreuung der Krankheit in der Umgebung gesehen, ohne daß in den meisten Fällen eine direkte Berührung zwischen Militär und Zivilbevölkerung nachgewiesen werden konnte. Die Latrinen der Mannschaften waren in den anliegenden Gärten angelegt und schlecht gegen Fliegen abgedeckt, so daß es naheliegend ist, eine Reihe von Übertragungen durch Stubenfliegen anzunehmen.

Der wichtigste Keimüberträger ist bei der Ruhr wie bei den meisten anderen Infektionskrankheiten zweifellos der Mensch. Seitdem der Gedanke an die dauernde Ausscheidung von krankheitserregenden Keimen durch klinisch scheinbar gesunde Menschen allgemeine Anerkennung gefunden hat, wurden auch für die Ruhr eine Reihe von Befunden mitgeteilt, die den Beweis lieferten, daß gesunde Menschen bzw. Menschen, die an wiederholten, sich über Jahre hin erstreckenden Rückfällen der Krankheit leiden, Ruhrbacillen über Monate und Jahre hinweg im Körper beherbergen. Derartige Befunde sind von *Lentz*²⁴⁾, von *Kruse*²⁰⁾ und von *Küster*²¹⁾ festgestellt worden. Die systematischen Untersuchungen von *Böhncke*³⁾ und *Simon*³²⁾ über diese Frage haben weitere Beweise geliefert daß neu entstehende Epidemien auf Dauerausscheider bzw. auf gesunde Keimträger zurückzuführen sind. Während wir es aber beim Typhusbacillenträger mit einer chronischen, bisher wohl ausnahmslos unheilbaren Erkrankung der Gallenwege, seltener der Harnwege zu tun haben, die anscheinend mit der Vorliebe des Typhusbacillus für Galle als Nährboden zusammenhängt, müssen wir aus den pathologischen und anatomischen Befunden bei der Ruhr den Schluß ziehen, daß die Bacillenträger ausheilen können, und daß damit die Gefahr im Laufe der Zeit vorübergehen kann. Es ist keinem Autor gelungen, bei einem einmal vorgefundenen Bacillenträger eine lebenslange Ausscheidung der Krankheitserreger nachzuweisen. *Lentz*²⁴⁾ nimmt ein allmähliches Abheilen der Ruhrgeschwüre von den oberen Darmteilen nach dem After zu an. Daraus ergibt sich die Eigenart der Infektionsweise bei Ruhr. Von einer Ruhrepidemie bleibt ein gewisser Prozentsatz chronisch Kranker sowie unter Umständen längere Zeit

hindurch Keime ausscheidender, scheinbar gesunder Bacillenträger übrig. Von diesen heilt ein Teil im Laufe der für die Ausbreitung der Ruhr ungünstigen fliegenarmen Jahreszeit (Oktober bis Juni) ab und verliert seine Bacillen, während die übrigen beim Eintritt der wärmeren Jahreszeit infolge von Schädigungen des Darmkanals durch Gastricisimen ein Wiederaufflammen ihrer Erkrankung erleben. Erfolgt der Rückfall an derselben Örtlichkeit wie im Vorjahre, dann können unter Umständen in der Umgebung nur wenige Menschen neu erkranken, wenn nämlich die Krankheit die große Masse im Vorjahre bereits ergriffen hatte. Ist der Dauerausscheider dagegen an einen anderen bis dahin ruhrfreien Ort verzogen, oder war die Durchseuchung am Orte der ersten Infektion nur unvollständig gewesen, so kann er der Ausgangspunkt einer neuen plötzlich aufflackernden Epidemie werden. Von dieser Epidemie bleiben wiederum latent infizierte Personen übrig, während der erste Keimträger allmählich zur Abheilung kommt, und in der folgenden Ruhrzeit sind die neuen übrig gebliebenen Bacillenausscheider die Überträger der Seuche. Die Frage nach der Dauer der Bacillenausscheidung beim einzelnen Menschen wird dadurch in den Hintergrund gerückt, es kommt im Grunde nur darauf an, daß sich die Bacillen bei dem einen oder anderen von einem Jahr bis zum nächsten, bis zur neuen Ruhrzeit, zu halten vermögen.

Aus diesen Tatsachen geht, namentlich wenn man mit *Uhlenhuth*³⁴⁾ den Prozentsatz der chronisch Kranken sehr hoch ansetzt, hervor, daß in einem einmal von der Ruhr frisch befallenen Lande zunächst verstreute einzelne Erkrankungen, gelegentlich auch kleinere Epidemien (noch geringe Zahl der Dauerausscheider) auftreten, daß im kommenden Jahr der Umfang der Epidemien ein größerer sein wird (Vermehrung der Dauerausscheider), und daß aber mit dem langsamen Abheilen der chronischen Prozesse und, nachdem das Land in allen Ortschaften seine Ruhrzeit und dadurch eine Durchseuchung mitgemacht hat, die Krankheitsziffern wieder absinken, vielleicht vollständig verschwinden. Wie weit die Epidemie sich in den einzelnen Ortschaften ausbreitet, hängt wiederum von den begünstigenden Nebenumständen ab. Die Bewegung der Bevölkerungszahl, Truppenbelegungen, Märkte und eifrige Handelsbeziehungen spielen dabei die größte Rolle. In zweiter Linie kommen für die Übertragung die bei den genannten Menschenanhäufungen von Hand zu Hand gehenden Gebrauchs- und Genußgegenstände in Betracht. Wenn wir solchen Gedankengängen folgen, so erschließt sich uns die Epidemiologie der Ruhr, wenn auch nicht in allen Einzelheiten, so doch in den Grundzügen. Für die quantitative Ausbreitung der Krankheit wäre es wichtig, zu wissen, wie viele Keimträger in Betracht kommen. Die Schwierigkeit der bakteriologischen und serologischen Ruhrdiagnose macht die Beantwortung der

Frage nach der Zahl der Dauerausscheider fast unmöglich. Wir können aber zu einem annähernden Ergebnis kommen, wenn wir die Erkrankungszahlen über einen größeren Zeitraum hinweg in den befallenen Ortschaften genau vergleichen, da der Anstieg der Kurve eine Vermehrung, der Abfall eine Ausheilung der Bacillenträger anzeigt. Einzelheiten über das Auftreten und die Verbreitung der im Saargebiet im letzten Jahrzehnt vor dem Kriege fast unbekanntem Seuche können wir aus den seit 1914 in den Kreisen Saarbrücken und Saarlouis vorgekommenen Ruhrerkrankungen herauslesen. Ich lasse hier eine Aufzählung der Ortschaften folgen, in denen die Ruhr während des Krieges epidemisch aufgetreten ist:

<i>Kreis Saarbrücken:</i>	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920
Altenkessel	—	—	36	66	0!	1	0
Emmersweiler	—	—	—	59	0!	0	0
Fenne	—	—	—	1	29	1!	0
Großrosseln	—	7	0	0	77	1!	1
Herrensohr	—	—	—	51	14	16	0
Lauterbach	—	—	—	52	0!	0	0
Saarbrücken	10	15	102	208	719	209	35
St. Nikolaus	—	—	—	38	0!	0	0
Völklingen	—	6	17	294	46	13	9
Wehrden	—	—	—	—	53	12	8
<i>Kreis Saarlouis:</i>							
Dillingen	—	13	73	8	29	17	11
Lisdorf	—	184	11	10	2	0	0
Saarlouis	—	30	14	39	70	31	52
Schwalbach	12	11	0	3	4	1	2
Siersdorf	14	0!	0	0	0	1	0

Während im Jahre 1914 nur Schwalbach und Siersdorf im Kreise Saarlouis eine größere Zahl von Erkrankungen aufweisen, bringt das Jahr 1915 in Lisdorf eine umfangreiche Epidemie, deren Herkunft damals nicht einwandfrei festgestellt werden konnte. Die Zahl der infizierten Ortschaften ist 1915 von 33 auf 30 herabgesunken, die Ruhr hat sich in dem frisch befallenen Gebiete nicht in allen Ortschaften gehalten, von den Erkrankten sind offenbar keineswegs überall Dauerausscheider zurückgeblieben. Wenn das im Jahre 1915 so stark infizierte Lisdorf im Jahre 1916 nur 11 Fälle aufweist, so wird man diese Eigentümlichkeit mit einer Durchseuchung erklären müssen.

Die Städte Saarbrücken und Saarlouis sowie die Hauptindustriorte Völklingen und Dillingen weisen 1916 erhöhte Krankenzahlen auf. Im Kreise Saarbrücken-Land ist das kleine Bergmannsdorf Altenkessel von einer Ruhrepidemie befallen, die 36 Kranke umfaßt. Durch Kontakte in kinderreichen Familien ist die Zahl der Fälle ziemlich hoch, ohne daß eine örtlich sehr weite Verbreitung stattgefunden hat. Im

Jahre 1917 erfolgt dort eine noch größere Aussaat, die sich auf 66 Fälle erstreckt. Mit Ausnahme von 2 Häusern sind durchweg andere Familien befallen als 1916, in einem dieser Häuser erkrankt der 1916 allein gesund gebliebene Sohn an Ruhr. Demnach kann man für Altenkessel mit Sicherheit das Vorkommen von Dauerausscheidern annehmen, obwohl der bakteriologische Beweis nicht vorliegt. Da der Ort abseits der großen Heerstraße liegt und eine wenig wechselnde Bergmannsbevölkerung hat, braucht man nicht nach anderen Gründen für den erneuten Sommerausbruch zu suchen! In dem 1916 befallenen Ortsteil ist ein gewisser Schutz eingetreten, die 1917er Erkrankungen eigneten sich bis auf 3 Fälle in einem anderen Ortsteil. Das Jahr 1917 bringt im Kreise Saarbrücken einen Anstieg von 183 auf 852 Erkrankungen, während im Kreise Saarlouis die Zahl von 156 auf 180 Fälle steigt. Die Zahl der befallenen Ortschaften beträgt 58 gegen 32 im Vorjahre. Namentlich in Völklingen trat eine schwere 294 Kranke umspannende Epidemie auf, aber auch kleine Ortschaften wie Lauterbach, Herrensohr und Emmersweiler sind stark mitgenommen. In denselben Orten ereigneten sich 1918 nur ganz wenige Erkrankungen; auch in Altenkessel, wo die Krankheit 2 Jahre hintereinander geherrscht hatte, kam nicht ein Fall in Zugang. Eine 54jährige Witwe aus Altenkessel, die von der 1917 durchgemachten Ruhr noch zahlreiche Beschwerden übrig behalten hatte, war bei ihrer Nichte in Völklingen zu Besuch, worauf diese selbst und ihre 4 Kinder an Ruhr erkrankten. Das Blutserum der genannten Witwe agglutinierte Krusebacillen in Verdünnung 1 : 200. In Wehrden fand ich im Anschluß an die ersten Fälle des Jahres 1918 eine benachbart wohnende auffallend blasse Frau, die 1917 an Ruhr erkrankt war, sich angeblich beschwerdefrei fühlte, aber eine positive *Widalsche* Reaktion (1 : 400) für Krusebacillen aufwies. 1918 wütete die Krankheit vor allem in der Stadt Saarbrücken. Eine von den übrigen Erkrankungen abgesonderte Epidemie war im Stadtteil Rußhütte auf die Unterbringung eines ruhrverseuchten Militärtransportes zurückzuführen. Aber schon 1919 sind die im Vorjahre befallenen Orte und der Stadtteil Rußhütte wieder ruhrfrei. Aus der 6jährigen Ruhrbeobachtung im Saartal sehen wir, daß mit Ausnahme von Altenkessel in allen von Epidemien befallenen *ländlichen Orten* die Epidemie nur während *eines* Jahres angehalten hat. Dieses charakteristische Auftreten findet sich nur in den Dörfern, in der *Stadt* Saarbrücken, in den *Industriecorten* Völklingen und Dillingen sowie in der *Garnisonstadt* Saarlouis verwischen sich die Merkmale der Ausbreitung durch die starke und unablässige Fluktuation der Bevölkerung. Aus dem Auftreten auf dem Lande aber folgt, daß die Zahl der Dauerausscheider nicht erheblich und die Zeit, während der Bacillen ausgeschieden wurden, nicht sehr lange dauernd war, denn sonst müßten die einmal befallenen

Orte immer wieder größere und kleinere Ruhrherde aufweisen. Im Gegensatz zum Typhus bekommen wir damit für die Ruhrausbreitung in unseren Gegenden schematisch folgendes Bild:

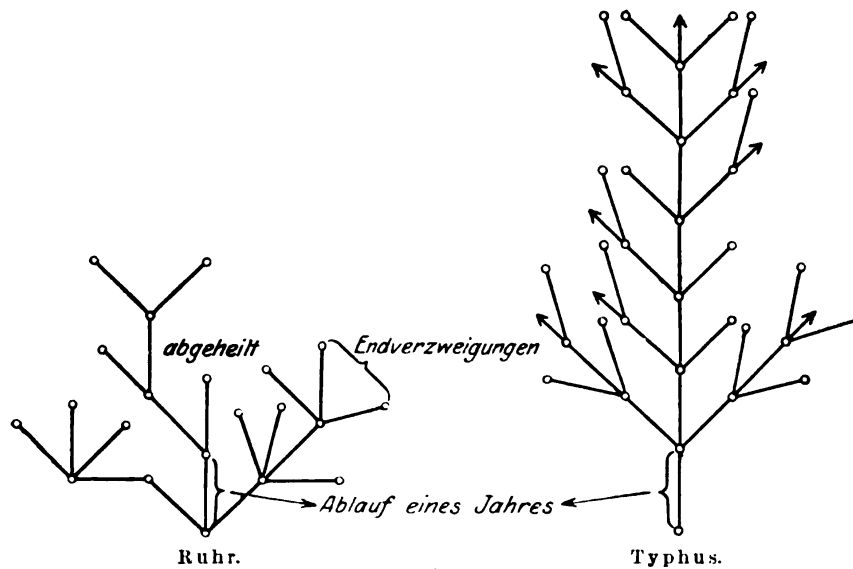


Abb. 3.

Die Zeichnung deutet an, daß der Stammbaum, der bei der Typhusausbreitung wegen der zäh festgehaltenen lebenslangen Dauerausscheidung immer derselbe bleibt, d. h. von denselben Personen ausgehend durch viele Jahre hindurch immer wieder neue Infektionen erzeugt und selbstverständlich auch von den neuen Fällen ausgehende neue Verzweigungen bildet, bei der Ruhr sich sofort in Zweige auflöst, wobei die Möglichkeit besteht, daß ein derartiger Zweig wieder über eine kürzere Zeit hinweg die Quelle der Ruhrausbreitung bleibt, im Laufe der Jahre sich jedoch in Endverzweigungen auflöst*). Die Frage nach den Endverzweigungen möchte ich dahin beantworten, daß die Endzweige bei Säuglingen und Kleinkindern zu suchen sind, die nach dem Abklingen der Hauptruhrjahre geboren werden. Als Beweis dafür möchte ich folgende Zahlen anführen: In meinem jetzigen Kreise Merzig sind im Laufe des Jahres 1921 17 Ruhrerkrankungen amtlich gemeldet worden, andererseits habe ich als Leiter der Säuglingsfürsorge unter den Säuglingen 43 Erkrankungen mit blutig-schleimigen Durchfällen beobachtet. Eine Rückfrage bei der Mutter hat sehr häufig ergeben, daß der Vater Kriegsteilnehmer gewesen ist, oder daß während der Kriegszeit in der Familie oder Nachbarschaft Ruhr vorgekommen ist. Von den Kriegsteilnehmern kann man mit Bestimmtheit annehmen,

*) Der Stammbaum des Typhus ist mit einem Baum mit wohl entwickeltem Stamm, der Stammbaum der Ruhr einem Strauche vergleichbar.

daß jeder, der während eines oder mehrerer Sommer im Felde gewesen ist, einmal eine mehr oder weniger schwere Ruhrerkrankung durchgemacht hat. Die Keime sind daher in ungeheurer Zahl ins Land geschleppt worden und boten bei günstiger Gelegenheit zu Schmierinfektionen die Ursache für die Ruhrkontakte der Nachkriegszeit. Diese Ausbreitung ist so umfangreich, daß stellenweise sicher eine Ubiquität der Bacillen besteht [*Brauer*⁶⁾], wobei man nicht etwa an ubiquitäre Existenz der Ruhrkeime in der Außenwelt, sondern an ihre weiteste Verbreitung innerhalb leicht erkrankter oder latent infizierter Menschen zu denken hat. Weshalb diese in Beziehung auf die Gesamtkriegsepidemie späten Erkrankungen meist milde verlaufen und wenig Anlaß zu Ansteckungen geben, ist nicht völlig klar. *Adelheim*¹⁾ spricht von einer Virulenzverringerung. Es handelt sich dabei um eine hypothetische Annahme.

Unsere epidemiologischen Ergebnisse können dahin zusammengefaßt werden:

1. Die Ruhr ist eine in bestimmten Gegenden endemische ansteckende Krankheit.

2. Von den endemischen Herden aus wurde und wird die Ruhr epidemisch verbreitet bei der Berührung mit ruhrfreien Menschen, namentlich bei Massenbewegungen der Bevölkerung.

3. Gesunde Keimträger, chronisch Kranke und Dauerausscheider sind häufig als Seuchenverschlepper anzusehen, erstere meist nur während *eines* Jahres. Die Neigung zur Heilung (spontane Entkeimung) aller Keimträger ist in unseren Gegenden groß.

4. Die Ruhr flammt während der heißen Jahreszeit (Juli bis Oktober) einerseits durch Vermehrung der Keimausscheidung bei Bacillenträgern infolge von Gastricisimen, andererseits durch vermehrte Infektionsgelegenheit durch die sommerliche Fliegenplage auf.

5. Die Reste der Epidemien lassen sich bei Säuglingen und Kleinkindern erkennen, die nach der großen Epidemiewelle in ruhrverseuchten oder verseucht gewesenen Häusern geboren werden.

Bei dem außerordentlich gehäuften Auftreten der Ruhr in Saarbrücken im Sommer 1918 kann mit Bestimmtheit angenommen werden, daß zahlreiche Erkrankungen, vor allem bei Kindern, infolge von Unterlassung der Meldung nicht zur Kenntnis der amtlichen Stellen gelangt sind, so daß ein Nachspüren nach den einzelnen Kontaktreihen völlig unmöglich gewesen ist. Erschwert wird diese Aufgabe durch die Ungenauigkeit der bakteriologischen und serologischen Untersuchungsergebnisse. Es ist zwar eine Reihe von Bakteriologen vorhanden, deren Untersuchungsergebnisse wesentlich günstiger waren als unsere. So betonen *Kruse*²⁰⁾ und *Fürst*¹⁰⁾, daß der Stuhlgang von Ruhrkranken

aus den frühen Krankheitstagen verarbeitet werden müsse, wenn ein positives Ergebnis erzielt werden soll. *Hamburger*¹⁵⁾ berichtet über einen Bacillennachweis von 100% aus dem Stuhl von Ruhrkranken. Es besteht kein Zweifel, daß diese sehr sorgfältigen Untersuchungen auch unter sehr günstigen Bedingungen ausgeführt worden sind. In Saarbrücken, wo es sich um die Untersuchung vieler Hunderter von Stühlen Ruhrkranker gehandelt hat, wo neben dem klinisch Schwerkranken der Leichtkranke und Verdächtige, der gesunde Bacillenträger und der Dauerausscheider untersucht worden sind, wo die Stühle aus den verschiedensten Krankheitstagen, nach teilweise langem Transport, zur Untersuchung gekommen sind, konnten solche Ergebnisse nicht erzielt werden. Während der Hauptepidemiezeit vom 1. Juni bis 31. Oktober 1918 wurden im Hygienischen Institut 2897 Stühle auf Ruhrbacillen untersucht und 108 (rund 3,7%) positive Ergebnisse erzielt. Von den gefundenen Stämmen waren 76 Kruse-, 24 Y- und 8 Flexnerstämmen. Die Bearbeitung der Stühle erfolgte unter Auswaschung von verdächtigen Schleimflocken (möglichst ohne Blutbeimengung), die auf Drigalskiplatten ausgestrichen wurden. Die auf der Platte gefundenen und daraufhin in Reinkultur dargestellten verdächtigen Kolonien wurden zur Differenzierung auf Lackmusmolke, Traubenzuckerbouillon und den *Langeschen*²⁷⁾ Nährböden verimpft. Letzterer hat den Vorzug, bei Krusebacillen seine Farbe und Zusammensetzung nicht zu verändern, während er bei durch die andern Ruhrbacillenstämmen gerötet und getrübt wird. Zeigten diese Testnährböden charakteristisches Verhalten, dann wurde die Kultur vom Schrägagarröhrchen zwecks Agglutinationsverfahrens in die Verdünnungen von verschiedenen spezifischen Ruhrseren verrieben und gleichzeitig auf Zuckerlackmusplatten (Mannit, Maltose und Saccharose) übergeimpft. War das Verhalten auf letzteren typisch, und wurden die Bacillen in Serumverdünnungen von wenigstens 1 : 500 agglutiniert, so wurde der Stamm als positiv bezeichnet. Bei der Agglutination, namentlich der Krusebacillen, fanden sich erhebliche Unterschiede zwischen grober, mittlerer und feiner Zusammenballung. Im Januar und Februar 1919 wurden je 4 von den im Herbst isolierten Stämmen auf die Konstanz ihres Verhaltens geprüft. Mit Ausnahme eines Flexnerstammes stimmten die Befunde mit den früher erhobenen überein, nur daß gerade die Flexnerstämmen mit Ausnahme von einem, der in Serumverdünnung 1 : 100 agglutiniert wurde, keine Agglutination mehr zeigten. Der früher auch im Kulturverfahren typische Stamm verhielt sich bei der Zuckerspaltung wie Flexnerbacillen, bildete aber in Traubenzuckerbouillon und *Langeschem* Nährboden Gas, letzterer wurde gelb gefärbt. Dieser Stamm war demnach zu Unrecht als Flexnerstamm gekennzeichnet (Paraagglutination?) oder hatte seine Eigenschaften im Laufe der Monate verändert.

Systematische Stuhluntersuchungen wurden bei einem Militärtransport angestellt, bei dem auf der Fahrt zur Front die Ruhr ausbrach, und der aus diesem Grunde in Saarbrücken ausgeladen und abgesondert werden mußte. Die Transportstärke betrug 602 Mann, von denen 106 klinisch erkrankt und 23 gestorben sind. Von den klinisch Erkrankten hatten 14 = 13.2% positiven Bacillenbefund (12 mal Kruse- und 2 mal Y-Bacillen) im Stuhl. Da die Erkrankungen trotz der sofortigen Verbringung von Kranken und Krankheitsverdächtigen in das Lazarett nicht nachlassen wollten, wurde eine Durchuntersuchung angeordnet, 418 Stühle wurden Anfang August 1918 an Ort und Stelle ausgewaschen und auf Drigalskiplatten ausgestrichen. Es wurden 11 = 2,6% positive Befunde (7 mal Kruse-, 4 mal Y-Bacillen) erhoben. Bei einer 10 Tage später in derselben Art bei 397 Mann durchgeführten zweiten Untersuchung konnten keine Ruhrbacillen mehr nachgewiesen werden. Von den 11 bei der ersten Durchuntersuchung positiv befundenen Leuten hatten 2 Blut und Schleim im Stuhl, waren also klinisch krank; 9 Mann, die ebenfalls klinisch verdächtige Stühle entleerten, blieben bakteriologisch negativ. Von den 9 übrigen positiv Befundenen hatten 6 nie etwas mit Ruhr zu tun gehabt, 1 hat im Juli 1917 Ruhr überstanden und erkrankte kurz nach der Durchuntersuchung von neuem, 2 waren Anfang Juni 1918 ruhrkrank gewesen. Die positiv Befundenen wurden sofort dem Lazarett überwiesen, aber bei weiteren Untersuchungen gelang der Bacillennachweis bei keinem mehr. Wir sehen, daß die Zahl der positiv Befundenen nicht einfach als die der Kranken oder der gesunden Keimträger gezählt werden darf, sondern daß unter ihnen, ganz ähnlich wie bei der Diphtherie, Leute in der Inkubation, Leichtkranke, Rekonvaleszenten zu suchen sind. Angaben über die Zahl der ausgeschiedenen Bacillen können nicht gemacht werden, sie ist nach *Kruse*¹⁸⁾, *Mayer*²⁶⁾ und *Rimpau*²⁸⁾ in geformten Stühlen gering. Es läßt sich aber nicht leugnen, daß zwischen geformten Stühlen wieder gelegentlich ein stark schleimiger Stuhl abgesetzt werden kann, oder daß einem anscheinend normal geformten Stuhl eine Schleimflocke, die große Bacillennengen enthält, anhaftet. Nach *Simon*³²⁾ läßt das Aussehen des Stuhles noch nicht einmal einen Schluß auf den Prozeß im Darne zu. Diese Ansicht bestätigt meine Annahme von der völligen Unberechenbarkeit der Zahl der ausgeschiedenen Bacillen und der Zeit, in der diese Absonderung stattfindet. Wenn unsere Untersuchungsergebnisse schon für die Militärpersonen wenig günstig ausgefallen sind, so wäre das erst recht bei der Zivilbevölkerung zu erwarten gewesen. In einem Sammelinstitut, das die Ausscheidungen nicht sofort am Krankenbett zu verarbeiten vermag, sind Stuhluntersuchungen unfruchtbar und kostspielig.

Die Blutuntersuchungen versprechen eher den Erfolg, zu einer Diagnose zu kommen, wenn auch die rasche Feststellung der Krankheit nicht gewährleistet ist, da die spezifische Agglutination oft verspätet eintritt. Von den 718 untersuchten Blutproben des Jahres 1916 waren 550 (rund 76,6%) positiv, davon 500 mal mit Kruse-Shiga-, 49 mal mit Y- und 1 mal mit Flexnerbacillen, öfters unter Mitagglutination anderer Stämme. Von 429 Patienten, deren Erkrankungsdatum festgestellt und bei denen die serologische Blutuntersuchung angesetzt wurde, zeigten 198 = 46,2% innerhalb der ersten 8 Krankheitstage positive *Widalsche* Reaktion. Unter diesen 198 befand sich 1, bei dem die Reaktion schon am 9. Tage wieder negativ war. 79 = 18,4% weitere Kranke hatten erst nach Ablauf der 8 ersten Krankheitstage positive Serumreaktion. Unter ihnen befand sich 1 Kranker, der 14 Tage nach Beginn seiner Erkrankung positiv, 23 Tage danach wieder negativ war. Die *Widalsche* Reaktion war bei 152 = 35,4% Kranken negativ, bei 23 davon wurde sie erst später als 8 Tage nach dem Krankheitsbeginn angesetzt. Infolge des starken Zudrangs an Kranken und der großen Menge des zu bewältigenden Materiales war es nicht möglich, auch nur bei einem Bruchteil den Verlauf der agglutinierenden Kräfte der Krankenserien zu prüfen; aus den angeführten beiden Beispielen geht hervor, daß die Agglutinationskraft des Serums bei Ruhr öfters nicht lange anhält. Von 108 Leuten, bei denen wir Ruhrbacillen im Stuhle nachgewiesen haben, stehen uns von 48 auch die Blutuntersuchungen zur Verfügung. Von 48 Blutproben fielen 15 negativ aus, 23 entsprachen sowohl der Untersuchungszeit als dem vorgefundenen Bacillenstamme nach dem Ergebnis der Stuhluntersuchung. Bei 3 weiteren ergab sich folgendes: Beim ersten wurden am 17. VI. Krusebacillen im Stuhl nachgewiesen, am 21. VI. und am 5. VII. waren die Blutuntersuchungen negativ, am 28. VII. agglutinierte das Blutserum des Kranken Krusebacillen in Verdünnung 1 : 100, beim zweiten wurden am 17. und am 21. VII. Krusebacillen im Stuhl festgestellt, am 21. VI. war die *Widalsche* Reaktion negativ, am 28. VI. und am 5. VII. war sie 1 : 100 positiv, beim dritten fanden sich am 28. VII. Y-Bacillen im Stuhl, die *Widalsche* Reaktion war am 8. VIII. für Y-Ruhr 1 : 100 positiv, ohne daß in diesem Falle andere Untersuchungen vorausgegangen wären. Bei den restlichen 17 war das Stuhl- und Blutuntersuchungsergebnis in Beziehung auf die Ruhrbacillenart nicht übereinstimmend, es fanden sich 2 mal Krusebacillen im Stuhl und Serumreaktion auf Y-Ruhr, 3 mal war das Umgekehrte der Fall, und bei 2 Flexnerbacillenbefunden im Stuhl agglutinierte das Serum ebenfalls nur Krusebacillen.

Nach diesen Untersuchungsergebnissen bietet die Blutuntersuchung keine absolute Gewähr für eine rasche und sichere Diagnose der Ruhr. Die Möglichkeit von Fehlschlägen ist trotz der Anwendung einer Misch-

aufschwemmung mehrerer Bacillenstämmen so groß, daß eine rasche, für die Praxis allein verwertbare Diagnose nicht daraus gestellt werden kann. Die große Zahl der negativen bzw. der verzögert positiven und der wieder negativ gewordenen Ergebnisse ist für die Beurteilung der praktischen Verwendbarkeit erheblich wichtiger als gelegentliches Versagen in Beziehung auf die Spezifität der Ruhrstämmen, denn dieser Fehler läßt sich durch eine vielwertige Aufschwemmung aus mehreren Stämmen aus der Welt schaffen. Für die Praxis besonders wichtig ist aber die Anwendung der *Widalschen* Reaktion zur Auffindung von chronisch Kranken. Ihre Anstellung ist daher vor allen Dingen zur Ermittlung von Dauerausscheidern in Anstalten oder bei der Sanierung eines endemischen Herdes wertvoll.

Diese Erfahrungen können dahin zusammengefaßt werden, daß die Bekämpfung der Ruhr mit Hilfe von bakteriologischen und serologischen Untersuchungen auf erheblich größere Schwierigkeiten stoßen wird als die des Typhus oder der Diphtherie. Für die praktische Ruhrbekämpfung bietet das mangelhafte Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung nicht die genügende Handhabe. Es können nicht wie in einer Krankenhausabteilung die Abgänge des Kranken zu ganz bestimmten Zeiten des Krankheitsverlaufes und in regelmäßigen Zwischenräumen oder gar nach dem jeweiligen klinischen Befunde (Blut- und Schleimabgang) untersucht werden, sondern höchstens in dem Augenblick, wo ein Verdacht auf eine bestimmte Person als Kranke, Krankheits- oder Ansteckungsverdächtige fällt. Der beamtete Arzt wird sich zu Seuchenzeiten demnach vor allem auf die Angabe des charakteristischen klinischen Befundes verlassen müssen und wird sich niemals mit einem bakteriologisch oder serologisch *negativen* Untersuchungsergebnis zufrieden geben dürfen. Das Verlangen der Ausführungsbestimmungen zum preußischen Seuchengesetz, daß eine zweimalige negative Untersuchung der Stühle Ruhrgenesender über ihre Ansteckungsfähigkeit entscheiden soll, ist als ungenügend und daher überflüssig zu betrachten. Von demselben Gesichtspunkte aus war es zwecklos, wenn im Herbst 1914 angeordnet wurde, daß die Armierungsarbeiter, die zu zeitweiligen Arbeiten in Lothringen beschäftigt waren, nur dann in ihre Heimat entlassen werden sollten, wenn sie 3 Tage lang ärztlich untersucht und durchfallfrei befunden worden waren. Die Erfolglosigkeit dieser Maßnahme haben wir im Saargebiet erlebt! Die gesetzlichen Bestimmungen rechnen insbesondere mit dem Erfolge der sofortigen Absonderung der Kranken, die ursprünglich „tunlichst“ zu Hause, sonst durch „freiwillige Aufnahme“ in ein Krankenhaus erfolgen soll. Weitere Maßnahmen, die das Gesetz vorschreibt, sind: Gemeinverständliche Belehrung, Umgebungsuntersuchungen, Fernhaltung schulpflichtiger Kinder vom Unterricht, wenn sie aus einem

verseuchten Hause stammen, unter Umständen Verbot von Brunnen, Bade- und Waschanstalten sowie die Räumung von Wohnungen. Bei gehäuftem Auftreten sind Ratschläge an Ärzte, wiederholte öffentliche Belehrungen, Einsetzung von Gesundheitskommissionen, Überwachung von Wohnungen, Beseitigung erheblicher gesundheitlicher Mißstände, Verbot von Messen und Märkten und die Schließung von Schulen angezeigt.

1918 kam in Saarbrücken die Anwendung einer Reihe dieser gesetzlichen Maßnahmen in Betracht. Für die Absonderung kam eine Anordnung des stellv. kommandierenden Generals in Frage, nach der jeder Ruhrkranke in das Krankenhaus überführt werden mußte. Leider war der verfügbare Platz sehr rasch belegt, so daß an eine strenge Durchführung der Krankenhausabsonderung nicht gedacht werden konnte. Unter dem Einfluß der Kriegereignisse gelang es nur sehr schwer, eine Notbehelfsunterkunft in Gestalt einer zum Lazarett verwandelten Volksschule zu schaffen. Sehr viele Kranke blieben in ihren Behausungen, einmal solche, bei denen infolge guter hygienischer Verhältnisse eine häusliche Absonderung möglich war, und dann solche, die aus Furcht vor der Überbringung ins Krankenhaus ihre Krankheit verheimlichten. Die Furcht vor dem Krankenhaus hatte vor allem ihren Grund in der Kostenfrage, deren Lösung den zum größten Teil Minderbemittelten ernste Sorge bereiten mußte. Die Leute verstehen nicht, daß sie für einen aufgezwungenen Krankenhausaufenthalt zahlen sollen! Ferner läßt sich ein Bedenken gegen die Absonderung geltend machen. Gerade die bakteriologischen Untersuchungsergebnisse von *Fürst*¹⁰⁾ und *Hamburger*¹⁵⁾, nach denen die Ruhrbacillen vor allem in den ersten Krankheitstagen ausgeschieden werden, beweisen, daß die Verbreitung des Ansteckungsstoffes mit höchster Wahrscheinlichkeit schon erfolgt ist, bevor der Erkrankungsfall überhaupt zur Kenntnis des beamteten Arztes gekommen ist. Wir selbst haben es wiederholt erlebt, daß nach der Isolierung der Ersterkrankten in derselben Familie weitere Erkrankungsfälle aufgetreten sind, und haben es erlebt, daß nach der Rückkehr klinisch Genesender aus der Krankenhausabsonderung Ansteckungen in der Familie erfolgt sind. Ich bin daher der Ansicht, daß eine schematische Krankenhausabsonderung zwar für den beamteten Arzt bequem ist, aber keineswegs die allein richtige Maßnahme zur Verhinderung weiterer Verbreitung darstellt. Der beamtete Arzt soll sich bei seinen Ermittlungen vollständig nach den Verhältnissen richten können: Er soll eine gute Absonderungsmöglichkeit im Hause nicht außer acht lassen und in jedem Fall neben der allgemeinen Wohnungshygiene die Belegungszahl der Wohnung und ihre Lage zur näheren Umgebung ins Auge fassen. Daneben muß natürlich für Fälle, die in ungenügenden häuslichen Verhältnissen untergebracht sind, die

Absonderung im Krankenhaus als amtliche Maßnahme beibehalten werden. Die Belehrung der Öffentlichkeit wurde 1918 durch häufig wiederholte Maueranschläge durchgeführt; die Bevölkerung ließ sich allerdings in ihrem Glauben, die Ruhr sei die direkte Folge des schlechten Brotes, nicht beirren und verhielt sich den angeordneten Maßnahmen gegenüber erst zugänglich, als die Zahl und die Schwere der Krankheitsfälle sowie die sich häufenden Todesfälle eine gewisse *Seuchenfurcht* hervorbrachte. Die Beseitigung hygienischer Mißstände in den Wohnungen, unter die auch die Bekämpfung der Fliegenplage fiel, stieß bei der durch den Krieg bedingten großen Schwierigkeit, wesentliche Verbesserungen und geeignetes Material herbeizuführen, auf teilweise unüberwindliche Hindernisse. Die Förderung der öffentlichen Hygiene sollte nach dem Erlasse des Ministeriums des Innern noch dadurch ermöglicht werden, daß in den öffentlichen Aborten die Türklinken mit Tüchern unwickelt werden, die mit Sublimat befeuchtet waren, ferner Waschbecken mit Sublimat aufgestellt wurden, um das Publikum nach dem bewährten Rezept: Nach der Notdurft, vor dem Essen, Händewaschen nicht vergessen! verfahren zu lehren. Zur praktischen Durchführung kam dieser Erlaß nicht, ein Erfolg wäre kaum zu erwarten gewesen, da auch andere im öffentlichen Verkehr von Hand zu Hand gehende Gegenstände hätten laufend desinfiziert werden müssen. Trotz der allgemeinen Ausbreitung der Krankheit wurde von Schulschließungen, vom Marktverbot, ja selbst vom Urlaubsverbot nach Saarbrücken abgesehen! Unter bestimmten Umständen sind diese Maßnahmen indessen kaum zu umgehen; in Saarbrücken könnte höchstens geltend gemacht werden, daß doch nichts mehr zu verhindern und zu verderben war.

Als die im Stadtteile Rußhütte ausgebrochene Zweigepidemie sich ihrem Höhepunkt näherte und keine der sonst üblichen Maßnahmen eine Begrenzung der Seuche erhoffen ließ, wurde ein Versuch mit der Ruhrschutzimpfung gemacht. Zur Schutzimpfung wurde der Ruhrheilstoff *Böhncke* verwendet. Da bis zum Sommer 1918 noch keinerlei endgültige Werturteile über die vorbeugende und heilende Wirkung des Impfstoffes vorlagen, konnte von einer zwangswweisen Ausübung der Impfung keine Rede sein. Es wurden vielmehr 2 Impftermine in der Woche festgesetzt, zu denen die Bevölkerung in den Tageszeitungen eingeladen wurde.

Im ganzen kamen 287 Personen des Stadtteiles Rußhütte zur Impfung, von denen der weitaus größere Teil Kinder unter 14 Jahren waren. Jede Person wurde einer zweimaligen, im Abstand von 7 Tagen vorgenommenen Impfung unterworfen. Eingespritzt wurden Erwachsenen das erstemal 1 ccm, das zweitemal 2 ccm Serum, Kindern je nach Alter, Kräfte- und Ernährungszustand 0,5—0,75 ccm das erste-, 1 bis

1,5 ccm das zweitemal. Eine schädliche Nebenwirkung wurde mit Ausnahme der gewöhnlichen Impfreaktion — Druckschmerz und leichte Schwellung an der Einstichstelle, geringe Kopfschmerzen — in keinem Falle beobachtet. Obwohl die Stadt dankenswerterweise die Kosten übernommen hatte, blieb der Zugang hinter den gehegten Erwartungen zurück. Immerhin läßt sich aus unserem Material ein gewisser Rückschluß auf die Wirkungen der vorbeugenden Impfung ziehen; die Heilimpfung wurde nicht vorgenommen. Die Impfung wurde im Laufe des Monats August ausgeführt. Aus äußeren Gründen wurde die Durchführung der Impfung etwas zu lange hingezögert, so daß die Seuche zur Zeit der Impfung schon ihren Höhepunkt erreicht hatte.

Es erkrankten in Rußhütte:

bis 15. August (einschließlich)	120 Pers.	(350 in der übrigen Stadt)
ab 15. August	48 „	(205 „ „ „ „

Von den 287 Geimpften überhaupt sind 41,4% an Ruhr erkrankt und 2 gestorben. Wir gelangen damit zu folgenden Zahlen. Von rund 1200 Einwohnern von Rußhütte sind 287 geimpft worden, so daß 900 Nichtgeimpfte übrigbleiben. Von diesen 900 sind nach dem 15. VIII. 44 Personen = 4,88%, von den Geimpften 287 aber 4 = 1,39% an Ruhr erkrankt. Ich möchte mich hüten, hieraus einen Nutzen der Impfung abzuleiten, da doch zu bedenken ist, daß diejenigen, die sich impfen ließen, zweifellos aus Familien stammten, in denen größerer Wert auf Gesundheit und Hygiene gelegt wird. Nur ein Vergleich zwischen Geimpften und Ungeimpften aus denselben Häusergruppen könnte beweisend sein für einen günstigen Einfluß der Impfung. Material dafür konnte infolge der damals nur ungenügend gemachten Aufzeichnungen nicht beschafft werden.

Die Erörterung der Bekämpfungsmaßnahmen der Ruhr zeigt, daß die meisten von ihnen nur bedingten Wert besitzen. Eine Ruhrbekämpfung, ähnlich wie die systematische Typhus- und Diphtheriebekämpfung ist kaum zu gestalten. Wenn das namentlich für Leichtkranke und Rekonvaleszenten zutrifft, so gilt es doch auch für die chronisch Kranken und Bacillenausscheider. Nur in geschlossenen Anstalten verspricht die Durchuntersuchung Erfolg; hier kann nach dem Kochschen Muster der Seuchenbekämpfung vorgegangen werden. Unter der frei lebenden Bevölkerung haben alle Maßnahmen, namentlich die gesetzlichen, in keiner Weise ausgereicht, um das Aufflammen der Ruhr auch nur einzudämmen, geschweige denn sie niederzukämpfen. Jedes *Schema* hat sich als *unzureichend* erwiesen, gehemmt wurde der Verlauf der Seuche nur dort, wo sie in eine *hygienisch einwandfreie* Umgebung einzudringen versuchte, dort gelang es wenigstens, sie auf einzelne Erkrankungsfälle zu beschränken. Daraus ergibt sich von

selbst der Weg, den die Behörden wählen müssen, um in der Bekämpfung der Ruhr zum Erfolge zu kommen. Außerdem bleibt bei epi- bis pandemischer Ausbreitung der Seuche nur eine Ergänzung der gesetzlichen Bestimmungen durch *Maßnahmen* der Organe der *gesundheitlichen Fürsorge* übrig. Fürsorgerinnen werden am ehesten imstande sein, durch systematische Besuche in den Häusern die Stellen herauszufinden, wo verborgen gebliebene Erkrankungen oder schlechte hygienische Zustände zur Weiterverbreitung der Krankheit beitragen. Gelingt die Ermittlung dieser Stellen, so lernt die bekämpfende Behörde die Angriffspunkte für ihre Maßnahmen kennen. Daß diese Ermittlungen Erfolg für die Ruhrbekämpfung haben, sehen wir in der heißen Jahreszeit fast täglich bei der praktischen Ausübung der Säuglingsfürsorge.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Professor Dr. *E. Gotschlich* in Gießen (früher in Saarbrücken) meinen besonderen Dank aussprechen für seine wertvollen Ratschläge zu der vorliegenden Arbeit.

Literaturverzeichnis.

- 1) *Adelheim, R.*, Zur Epidemiologie der Ruhr. Hyg. Rundschau 1919. — 2) *Boehncke*, Die Ruhrepidemie im Standort Metz im Sommer 1910. Dtsch. militärärztl. Zeitschr. 1911, Nr. 20. — 3) *Boehncke*, Beitrag zur Frage der Bedeutung der Ruhrdauer ausscheidung. Münch. med. Wochenschr. 1911, S. 1187. — 4) *Bornträger*, Die Ruhrepidemie im Regierungsbezirk Danzig 1895—1896. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 23. — 5) *Bornträger*, Ist die Ruhr zur Zeit in Preußen auszurotten? Zeitschr. f. Medizinalbeamte 1904, Nr. 18. — 6) *Brauer, L.*, Die Ruhr. Fischers med. Verlag, Berlin 1918. — 7) *Conradi*, Über eine Kontaktepидemie von Ruhr in der Umgebung von Metz. Aus d. Festschr. zum 60. Geburtstag von R. Koch, Jena 1903. G. Fischer. — 8) *Conradi*, Über den Zusammenhang von Endemien und Kriegsseuchen in Lothringen. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 24. — 9) *Flusser*, Die Ruhr der Kinder in Russisch-Polen. Med. Klinik 1916, Nr. 13. — 10) *Fürst, Th.*, Bakteriologische Kontrolle bei der Bekämpfung der Ruhr. Münch. med. Wochenschr. 1917. — 11) *Giggberger*, Einiges über die in der Bezirksirrenanstalt bei Saargemünd bestehende Dysenterie. Verlag von Völker, Saargemünd 1899. — 12) *Hagemann*, Die Ruhr in Städtel-Leubus und allgemeine Betrachtungen über die Pseudodysenterie der Irren. Klin. Jahrb. 1911. — 13) *Hänisch*, Über Ruhr in Irrenanstalten. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 60. 1908. — 14) *Hirsch*, Handbuch der historisch-geographischen Pathologie. Erlangen 1864. — 15) *Hamburger, R.*, Untersuchungen über Ruhr. Berl. klin. Wochenschr. 1917. — 16) *Krontowski*, Zur Frage über Typhus- und Dysenterieverbreitung durch Fliegen. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., 68. 1913. — 17) *Kruse*, Über die Ruhr als Volkskrankheit und ihren Erreger. Dtsch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 40. — 18) *Kruse*, Die Ruhrgefahr in Deutschland, insbesondere im rhein.-westfäl. Industriebezirk. Zentralbl. f. allg. Gesundheitspflege 19, Heft 5 u. 6. — 19) *Kruse*, Über die Verbreitung der Ruhr durch sog. Dauerausscheider und Bacillenträger. Klin. Jahrb. 19. 1908. — 20) *Kruse*, Zusammenfassender Bericht über Ruhrforschungen. Veröff. a. d. Geb. d. Med.-Verw. 1. 1912. — 21) *Küster*, Ein Dysenteriebacillenträger. Münch. med. Wochenschr. 1908. — 22) *Kuhn, Gilde-meister und Woithe*, Über bakteriologische Beobachtungen bei Irrenruhr. Arb.

a. d. Kais. Gesundheitsamt **31**, Heft 72. — ²³⁾ *Lentz*, Über die im Sommer 1905 in St. Johann-Saarbrücken beobachtete Ruhrepidemie. *Klin. Jahrb.* **17**. 1907. — ²⁴⁾ *Lentz*, Dysenterie. *Kolle-Wassermann, Handbuch.* **2**. Erg.-Bd. — ²⁵⁾ *Lentz*, Über Dysenterie als Kriegsseuche. *Zeitschr. f. ärztl. Fortbild.* 1904. — ²⁶⁾ *Mayer*, Über die Verbreitung der Y-Dysenteriebacillen. *Münch. med. Wochenschr.* 1914, Nr. 35. — ²⁷⁾ *Lange*, *Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Beil. z. Abt. I,* **54**. 1912 (Ref.). — ²⁸⁾ *Rimpau*, Bacilläre Ruhr bei der systematischen Typhusbekämpfung aus der Denkschrift über die Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches. — ²⁹⁾ Sanitätsbericht über die deutschen Heere im Kriege gegen Frankreich 1870/71. 6. Bd. 4. Abt. — ³⁰⁾ *Schopohl*, Über Typhus und Ruhr in Irrenanstalten. Veröff. a. d. Geb. d. Med. Verw. **2**. 1913. — ³¹⁾ *Seligmann*, Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege. *Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig.,* **79**, Heft 2. — ³²⁾ *Simon*, Über Nachuntersuchung bei ehemaligen Ruhrkranken und Ruhrbacillenträgern. *Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig.,* **56**. — ³³⁾ *Simon*, Die Ruhr im Elsaß. *SträBburger med. Ztg.* 1911. — ³⁴⁾ *Uhlenhuth*, In Verhandlungen des Reichsgesundheitsrates 1917.

(Aus dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie Frankfurt a. M.
[Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. Kolle].)

Versuche zur kulturellen Differenzierung der säurefesten Bakterien.

Von

H. Schlossberger und R. Prigge.

Bereits in früheren Arbeiten (*Schlossberger* und *Pfannenstiel*) wurde darauf hingewiesen, daß zwischen den verschiedenen Angehörigen der säurefesten Bakteriengruppe in kultureller und serologischer Hinsicht keine scharfen Unterschiede vorhanden sind, daß vielmehr zwischen den saprophytischen und tierpathogenen Stämmen Übergänge bestehen, die eine exakte Differenzierung mittels der in der bakteriologischen Technik sonst üblichen Methoden wesentlich erschweren. Wir haben diese Untersuchungen, soweit sie das kulturelle Verhalten dieser Bakteriengruppe betreffen, weiter fortgesetzt und vor allem versucht, durch gewisse Zusätze zum glycerinhaltigen Nähragar zu Differentialnährböden zu gelangen, die eine Abgrenzung der verschiedenen Unterarten der säurefesten Bakteriengruppe ermöglichen sollten. Wenn auch diese Versuche, wie gleich vorweggenommen sei, nicht zu dem gewünschten Ziel geführt haben, so ergeben sich aus den Resultaten derselben doch einige für die Biologie dieser Bakteriengruppe interessante Einzelheiten, über welche im folgenden berichtet werden soll.

Zu unseren Untersuchungen benützten wir ausschließlich einen 4proz. Glycerinagar von dem konstante Mengen (9,5 ccm) in verflüssigtem Zustand mit fallenden Verdünnungen (Vol. 0,5 ccm) verschiedener chemischer Substanzen versetzt wurden. Die Röhren wurden dann, evtl. nach vorausgegangener nochmaliger Sterilisierung, schräg gelegt und hierauf beimpft. Zum Vergleich dienten Kontrollröhren mit gewöhnlichem 4proz. Glycerinagar. Als Zusätze wurden folgende Chemikalien in den beistehend aufgeführten Endkonzentrationen geprüft:

Rohrzucker	1 : 2 bis 1 : 10
Kochsalz	1 : 20 bis 1 : 1000
Sublimat	1 : 1000 bis 1 : 1 000 000
Kollargol	1 : 200 bis 1 : 1 000 000
Kalium sulfogvajacolicum	1 : 1000 bis 1 : 1 000 000
Gentianaviolett	1 : 1000 bis 1 : 30 000
Eosin	1 : 1000 bis 1 : 300 000
Kupfersilicatlösung III	1 : 20 bis 1 : 20 000
Krysolgan	1 : 2000 bis 1 : 100 000
Natriumgynocardat	1 : 2000 bis 1 : 1 000 000
Hypophysin	1 : 200 bis 1 : 10 000

Bei der Auswahl dieser dem Nährboden zuzusetzenden Chemikalien gingen wir, wie gesagt, von der Annahme aus, daß es auf Grund einer wesentlich verschiedenen Empfindlichkeit der echten Tuberkelbacillen gegenüber chemischen Stoffen im Vergleich mit den saprophytischen Stämmen vielleicht möglich sei, eine kulturelle Differenzierung der verschiedenen Vertreter der säurefesten Gruppe und eine Einreihung der verschiedenen Stämme in gewisse Untergruppen durchzuführen. Die beiden Farbstoffe wurden vor allem in Anbetracht der guten Ergebnisse, die *Petroff* (s. auch *Keilty*) mit einem gentianaviolett haltigen Nährboden bei der Isolierung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen (Sputum, Faeces) erzielte, ausgewählt. Kupfersilicatlösung III, eine Mischung von Kupfersilicat mit Enzytol (*Borcholin*, s. *Mehler* und *Ascher*) und Jodmethylenblau [*Gräfin Linden*¹⁾], Krysolgan (4-amino-2-aurothiophenolcarbonsaures Natrium, *Feldt*) sowie das aus dem Chaulmugraöl gewonnene Natriumgynocardat (s. *Walker* und *Sweeney Linden*berg und *Pestana*, *Culpepper* und *Ableson*) wurden wegen ihrer starken Wirksamkeit gegenüber Tuberkelbacillen in vitro, Kalium sulfogvajacolicum wegen seiner angeblichen Heilwirkung bei Tuberkulose zu den Versuchen herangezogen. Da nach *Galtiers* Untersuchungen tuberkulöses Material selbst durch mehrere Tage langes Einsalzen seine Pathogenität nicht verliert, und da nach Untersuchungen anderer Autoren besonders saprophytische Bakterien zum Teil noch bei recht hohen Kochsalzkonzentrationen gedeihen (*Lafar*, *Lachner-Sandoval*, *van Ermenghem*, *Stadler*, *Peterson*, *Le Dantec*, *Coupin*), war die Feststellung von Interesse, ob die verschiedenen säurefesten Bakterienstämme durch Kochsalz in verschiedener Weise in ihrem Wachstum beeinflußt werden, vor allem aber, ob vielleicht unter der Wirkung des Kochsalzes sog. „teratologische Wuchsformen“ auftreten, wie sie bei anderen Bakterienarten, besonders bei den Pestbacillen, beschrieben wurden (*Hankin* und *Leumann*, *Maassen* u. a.). Dieselben Erwägungen waren auch bei unseren Versuchen, durch Rohrzuckerzusatz eine Abgrenzung der säurefesten Arten zu erzielen, maßgebend (vgl. insbesondere *Bezssonof*). Sublimat und Kollargol wur-

¹⁾ 1 ccm Kupfersilicatlösung III enthält 6,4 mg Kupfer.

Übersicht über die Züchtungsversuche mit säurefesten Bakterien auf chemikalienhaltigem Glycerinagar*).

Nr.	Bezeichnung des Stammes	Bohr- zucker	Gentiana- violett	Eosin	Natrium- gynocardat	Chlor- natrium	Krysolgan	Sublimat	Kupfersilicat- lösung III (Gräfin Linden)	Kollargol	Hypo- physin	Kal. sulfo- guajacolicum
S ₁	Rabinowitsch I . . .	5	1 000	1 000	2 000	20	2 000	1 000	20	200	200	1 000
S ₃	Korn II	3,3	3 000	1 000	2 000	20	2 000	1 000	20	200	200	1 000
S ₄	Thimothee	3,3	3 000	1 000	2 000	20	2 000	1 000	20	200	200	1 000
S ₁₃	Gras II	3,3	10 000	1 000	2 000	100	2 000	100 000	20	200	200	1 000
S ₁₅	Thimothee	5	10 000	1 000	2 000	100	2 000	100 000	20	200	200	1 000
Tb ₇	Typ. humanus . . .	10	30 000	—	1 000 000	1000	> 100 000	100 000	20 000	200 000	—	10 000
Tb ₁₀	Friedmann	5	3 000	1 000	2 000	100	2 000	100 000	20	20 000	200	1 000
Tb ₁₂	Typ. Arloing	2,5	3 000	—	—	100	10 000	> 1 000 000	200	1 000 000	200	—
Tb ₁₃	Typ. gallinaceus . .	10	10 000	—	—	—	—	100 000	20	20 000	200	1 000
Tb ₁₅	Piorowski	10	3 000	100 000	1 000	100	2 000	100 000	20	20 000	200	1 000
Tb ₁₆	Typ. humanus . . .	> 10	30 000	300 000	100 000	1000	100 000	100 000	20 000	1 000 000	—	10 000
Tb ₁₈	Froschbc.	3,3	10 000	1 000	2 000	100	2 000	100 000	—	—	200	1 000
Tb ₃₀	Typ. bovinus	—	—	100 000	> 1 000 000	1000	> 100 000	100 000	200	200 000	200	1 000
S ₁₀	Passagestämme { v. S ₁ , S ₃ , Tb ₁₀ }	5	30 000	—	1 000 000	1000	100 000	100 000	200	1 000 000	200	1 000
S _{3a}		—	10 000	—	1 000 000	1000	100 000	100 000	200	1 000 000	200	1 000
Tb _{10g}		10	30 000	—	1 000 000	100 000	500	50 000	2 000	200 000	200	10 000

*) Die in den Rubriken aufgeführten Zahlen stellen die reziproken Werte derjenigen Grenzkonzentrationen dar, bei welchen eben noch ein gutes Bakterienwachstum stattfindet.

den wegen ihrer starken bactericiden Wirksamkeit, Hypophysin endlich als Vertreter der sog. Organpräparate auf ihre Brauchbarkeit geprüft.

Wie aus der nebenstehenden Tabelle hervorgeht, benützten wir zu unseren Untersuchungen neben einigen echten Tuberkelbacillenstämmen des Typus humanus (Tb₇, Tb₁₆), bovinus (Tb₃₀) und gallinaceus (Tb₁₃) auch Kaltblütertuberkelbacillen (Tb₁₈) sowie eine Anzahl verschiedener aus Gras (S₄, S₁₃, S₁₅) und Butter (S₁, S₃) kultivierter saprophytischer Stämme, ferner eine Anzahl säurefester Kulturen, deren Stellung im System bis jetzt noch fraglich ist (Tb₁₀: Stamm *Friedmann*, Tb₁₅: Stamm *Piorkowski*, Tb₁₂: Stamm *Arloing*), und endlich einige der von *Kolle*, *Schlossberger* und *Pfannenstiel* gezüchteten tierpathogenen Passagekulturen säurefester Saprophyten (S_{1d}, S_{1a}, Tb_{10g}).

Aus einer vergleichenden Betrachtung der Tabelle ergibt sich nun, daß in der Tat zwischen den beiden Extremen, den echten Tuberkelbacillen des Typus humanus, bovinus und gallinaceus einerseits und den saprophytischen Stämmen andererseits, *zum Teil recht erhebliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber den Zusätzen zum Glycerinagar bestehen*. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß die *echten virulenten Tuberkelbacillen* noch durch verhältnismäßig *schwache Konzentrationen* der Substanzen in ihrer Entwicklung gehemmt werden, während die saprophytischen Kulturen chemischen Einflüssen gegenüber wesentlich *widerstandsfähiger* sind. Bemerkenswert ist jedoch, daß die *beiden saprophytischen Stämme* S₁₃ und S₁₅ bei Züchtung auf Sublimat- und Gentianaviolettagar hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit eine *Mittelstellung* zwischen den echten Tuberkelbacillen und den übrigen saprophytischen Kulturen einnehmen. Gegenüber Kalium sulfogujacolicum zeigten *nur die humanen Tuberkelbacillen im Vergleich mit den übrigen geprüften Stämmen eine etwa um das zehnfache größere Empfindlichkeit*; die *Rinder- und Hühnertuberkelbacillen verhielten sich dagegen hier ebenso wie die saprophytischen Stämme*. Bei der mit Hypophysin angestellten Versuchsreihe waren Unterschiede zwischen den verschiedenen geprüften Bakterienstämmen überhaupt nicht erkennbar.

Am meisten interessiert naturgemäß das Verhalten bestimmter Typen, z. B. des nurwenig pathogenen sog. homogenen Tuberkelbacillenstammes *Arloing* sowie des Froschtuberkelbacillus Tb₁₈ und der sog. Schildkrötentuberkelbacillenstämmen von *Friedmann* (Tb₁₀) und *Piorkowski* (Tb₁₅). Diese verhielten sich auf den mit Eosin, Natriumgynocardat und Kochsalz versetzten Nährböden ebenso wie saprophytische Stämme, dagegen zeigten sie bei Züchtung auf Kollargol- und Sublimatagar ein den echten Warmblütertuberkelbacillenstämmen ähnliches Verhalten. Bemerkenswert ist, daß speziell auf dem Sublimatagar der schwach pathogene *Arloingsche* Stamm, der ein diffuses Wachstum in flüssigen und ein den saprophytischen Stämmen ähnliches auf festen Nährböden

aufweist, eine stärkere Empfindlichkeit, als die echten Tuberkelbacillen erkennen ließen.

Was ferner die meerschweinchenpathogenen *Passagekulturen* saprophytischer Bakterien S_{1d} , S_{3a} und auch Tb_{10g} anlangt, so verhalten sich diese gegenüber dem Natriumgynocardat, Kochsalz, Krysolgan und Sublimat etwa ebenso wie die echten Säugetiertuberkelbacillenstämmen. Ein deutlich *abweichendes Verhalten* konnte indessen nach Verimpfen der Stämme auf die mit *Kupfersilicatlösung III* versetzten Nährböden beobachtet werden; hier erwiesen sich *die Passagekulturen im Vergleich mit den echten Tuberkelbacillen als wesentlich widerstandsfähiger* und gegenüber *den saprophytischen Ausgangsstämmen nur als wenig empfindlicher*. Auf dem Kollargolagar war zwischen dem *Friedmannschen* Schildkrötentuberkelbacillus Tb_{10} und der durch mehrfache Meerschweinchenpassage dieses Stammes erhaltenen tierpathogenen Kultur Tb_{10g} kein Unterschied hinsichtlich der Wachstumsgrenzen festzustellen.

Im allgemeinen, wenn auch nicht ausnahmslos, besteht bei den Bakterienstämmen der säurefesten Gruppe auf Grund unserer Versuchsergebnisse demnach *ein gewisser Zusammenhang zwischen Tierpathogenität und Empfindlichkeit gegenüber chemischen Einflüssen*. Diese Feststellung steht in gewissem Zusammenhang mit den Befunden *Shigas*, der bei echten Tuberkelbacillen, welche er in langdauernden Passagerreihen auf mit Farbstoffen und sonstigen Chemikalien versetzten Nährböden fortzüchtete und so an erhebliche Konzentrationen dieser Substanzen allmählich gewöhnen konnte, eine starke Abnahme der Meerschweinchenpathogenität feststellte. Auch *Urizio* konnte nachweisen, daß stark tierpathogene Tuberkelbacillenstämmen gegenüber Kupfer- und Nickelsalzen viel labiler sind als solche Tuberkelbacillenkulturen, die nur geringe krankmachende Eigenschaften für Meerschweinchen aufweisen. Entsprechend dem sonstigen, durch eine außerordentliche Variabilität charakterisierten biologischen Verhalten der zur säurefesten Gruppe gehörigen Bakterienstämme bestehen aber, wie unsere Versuche zeigen, auch hinsichtlich der Empfindlichkeit der verschiedenen Stämme gegenüber Chemikalien keine derartigen Unterschiede, daß auf Grund dieses Verhaltens etwa eine Abgrenzung scharf umschriebener Untergruppen möglich wäre. Vielmehr weisen auch die bei der vorstehend geschilderten Untersuchungsmethode deutlich in Erscheinung tretenden Typen, welche eine Mittelstellung zwischen den beiden Extremen einnehmen, und zu denen neben der *Arloingschen* Kultur und einigen Kaltblütertuberkelbacillenstämmen offenbar auch die *Passagestämme* von *Kolle*, *Schlossberger* und *Pfannenstiel* gehören, auf die *nahen verwandtschaftlichen Beziehungen* hin, welche zwischen den saprophytischen und tierpathogenen Angehörigen dieser Bakteriengruppe bestehen.

Sog. *teratologische Wuchsformen*, sei es hinsichtlich der Koloniebildung oder bezüglich des Aussehens der einzelnen Bakterienzelle, konnten weder bei den *saprophytischen* noch bei den *tierpathogenen Stämmen*, darunter auch den echten Tuberkelbacillen, beim Wachstum auf dem mit Chemikalien versetzten Glycerinagar beobachtet werden. Zu erwähnen wäre nur noch, daß auf dem *gentianaviolett*haltigen Agar sämtliche geprüften Stämme bei gutem Wachstum eine mehr oder weniger starke Reduktion des Farbstoffes, die bei den geringeren Konzentrationen zu einer vollständigen Entfärbung des Nährbodens führte, bewirkten.

Zusammenfassung.

1. Die echten Warmblütertuberkelbacillen sind gegenüber chemischen Einflüssen wesentlich empfindlicher als die *saprophytischen säurefesten Stämme*. Während die *saprophytischen Stämme* noch auf Nährböden üppig gedeihen, denen verhältnismäßig erhebliche Mengen gewisser chemischer Stoffe zugesetzt sind, findet ein Tuberkelbacillengewachstum nur bei wesentlich geringeren Konzentrationen der betreffenden Substanzen statt. Im allgemeinen geht die Empfindlichkeit gegenüber Chemikalien mit der Tierpathogenität parallel.

2. Eine scharfe Abgrenzung zwischen echten Tuberkelbacillen und *saprophytischen Stämmen* ist jedoch auf diese Weise nicht immer möglich, da zahlreiche säurefeste Stämme, die auf Grund ihrer sonstigen biologischen Eigenschaften als Typen, die in der Mitte stehen, zu betrachten sind, auch hinsichtlich ihres Wachstums auf derart präparierten Nährböden eine Mittelstellung zwischen den beiden Extremen einnehmen.

3. Sog. *teratologische Wuchsformen*, wie sie bei anderen Bakterienarten beschrieben wurden, konnten bei der Züchtung säurefester Bakterien auf Kochsalz- usw. -agar nicht beobachtet werden.

4. Die Untersuchungen weisen in Übereinstimmung mit früher mitgeteilten Versuchsergebnissen auf die nahen verwandtschaftlichen Beziehungen hin, die zwischen den *saprophytischen* und *tierpathogenen* Vertretern der säurefesten Bakteriengruppe bestehen.

Literaturverzeichnis.

Bezsonoff, N., Über die Züchtung von Pilzen auf hochkonzentrierten rohrzuckerhaltigen Nährböden und über die Chondriomfrage. Ber. dtsch. bot. Ges. **37**, 136. 1919; Erscheinungen beim Wachstum von Mikroorganismen auf rohrzuckerhaltigen Nährböden und die Chondriomfrage. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. II, **50**, 444. 1920. — *Coupin, H.*, Sur la résistance à la salure des bactéries marines. Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **140**, 443. 1915; De l'action morphogénique de la sursalure sur les bactéries marines. Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **140**, 608. 1915. — *Culpepper, W. L.* und *M. Ableson*, Chaulmoogra oil in the treatment of tuberculosis. Journ. of laborat. a. clin. med. **6**, 415.

1921. — *Le Dantec, A.*, Le microbe de rouge de morue. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **61**, 136. 1906. — *van Ermenghem, E.*, Über einen anaeroben Bacillus. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **26**, 44. 1897. — *Feldt, A.*, „Krysolgan“, ein neues Goldpräparat gegen Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 46, S. 1111. — *Galtier*, Dangers des matières tuberculeuses qui ont subi le chauffage, la dessiccation, le contact de l'eau de salaison, la congélation, la putréfaction. Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **105**, 231. 1887. — *Hankin, E. H.* und *B. H. F. Leumann*, A method for rapidly identifying the microbe of bubonic plague. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig., **22**, 438. 1897. — *Keilty, R. A.*, A study of the cultivation of the tubercle bacillus directly from the sputum by the method of Petroff. Journ. of exp. med. **22**, 612. 1915. — *Kolle, W.*, *Schlossberger, H.* und *W. Pfannenstiel*, Über das Verhalten säurefester sogenannter saprophytischer Bakterien nach längerem Verweilen im Warmblüterorganismus. Arb. a. d. Inst. f. exp. Therap. Frankfurt a. M. 1921, Nr. 12, S. 29; Über die Tierpathogenität der Gruppe der säurefesten Bakterien; Tierpassagen, Virulenzsteigerung und kulturelles Verhalten. Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 16, S. 437. — *Lachner-Sandoral, V.*, Über Strahlenpilze. Inaug.-Diss. Straßburg 1898. — *Lafar, F.*, Bakteriologische Studien über Butter. Arch. f. Hyg. **13**, 1. 1891. — *Linden, von*, Die entwicklungshemmende Wirkung von Kupfersalzen auf krankheitserregende Bakterien. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig., **85**, 136. 1920. — *Lindenberg, A.* und *B. R. Pestana*, Chemotherapeutische Versuche mit Fetten an Kulturen säurefester Bacillen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig., **32**, 66. 1921. — *Mehler, H.* und *L. Ascher*, Beitrag zur Chemotherapie der Tuberkulose. Versuche mit Borcholin (Enzytol). Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 14, S. 748. — *Maassen, A.*, Die teratologischen Wuchsformen (Involutionen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **21**, 385. 1904. — *Petroff, S. A.*, A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. Journ. of exp. Med. **21**, 38. 1915. — *Peterson, A.*, Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fisch und Fleisch mit Salzen. Arch. f. Hyg. **31**, 171. 1900. — *Pfannenstiel, W.*, Vergleichende Untersuchungen über die Extrahierbarkeit verschiedener säurefester Bakterien mit Äther-Acetongemischen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **95**, 87. 1922. — *Schlossberger, H.*, Vergleichende Untersuchungen über die Resistenz der Tuberkelbacillen und verwandter Bakterien gegenüber entfärbenden chemischen Einflüssen. Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. **50**, 144. 1922; Giorn. di clin. med. **3**, 121. 1922. — *Schlossberger, H.* und *W. Pfannenstiel*, Über die Differenzierung säurefester Bakterien. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 44, S. 1213; Über Versuche zur Differenzierung der sogenannten säurefesten Bakterien mittels Komplementbindung. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **95**, 77. 1922. — *Shiga, K.*, Prüfung des Tuberkelbacillus auf Festigkeit gegen Farbstoffe und chemische Mittel. Saikingaku Zasshi 1915, Nr. 250, S. 843. 1915. — *Stadler, E.*, Über die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, die bei den sog. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. Arch. f. Hyg. **35**, 40. 1899. — *Urizio, L.*, Ricerche di chemioterapia della tubercolosi sperimentale. Congresso della Società italiana del progresso delle scienze. Trieste 1921. — *Walker, E. L.* und *M. A. Sweeney*, The chemotherapeutics of the chaulmoogric acid series and other fatty acids in leprosy and tuberculosis I. Journ. of infect. dis. **26**, 238. 1920.

(Aus dem Institut „Robert Koch“ [Abteilungsleiter: Dr. *Schiemann*].)

Untersuchungen zur Pneumokokkenimmunität.

V. Mitteilung.

Beitrag zur Frage der Wertbestimmung von Pneumo- und Streptokokkenserum.

Von

Prof. Dr. **M. Yoshioka.**

Im folgenden sollen einige Versuchsreihen mitgeteilt werden, worin die Schutzwirkung von Pneumo- und Streptokokkenserum an Mäusen in verschiedener Weise geprüft wurde. Die Versuche hatten einmal das unmittelbare praktische Ziel, festzustellen, inwieweit die bisher gebräuchlichen Methoden zur Wertbestimmung für die Praxis genügend regelmäßige und zuverlässige Ergebnisse liefern. Ferner erschien es aber erwünscht, weiteren Aufschluß über die quantitativen Beziehungen zu erhalten, die zwischen den Infektionsdosen und den zu ihrer Neutralisation erforderlichen Serumdosen bei verschiedenen Arten der Applikation bestehen. Obwohl meine Versuche in beiderlei Hinsicht noch mancher Ergänzung bedürfen, glaube ich doch, daß sie bereits zu einigen vorläufigen Schlußfolgerungen berechtigen.

I. Vergleichende Prüfung mehrerer Pneumokokkenserum nach der Methode von Neufeld-Haendel und der des Rockefellerinstituts.

Im folgenden habe ich an vier verschiedenen Serum die beiden gebräuchlichsten Methoden verglichen. Die erste ist von *Neufeld* und *Haendel*, die zweite von *Cole* und seinen Mitarbeitern im Rockefeller-Institut erprobt worden. Bei der ersten Methode erhalten Mäuse (von 15–20 g) zuerst intraperitoneal abgestufte Serummengen, dann 3 Stunden danach ebenfalls i.p. eine gleichbleibende mittelgroße Dosis hochvirulenter Kultur. *Neufeld* und *Haendel* empfehlen dabei nur die Todesfälle zu zählen, die innerhalb 48 Stunden erfolgen; wo es sich, wie hier, um wissenschaftliche Untersuchungen handelt, ist natürlich eine längere Beobachtung, mindestens bis zu 14 Tagen, notwendig. Bei der amerikanischen Methode wird eine gleichbleibende Serumdosis, nämlich 0,2 ccm mit abgestuften Mengen Bouillonkultur (0,01, 0,1, 0,2, 0,3 und

evtl. noch höher) gemischt in die Bauchhöhle von Mäusen gespritzt. Gute, zu Heilversuchen am Menschen geeignete Sera sollen in der Regel gegen 0,1—0,2 schützen. Dabei werden die nach dem 5. Tage erfolgenden Todesfälle nicht mitgerechnet.

Beide Methoden erfordern, da die Virulenz der Kulturen Schwankungen unterliegt, die aus dem Verhalten der Kontrollmäuse ohne Serum nicht zu erkennen sind, für alle genauen Bestimmungen die gleichzeitige Anwendung eines Standardserums. Sie liefern also genau genommen, wie übrigens auch andere Serumprüfungen immer nur Vergleichs-, keine absoluten Werte.

Zu diesen und allen folgenden Versuchen benutzte ich den hochvirulenten Pneumokokkus I Wachholz, der in 20stündiger Serumbouillonkultur bis mindestens 0,0000001 herab, meist auch noch in kleinerer Dosis, Mäuse in 48 Stunden, bei etwas größeren Dosen in 24 Stunden tötete.

Die vier geprüften Sera waren: ein in Amerika hergestelltes hochwertiges Heilserum (Pferdeserum), 2 Serumproben von Pferden, die in den Höchster Farbwerken mit dem Pneumokokkus Wachholz immunisiert waren, sowie das Serum eines von mir mit demselben Stamm, und zwar ausschließlich mit abgetöteter Kultur immunisierten Kaninchens [s. die vorige Mitteilung¹].

Die erste Tabelle umfaßt einen Versuch an 40 Mäusen, die alle am gleichen Tage aus demselben Kulturröhrchen infiziert wurden. Dabei erhielten je 2 Mäuse die gleichen Mengen von Kultur und Serum. Auch in Tabelle 2 sind 40 Mäuse, je 2 mit gleichen Dosen, gleichzeitig gespritzt worden. Die Tabelle enthält aber außerdem noch das Ergebnis eines zweiten, etwas später angestellten Versuches, worin nur die beiden zuerst angeführten Sera nochmals an je 9 Mäusen geprüft wurden.

Tabelle I.

Prüfung an 4 Pneumokokkenserum (Typ I. Sera) mit Stamm Wachholz. Je 2 Mäuse (von 15—20 g Gewicht) erhalten i.p. zuerst Serum, 3 Stunden später die Kultur, beides stets in 0,2 Flüssigkeit.

Serum ccm	Kultur ccm	1		2		3		4	
		Amerik. Serum 202 b		Höchster Serum 75		Höchster Serum 2470		Kaninchen- serum 27	
0,001	0,0001	0	0	† ₄	0	† ₄	0	† ₇	0
0,0003	0,0001	† ₁	† ₁	† ₂	† ₂	† ₁	† ₂	0	0
0,0001	0,0001	† ₁	† ₂	† ₁	† ₂	† ₁	† ₁	† ₂	† ₉
0,00003	0,0001	† ₁	† ₁	† ₁	† ₂	† ₁	† ₂	† ₂	† ₂
0,00001	0,0001	† ₁	† ₂	† ₁	† ₂	† ₁	† ₁	† ₂	† ₂

†₄ = tot am 4. Tage, 0 = überlebt.

¹) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 97, 408.

Tabelle II.

Dieselben 4 Sera werden in vitro mit je 0,01—0,4 Kultur Wachholz gemischt und sogleich i.p. eingespritzt.

Die Tabelle umfaßt 2 Versuche, einen von 40, den zweiten von 18 Tieren.

Serum ccm	Kultur ccm	1		2		3	4		
		Amerik. Serum 202 b		Höchster Serum 75		Höchster Serum 2470	Kaninchenserum 27		
0,2	0,4	† ₁	† ₂	.	† ₅	† ₂	.	† ₁ 0	† ₇ 0
0,2	0,3	† ₈ 0	† ₂ 0 0	0 0	† ₅ 0	† ₃ 0 0	† ₂ 0	† ₂ 0	† ₅ 0
0,2	0,2	† ₉ 0	† ₂ 0 0	0 0	0 0	0 0 0	† ₂ 0	0 0	0 0
0,2	0,1	0 0	† ₂ † ₃ 0	0 0	0 0	† ₂ 0 0	0 0	0 0	0 0
0,2	0,01	0 0	.	† ₁₀ 0	.	.	0 0	0 0	0 0

Übersichtstabelle zu den Tabellen I und II.

		Serum 1	Serum 2	Serum 3	Serum 4
Aus Tabelle I überleben:	länger als 1 Tag. . .	10 : 4	10 : 7	10 : 4	10 : 10
	„ „ 2 Tage . . .	10 : 2	10 : 2	10 : 2	10 : 5
	„ „ 5 „ . . .	10 : 2	10 : 1	10 : 1	10 : 5
	dauernd.	10 : 2	10 : 1	10 : 1	10 : 3
Aus Tabelle II überleben:	länger als 1 Tag. . .	19 : 18	19 : 19	10 : 9	10 : 10
	„ „ 2 Tage . . .	19 : 14	19 : 17	10 : 7	10 : 10
	„ „ 5 „ . . .	19 : 13	19 : 14	10 : 7	10 : 9
	dauernd.	19 : 11	19 : 13	10 : 7	10 : 8

Bei dem Versuch der Tabelle I sind die Serumdosen nicht zweckmäßig abgestuft worden; drei von den vier Sera schützten nämlich überhaupt nur in der größten Dosis. Wären statt der kleineren Serummengen nur die Dosen etwa zwischen 0,001 und 0,0002 oder höchstens bis 0,0001 herab genauer abgestuft worden (mindestens 0,001—0,0005, 0,00025, 0,0001) so hätte sich vermutlich ein genaueres Bild ergeben.

Die Versuchsanordnung in Tabelle II war hierin günstiger. Auch gegen die größte Kulturdosis haben drei von den vier Sera entweder ein Tier geschützt oder doch eine sehr erhebliche Verzögerung des Todes bewirkt, und andererseits ist auch mit der kleinsten Kulturdosis noch eine Maus, wenn auch verzögert, gestorben.

Rechnet man in Tabelle I zunächst nach *Neufeld* und *Haendel* nur die innerhalb 48 Stunden erfolgten Todesfälle als solche, so sind von je 10 Mäusen durch das Serum Nr. 4 (Kaninchenserum) 5, durch jedes der 3 Pferdesera dagegen nur 2 Mäuse gerettet worden: Also sind diese 3 Sera als gleichwertig, das Kaninchenserum als das weitaus beste anzusehen. Dasselbe ergibt sich aus Tabelle II, wenn man nach der Vorschrift die Beobachtung am Ende des 5. Tages abschließt: Dann haben das Kaninchenserum 90%, die 3 Pferdesera je etwa 70% der Tiere gerettet. Berücksichtigt man nur den ersten Versuch (mit je 10 Mäusen) so erscheint Serum 1 mit 8 geretteten Tieren besser als Serum 2 mit 7 überlebenden;

rechnet man den zweiten Versuch mit, so hat umgekehrt das Serum 2 etwas über, Serum 1 etwas unter 70% gerettet (von 90 Tieren 14, bzw. 13; 13,3 wäre = 70%). Diesen zweiten ergänzenden Versuch hatten wir in der Erwartung angestellt, durch Injektion einer größeren Zahl von Mäusen mit Dosen, die, wie wir aus den ersten Versuch wußten, gerade an der Grenze des Ertragenen standen, nunmehr einen deutlichen Ausschlag zugunsten des einen oder anderen Serums zu erhalten. Diese Erwartung wurde aber enttäuscht.

Nun haben wir für diese Prüfung absichtlich neben dem Kaninchenserum 3 Sera gewählt, die uns als recht hochwertig bekannt waren, und von denen wir nach einigen früheren Versuchen annahmen, daß sie *annähernd* gleich stark seien. Berücksichtigt man außerdem noch die über beide Methoden bereits vorliegenden Mitteilungen, so darf man wohl sagen, daß beide für die Praxis insoweit genügen, als sie gestatten, minderwertige Sera bei Heilversuchen am Menschen auszuschließen.

Die Versuche lassen aber auch deutlich erkennen, daß beide Methoden durchaus nicht regelmäßige Reihen ergeben. Es starben vielmehr, besonders auch bei der amerikanischen Methode, häufig Tiere außer der Reihe, und auch die Verzögerung des Todes erfolgte ziemlich unregelmäßig. Es erscheint daher in jedem Fall erforderlich, die Reihen mehrfach anzusetzen.

Ich habe nun weiterhin versucht, ob sich durch Berücksichtigung der Verzögerungen bei *allen* Todesfällen noch feinere Unterschiede zwischen den einzelnen Sera erkennen lassen. Dazu sind in einer Übersichtstabelle die Ergebnisse noch in der Weise zusammengefaßt, wie sie sich gestalten, wenn man die Beobachtung schon nach 24 Stunden (beim Tod der Kontrolltiere) abschließen würde, andererseits nach 2 Tagen, nach 5 Tagen und schließlich am Ende unserer Beobachtungszeit (3 Wochen). Es ist natürlich willkürlich, bei der einen Methode gerade den 2., bei der anderen den 5. Tag als Abschluß zu wählen; den Ausschlag dabei gibt nur der praktische Gesichtspunkt, an welchem Termin man die regelmäßigsten Ergebnisse erhält. Hierüber lassen die obigen Versuche kein sicheres Urteil zu; sie sprechen allerdings ebenso wie frühere Erfahrungen in dem Sinne, daß gerade die verspäteten Todesfälle besonders vom Zufall abhängig sind. Es ergibt sich, daß bei jeder Art der Berechnung das Kaninchenserum als das beste erscheint, während von den drei anderen Sera je nach Wahl des „Stichtages“ bald das eine, bald das andere am wirksamsten zu sein scheint. Vergleicht man alle in den Übersichtstabellen enthaltenen Werte für die beiden ersten, am genauesten untersuchten Sera, so wird man wohl geneigt sein, das zweite für stärker zu halten.

Wir möchten aus unseren Versuchen keineswegs schließen, daß die beiden geprüften Methoden gleichwertig sind. Obwohl, wie schon hervor-

gehoben wurde, die in Tabelle I angewandten Serumverdünnungen schlecht gewählt waren, kann man trotzdem daraus folgern, daß das Serum 4 (Kaninchenserum) etwa 3 mal so stark ist, wie die anderen 3 Sera, d. h. man würde davon beim Heilversuch um den gleichen Erfolg zu erreichen, nur den dritten Teil zu geben haben wie von den anderen Sera. Auf einen solchen quantitativen Vergleich, wie ihn die Wertbestimmung der antitoxischen Sera bekanntlich mit großer Genauigkeit liefert, kommt es aber für die Praxis der Serumtherapie an. Nun wäre es an sich denkbar, daß auch die amerikanische Methode eine solche quantitative Feststellung gestatten würde; dann müßte z. B. ein Serum von dem 0,2 mit 0,4 Kultur gemischt, gerade noch schützt, 4 mal so viel Antikörper enthalten, wie ein anderes, das nur gegen 0,1 Kultur schützt, wobei zunächst einmal vorausgesetzt sei, daß die Versuche genügend gleichmäßig ausfallen. Solche direkten quantitativen Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper würden dann vorhanden sein, wenn sich zeigen würde, daß bei dieser Versuchsanordnung die zum Schutz erforderlichen Serummengen im gleichen Verhältnis wie die Infektionsdosen wachsen. Im nachfolgenden werde ich zeigen, daß das in meinen Versuchen nicht der Fall war, mindestens nicht bei den hohen Infektionsdosen, auf die es gerade bei der Prüfung von Heilserum ankommt; hier kamen vielmehr die Antikörper bei der Mischmethode viel schlechter zur Geltung als bei getrennter Einspritzung.

II. Welche Beziehungen bestehen beim Pneumokokken- und Streptokokkenserum zwischen Infektionsdosis und schützender Serumdosis?

Die folgenden Versuche sollen in Ergänzung der früher von *Neufeld* und *Haendel*¹⁾ und *Ungermann* und *Kandiba*²⁾ mitgeteilten Untersuchungen näheren Aufschluß über die quantitativen Beziehungen zwischen der Infektionsmenge und der zu ihrer Neutralisation nötigen Serummenge bei verschiedener Applikationsweise geben. Sie sollen dabei auch aufklären, inwieweit das Serum bei den beiden in den vorstehenden Versuchen angewandten Prüfungsmethoden die Erreger lokal, also im Peritoneum bzw. bereits bei Mischung in vitro beeinflußt, und wie weit es nach der Resorption vom Kreislauf aus seine Wirkung entfaltet. Es wird sich dabei ergeben, daß zwischen Serum- und Infektionsmenge ganz andere quantitative Beziehungen herrschen, wenn das Serum nicht, wie in unseren bisherigen Versuchen, unmittelbar an die Stelle der Infektion gebracht wird. Bei der Serumtherapie der Pneumonie ist das natürlich nicht der Fall, hier können die Antikörper des Serums nur von der Blutbahn aus wirken; daher ist es von unmittelbarem praktischen Interesse zu wissen, wieviel Serum unter solchen Bedingungen

¹⁾ Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 34, 166.

²⁾ Ebenda 40, 24.

notwendig ist, um die gleichen Infektionsdosen wie in den vorigen Versuchen unschädlich zu machen. Erst solche Versuche geben einen Anhaltspunkt dafür, wie große Serummengen wir voraussichtlich beim Menschen geben müssen, um überhaupt eine Wirkung zu erwarten. Gerade zu diesem Zweck haben *Neufeld*, *Haendel*, *Ungermann* und *Kandiba* bereits in Versuchen mit verschiedenen septicämischen Erregern (Streptokokken, Pneumokokken und Rotlaufbacillen) an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen [wobei nicht nur Schutz-, sondern auch Heilversuche angestellt und bei Pneumokokken auch die pulmonale Infektion herangezogen wurde¹⁾], das Serum fern vom Krankheitsherd intravenös oder subcutan injiziert. Nach ihren Versuchen nehmen sie an, daß bei dem Pneumokokkenserum (und ebenso bei anderen, gegen septicämische Infektionserreger gerichteten Sera) ein gewisser Schwellenwert existiert, „indem bei einem bestimmten Verhältnis der Serummenge zum Körpergewicht — einem Verhältnis, das bei verschiedenen Tierarten annähernd zahlenmäßig das gleiche zu sein scheint — die Wirkung der Sera sehr bald einen gewissen Höhepunkt erreicht. Oberhalb desselben schützt das Serum auch gegen sehr große Multipla, zuweilen bis annähernd zum Millionenfachen der einfach tödlichen Dosis, während unterhalb desselben bei Verringerung der Serummenge die Schutzwirkung schnell absinkt und bald fast völlig erlischt. Natürlich ist der Begriff des Schwellenwertes nicht so aufzufassen, daß bei einer ganz bestimmten Serumverdünnung die Schutzwirkung plötzlich aufhört, sondern es soll nur gesagt sein, daß innerhalb relativ kleiner Grenzwerte der Serumdosen der Schutzeffekt stark ansteigt, während geringere Dosen auch gegen kleinste Kulturmengen unsicher wirken“.

Neufeld und *Haendel* haben bei ihren ersten Versuchen das Serum subcutan, die Kultur 24 Stunden danach i.p. gegeben, erst später haben sie die Versuchsanordnung dahin geändert, daß sie das Serum nur 2—3 Stunden vor der Infektion und zwar i.p. gaben. Sie nahmen an, daß in beiden Fällen die gleichen quantitativen Verhältnisse gelten, und ein von ihnen mitgeteilter Versuch²⁾ (mit einem ziemlich schwach wirksamen Serum) spricht in diesem Sinne. Wir haben jedoch in unseren Versuchen ein anderes Verhalten gefunden.

Ich habe ein Pneumokokkenserum, das von einem Kaninchen Nr. 986 stammt, bezüglich der Schutzwirkung gegen denselben Pneumokokkenstamm Wachholz zunächst nach den beiden soeben beschriebenen Methoden, der von *Neufeld* und *Haendel* und der des Rockefellerinstituts, ferner aber noch nach folgenden Verfahren geprüft: das Serum wurde subcutan, die Kultur 24 Stunden später i.p. gegeben (Methode 3.

¹⁾ Zentralbl. f. Bakteriol. Ref., 54, Beiheft, S. 71; vgl. Kolle-Wassermanns Handbuch 4, 551.

²⁾ Vgl. Kolle-Wassermanns Handbuch 4, 548.

entspricht der von *Aronson* beim Streptokokkenserum benutzten); in einigen weiteren Versuchen wurden auch Serum und Kultur in Abstand von 24 Stunden beides i.p. (Methode 4) oder in Abstand von 1 Stunde beides i.v. (Methode 5) oder schließlich beides gemischt i.v. injiziert (Methode 6).

Tabelle III.

Ein Kaninchenserum (Kan. 986) wird nach 6 verschiedenen Methoden mit Stamm Wachholz an Mäusen geprüft. Mehrere, an verschiedenen Tagen gemachte Versuche sind zusammengestellt.

Serum ccm	Kultur ccm	1 Serum i.p., Kultur nach 8 Std. i.p.	2 Serum u. Kultur gemischt i.p.	3 Ser. subc., Kult. n. 24 Std. i.p.	4 Ser. i.p., Kult. n. 24 Std. i.p.	5 Ser. i.v., Kult. n. 1 Std. i.v.	6 Serum u. Kultur gemischt i.v.
0,2	0,3	0 0 † ₂	† ₁ † ₂	† ₆ † ₇	.	† ₂	.
	0,2	0 0 0	† ₃ † ₅ 0	† ₆ † ₁₀	.	† ₂	.
	0,1	0 0 0	† ₄ 0	† ₂ † ₆	.	† ₄ † ₉	† ₃
	0,01	.	.	0	.	0	.
	0,001	0	0	0	0	† ₅ 0	.
	0,000 1	0	0	0	0	0 0	.
0,02	0,2	† ₃ 0	0 0	.	.	† ₂	.
	0,1	† ₁ 0 0	0 0	† ₂ 0	0	† ₂	.
	0,01	0 0 0	0 0	† ₂ 0	† ₂	† ₂ 0	0
	0,001	0	.	0	.	0	.
	0,000 1	0	0	0	0	0 0	.
	0,000 01	0	0	0	0	0	.
0,002	0,1	† ₁ 0	† ₂ 0	.	.	† ₂	.
	0,01	0 0 0	0 0	† ₂ † ₆	† ₂	† ₂	.
	0,001	† ₂ 0 0	0 0	† ₁ † ₂	† ₂	† ₂ † ₇	0
	0,000 1	0 0	.	0	.	0	.
	0,000 01	0	0	0	0	0 0	.
	0,000 001	0	0	0	† ₆	0	.
0,000 2	0,01	† ₂ † ₃	† ₂	† ₁	.	† ₁	.
	0,001	† ₂ 0 0	0 0 0	† ₂ † ₃	† ₂	† ₂ 0	.
	0,000 1	0 0 0	† ₃ 0 0	† ₂ 0	0	† ₂ † ₃	.
	0,000 01	0	.	.	.	0	.
	0,000 001	0	.	.	.	† ₄	.
	0,000 000 1	0	.	.	.	0	.
0,000 02	0,001	† ₁ † ₂	.	† ₂	.	† ₁	.
	0,000 1	† ₂ † ₂ † ₂ 0	0 0	† ₂ † ₂	.	† ₂	.
	0,000 01	0 0 0 0	0 0	† ₂ † ₂	.	† ₂	.
	0,000 001	0 0	.	† ₃	.	† ₂	.
	0,000 000 1	0 0	.	0	.	0	.
0,000 002	0,000 1	† ₂ † ₄	† ₂ 0
	0,000 01	† ₁ † ₂	† ₅ 0
	0,000 001	† ₂ † ₅	† ₂ 0
	0,000 000 1	† ₂ † ₂	† ₂ 0

†₂ -- tot am 2. Tag; 0 = überlebt; . = kein Versuchstier.

Ich gebe zuerst in Tabelle III sämtliche Versuche wieder. Die Tabelle ist aus einer Anzahl von Einzelversuchen, die an verschiedenen Tagen ausgeführt wurden, zusammengestellt. Das Gewicht der Mäuse schwankte zwischen 15–20 g, nur ganz wenige Tiere waren schwerer. Da innerhalb dieser Grenzen ein Einfluß des Körpergewichts nicht hervortrat, so habe ich die Gewichte in die Tabelle nicht aufgenommen.

Tabelle IV.

Auszug aus der vorhergehenden Tabelle.

Vergleich der Schutzwirkung abgestufter Mengen desselben Serums bei Prüfung nach verschiedenen Methoden.

Serum in ccm	Kultur in ccm	Methode 1	Methode 2	Methode 3	Methode 5
0,2	0,3—0,1	9 : 8	7 : 2	6 : 5	4 : 1
0,02	0,1—0,01	6 : 5	4 : 4	4 : 2	3 : 1
0,002	0,01—0,001	6 : 5	4 : 4	4 : 1	3 : 1
0,0002	0,001—0,0001	6 : 5	6 : 5	4 : 1	4 : 1
0,00002	0,0001—0,00001	8 : 5	4 : 4	4 : 0	2 : 0
0,000002	0,00001—0,000001	4 : 0	4 : 2	.	.

9 : 8 bedeutet: von 9 Tieren überleben 8. Dabei sind die Tiere, die später als am 5. Tage starben, als überlebend gerechnet.

Tabelle IV gibt einen Ausschnitt aus Tabelle III unter dem Gesichtspunkt, daß dabei sowohl die Serum- wie die Kulturmengen gleichmäßig immer um das 10fache steigen, mit Ausnahme der höchsten Stufe, wo die Serumdosis ebenfalls 10fach, die Kulturmenge aber nur bis zum 3fachen steigt. Im ganzen schwanken dabei die Serumdosen zwischen 0,000002 bis 0,2, die Kulturmengen zwischen 0,000001—0,3.

Ein völlig regelmäßiger Ausfall ist bei derartigen Versuchen von vornherein nicht zu erwarten. Trotzdem geht aber aus den Tabellen deutlich hervor, daß bei den Methoden 1 und 2 ganz andere Beziehungen zwischen Antigen- und Antikörpermenge bestehen, als bei der 3. Methode. Sehen wir zunächst von den größten und den kleinsten Dosen ab, so sind diese Beziehungen recht regelmäßig: eine 10, 100 oder 1000 mal größere Serummenge schützt gegen eine entsprechend größere Infektionsmenge, d. h. die Wirkung des Serums folgt annähernd dem *Ehrlich*-schen Gesetz der Multipla. Hieraus schließen wir auf Grund der Darlegungen in der Arbeit von *Ungermann* und *Kandiba*, auf die wir verweisen, daß hier das Serum in der Hauptsache örtlich wirkt, d. h. die Sensibilisierung der Erreger findet überwiegend in der Bauchhöhle der Maus oder bei der 2. Methode auch in vitro, nicht aber oder doch nur zum kleinsten Teil in der Blutbahn oder in den Organen statt, in die die Erreger im Laufe der Infektion eindringen. Diese direkte Sensibilisierung wird durch vorhergehenden Kontakt im Reagensglase begünstigt; daher gibt die 2. Methode immer etwas bessere Ergebnisse,

bei ihr werden durch Serumdosen zwischen 0,02 und 0,00002 sämtliche mit entsprechenden Kulturdosen infizierte Mäuse — bis auf eine, die verzögert eingeht — gerettet (s. Tabelle IV). Bei der 1. Methode stirbt dagegen immer 1 von je 6 mit mittleren Dosen injizierten Mäusen. Die beiden kleinsten Serumdosen wirken bei dieser Methode aber *erheblich* schlechter; die zweitkleinste Dosis rettet nur 5 von 8 Tieren, die kleinste Dosis gar keins, während bei der zweiten Methode die zweitkleinste Serumdosis noch alle Tiere, die kleinste 2 von 4 Tieren schützt. Wenngleich die Zahl der Tiere in diesem letzten Versuch vielleicht zu gering ist, um einen sicheren Schluß zuzulassen, so ist es doch sehr wahrscheinlich, daß bei zu weitgehender Verdünnung des Serums die Bindung der Antikörper auch bei gleichzeitiger Einspritzung nach Mischung *in vitro* ungenügend wird; nach 3 Stunden *i.p.* Einspritzung recht kleiner Serummengen ist jedenfalls in der Bauchhöhlenflüssigkeit nicht mehr eine genügende Konzentration der Antikörper vorhanden, um auch nur wenige Kokken zu sensibilisieren.

Die bisher besprochenen Ergebnisse mit der amerikanischen Prüfungsmethode stimmen gut mit den Beobachtungen von *Cole* und seinen Mitarbeitern überein. Die Autoren¹⁾ sagen: „Das Gesetz der multiplen Proportionen erwies sich als gültig, solange kleine Mengen von Kulturen und Serum benutzt wurden; selbst außerordentlich geringe Serummengen schützten gegen entsprechend kleine Kulturdosen. Die relative zum Schutz notwendige Serummenge wurde jedoch größer und größer, je höher die Kulturdosen gesteigert wurden, bis schließlich keine noch so große Menge von Serum imstande war zu schützen.“ Die Autoren nehmen mit Recht an, daß bei der passiven Übertragung des Pneumokokkenschutzes eine aktive Mitwirkung des Tierkörpers unerläßlich ist; bei nicht zu starker Infektion brauche dieser Faktor aber nicht in Betracht gezogen zu werden, da hier die Gewebe immer genügend leistungsfähig seien, innerhalb dieser Grenzen seien also individuelle Verschiedenheiten nicht von Einfluß und das Verhältnis zwischen Infektions- und Serumdosen annähernd konstant. Anders bei sehr starker Infektion: hier versagt schließlich der Körper. Die Wahl der konstanten Serumdosis sei nicht so wichtig, „vorausgesetzt, daß sie innerhalb der Grenzen gewählt wird, in denen das Gesetz der multiplen Proportionen Geltung hat“. Theoretisch sei es besser, *mehrere* Serummengen gegen wechselnde Mengen von Kultur zu prüfen, dadurch würde die Methode aber für die Praxis zu umständlich werden. *Wadsworth* und *Kirkbride*²⁾

¹⁾ *Avery, Chickering, Cole* und *Dochez*, Monograph. Nr. 7 des Rockefellerinstituts. Abgedruckt in *Studies from the Rockefeller Inst. Reprints* **29**, 534f.

²⁾ *Journ. of exp. Med.* **25**, 629.

empfehlen auf Grund ihrer Versuche (die bisher aber nicht ausführlich mitgeteilt worden sind) 0,1 als konstante Serumdosis zu nehmen, doch sind die Untersucher im Rockefellerinstitut bei der Dosis 0,2 geblieben, da gerade mit dieser Dosis schon viele Erfahrungen vorlagen.

Meine Beobachtungen stimmen nun insoweit mit denen des Rockefellerinstituts überein, als auch ich bei Steigerung der Dosen an eine Grenze kam, oberhalb deren das Gesetz der Multipla seine Gültigkeit verlor und der Serumschutz mangelhaft und unsicher wurde; *aber in meinen Versuchen war diese Grenze bei der Serumdosis 0,2 und Infektionsdosen von 0,1—0,3 bereits überschritten.* Auf die Ursachen, die dieser Differenz gegenüber den amerikanischen Beobachtungen zugrunde liegen können, komme ich am Schluß zurück.

Verfolgen wir die beiden Reihen unserer Versuche mit den Methoden 1 und 2 nach oben hin (s. Tab. IV), so sehen wir, daß hier — umgekehrt, wie bei den kleinsten Dosen — die getrennte Einspritzung viel wirksamer ist als die gleichzeitige. Dabei ist zu bemerken, daß wir bei der obersten Stufe zwar die Serumdosen wieder um das 10fache, die Kulturmengen dagegen nur bis zum 3fachen gesteigert haben, da wir von vornherein gegen die 10fache Menge (1 ccm Bouillonkultur) keinen Schutz mehr erwarteten. In der Tat hat gegen Infektion mit 0,1—0,3 Kultur eine Serummenge von 0,2 bei Mischung in vitro von 7 Tieren nur 2, bei getrennter Einspritzung dagegen von 9 Tieren 8 gerettet. Das ist meines Erachtens so zu erklären, daß bei stärkerer Infektion die Erreger zum Teil recht schnell aus der Bauchhöhle in den Kreislauf übertreten, während die Resorption des Serums langsamer erfolgt; in diesem Fall wirkt daher die vorhergehende Serumeinspritzung viel sicherer, weil dann die ersten in den Kreislauf eindringenden Erreger und die durch ihre Vermehrung neu entstehenden hier bereits Antikörper vorfinden, durch die ihre Sensibilisierung erfolgt bzw. eine ungenügende Sensibilisierung verstärkt wird.

Die Vorstellung, daß gegenüber derart großen Infektionsdosen die Allgemeinwirkung, gegenüber kleineren dagegen die örtliche Wirkung des Serums im Vordergrund steht, scheint durch den Ausfall der Versuchsreihe 3 eine Bestätigung zu erfahren. Hier, wo das Serum subcutan, die Kultur am nächsten Tage i.p. injiziert wurde, ist eine örtliche Wirkung ausgeschlossen; dementsprechend ist der Schutz gerade umgekehrt wie bei der 2. Methode weitaus am besten da, wo große Serum- und große Kulturmengen gegeben werden; bei Verringerung der Dosen wird er immer geringer. Hier ist ein „Schwellenwert“, d. h. ein mehr oder weniger vollständiges Versagen der Wirkung des Serums unterhalb einer gewissen Grenze deutlich erkennbar. Ob die 4. Methode, nämlich die i.p. Einspritzung von Serum und Kultur

im Abstand von 24 Stunden in ihren Ergebnissen mehr der 3. oder der 1. Methode nahesteht, läßt sich aus unseren wenigen Versuchen nicht entnehmen.

Bei der 5. Methode, wenn wir nämlich zuerst das Serum, dann 1 Stunde später die Kultur, beides i.v. einspritzten, ist zunächst auffallend, daß das Serum dann viel schlechter wirkt, als bei den Methoden 1 und 2 mit i.p. Einspritzung, und soweit große Dosen in Betracht kommen, auch viel schlechter als bei der 3. Methode. Um die quantitativen Beziehungen zwischen Antigen und Antikörpern zu erkennen, ist es daher notwendig, hier auch die mit kleineren Kulturmengen infizierten Tiere, die nur in Tabelle III, nicht in Tabelle IV aufgenommen sind, zu berücksichtigen. Tut man das, so ergibt sich, daß die Neutralisierung des Antigens annähernd nach dem Gesetz der Multipla erfolgt. Es ist zu erwarten, daß das bei gleichzeitiger i.v. Einspritzung von Serum und Kultur nach vorheriger Mischung *in vitro* (Methode 6) noch ausgesprochener der Fall sein würde; vielleicht wird das Serum bei dieser Art der Anwendung auch wirksamer sein. Die wenigen Versuche, die ich mit dieser Methode gemacht habe, sprechen in diesem Sinne, lassen aber natürlich kein Urteil zu.

Schließlich muß noch auf eine auffallende Unregelmäßigkeit in den Versuchsergebnissen der Tabelle III hingewiesen werden. Vergleicht man nämlich die Wirkung, die die beiden größten der von mir benutzten Serummengen 0,2 und 0,02 bei der Methode des Rockefellerinstituts ausüben, so ergibt sich, daß die kleinere Dosis deutlich besser gewirkt hat als die 10 mal größere. Die erstere rettete alle 4 mit 0,1 und 0,2 infizierten Mäuse, letztere dagegen nur 2 von 5 Tieren. Ich glaube nicht, daß es sich dabei um einen Zufall handeln kann, um so weniger, als diese 9 Mäuse gleichzeitig aus derselben Kultur infiziert wurden. Wie das paradoxe Ergebnis zu erklären ist, möchte ich nicht mit Bestimmtheit aussprechen; es erscheint aber durchaus möglich, daß bei so konzentriertem Serum entweder die Bedingungen für die Sensibilisierung oder (wahrscheinlicher) für die Resorption aus der Bauchhöhle ungünstiger sind als bei verdünntem Serum. Jedenfalls sprechen auch diese Erfahrungen in dem Sinne, daß die von den amerikanischen Autoren benutzte Methode noch nicht als eine vollkommene Lösung des Problems der Wertbemessung des Pneumokokkenserums angesehen werden kann.

Als Mangel dieser Methode wurde bereits oben hervorgehoben, daß sie keinen direkten Schluß auf die Menge der Antistoffe gestattet, die ein zu prüfendes Serum im Vergleich zu einem Standardserum enthält. Meine Versuche zeigen aber weiterhin, daß das Serum bei dieser

Methode der Mischung *in vitro* gegenüber großen Infektionsdosen von 0,1 aufwärts, also gerade in der Zone, auf die allein es bei der Prüfung von Heilsera ankommt, nicht nur (was ja für die Gewinnung von Vergleichswerten noch nicht entscheidend wäre) auffallend schlecht, sondern auch wie bereits der Versuch in Tabelle II zeigt, recht unregelmäßig wirkt. Dagegen gibt diese Methode bei mittleren Dosen, und zwar hier innerhalb sehr weiter Grenzen, die besten und regelmäßigsten Resultate von allen. Vielleicht dürfte daher die gleichzeitige *i.p.* Einspritzung die besten Ergebnisse erwarten lassen, wenn man dabei den Schutzwert abgestufter Serum-mengen gegenüber einer mittleren gleichbleibenden Infektionsdosis prüft und die kleinste noch schützende Dosis als Maßstab nimmt. Ob sich dabei freilich eine scharfe Grenze feststellen läßt und bei welcher Infektionsdosis das am ehesten der Fall ist, kann aber nur durch weitere Versuche entschieden werden; sollte sich herausstellen, daß die 1. Methode schärfere Grenzen ergibt, so wäre diese vorzuziehen.

Auf eine Abstufung der Serumdosen, die einen unmittelbaren Vergleichswert für den Gehalt verschiedener Sera an Schutzstoffen ergibt, sollte man aber meines Erachtens bei einer Prüfungsmethode nicht verzichten. Theoretisch wäre es, wie ich schon oben ausführte, denkbar, mit einer Abstufung des Antigens das gleiche zu erreichen, wenn nämlich (wenigstens in einer bestimmten Zone) das Gesetz der multiplen Proportionen *streng* gelten sollte. Das erscheint aber gegenüber einem lebenden Erreger kaum wahrscheinlich, am wenigsten gegenüber einem septicämischen Erreger.

Eher wäre es noch bei einem durchaus lokal verlaufenden Krankheitsprozeß, wie der intraperitonealen Cholerainfektion des Meer-schweinchens zu erwarten: diese haben daher bereits *Ungermann* und *Kandiba* zu solchen Versuchen herangezogen, wobei sie einen Stamm von ungewöhnlich hoher Virulenz benutzten, bei dem sie die Infektionsdosis zwischen 1 und $\frac{1}{200}$ Öse variieren konnten. Sie fanden, daß in der Tat eine 10- oder 100fach größere Vibrionenmenge im *Pfeiffer*-schen Versuch *annähernd* auch eine 10- und 100fache Serummenge zur Neutralisierung benötigt. Die Versuche zeigen aber, daß selbst in diesem Falle, wo die Vernichtung der Bacillen durch Amboceptor und Komplement *annähernd* wie im Reagensglas verläuft, die Parallelität zwischen Infektions- und Serumdosen nicht vollkommen ist und gewiß wird niemand daran denken, die bactericide Wirkung eines Cholera-serums auf diese Weise anstatt nach *Pfeiffer* durch Anwendung einer konstanten Infektionsdosis und fallender Serummengen zu titrieren.

Wie bereits in meinen vorhergehenden Mitteilungen habe ich auch hier wieder meine Versuche auf Streptokokken ausgedehnt, indem ich

ein von der Fabrik Schering bezogenes Streptokokkenserum in derselben Weise nach 5 verschiedenen Methoden gegen den hochvirulenten Streptokokkus Aronson prüfte.

Die folgende Tabelle V, die wiederum mehrere an verschiedenen Tagen angestellte Versuche zusammenfaßt, zeigt die Ergebnisse; Tabelle VI gibt wieder wie bei den Pneumokokkenversuchen einen Auszug daraus.

Tabelle V.

Prüfung eines Streptokokken-Pferdeserums gegen den Streptokokkus Aronson nach verschiedenen Methoden.

Serum cem	Kultur cem	1 Serum i.p. Kultur nach 3 Std. i.p.	2 Serum und Kultur gemischt i.p.	3 Ser. subc. Kultur n. 24 Std. i.p.	4 Ser. i.p. Kultur n. 24 Std. i.p.	5 Ser. i.v. Kultur n. 3 Std. i.v.
0,4	0,01	0 0	.	† ₃ 0	.	0 0
	0,001	0 0	.	0 0	.	0 0
0,2	0,1	† ₁ † ₁	† ₁ † ₁ † ₁	† ₁ † ₁ † ₁	† ₁	.
	0,01	† ₂ † ₂ 0	† ₁ † ₁ † ₂ † ₆	† ₁ † ₂ † ₂	† ₁	.
	0,001	0 0 0	† ₂ † ₅ 0	† ₂ 0 0	0	† ₁ † ₁
	0,000 1	0 0 0	† ₅ 0 0	† ₂ 0 0	0	† ₂ 0
	0,000 01	0	0	† ₁ 0	.	.
0,02	0,01	† ₁ † ₁ † ₁ † ₄	† ₁ † ₁ † ₂	† ₂ † ₁ † ₁	† ₁	† ₁ † ₁
	0,001	† ₃ † ₄ † ₄ 0	† ₄ † ₅ † ₅	† ₁ † ₁ † ₂	† ₂	† ₁ † ₁
	0,000 1	† ₇ 0 0 0	† ₂ † ₇ † ₁₂	† ₂ † ₄ 0	† ₃	† ₂ † ₄
	0,000 01	0 0 0	0 0 0	† ₂ † ₅ 0	† ₂	† ₃ † ₁
0,002	0,001	† ₁ † ₁ † ₂ † ₃	† ₁ † ₁ † ₁	† ₁ † ₁ † ₂	† ₁	† ₁ † ₁
	0,000 1	† ₁ † ₂ † ₃ 0	† ₁ † ₂ † ₂	† ₁ † ₂ † ₂	† ₂	† ₁ † ₁
	0,000 01	0 0 0 0	† ₂ † ₂ † ₂	† ₂ † ₂ † ₂	† ₂	† ₁ † ₁
	0,000 001	0 0 0	† ₃ 0 0	† ₂ † ₂ † ₃	† ₃	† ₂ † ₂

†₂ = tot am 2. Tag, 0 = überlebt, . = kein Versuchstier.

Tabelle VI.

Auszug aus der vorhergehenden Tabelle.

Bezeichnungen wie in Tabelle IV; die später als am 5. Tage gestorbenen Tiere sind auch hier als überlebend gerechnet.

Serum	Kultur	Methode 1	Methode 2	Methode 3	Methode 4	Methode 5
0,4	0,01—0,001	4 : 4	.	4 : 3	.	4 : 4
0,2	0,001—0,0001	6 : 6	6 : 3	6 : 4	2 : 2	3 : 1
0,02	0,0001—0,00001	7 : 7	6 : 5	6 : 2	2 : 0	4 : 0
0,002	0,00001—0,000001	7 : 7	6 : 2	6 : 0	2 : 0	4 : 0

Es zeigt sich zunächst, daß das Serum sehr viel schwächer ist, als alle geprüften Pneumokokkenserum; 0,2 Serum schützt niemals gegen 0,1 und nur ausnahmsweise gegen 0,01 Kultur. Daß man von Kaninchen verhältnismäßig leicht ein viel stärkeres Serum gegen Streptokokken

gewinnen kann, habe ich in der vorhergehenden Mitteilung (diese Zeitschr. 97, 420, Tab. V) gezeigt. Leider stand mir dieses hochwertige Serum, das einen viel besseren Vergleich mit unsern Pneumokokkenserum ermöglicht hätte, noch nicht zur Verfügung, als ich die obigen Versuche ausführte.

Unsere bisherigen Versuche ergaben bei dem Streptokokkenserum zum Teil dieselben Gesetzmäßigkeiten wie bei dem vorher geprüften Pneumokokkenserum, während sich andererseits gewisse nicht unwichtige Abweichungen zeigten. Sowohl bei getrennter wie bei gleichzeitiger i.p. Einspritzung von Serum und Kultur (Methode 1 und 2) gilt innerhalb der in unsern Versuchen innegehaltenen Grenzen das Gesetz der Multipla. Dagegen fallen die Versuche mit der ersten Methode hier durchweg viel günstiger aus als mit der zweiten —, im Gegensatz zu den Pneumokokkenversuchen; den Grund hierfür möchte ich darin vermuten, daß der Streptokokkus Aronson schneller als unsere Pneumokokken von der Bauchhöhle aus sich generalisiert, und daß daher bei jeder Art der Applikation die Gefahr der schnellen Allgemeininfektion besonders groß ist. Dieser Gefahr wird wohl am ehesten vorgebeugt, wenn das Serum einige Zeit vorher an derselben Stelle gegeben wird, von der aus nachher die Streptokokken resorbiert werden. Daß aber daneben doch die örtliche Wirkung eine große Rolle spielt, zeigt der Vergleich mit der Methode 4; hier, bei i.p. Einspritzung 24 Stunden vor der Infektion, fällt die örtliche Wirkung wohl größtenteils weg; daher schützen kleine Serummengen relativ viel schlechter als große. Dasselbe zeigt sich, wenn das Serum am Tage vor der Infektion subcutan eingespritzt wurde (Methode 3). Hier tritt die relativ bessere Wirkung der größten Serunidosen deutlich hervor; bezüglich der Tabelle VI ist zu beachten, daß darin auf der obersten Stufe zwar die Infektionsdosis auf das 10fache gesteigert ist, die Serummenge aber nur auf das Doppelte. Bei der letzten Methode (mit i.v. Einspritzung) habe ich hier das Serum 3 Stunden vor der Kultur gegeben (anstatt eine Stunde vorher beim Pneumokokkenversuch). Hier ist wiederum der „Schwellenwert“, d. h. die unverhältnismäßige Steigerung der Schutzwirkung des Serums bei größeren Dosen sehr deutlich; die Wirkung ist, wie beim Pneumokokkenversuch, im ganzen schlechter als bei der 3. Methode.

Die Ursache, weshalb trotz grundsätzlicher Übereinstimmung die Versuche mit Streptokokken in mancher Hinsicht etwas anders ausfielen als die mit Pneumokokken, haben wir darin gesucht, daß der benutzte Streptokokkenstamm schneller als unsere Pneumokokken zur Allgemeininfektion, zur Überschwemmung des Kreislaufs mit den septicämischen Erregern führt; vielleicht ist auch seine Vermehrungs-

geschwindigkeit im Tierkörper größer. Eine entsprechende Annahme scheint uns, vorbehaltlich einer weiteren Klärung der Frage durch das Experiment, zunächst auch am wahrscheinlichsten, um die verhältnismäßig ungünstigen Ergebnisse zu erklären, die wir bei Anwendung der amerikanischen Simultanmethode mit großen Infektionsdosen hatten. Der Pneumokokkenstamm, den ich bei allen in dieser Arbeit mitgeteilten Versuchen benutzte, erwies sich, wie ich bereits in meinen früheren Mitteilungen hervorgehoben habe, bei vielfachen vergleichenden Versuchen in unserem Laboratorium deutlich und nicht unerheblich virulenter als der uns aus Amerika überlassene Pneumokokkus I, mit dem, wie ich annehme, die dortigen Versuche zum großen Teil ausgeführt sind. Das ist vielleicht der Grund, weshalb unsere Versuche bei großen Infektionsdosen abweichend ausfielen.

Die Forscher des Rockefellerinstituts sagen selbst, die von ihnen vorgeschlagene Prüfungsmethode sei „far from ideal“, sie sei aber für die Praxis zunächst genügend, um unzulängliche Sera bei serotherapeutischen Versuchen auszuschalten. Das halte ich, wie ich im ersten Abschnitt ausgeführt habe, für zutreffend, und zwar sowohl für die Prüfungsmethode des Rockefellerinstituts wie für die von *Neufeld* und *Haendel*. Die amerikanischen Autoren sagen aber weiterhin, es bestehe auch wohl kein dringendes Bedürfnis nach verfeinerten Prüfungsmethoden, denn die Stärke der Pneumokokkenserum, die wir nach den bisherigen Methoden herstellen könnten, sei begrenzt. „This limit is quite constant and differs for the different types of pneumococci.“ Leider trifft das für die bisher hergestellten Pferdesera in der Tat zu. Nun ist es mir, wie ich in der vorhergehenden Arbeit mitteilte, und wie auch aus den hier berichteten Versuchen mit Kaninchenserum hervorgeht, gelungen, bei *Kaninchen* durch eine geeignete verhältnismäßig einfache Vorbehandlung weit bessere Sera gegen Pneumokokkus I zu gewinnen, und auch die Hindernisse, die der Erzeugung entsprechend hochwertiger Sera gegen die Pneumokokkenstämme am Typus II entgegenstanden, teilweise zu überwinden. Danach besteht entschieden ein Bedürfnis, zunächst für wissenschaftliche Untersuchungen eine Methode zu haben, die es gestattet, auch solche hochwertigen Sera zu titrieren. Es ist aber vielleicht nicht ganz ausgeschlossen, daß man bei Beachtung der von mir für die Gewinnung hochwertiger *Kaninchenserum* festgestellten Tatsachen auch von *Pferden* bessere Sera als bisher erhalten kann. Auch aus diesem Grunde halte ich es für erwünscht, die Methoden zur Wertbestimmung von Pneumokokkenserum möglichst zu vervollkommen.

Daß auch beim *Streptokokkenserum* eine genaue Wertbestimmung und eine Beachtung der quantitativen Verhältnisse — neben der

Typenfrage — die Grundlage für alle exakten Versuche bilden muß, ist schon von *Ungermann* und *Kandiba* eingehend begründet worden; meistens sind in der Praxis Sera benutzt worden, von denen man in den angewandten Dosen überhaupt keine Wirkung erwarten konnte. Nun habe ich in meinen beiden vorhergehenden Mitteilungen gezeigt, daß man mit abgetöteten Streptokokken nicht nur gute Erfolge bei Schutzimpfungen, sondern auch sehr hochwertige Schutzsera erhalten kann, wenn man hochvirulente Kulturen verwendet und bei der Dosierung gewisse Regeln beachtet. Hierdurch hoffe ich auch die praktische Frage der spezifischen Bekämpfung der *Streptokokken*-infektionen gefördert zu haben.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie und Hygiene der Universität Göttingen
[Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. *Reichenbach*].)

Über den Einfluß des Mediums auf die Resistenz der Bakterien. Desinfektionsversuche mit Hitze.

Von
Dr. **Ludwig Fleischer** und Dr. **S. Amster**,
Assistenten am Institut.

Bei der Einwirkung eines chemischen Desinfektionsmittels auf einen Mikroorganismus ist bekanntlich das Medium, in dem das Desinfektionsmittel wirkt, für den Desinfektionserfolg nicht gleichgültig. Besonders auffällig tritt die Bedeutung des Mediums hervor in dem Unterschied der Wirkung der gewöhnlichen Desinfektionsmittel bei der Prüfung im destillierten Wasser und im Tierkörper. Die Versuche, hier Aufklärung zu schaffen, haben sich bisher nur in der Richtung bewegt, nachzuweisen, daß das Medium das Desinfektionsmittel selbst bzw. die Aufnahmefähigkeit für dasselbe verändert. Es wurden unter anderem als besonders wichtig nachgewiesen: Bindung des Desinfiziens durch Serumbestandteile [*Behring*¹), *Bechhold*²)] und Konstitutionsveränderungen des Desinfiziens durch Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration [*Michaelis* und *Dernby*³), *Fleischer* und *Amster*⁴)]. Dagegen hat die Möglichkeit, daß die Resistenz der Bakterien gegen Desinfektionsmittel von der Art des Mediums abhängig sein könnte, bisher keine wesentliche Beachtung gefunden. Auf Anregung von Herrn Geheimrat *Reichenbach* haben wir deshalb die Abhängigkeit der Resistenz der Bakterien von der Art des umgebenden flüssigen Mediums systematisch untersucht.

Wir variierten, ausgehend vom destillierten Wasser, durch Zusatz chemisch genau definierter, in den gewählten Konzentrationen sicher unschädlicher Stoffe das Medium und verwandten als Desinfektionsmittel Hitze. Durch Anwendung von Hitze als Desinfektionsmittel wird die Fehlerquelle ausgeschaltet, die sich bei der Verwendung eines chemischen Desinfektionsmittels aus dessen Reaktion mit dem Medium ergeben kann.

Über die Methodik kurz folgendes: Als Testobjekt diente ein alter Laboratoriumsstamm von *Bact. coli*, von dem ausschließlich zentrifugierte Aufschwemmungen einer 24stündigen Agarkultur in destilliertem Wasser verwandt wurden. Von dieser Aufschwemmung — über ihre Dichte vgl. den experimentellen Teil — wurde mittels Pipette je ein Tropfen zu 10 ccm Flüssigkeit gebracht, die sich in Röhrchen von 1,8 cm Durchmesser und 6 cm Länge befand. Die Röhrchen standen in einem Wasserbad, das

konstant auf 52° gehalten wurde. Durch sorgfältiges wiederholtes Schütteln wurde der Tropfen mit dem Röhrcheninhalt vermischt und nach entsprechender Einwirkungszeit mittels Pipette ein Tropfen auf Schrägagarröhrchen überimpft. Der Desinfektionserfolg wurde nach 48stündiger Verweildauer im Brutschrank festgestellt. In unseren Tabellen bedeuten + + + + = Rasen, + + + = dichte Kolonien, + + = getrennte Kolonien, + = 21–50 Kolonien. Jeder Versuch wurde mehrmals wiederholt.

In Vorversuchen wurde zunächst der Einfluß der Bakteriendichte auf die Abtötungszeit gegenüber der Desinfektion durch Hitze untersucht. Wir verwandten eine sehr dicke Coliaufschwemmung, die aus 4 Agarplatten hergestellt war und verdünnten sie auf das 10-, 100- und 1000fache (s. Tab. I).

Tabelle I.
Resistenzbeeinflussung durch verschieden dichte Aufschwemmungen.

	Einwirkungszeit			
	20 Min.	40 Min.	60 Min.	120 Min.
Originalaufschwemmung	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +
„ $\frac{1}{10}$	+ + + +	+ + +	+ + +	+ +
„ $\frac{1}{100}$	+ + +	+	—	—
„ $\frac{1}{1000}$	+ +	2	—	—

Die hier beobachtete starke Verlängerung der Abtötungszeit in den dichteren Aufschwemmungen läßt sich nach *Reichenbach* — vgl. Referat auf dem vorjährigen Mikrobiologentag in Würzburg⁵⁾ — auffassen als Resultate zweier Einflüsse:

1. Des Einflusses der Bakterienzahl, denn in einer großen Bakterienmenge sind natürlich mehr resistente Keime enthalten als in einer kleinen — es ist dabei gleichgültig, in welchem Flüssigkeitsvolumen diese Bakterienmenge enthalten ist.

2. Des Einflusses der Bakteriendichte. Sobald die Menge der Bakterien in einem gegebenen Volumen eine bestimmte Zahl überschreitet, übt sie eine Schutzwirkung aus (verursacht vielleicht durch Stoffwechselprodukte, vgl. hierzu auch *Ficker*⁶⁾ und *Lange*⁷⁾].

Für uns war es wichtig, eine Aufschwemmungsdichte zu finden, bei der eine Schutzwirkung der Bakterien ausgeschaltet war, da es nicht ausgeschlossen erschien, daß eine vorhandene Schutzwirkung die uns hier nur interessierende reine Wirkung des Mediums auf die Bakterien überdecken könnte. Zur Trennung dieser Schutzwirkung von der Wirkung der Zahl bedienten wir uns einer von *Potthoff*⁸⁾ im Göttinger Institut ausgearbeiteten Versuchsanordnung. Sie baut sich auf folgender Überlegung auf: wenn die größere Widerstandsfähigkeit einer dichten Aufschwemmung allein auf einer Wirkung der Bakterienzahl beruht, so muß es für den Desinfektionserfolg gleichgültig sein, ob man vor oder nach der Desinfektion eine Verdünnung der Bakterienmenge vornimmt,

vorausgesetzt, daß die Menge der *ausgesäten Bakterien* in beiden Fällen dieselbe ist. Im Falle einer *Schutzwirkung* durch die *Dichte* müssen dagegen die *nach* der Desinfektion hergestellten Verdünnungen der Bakterienmenge einen geringeren Desinfektionserfolg zeigen als die Verdünnungen, die *vor* Einwirkung des Desinfektionsmittels hergestellt und *dann* der Desinfektion unterworfen wurden.

Auf Grund dieser Überlegungen ließ sich nun feststellen, daß bei der starken Resistenzhöhung in den dichteren Aufschwemmungen des in Tab. I wiedergegebenen Versuchs neben der Wirkung der Zahl auch eine Schutzwirkung durch die Dichte sehr stark beteiligt ist (Tab. II).

Tabelle II.

Resistenzbeeinflussung durch verschieden dicke Aufschwemmungen. Prüfung auf Schutzwirkung der Originalaufschwemmung.

	Einwirkungszeit			
	20 Min.	40 Min.	60 Min.	120 Min.
Originalaufschwemmung	++++	++++	++++	++++
Desgl. $\frac{1}{10}$ vor } der Desinfektion	++++	+++	+++	++
nach } hergestellt	++++	++++	++++	+++
Desgl. $\frac{1}{100}$ vor } der Desinfektion	+++	+	—	—
nach } hergestellt	++++	++++	+++	++
Desgl. $\frac{1}{1000}$ vor } der Desinfektion	++	2	—	—
nach } hergestellt	+++	+++	+++	++

Wie Tab. II zeigt, ist die Desinfektionswirkung in allen Konzentrationen erheblich größer, wenn die Verdünnung vor der Einwirkung der Hitze hergestellt und so die Schutzwirkung durch die Dichte ausgeschaltet wird.

Durch weitere Versuche wurde eine Aufschwemmungsdichte festgestellt, die keine Schutzwirkung mehr zeigte und doch noch so viel resistente Keime enthielt, daß sie in destilliertem Wasser nach 10 Minuten bei Einwirkung von 52° noch nicht völlig abgetötet war. Diese Dichte wurde dadurch hergestellt, daß von einer schwach milchig getrübbten Aufschwemmung einer kleinen Platinöse (1,75 mm Durchmesser) in 10 ccm destilliertem Wasser jedesmal ein Tropfen in 10 ccm Medium überimpft wurde (Tab. III).

Tabelle III.

Prüfung auf Schutzwirkung der für unsere Versuche gewählten Aufschwemmungsdichte.

	Einwirkungszeit		
	15 Min.	30 Min.	45 Min.
Originalaufschwemmung	+++	+	—
Desgl. $\frac{1}{10}$ vor } der Desinfektion hergestellt	++	+	—
nach }	+	5	—
Desgl. $\frac{1}{100}$ vor } der Desinfektion hergestellt	7	4	—
nach }	7	2	—

Wie Tab. III zeigt, ist in den beiden Verdünnungen 1:100 kein Unterschied nachzuweisen, bei 1:10 ist sogar eine kleine Differenz zugunsten der vor der Desinfektion hergestellten Verdünnung vorhanden.

Als Temperatur erwies sich uns 52° als geeignet in Hinsicht auf unsere recht dünnen Aufschwemmungen und auf die rein praktische Forderung, jeden Versuch nicht über 2 Stunden auszudehnen.

Die Abtötungszeiten in den verschiedenen Medien wurden immer mit der in destilliertem Wasser verglichen. Wir wählten gerade destilliertes Wasser als Vergleichssystem, weil das destillierte Wasser chemisch am durchsichtigsten ist und das allgemeine Lösungsmittel darstellt.

Es leuchtet ohne weiteres ein, daß jeder Versuch bezüglich seiner absoluten Zahlen nur in sich vergleichbar ist und daß diese absoluten Zahlen in zwei Versuchen nur zufällig übereinstimmen können.

Wir haben in einer anderen Arbeit⁴⁾ festgestellt, daß schon verschiedene Wasserarten, z. B. destilliertes Wasser und Göttinger Leitungswasser (Gesamthärte 30 deutsche Härtegrade) u. U. sehr erhebliche Verschiedenheiten im Desinfektionserfolg organischer Farbstoffe bedingen können. Es lag der Gedanke nahe, ob sich ähnliche Unterschiede als Beeinflussung der Bakterien gegen Hitzeabtötung nachweisen lassen. Tab. IV gibt einen entsprechenden Versuch wieder.

Tabelle IV.
Resistenzbeeinflussung durch Göttinger Leitungswasser.

	Einwirkungszeit				
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	60 Min.
Göttinger Leitungswasser . . .	+++	+	-	-	-
Destilliertes Wasser	++	++	+	+	-

Auffällig ist die schnelle Abtötung im Leitungswasser. Es lag nahe, die verhältnismäßig hohe Salzkonzentration des Göttinger Leitungswassers hierfür heranzuziehen. Wir untersuchten daher systematisch eine Reihe von Salzen. Tab. V stellt die Abtötungszeiten bei physiologischer Kochsalzlösung im Vergleich zu denen bei destilliertem Wasser dar.

Tabelle V.
Resistenzbeeinflussung durch physiologische Kochsalzlösung.

	Einwirkungszeit			
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.
Physiologische Kochsalzlösung	++	-	-	-
Destilliertes Wasser	++	+	3	-

Physiologische Kochsalzlösung wirkt also deutlich resistenzvermindernd gegenüber destilliertem Wasser. Als Ursache erwogen wir zunächst für die Bakterienresistenz ungünstige osmotische Verhältnisse [vgl. v. Lingelsheim⁹]. Wir untersuchten deshalb eine Reihe verschiedener Kochsalzkonzentrationen (Tab. VI).

Tabelle VI.
Resistenzbeeinflussung durch NaCl.

	Einwirkungszeit			
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.
NaCl $\frac{n}{10}$		—	—	—
NaCl $\frac{n}{100}$	+++	++	+	
NaCl $\frac{n}{1000}$	+++	+-	+	
Destilliertes Wasser	+++	+	15	

Der Versuch zeigt, daß mit sinkender Kochsalzkonzentration die Schädigung schnell abnimmt, um im Gebiet von $\frac{n}{100}$ der durch destilliertes Wasser etwa gleich zu werden. Ja es schien uns bei dieser Konzentration in einer Anzahl von Versuchen (aber nicht in allen) sogar eine gewisse Verlängerung gegenüber der Abtötungszeit in destilliertem Wasser bemerkbar zu sein, die aber noch innerhalb des Bereiches der Fehlerquellen unserer Methodik liegt.

Zur Entscheidung der Frage, ob es sich bei der Resistenzverminderung durch physiologische Kochsalzlösung um spezifische Einflüsse des Chloranions bzw. des Natriumkations handelt, machten wir zwei Versuchsreihen mit wechselnden Anionen bzw. Kationen (Tab. VII und VIII; aus Tab. VII stellt Tab. VI einen Ausschnitt dar).

Tabelle VII.
Resistenzbeeinflussung durch NaBr, NaNO₃, NaCl.

	Einwirkungszeit				
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.
NaBr $\frac{n}{10}$	+++	8	—	—	—
NaBr $\frac{n}{100}$	+++	++	+	10	
NaBr $\frac{n}{1000}$	++	1	—	—	—
NaNO ₃ $\frac{n}{10}$	+	—	—	—	—
NaNO ₃ $\frac{n}{100}$	++	+	—	—	—
NaNO ₃ $\frac{n}{1000}$	+++	++	12	—	—
NaCl $\frac{n}{10}$	—	—	—	—	—
NaCl $\frac{n}{100}$	+++	++	+	—	—
NaCl $\frac{n}{1000}$	+++	++	+	—	—
Destilliertes Wasser	+++	+	15	—	—

Tabelle VIII.
Resistenzbeeinflussung durch CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , NaCl .

	Einwirkungszeit						
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.	80 Min.
CaCl_2 $n/10$	12	—	—	—	—	—	—
CaCl_2 $n/100$	5	—	—	—	—	—	—
CaCl_2 $n/1000$	+++	+++	++	+	10	—	—
MgCl_2 $n/10$	8	—	—	—	—	—	—
MgCl_2 $n/100$	++	8	5	—	—	—	—
MgCl_2 $n/1000$	+++	15	—	—	—	—	—
KCl $n/10$	++	+	3	—	—	—	—
KCl $n/100$	++++	+	+	—	—	—	—
KCl $n/1000$	++++	+++	+	—	—	—	—
NaCl $n/10$	++++	+++	15	7	—	—	—
NaCl $n/100$	++++	+++	+	10	8	—	—
NaCl $n/1000$	+++	+++	+	+	+	7	—
Destilliertes Wasser	+++	+++	++	+	8	—	—

Es zeigt sich, daß Br' etwas günstiger wirkt als Cl' , Ca'' und Mg'' wirken in $n/100$ -Lösung bereits deutlich schädigender als Na' und Ka' . Der steile Abfall der Schädigung mit sinkender Konzentration zeigt sich in allen Fällen. Um den Einfluß osmotischer Verhältnisse klarer von denen der Ionen zu trennen, machten wir einen Versuch mit isosmotischen Nichtelektrolyten (Tab. IX).

Tabelle IX.
Resistenzbeeinflussung durch isosmotische Lösungen von Milhzucker, Traubenzucker, Mannit, Harnstoff, Kochsalz.

	Einwirkungszeit in Minuten							
	10	20	30	40	50	70	85	100
Milhzucker 11,68%	++++	+++	+	5	—	—	—	—
„ 1,168%	++++	++++	+++	+++	+++	+	2	—
„ 0,1168%	++++	++++	+++	+	+	5	—	—
Traubenzucker 6,16%	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,616%	++	4	—	—	—	—	—	—
„ 0,0616%	++++	++++	++	1	—	—	—	—
Mannit 6,22%	+++	++	—	—	—	—	—	—
„ 0,622%	++++	++++	++	++	+	—	—	—
„ 0,0622%	++++	+++	8	—	—	—	—	—
Harnstoff 2,04%	++	+	—	—	—	—	—	—
„ 0,204%	++++	+++	+	2	—	—	—	—
„ 0,0204%	++++	+++	++	+	+	—	—	—
NaCl 1%	+	1	—	—	—	—	—	—
NaCl 0,1%	++++	++++	++	+	10	2	—	—
NaCl 0,01%	++++	++++	+++	++	+	—	—	—
Destilliertes Wasser	+++	+++	+++	+	10	—	—	—

Wir sehen, wie entsprechend unseren Erwartungen diejenigen Konzentrationen der Nichtelektrolyten Milchzucker, Traubenzucker, Mannit und Harnstoff, die einer 1 proz., also einer schädigenden Kochsalzkonzentration isosmotisch sind, ebenfalls resistenzvermindernd wirken. Außerdem konnten wir die bemerkenswerte Tatsache feststellen, daß *bestimmte Konzentrationen des Milchzuckers ausgesprochen resistenzerhöhend* bei Coli wirken. Das Optimum scheint etwa bei 1 % Milchzuckergehalt zu liegen. Sehr auffällig ist der große Unterschied in der Beeinflussung der Resistenz gegen Hitzeabtötung bei Milch- und Traubenzucker. Man sieht hieraus, daß für die resistenzerhöhende Wirkung nicht etwa der Nährstoffcharakter in Betracht kommt, da ja Traubenzucker so gut wie Milchzucker von Coli zersetzt wird.

Daß diese resistenzsteigernde Wirkung des Milchzuckers keine spezifische ist, sondern auch bei anderen Disacchariden sich findet, zeigt ein Vergleichsversuch mit Rohrzucker (Tab. X).

Tabelle X.
Resistenzbeeinflussung durch Rohrzucker, Milchzucker, Traubenzucker.

	Einwirkungszeit					
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	55 Min.	70 Min.
Rohrzucker 1,168%	+++	+++	++	+	2	--
Rohrzucker 0,1168%	++	+	2	--	--	--
Milchzucker 1,168%	++++	++	++	+	--	--
Milchzucker 0,1168%	+++	++	++	1	--	--
Traubenzucker 0,616%	+	--	--	--	--	--
Traubenzucker 0,0616%	++	+	--	--	--	--
Destilliertes Wasser	+++	++	5	--	--	--

Rohrzucker steigert die Resistenz also fast noch mehr als Milchzucker.

Zurückgehend auf unsere Ausgangsfragestellung, ob der Salzgehalt des Göttinger Leitungswassers für seine resistenzvermindernde Wirkung verantwortlich zu machen ist, können wir diese wohl dahin beantworten, daß der Gehalt an Ca⁺⁺-Ionen allein schon hierfür genügt.

Außer durch seinen Salzgehalt unterscheidet sich das Göttinger Leitungswasser vom destillierten Wasser u. a. noch durch eine andere Wasserstoffionenkonzentration. Destilliertes Wasser hat ein p_H von 5,8, das Göttinger Leitungswasser dagegen aber ein von 7,3, es ist also schwach alkalisch. Es erschien uns nicht ausgeschlossen, daß diese verschiedene Wasserstoffionenkonzentration schon an und für sich verschieden stark die Bakterienresistenz beeinflussen könnte. Wir machten daher einige Hitzeabtötungsversuche unter geringfügiger Variierung des p_H , aber nicht, wie in unserer anderen Arbeit⁴⁾ mit Hilfe von Phosphatpuffern, sondern — um jede Salzwirkung zu vermeiden — durch Zusatz von H₂SO₄ bzw. NaOH, vgl. Tab. XI.

Tabelle XI.

Resistenzbeeinflussung durch Änderung der Wasserstoffionenkonzentration.
Temperatur: 51°.

	Einwirkungszeit					
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.
$p_H = 5,0$	++	++	+	+	2	--
$= 6,0$	++	++	+	+	16	--
$= 7,1$	++	++	+	8	--	--
$= 7,5$	+	+	10	--	--	--
$= 8,0$	7	--	--	--	--	--
$= 8,5$	5	--	--	--	--	--
Destilliertes Wasser: $p_H = 5,8$	++	+	+	+	4	--

Der Versuch zeigt eine deutliche Resistenzverminderung des *Bact. coli* beim Übergang von schwach sauren in das schwach basische Gebiet.

Wir sehen, daß sich schon aus unseren bisherigen Versuchen für die resistenzvermindernde Wirkung des Göttinger Leitungswassers zwei Erklärungsmöglichkeiten ergeben haben: der Gehalt an Ca^{++} -Ionen und die ganz schwach alkalische Reaktion. Ob noch andere schädigende Momente in Frage kommen, können wir nicht sicher entscheiden.

Unsere Salzversuche gaben uns Veranlassung, Versuche in den Kreis unserer Betrachtungen zu ziehen, die schon im Jahre 1898 von *Ficker*⁶⁾ angestellt und kürzlich in ihren Ergebnissen von *B. Lange*⁷⁾ bestätigt wurden. Diese Versuche zeigen, daß in Nährbouillon die Bakterien der Hitzeabtötung weniger schnell unterliegen als in destilliertem Wasser. Nährbouillon hat aber einen Kochsalzgehalt von 0,5%. Es muß also hier die Salzwirkung durch eine andere resistenzerhöhende überkompensiert werden. *Ficker* und *Lange* machen für diese resistenzvermehrnde Wirkung den Nährstoffcharakter der Bouillon verantwortlich. Zur Analyse der hier vorliegenden Verhältnisse machten wir zunächst einen orientierenden Versuch mit Nährbouillon, Nährgelatine und Nähragar, vgl. Tab. XII.

Tabelle XII.

Resistenzbeeinflussung durch Nährbouillon, Nährgelatine, Nähragar.

	Einwirkungszeit in Minuten						
	10	20	30	40	55	70	100 130
Nährbouillon	++++	++++	++++	+++	+++	++	+ 10
Nährgelatine	++++	++++	++++	+++	+++	++	15 5
Nähragar . . .	++++	++++	++++	+++	+++	++	6 --
Destill. Wasser	++++	++++	++++	++	+	--	--

Unser Versuch bestätigt also auch die Beobachtungen von *Ficker* und *Lange*. Es erschien uns nun nicht unwahrscheinlich, daß es die Kolloide der Nährsubstrate sind, die die starke Resistenzhöhung

bedingen. Wir machten daher Versuche mit organischen Kolloiden, zuerst mit Gelatine (Tab. XIII), dann mit Pepton (Tab. XIV).

Tabelle XIII.
Resistenzbeeinflussung durch Gelatine.

	Einwirkungszeit in Minuten							
	10	25	35	45	55	70	90	110
Gelatine 10%	++++	+++	+++	++	++	+	2	2
„ 1%	+++	++	++	+	—	—	—	—
„ 0,1%	+++	++	++	+	+	—	—	—
„ 0,01%	+++	++	++	+	12	—	—	—
„ 0,001%	+++	+	—	—	—	—	—	—
Destill. Wasser	+++	++	18	5

Gelatine zeigt also die erwartete Resistenzhöhung. Zwischen einer 1proz. und einer 0,01proz. Gelatinelösung besteht hinsichtlich dieser resistenzerhöhenden Wirkung kein wesentlicher Unterschied.

Tabelle XIV.
Resistenzbeeinflussung durch Pepton.

	Einwirkungszeit							
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	65 Min.	85 Min.	
Pepton 2%	+++	+++	++	++	+	—	—	
„ 1%	+++	+++	+++	++	8	—	—	
„ 0,1%	+++	+++	++	+	+	6	—	
„ 0,001%	+++	4	—	—	—	—	—	
Destilliertes Wasser	+++	+	—	—	—	—	—	

Auch beim Pepton zeigen sich also ähnliche resistenzerhöhende Wirkungen. Pepton und Gelatine sind hydrophile Kolloide, allerdings mit Nährstoffcharakter. Um diesen Nährstoffcharakter auszuschalten, erschien es uns sehr wichtig, Versuche mit anderen hydrophilen Kolloiden anzustellen. Wir wählten Tannin, das bekanntlich in höheren Konzentrationen sogar als Desinfiziens wirkt (Tab. XV).

Tabelle XV.
Resistenzbeeinflussung durch Tannin.

	Einwirkungszeit							
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	65 Min.	80 Min.	
Tannin 0,1%	—	—	—	—	—	—	—	
„ 0,01%	—	—	—	—	—	—	—	
„ 0,005%	+++	+++	++	+	+	—	—	
„ 0,001%	+++	+++	+++	++	+	2	—	
„ 0,0005%	+++	+++	+	10	—	—	—	
„ 0,0001%	+++	+++	+	8	—	—	—	
Destilliertes Wasser	+	—	—	—	—	—	—	

Wider Erwarten gewinnt also Tannin, das bis zur Konzentration 1:10 000 noch deutlich schädigend auf Coli im Hitzeversuch wirkt, in geringeren Konzentrationen außerordentlich kräftige resistenzsteigernde Eigenschaften. Die hohe Verdünnung, in der Tannin noch deutlich resistenzsteigernd wirkt: 1:1 000 000 sprach dagegen, daß es sich bei der Resistenzsteigerung durch Tannin nur um denselben Mechanismus der Einwirkung wie bei Gelatine oder Pepton handelt. Wir vermuteten, daß der Gerbstoffcharakter des Tannins für seine resistenzsteigernden Wirkungen ausschlaggebend sei und machten daher Versuche mit anderen Gerbstoffen, die z. T. gar nicht kolloidaler Natur sind (Tab. XVI).

Tabelle XVI.
Resistenzbeeinflussung durch AlCl_3 , Alaun, Formaldehyd.

		Einwirkungszeit						
		10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	65 Min.	80 Min.
AlCl_3	0,01%	+++	+++	++	6	—	—	—
"	0,005%	+++	+++	++	+	—	—	—
"	0,001%	+++	+++	+++	+++	++	6	—
"	0,0005%	+++	+++	+	—	—	—	—
Alaun	0,005%	++	+	15	—	—	—	—
"	0,001%	+++	+++	++	++	+	4	—
"	0,0001%	+++	+	4	—	—	—	—
Formaldehyd	0,001%	+	—	—	—	—	—	—
"	0,00035%	+++	+++	12	—	—	—	—
"	0,0001%	+++	+	—	—	—	—	—
Destilliertes Wasser.		+	—	—	—	—	—	—

Dieser Versuch bestärkte uns in unserer Ansicht, da wir ganz ähnliche Resistenzerhöhungen durch minimale Konzentrationen von Alaun und Aluminiumchlorid erzielen konnten, eine wenn auch geringere Resistenzerhöhung sogar durch Formaldehyd.

Versuche mit anorganischen Kolloiden, wie kolloidaler Kieselsäure, zeigten keine deutliche Resistenzerhöhung.

Zum Schluß unserer Versuche geben wir einen Vergleichsversuch mit einigen der als merklich resistenzerhöhend erkannten Stoffe (Tab. XVII).

Tabelle XVII.
Resistenzbeeinflussung durch Tannin, Pepton, Gelatine, Rohrzucker und Milchzucker.

		Einwirkungszeit							
		0 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	55 Min.	70 Min.	90 Min.	110 Min.
Tannin	0,001%	+++	+++	++	+	+	14	4	—
Gelatine	0,01%	+++	+++	++	+	18	1	—	—
Pepton	0,1%	+++	+++	++	++	+	+	10	—
Rohrzucker	1,17%	+++	+++	++	+	2	—	—	—
Milchzucker	1,17%	+++	++	++	+	—	—	—	—
Destilliertes Wasser.		+++	++	5	—	—	—	—	—

Wir sehen, daß die als günstig erkannten Konzentrationen von Tannin einerseits, Pepton und Gelatine andererseits etwa gleich stark, von Rohrzucker und Milhzucker dagegen etwas schwächer resistenzerhöhend wirken.

Aus unseren Versuchen ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß chemisch und physiologisch-chemisch ganz verschiedenartige Stoffe, wie Milhzucker, Rohrzucker, Gelatine, Pepton, Tannin, Alaun, Bacterium coli gegen Hitzeabtötung wesentlich resistenter machen. Wichtig erscheinen uns unsere Befunde vor allem auch aus dem Grunde, weil sie zeigen, daß ein scheinbar gleichgültiger Stoff in einen durch ein anderes schädliches Agens — in diesem Falle Hitze — *eingeleiteten Absterbevorgang entscheidend eingreifen kann*. Vielleicht lassen sich die von uns beobachteten Tatsachen zusammenfassen unter einem Gesichtspunkt, den wir beim Tannin schon ganz kurz berührt haben, nämlich dem, daß *der Absterbevorgang verändert wird bei geänderter kolloidchemischer Struktur der Bakterienoberfläche*. Es lassen sich hier vielleicht analoge Tatsachen aus der allgemeinen Physiologie bzw. Toxikologie zur Erklärung heranziehen. *Szücs* [zitiert nach *Handovsky*¹⁰] zeigte, daß die Membran von Spirogyrazellen durch *Aluminiumionen* für die Ein- und Ausfuhr von Stoffen (unter anderem Eisenverbindungen) undurchlässig wird. *Handovsky*¹⁰ wies nach, daß *Rohrzucker* bei Erythrocyten eine gelatinierende (dispersitätsgradvermindernde) Wirkung hat, und daß sich *Alkali* und *Erdalkalisalze* — besonders ausgeprägt Magnesiumsalze — *entgegengesetzt* verhalten. Es scheint uns somit aus unseren Versuchen hervorzugehen, daß eine *Resistenzerhöhung vielleicht mit einer Verdichtung, eine Resistenzverminderung dagegen mit einer Auflockerung* des Protoplasmas verknüpft ist.

Ob die im Hitzedesinfektionsversuch für Bact. coli nachgewiesenen Tatsachen der Resistenzänderung auch für andere Bakterien und andere Desinfektionsmittel Geltung haben, ist eine Frage, mit deren Untersuchung wir zur Zeit beschäftigt sind.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche beschäftigen sich mit dem Einfluß an sich unschädlich erscheinender Medien auf die Resistenz von Bac. coli gegenüber der Hitzeabtötung von 52°. Die Aufschwemmung von Bact. coli wurde so dünn gewählt, daß eine gegenseitige Schutzwirkung der Bakterien mit Hilfe der von *Pothoff* angegebenen Versuchsanordnung ausgeschlossen wurde. Resistenzänderungen wurden immer auf die Resistenz in destilliertem Wasser bezogen.

Im einzelnen konnten wir eine Resistenzhöhung nachweisen durch niedrige Konzentrationen der Disaccharide: Milhzucker, Rohrzucker,

der organischen hydrophilen Kolloide: Gelatine, Pepton, und der Gerbmittel: Tannin, Aluminiumchlorid, Alaun und Formaldehyd.

Eine deutliche Resistenzverminderung wurde festgestellt durch höhere Konzentrationen (beginnend etwa bei $n/_{10}$ -Lösungen) von NaBr, NaNO₃, KCl, CaCl₂, HgCl₂ und im schwach alkalischen Gebiet.

Als Erklärungsmöglichkeit für die Resistenzänderungen wurde ein kolloidchemische Strukturänderung der Bakterienoberfläche herangezogen.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ *Behring*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **9**, 395. 1880. — ²⁾ *Bechhold*, Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden 1921. — ³⁾ *Michaelis und Dernby*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig., **34**, 194. 1922. — ⁴⁾ *Fleischer und Amster*, erscheint in der Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. — ⁵⁾ *Reichenbach*, Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **89**, Heft 1/3. — ⁶⁾ *Ficker*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **29**, 1. 1898. — ⁷⁾ *Lange*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **96**, 92. 1922. — ⁸⁾ *Potthoff*, Desinfektion **6**, 10. 1921. — ⁹⁾ *v. Lingelsheim*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **31**, 131. 1901. — ¹⁰⁾ *Handovsky*, Klin. Wochenschr. **1**, 1541. 1922.

(Aus der Abteilung für Chemotherapie des Instituts für Infektionskrankheiten
„Robert Koch“.)

Zur chemotherapeutischen Biologie der Mikroorganismen.

II. Mitteilung.

Weitere Beobachtungen über chemotherapeutische Antiseptis und Zustandsänderungen der Streptokokken.

Von

J. Morgenroth und R. Schnitzer.

Die Untersuchungen, welche unserer ersten Mitteilung¹⁾ zugrunde lagen, betrafen die Empfindlichkeit von Streptokokken im virulenten und hämolytischen und avirulenten „grünen“ Zustände gegenüber den chemotherapeutischen Antiseptics Rivanol und Vuzin. In vergleichenden Reagensglasversuchen wurden hämolytische und *die von diesen abgeleiteten, durch kurze Tierpassage in den grünen Zustand übergeführten Stämme* geprüft. Die ausführlich mitgeteilten Versuche ergaben, daß die in ihrer Pathogenität für Mäuse stark abgeschwächten und durch grünes Wachstum auf der Blutagarplatte gekennzeichneten Streptokokkenstämme im Vergleich zu ihren hämolytischen Ausgangskulturen hinsichtlich der Empfindlichkeit gegen die genannten chemotherapeutischen Agenzien quantitativ verändert waren.

Diese Änderung der Beeinflußbarkeit, wie sie die vergrünenden Streptokokken im Reagensglasversuche zeigten, ließ sich den beiden untersuchten Mitteln gegenüber nicht einheitlich charakterisieren.

Streptokokken im grünen Zustände wurden durch Rivanol erst von wesentlich höheren Konzentrationen abgetötet als die entsprechenden hämolytischen Stämme. Die Empfindlichkeit der vergrünenden Stämme war in einem Falle 4 mal, in den übrigen 4 Versuchen 8 mal geringer.

Dem Vuzin gegenüber wurde im Gegensatz dazu bei den einzelnen Streptokokkenstämmen ein verschiedenes Verhalten festgestellt. Während 2 von den 5 untersuchten Stämmen im grünen Zustände um die Hälfte weniger empfindlich waren als im hämolytischen, wurde ein Stamm in beiden Zuständen gleich gut beeinflusst, zwei weitere ver-

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **91**, 77. 1922.

grünte Stämme erwiesen sich dem Vuzin gegenüber als 2 mal bzw. 4 mal empfindlicher als die zugehörigen hämolytischen Streptokokken.

Die Bedeutung der Vergrünung der Streptokokken liegt also nicht allein in der augenfälligen Änderung des hämolytischen Verhaltens und in der wesentlichen Tatsache, daß ihr pathogener Charakter weitgehend verändert ist, sondern sie zeigen auch eine Umstimmung der Empfindlichkeit gegen spezifisch wirkende chemotherapeutische Antiseptica. Dabei ist es von Wichtigkeit, daß es sich nicht um eine allgemeine Resistenzerhöhung der vergrünenden Stämme handelt, die ihnen gleichmäßig gegenüber allen chemischen Einwirkungen zukommt, sondern diese Umstimmung ist spezifischen Agenzien gegenüber verschieden. In Versuchen mit Rivanol erscheint sie stets als Empfindlichkeitsrückgang, bei Anwendung des Vuzins kann sowohl eine — immer nur mäßige — Abnahme der Empfindlichkeit, als auch eine Steigerung derselben eintreten.

Daß es sich bei diesen Befunden um Vorgänge handelt, die mit fast gesetzmäßiger Konstanz an zahlreichen Streptokokken sich reproduzieren lassen, soll in der vorliegenden Mitteilung gezeigt werden, in welcher wir über eine Reihe weiterer Streptokokkenstämmen¹⁾ berichten, die vergleichend im hämolytischen und grünen Zustande im Reagensglasversuche gegen Rivanol und Vuzin geprüft wurden. Als notwendige Ergänzung dieser Versuche wurden ferner 3 Stämme im Reagensglasversuche und im Tierversuche in parallelen Reihen eingestellt.

Im folgenden sollen zunächst neue Reagensglasversuche beschrieben werden, welche in gleichzeitigen Versuchsreihen an hämolytischen und den zugehörigen grünwachsenden Streptokokken angestellt worden sind. In den ersten Versuchen (1—4) sind wiederum Streptokokkenstämmen verwandt, die im Organismus der Maus vom hämolytischen in den grünen Zustand übergangen. Von den in der ersten Mitteilung beschriebenen Stämmen, welche sämtlich nach der von *Schnitzer* und *Munter*²⁾ angegebenen Methode innerhalb der ersten Stunden nach der Infektion von Mäusen vergrünt waren, unterscheiden sich die hier benutzten Stämme insofern, als sie erst nach einem Tage, in einem Falle sogar erst nach 3 Tagen aus der Bauchhöhle von subcutan infizierten und örtlich mit chemotherapeutischen Antiseptics behandelten Tieren gewonnen waren.

Eine weitere Reihe von Versuchen (5—9) wurde mit grünwachsenden Streptokokken angestellt, die bei fraktionierter Aussaat von einer Öse der ersten Serumbouillonkultur frisch vom Menschen gezüchteter

¹⁾ Für die liebenswürdige Überlassung der Streptokokkenstämmen sind wir Herrn Dr. K. Meyer, Leiter der bakteriologischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Dank verpflichtet.

²⁾ *Schnitzer* und *Munter*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93**, 96 u. **94**, 107. 1921.

hämolytischer Streptokokken auf Blutagar isoliert wurden. *Jacobsthal*¹⁾ hatte zuerst beschrieben, daß bei der Untersuchung von scheinbar einheitlichem Streptokokkenmaterial aus menschlichen Krankheitsprodukten durch fraktionierte Aussaat neben den hämolytischen auch öfter grüne Kolonien gefunden werden. *Schnitzer* und *Munter* haben dies bestätigt und (l. c.) zwei charakteristische Beispiele dafür mitgeteilt. Die systematische Untersuchung aller uns in den letzten Jahren zugegangenen Streptokokken in dieser Richtung hat gezeigt, daß bei annähernd 10% aller frisch vom Menschen gezüchteten Streptokokken in der ersten Serumbouillonkultur das Auftreten grüner Kolonien durch fraktionierte Aussaat nachgewiesen werden kann.

Die hier beschriebenen Versuche wurden mit Streptokokkenstämmen angestellt, die anlässlich derartiger Untersuchungen durch Abimpfung hämolytischer bzw. grüner Einzelkolonien gewonnen wurden und bei weiterer Fortzucht den hämolytischen bzw. grünen Zustand unverändert beibehielten.

Bei den Reagensglasversuchen kam die in unserem Laboratorium übliche und in der I. Mitteilung eingehend geschilderte Technik zur Anwendung.

Fallende Verdünnungen des Rivanols bzw. Vuzins in je 2 ccm Serumbouillon (10 proz. Pferdeserum) werden mit je 1 Tropfen 18—20stündiger verdünnter Serumbouillonkultur von Streptokokken beimpft; nach ca. 20stündiger Bebrütung wird von jedem Röhrchen 1 Öse auf Blutagar ausgestrichen (langer Impfstrich) und das Ergebnis des Versuches nach ca. 20stündiger Bebrütung der Platten abgelesen.

Da das Wachstum der vergrüneten Stämme vielfach wesentlich schwächer war, als das der entsprechenden hämolytischen Streptokokken, haben wir in einem Teil der Versuche verschiedene Kulturverdünnungen der gleichzeitig geprüften Stämme zur Einsaat anwenden müssen.

Um vergleichbare, zu möglichst gleichmäßiger Einsaat geeignete Verdünnungsabstufungen zu erhalten, wurden je 0,5 ccm der 18stündigen Serumbouillonkulturen in gleichweite Reagensgläser gefüllt. Der hämolytische Stamm wurde durch Zufügung von 4,5 ccm steriler Bouillon im Verhältnis 1 : 10 verdünnt, darauf dem vergrüneten Stamme so viel sterile Bouillon zugesetzt, daß die beiden Verdünnungen ungefähr gleichen Trübungsgrad aufwiesen. Es kamen von den vergrüneten Stämmen Kulturverdünnungen von 1 : 3 bis 1 : 6 zur Anwendung, wobei in keinem Falle die Aufschwemmung dieser Keime dichter, d. h. trüber war, als die der hämolytischen.

Zur Bezeichnung der Stärke des Streptokokkenwachstums auf der Blutagarplatte wenden wir die folgenden Zeichen an:

- 0 = kein Wachstum.
- (+) = bis 50 Kolonien.
- + = bis 200 Kolonien.
- ++ = zahlreiche, gut getrennte Kolonien.
- +++ = dichter Rasen konfluierender Kolonien.
- = nicht abgeimpft.

¹⁾ *Jacobsthal*, Ber. über d. 8. Tagung d. Fr. Vereinig. f. Mikrobiologie, Jena 1920; Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionskrankh., Orig., Abt. I, 85, 123 (Beiheft). 1921.

Übergänge zwischen den angegebenen Werten wurden durch Zufügung eingeklammerter Kreuze gekennzeichnet.

Versuch 1 mit Str. 157.

Str. 157, am 19. III. vom Rachenabstrich eines Falles von Angina gezüchtet, bildet auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien, in Serumbouillon wächst der Stamm klar mit flockigem Bodensatz.

Mit diesem Stamme, der bei weiterer regelmäßiger Fortzucht konstant im hämolytischen Zustande verbleibt, wird am 31. III. ein subcutaner Desinfektionsversuch angestellt. Eine größere Reihe von Mäusen wird subcutan am Bauche mit je 0,2 ccm einer 1 : 100 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur des Stammes infiziert und die Infektionsquaddel gleich darauf mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol umspritzt. Am folgenden Tage werden diese Mäuse sowie drei infizierte, nicht behandelte Kontrollmäuse getötet, sezirt und vom Subcutangewebe und aus der Bauchhöhle auf Blutagar abgeimpft. Bei der mit Rivanol 1 : 20 000 behandelten Maus erweist sich dabei das Subcutangewebe als steril, aus der Bauchhöhle wachsen aber noch reichlich grüne Kolonien, während von den übrigen mit zu geringen Rivanolkonzentrationen behandelten und den unbehandelten Mäusen dichter Rasen hämolytischer Kolonien wächst.

Eine grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon verimpft und der Stamm, der in der Folgezeit den grünen Zustand unverändert behält, regelmäßig fortgezüchtet.

11. IV. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglase gegen Rivanol und Vuzin.* Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen, je 1 Tropfen $\frac{1}{4}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes; beide Verdünnungen haben ungefähr gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

<i>I. Rivanol.</i>		
Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrüner Stamm
1 : 32 000	—	0
1 : 64 000	0	(+)
1 : 128 000	0	+++
1 : 256 000	+++	+++
Kontrolle	+++	+++
<i>II. Vuzin.</i>		
1 : 16 000	0	0
1 : 32 000	0	0
1 : 64 000	+++	+++

Der im Organismus der Maus vergrünte *Str. 157* (inwieweit die Rivanolbehandlung der Maus das Zustandekommen der Vergrünung begünstigt hat, läßt sich nicht sicher entscheiden), wird im Reagensglasversuche durch eine Rivanolverdünnung 1 : 32 000 abgetötet, während zur Abtötung des hämolytischen Stammes noch Rivanol in der Verdünnung 1 : 128 000 ausreicht. *Der vergrünte Stamm ist somit 4 mal weniger empfindlich.*

Im Reagensglasversuche mit Vuzin werden die beiden Stämme in gleicher Weise beeinflußt. Abtötung erfolgt durch die Konzentration 1 : 32 000.

Versuch 2 mit *Str. Ro.*

Str. Ro., aus Exsudat bei Kniegelenksentzündung gezüchtet, bildet auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien und wächst in Serumbouillon trübe mit Bodensatz.

7. III. wird mit dem Stamm, der bisher ständig hämolytisches Wachstum zeigte, ein *subcutaner Desinfektionsversuch*, analog dem im vorigen Versuche geschilderten, angestellt. Aus der Bauchhöhle einer Maus, die mit 0,2 ccm $1/10$ -Kultur des *Str. Ro.* subcutan am Bauche infiziert war und sofort mit 1 ccm des dem Rivanol nahestehenden 3-9-Diaminoacridinchlorhydrats¹⁾ 1:16 000 behandelt wurde, ergibt die am folgenden Tage vorgenommene Abimpfung reichlich grüne Kolonien. Aus dem Subcutangewebe dieser Maus war kein Wachstum von Streptokokken zu erzielen. Bei den übrigen ungenügend oder gar nicht behandelten Mäusen wuchs aus Subcutangewebe und Bauchhöhle dichter Rasen hämolytischer Kolonien.

Eine grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft; der so gewonnene grünwachsende Stamm behält diesen Zustand unverändert bei.

11. III. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglase gegen Rivanol und Vuzin.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $1/10$ -Kultur des hämolytischen, je 1 Tropfen $1/5$ -Kultur des grünwachsenden Stammes. Beide Verdünnungen haben ungefähr gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

<i>I. Rivanol.</i>		
Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrünter Stamm
1 : 16 000	—	<u>0</u>
1 : 32 000	—	30 Kol.
1 : 64 000	8 Kol.	+++
1 : 128 000	<u>7 Kol.</u>	+++
1 : 256 000	+++	—
Kontrolle	+++	+++
<i>II. Vuzin.</i>		
1 : 16 000	1 Kol.	<u>0</u>
1 : 32 000	<u>0</u>	+++
1 : 64 000	+++	+++

Str. Ro. wird in der Bauchhöhle einer subcutan infizierten und mit 3-9-Diaminoacridinchlorhydrat subcutan behandelten Maus in den grünen Zustand übergeführt. Im Reagensglasversuche mit Rivanol wird der vergrünte Stamm durch die Konzentration 1:16 000 abgetötet und durch 1:32 000 noch erheblich gehemmt. Der hämolytische Stamm wird durch Rivanol 1:128 000 noch praktisch abgetötet; *es erweist sich der vergrünte Stamm als mehr als 4mal weniger empfindlich.*

Auch gegenüber dem Vuzin ist in diesem Falle ein Rückgang der Empfindlichkeit um das Doppelte zu konstatieren.

¹⁾ Siehe *Morgenroth, Schnitzer und Rosenberg*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 44.

Versuch 3 mit Str. 350.

Str. 350, am 27. III. aus dem Blute eines Sepsiskranken gezüchtet, bildet auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien und wächst in Serumbouillon klar mit flockigem Bodensatz. Am 1. IV. wird mit dem Stamm, der bisher rein hämolytisches Wachstum zeigt, ein *subcutaner Desinfektionsversuch*, analog den zuvor geschilderten Versuchen angestellt. Aus der Bauchhöhle einer Maus, die subcutan am Bauche mit 0,2 ccm $\frac{1}{100}$ -Kultur des Str. 350 infiziert war und gleichzeitig örtlich mit 1 ccm Vuzin 1 : 16 000 behandelt wurde, werden bei der am 3. Tage (4. IV.) erfolgten Abimpfung neben einer hämolytischen Kolonie zahlreiche grüne Kolonien gezüchtet. Das Subcutangewebe dieser Maus war frei von Streptokokken, während die übrigen, ungenügend bzw. gar nicht behandelten Tiere bei der gleichzeitig vorgenommenen Abimpfung auf Blutagar dichten Rasen hämolytischer Streptokokken aus dem Subcutangewebe und der Bauchhöhle zeigten.

Am 5. IV. wird eine grüne Kolonie aus der Bauchhöhle auf Blutagar und in Serumbouillon verimpft und der so gewonnene Stamm bei regelmäßiger Überimpfung fortgezüchtet. Er behält den grünen Zustand unverändert bei.

11. IV. Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglase gegen Rivanol und Vuzin.

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen, je 1 Tropfen $\frac{1}{5}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes; beide Verdünnungen haben ungefähr gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar.

I. Rivanol.		
Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrünter Stamm
1 : 8 000	—	0
1 : 16 000	—	+++
1 : 32 000	0	+++
1 : 64 000	30 Kol.	+++
1 : 128 000	13 Kol.	—
1 : 256 000	+++	—
Kontrolle	+++	+++
II. Vuzin.		
1 : 16 000	0	0
1 : 32 000	+	0
1 : 64 000	+++	+++

Str. 350 wird aus der Bauchhöhle einer subcutan infizierten und gleichzeitig mit Vuzin behandelten Maus nach 3 Tagen im grünen Zustande wiedergewonnen. Im Reagensglasversuche mit Rivanol wird er nur durch eine Konzentration von 1:8000 abgetötet, während der hämolytische Stamm durch eine Rivanolkonzentration von 1:32 000 völlig und durch 1:64 000 und 1:128 000 fast völlig abgetötet wird. Der vergrünte Stamm hat also $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{16}$ der Rivanolempfindlichkeit seines hämolytischen Ausgangsstammes.

Ganz im Gegensatz dazu wirkt Vuzin auf den vergrünten Stamm besser als auf den hämolytischen. Die Konzentration 1:32 000, die den Stamm

im grünen Zustande noch völlig abtötet, führt beim hämolytischen Stamm nur zu einer noch gerade deutlichen Hemmung des Wachstums. Dieser Versuch zeigt besonders klar, daß es sich bei den hier beschriebenen Erscheinungen nicht um Festigungsphänomene spezifischer Art handeln kann. Der aus einem mit Vuzin behandelten Tiere gezüchtete vergrünte Stamm erweist sich gegenüber diesem Mittel als besser empfindlich, eine Erscheinung, die bei grünwachsenden Streptokokken jeder Provenienz beobachtet werden kann und bereits in unserer ersten Mitteilung beschrieben ist.

Versuch 4 mit Str. Tscha.

Str. Tscha., aus dem Blut eines Sepsiskranken gezüchtet, wächst in Serumbouillon klar mit flockigem Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Am 10. V. wird mit diesem Stamm, der bei *fraktionierter Aussaat keine grünen Kolonien abspaltete* und auch bei weiterer Fortzucht unverändert den hämolytischen Zustand behielt, ein *subcutaner Desinfektionsversuch* angestellt. Aus der Bauchhöhle einer Maus, die mit 0,2 ccm $\frac{1}{100}$ -Kultur subcutan am Bauche infiziert war und gleichzeitig mit 1 ccm 3-9-Diaminoacridinchlorhydrat 1 : 32 000 (vgl. Anmerkung zu Versuch 2) behandelt wurde, wachsen bei Abimpfung auf Blutagar am folgenden Tage *sehr zahlreich grüne Kolonien*, während aus anderen Mäusen desselben Versuches, insbesondere den Kontrollen dichter Rasen hämolytischer Kolonien gezüchtet wird.

Von einer grünen Einzelkolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und der so gewonnene Stamm regelmäßig fortgezüchtet. Er behält in der Folgezeit den grünen Zustand unverändert bei.

20. V. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes gegen Rivanol im Reagensglasversuche.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen, je 1 Tropfen $\frac{1}{3}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes. Beide Kulturverdünnungen haben annähernd gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

I. Rivanol.

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrünter Stamm
1 : 8 000	—	0
1 : 16 000	—	+++
1 : 32 000	—	+++
1 : 64 000	0	+++
1 : 128 000	0	—
1 : 256 000	0	—
Kontrolle	+++	+++

II. Vuzin.

1 : 8 000	0	—
1 : 16 000	4 Kol.	0
1 : 32 000	++	0
1 : 64 000	+++	++

Str. Tscha. wurde in der Bauchhöhle einer Maus, welche subcutan mit 0,2 ccm $\frac{1}{100}$ des hämolytischen Stammes infiziert und örtlich mit 1 ccm 3-9-Diaminocaridin 1:32 000 behandelt war, in den grünen Zustand übergeführt. *Der grünwachsende Stamm wird von Rivanol 1:8000 in vitro abgetötet, während bei dem hämolytischen Stamm noch eine 32 fache geringere Konzentration zur Abtötung ausreicht, wobei eine untere Grenze nicht erreicht wurde.*

Im Reagensglasversuch mit Vuzin kehren sich diese Verhältnisse um. Der vergrünte Stamm ist um das Doppelte (1:32 000) besser empfindlich als der hämolytische (1:16 000).

Die vier geschilderten Versuche zeigen, daß die in unserer I. Mitteilung beschriebenen Tatsachen auch bei diesen, aus behandelten Mäusen gezüchteten grünwachsenden Streptokokken Geltung haben. Inwieweit die Behandlung der Tiere mit chemotherapeutischen Agentien aus der Reihe der 9-Aminoacridine oder der Chinaalkaloide für das Zustandekommen der Vergrünung verantwortlich zu machen ist, kann ohne weiteres nicht entschieden werden. Die hier untersuchten grünwachsenden Streptokokken sind alle aus der Bauchhöhle der subcutan an Bauche infizierten und örtlich behandelten Mäuse gewonnen worden, und zwar war bei diesen Tieren die lokale Infektion völlig oder fast völlig beseitigt. Die physiologische Vergrünung, wie sie in der Bauchhöhle normaler Mäuse kurz nach der intraperitonealen Infektion stattfindet, mag durch die spezifische Behandlung unterstützt oder zum mindesten in ihrer Zeitdauer verlängert worden sein.

Bestimmte Veränderungen ihrer Empfindlichkeit im Sinne einer spezifischen Festigung haben die vergrünenden Streptokokken durch die Einwirkung der Antiseptica jedenfalls nicht gewonnen, wie wir am Beispiel der Vuzinempfindlichkeit des vergrünenden Str. 350 (Versuch 3) gezeigt haben.

Für die Richtigkeit dieser Annahme sprechen einerseits die Versuche an den ohne jede chemotherapeutische Beeinflussung vergrünenden Streptokokken unserer ersten Mitteilung, andererseits die jetzt zu schildernden Versuche an den aus hämolytischen Reinkulturen ohne Tierpassage gewonnenen grünwachsenden Stämmen.

Versuch 5 mit Str. 85.

Str. 85 wurde am 4. IV. bei der Sektion eines an Masern-Pneumonie gestorbenen Kindes aus dem Knochenmark einer Rippe gezüchtet und uns von Herrn Dr. Levinthal freundlichst überlassen.

Bei fraktionierter Aussaat einer Öse Serumbouillonkultur auf Blutagarplatten (vgl. Schnitzer und Munter, l. c. I. Mitteilung, S. 119) treten neben zarten, stark hämolytischen Kolonien grünwachsende Kolonien auf.

Je eine hämolytische und grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und bei täglicher Überimpfung weitergezüchtet. *Die beiden*

Stämme behalten ihren Zustand unverändert bei und spalten auch bei fraktionierter Aussaat nicht mehr ab.

21. IV. Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes *in vitro* mit Rivanol und Vuzin.

Da das Wachstum des grünen Stammes in ca. 18stündiger Serumbouillonkultur schwächer ist als das des hämolytischen, so werden zur Einsaat des Versuches je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen, bzw. je 1 Tropfen $\frac{1}{4}$ -Kultur des grünen Stammes verwandt, welche Verdünnungen gleichen Trübungsgrad zeigen.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis der Abimpfung auf Blutagar:

I. Rivanol.

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Grüner Stamm
1 : 32 000	—	0
1 : 64 000	0	10 Kol.
1 : 128 000	0	+++
1 : 256 000	(+)	—
1 : 512 000	+++	—
Kontrolle	+++	+++

II. Vuzin.

1 : 16 000	0	0
1 : 32 000	0	+++
1 : 64 000	+++	—

Der von dem hämolytischen Str. 85 spontan abgespaltene grünwachsende Stamm wird durch Rivanol in der Verdünnung 1:32 000 vollkommen, in der Verdünnung 1:64 000 fast vollkommen abgetötet. Der hämolytische Stamm wird dagegen noch durch eine Rivanolkonzentration von 1:128 000 abgetötet und auch bei 1:256 000 findet noch eine sehr starke Entwicklungshemmung statt. *Rivanol wirkt also auf den hämolytischen Stamm etwa doppelt so gut, die Differenz ist demnach nicht sehr erheblich.*

Auch durch Vuzin wird der hämolytische Stamm entsprechend besser beeinflusst (1:32 000), als der grünwachsende (1:16 000).

Versuch 6 mit Str. Eh.

Str. Eh., am 12. V. aus Eiter eines kalten Abscesses gezüchtet, wächst in Serumbouillon leicht trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte Kolonien mit starken hämolytischen Höfen.

Fraktionierte Aussaat am 14. V. von 1 Öse 18stündiger Serumbouillonkultur auf Blutagar ergibt neben zahlreichen, gut trennbaren hämolytischen Kolonien auf jeder der drei beimpften Platten 4—5 grüne Kolonien.

Von je einer hämolytischen und grünen Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und die beiden Stämme getrennt weitergezüchtet. Sie behalten den hämolytischen bzw. grünen Zustand unverändert bei.

18. V. Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes *in vitro* gegen Rivanol und Vuzin.

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen Stammes; je 1 Tropfen $\frac{1}{6}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes. Diese Verdünnungen haben ungefähr gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis der Abimpfung auf Blutagar:

			<i>I. Rivanol.</i>	
Konzentration			Hämolyt. Stamm	Grünwachsender Stamm
1 : 16 000			—	<u>0</u>
1 : 32 000			0	(+)
1 : 64 000			<u>0</u>	+++
1 : 128 000			40 Kol.	+++
1 : 256 000			+++	—
Kontrolle			+++	+++
			<i>II. Vuzin.</i>	
1 : 8 000			0	0
1 : 16 000			<u>3 Kol.</u>	<u>3 Kol.</u>
1 : 32 000			+++	+++

In diesem Versuche wird der spontan von dem hämolytischen Str. Eh. in der zweiten Bouillonkultur abgespaltene grünwachsende Stamm durch eine Rivanolkonzentration 1:16 000 völlig abgetötet, auch bei 1:32 000 ist das Wachstum noch erheblich gehemmt. Der hämolytische Stamm wird durch Rivanol in der Verdünnung 1:64 000 vollkommen abgetötet, 1:128 000 führt noch zu starker Hemmung der Entwicklung. *Rivanol wirkt also auf den hämolytischen Stamm ungefähr 4 mal besser als auf den grünwachsenden.*

Durch Vuzin werden demgegenüber beide Stämme in gleicher Weise beeinflusst, die abtötenden Konzentrationen erreichen aber nur mäßige Werte.

Versuch 7 mit Str. 339.

Str. 339 wurde am 4. VII. aus Eiter gezüchtet; der Stamm wuchs in Serumbouillon leicht trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildete er zarte, stark hämolytische Kolonien.

6. VIII. Der regelmäßig bei täglicher Überimpfung im Turnus Serumbouillon-Blutagar-Serumbouillon fortgezüchtete Stamm zeigte heute in der Aussaat einer Serumbouillonkultur vom 4. VIII. *neben zarten hämolytischen Kolonien einzelne grünwachsende Kolonien.*

Je eine hämolytische und grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und regelmäßig weitergezüchtet. Beide Stämme behalten bei weiterer Beobachtung den hämolytischen bzw. grünen Zustand bei.

11. VIII. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und grünwachsenden Stammes im Reagensglase gegen Rivanol und Vuzin.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur.

			<i>I. Rivanol.</i>	
Konzentration			Hämolyt. Stamm	Grünwachsender Stamm
1 : 320 000			<u>0</u>	<u>0</u>
1 : 640 000			+++	++
1 : 1 280 000			+++	+++
Kontrolle			+++	+++
			<i>II. Vuzin.</i>	
1 : 20 000			0	+
1 : 40 000			<u>0</u>	+++
1 : 80 000			+++	+++

Von dem hämolytischen Str. 339 werden nach ungefähr 4wöchiger Fortzüchtung bei täglicher Überimpfung aus einer 18stündigen Serumbouillonkultur einzelne grünwachsende Kolonien abgespalten. Der Vergleich der beiden aus Einzelkolonien gezüchteten Stämme ergibt, daß der hämolytische Stamm durch Rivanol in der Verdünnung 1:320 000 abgetötet wird, während zur Abtötung des grünwachsenden Stammes eine Konzentration von 1:32 000 erforderlich ist. *Der grünwachsende Stamm ist demnach um das 10fache weniger empfindlicher als im hämolytischen Zustand.*

Auch gegenüber Vuzin ist der Stamm im grünen Zustande um mehr als das Doppelte schlechter empfindlich, da die Konzentration 1:20 000 nur zur Hemmung der Entwicklung führt, während der hämolytische Stamm durch Vuzin 1:40 000 völlig abgetötet wird.

Versuch 8 mit Str. Fr.

Str. Fr., am 12. V. aus der Milz eines an „hämorrhagischer Sepsis“ gestorbenen Kranken gezüchtet, bildet auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien, in Serumbouillon wächst er klar mit flockigem Bodensatz.

Bei fraktionierter Aussaat am 14. V. von 1 Ose 18stündiger Serumbouillonkultur auf Blutagar werden neben den hämolytischen zwei grüne Kolonien gefunden.

Je eine hämolytische und grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und bei täglicher Überimpfung weitergezüchtet. Die Stämme behalten den hämolytischen bzw. grünen Zustand unverändert bei.

23. V. Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglase gegen Rivanol.

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen Stammes, je 1 Tropfen $\frac{1}{5}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes.

Die angewandten Kulturverdünnungen haben ungefähr gleichen Trübungsgrad. Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis bei Abimpfung auf Blutagar:

I. Rivanol.

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Konzentration	Grünwachs. Stamm
1 : 50 000	0	1 : 8 000	0
1 : 100 000	0	1 : 16 000	60 Kol.
1 : 200 000	+++	1 : 32 000	+++
Kontrolle	+++	Kontrolle	+++

Eine vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglasversuche gegen Vuzin wurde bereits 5 Tage vor dem eben beschriebenen Versuche angestellt. (18. V.) Als Einsaat diente je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen bzw. je 1 Tropfen $\frac{1}{4}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes, wobei die angewandten Verdünnungen ungefähr gleichen Trübungsgrad aufwiesen.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis der Abimpfung auf Blutagar:

II. Vuzin.

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Grünwachsender Stamm
1 : 16 000	0	0
1 : 32 000	++	(+)
1 : 64 000	+++	+++
Kontrolle	+++	+++

Der spontan von dem hämolytischen Str. Fr. abgespaltene grünwachsende Stamm wird von Rivanol in der Verdünnung 1:8000 völlig abgetötet, auch bei 1:16 000 tritt noch eine starke Hemmung der Entwicklung ein. Der hämolytische Stamm wird dagegen noch durch eine Rivanolkonzentration von 1:100 000 abgetötet. *Zur Erzielung einer gleichen Wirkung auf den grünwachsenden Stamm ist also eine ca. 12fach stärkere Konzentration erforderlich.*

Im Versuche mit Vuzin ist die Wirkung dieses Mittels auf den hämolytischen und grünwachsenden Stamm ungefähr gleich, aber in beiden Fällen unter der Norm (1:16 000).

Versuch 9 mit Str. 87.

Str. 87, am 20. IV. aus dem Mark einer Rippe bei der Sektion eines an Masernpneumonie gestorbenen Kindes gezüchtet.

Bei fraktionierter Aussaat von 1 Öse 18stündiger Serumbouillonkultur auf Blutagarplatten (vgl. Schnitzer und Munter, l. c. I. Mitteilung, S. 119) treten neben zarten Kolonien mit starken hämolytischen Höfen mittelgroße Kolonien auf, welche mit grüner Verfärbung des Blutagars wachsen.

Je eine hämolytische und grünwachsende Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft. Bei wiederholter fraktionierter Aussaat spalten beide Stämme keine andersartigen Kolonien mehr ab. Auch bei weiterer Fortzucht mit täglicher Überimpfung bleibt der hämolytische bzw. grüne Zustand beider Stämme unverändert.

26. IV. Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglasversuche gegen Rivanol und Vuzin.

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur des hämolytischen Stammes. Je 1 Tropfen $\frac{1}{4}$ -Kultur des grünwachsenden Stammes.

Diese Kulturverdünnungen haben annähernd gleichen Trübungsgrad.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis der Versuche bei Abimpfung auf Blutagar:

<i>I. Rivanol.</i>		
Konzentration	Hämolyt. Stamm	Grünwachsender Stamm
1 : 4 000	—	8 Kol.
1 : 8 000	—	0
1 : 16 000	—	<hr style="width: 50px; margin: 0 auto;"/> (—)
1 : 32 000	—	(—)
1 : 64 000	—	+++
1 : 128 000	0	+++
1 : 256 000	<hr style="width: 50px; margin: 0 auto;"/> 10 Kol.	—
1 : 512 000	+	—
Kontrolle	+++	+++
 <i>II. Vuzin.</i>		
1 : 8 000	0	0
1 : 16 000	<hr style="width: 50px; margin: 0 auto;"/> 0	<hr style="width: 50px; margin: 0 auto;"/> 10 Kol.
1 : 32 000	+++	+++

Der von dem hämolytischen Str. 87 spontan abgespaltene grünwachsende Stamm wird durch Rivanol in der Verdünnung 1:8000

abgetötet, 1 : 16 000 und 1 : 32 000 hemmen die Keimentwicklung stark. Der hämolytische Stamm wird dagegen noch durch die geringe Rivanolkonzentration 1 : 256 000 praktisch abgetötet und auch bei 1 : 512 000 ist die Entwicklungshemmung deutlich. *Str. 87 ist also im grünen Zustande um das 32fache weniger empfindlich als im hämolytischen Zustande.*

Im Gegensatz dazu wird durch Vuzin der hämolytische wie der grünwachsende Stamm durch die Konzentration 1 : 16 000 abgetötet.

Die Versuche an den grünwachsenden Streptokokken, die aus frischen Serumbouillonkulturen hämolytischer Streptokokken gezüchtet wurden, zeigen im Vergleich mit den Versuchen an den zugehörigen hämolytischen Stämmen, daß die Umstimmung der Empfindlichkeit gegenüber Rivanol und zum Teil auch Vuzin in analoger Weise ausgeprägt ist wie bei den im Organismus der Maus vergrüneten Streptokokken.

Zusammenfassend stellen wir in den beiden folgenden Tabellen (I und II) nochmals die Ergebnisse der vergleichenden Versuche dar. Außer den absoluten Zahlen der im Reagensglasversuch ermittelten Desinfektionswerte wurde für die hier untersuchten Stämme das Verhältnis:

Empfindlichkeit des hämolytischen Stammes : Empfindlichkeit des vergrüneten Stammes gleich Empfindlichkeitsquotient des vergrüneten Stammes errechnet.

Tabelle I.

Rivanol- bzw. Vuzinempfindlichkeit der im Tier vergrüneten Streptokokken.

Versuch	Streptokokken-Stamm	Abtötende Konzentration des Rivanols		Empfindlichkeitsquotient	Abtötende Konzentration des Vuzins		Empfindlichkeitsquotient
		hämolyt. Stamm	vergrünter Stamm		hämolyt. Stamm	vergrünter Stamm	
1	157	1 : 128 000	1 : 32 000	$\frac{1}{4}$	1 : 32 000	1 : 32 000	1
2	Ro.	1 : 128 000	1 : 16 000	$\frac{1}{8}$	1 : 32 000	1 : 16 000	$\frac{1}{2}$
3	350	1 : 32 000—128 000	1 : 8 000	$\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{16}$	1 : 16 000	1 : 32 000	$\frac{2}{1}$
4	Tscha	< 1 : 256 000	1 : 8 000	< $\frac{1}{32}$	1 : 16 000	1 : 32 000	$\frac{2}{1}$

Tabelle II.

Rivanol- bzw. Vuzinempfindlichkeit der spontan (auf Nährböden) vergrüneten Streptokokken.

Versuch	Streptokokken-Stamm	Abtötende Konzentration des Rivanols		Empfindlichkeitsquotient	Abtötende Konzentration des Vuzins		Empfindlichkeitsquotient
		hämolyt. Stamm	vergrünter Stamm		hämolyt. Stamm	vergrünter Stamm	
5	85	1 : 128 000	1 : 64 000	$\frac{1}{2}$	1 : 32 000	1 : 16 000	$\frac{1}{2}$
6	Eh.	1 : 64 000	1 : 16 000	$\frac{1}{4}$	1 : 16 000	1 : 16 000	$\frac{1}{1}$
7	339	1 : 320 000	1 : 32 000	$\frac{1}{10}$	1 : 40 000	> 1 : 20 000	< $\frac{1}{2}$
8	Fr.	1 : 100 000	1 : 8 000	$\frac{1}{12.5}$	1 : 16 000	1 : 16 000	$\frac{1}{1}$
9	87	1 : 256 000	1 : 8 000	$\frac{1}{32}$	1 : 16 000	1 : 16 000	$\frac{1}{1}$

Aus den tabellarischen Übersichten ergibt sich, in voller Übereinstimmung mit den Beobachtungen der I. Mitteilung, daß die vergrünenden Stämme verglichen mit ihren entsprechenden hämolytischen Kulturen stets einen Rückgang der spezifischen Empfindlichkeit gegenüber Rivanol erleiden. Die Abnahme der Beeinflussbarkeit ist in einem Falle nur $\frac{1}{2}$, in 2 Fällen $\frac{1}{4}$, in 4 Fällen $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{16}$ und 2 mal $\frac{1}{32}$.

Daß die verschiedene Verdünnung der Einsaat, die aus den oben erwähnten Gründen vorgenommen werden mußte, innerhalb gewisser, ziemlich weiter Grenzen, keine Rolle spielt, haben Morgenroth und Tugendreich¹⁾ für die Wirkung der Chinaalkaloide, Browning und Gulbransen²⁾ für das Trypaflavin und kürzlich Br. Lange³⁾ ganz allgemein für die Desinfektionswirkung überhaupt gezeigt. Dies ist auch aus den mit Vuzin angestellten Versuchen deutlich zu ersehen, da, unabhängig von der Größe der Einsaat, analog den früher mitgeteilten Beobachtungen, Vuzin auf die vergrünenden Streptokokken nur bei 3 Stämmen $\frac{1}{2}$ mal schlechter wirkte als in den Versuchen mit den entsprechenden hämolytischen Kulturen. In 4 Fällen wurden hämolytische und grünwachsende Streptokokken gleich gut beeinflusst, 2 mal trat eine Verbesserung der Wirkung auf die vergrünenden Stämme um das Doppelte ein.

Betrachten wir die absoluten Zahlen der zur Abtötung der vergrünenden Streptokokken erforderlichen Konzentrationen des Vuzins und des Rivanols, so ergibt sich, daß für das erstgenannte Mittel keine sehr beträchtlichen Schwankungen bei den hier untersuchten Stämmen zu verzeichnen waren. Die wirksamen Konzentrationen liegen, wie auch bei den hämolytischen Stämmen, zwischen 1: 16 000 und 1: 32 000. Die nach allen bisherigen Erfahrungen abnorm niedrigen Werte des Vuzins bei hämolytischen Streptokokken, die wir schon in unserer I. Mitteilung hervorgehoben haben und auf den höheren Eiweißgehalt der Nährböden zurückführten, lassen doch an die Möglichkeit denken, daß auch die hämolytischen Streptokokken im Stadium der Vergrünung gewisse Veränderungen ihrer Empfindlichkeit gegen Vuzin aufweisen, die sich in einer auffallenden Resistenz gegen das Mittel äußern.

Rivanol wirkt auf einzelne vergrünende Stämme erst in der Verdünnung 1: 8000 (4 Versuche), 2 mal in der Verdünnung 1: 16 000, bei 2 Stämmen in der Konzentration 1: 32 000 und 1 mal reicht 1: 64 000 zur Abtötung aus. Dies deutet darauf hin, daß die verschiedenen grünwachsenden Streptokokken sich dem Rivanol gegenüber verschieden verhalten können und zuweilen Empfindlichkeitsgrade erreichen, die auch gelegentlich (s. hier Versuch 3 und 6) bei der Untersuchung hämolytischer Stämme gefunden werden.

¹⁾ Morgenroth und Tugendreich, Biochem. Zeitschr. **79**, 257. 1917.

²⁾ Browning und Gulbransen, Brit. Journ. of exp. pathol. **2**, 95. 1921.

³⁾ Br. Lange, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **96**, 92. 1922.

Von diesen Beobachtungen ausgehend, haben wir neuerdings in größerem Umfange Versuche an zahlreichen grünwachsenden Streptokokken verschiedener Provenienz unternommen, die zu einer gewissen chemotherapeutischen Abgrenzung und Definition dieser Keime führten und über die später ausführlich berichtet werden soll.

Die Tatsache, daß Streptokokken in ihren verschiedenen Zuständen von chemotherapeutischen Agenzien im Reagensglas verschieden beeinflußt werden, daß insbesondere weniger empfindliche Modifikationen auftreten können, kann für die Praxis der chemotherapeutischen Antisepsis von Bedeutung sein. Allerdings — und das haben die neueren Untersuchungen *Morgenroths* und seiner Mitarbeiter gelehrt¹⁾ — ist es a priori nicht möglich, aus der geringeren Empfindlichkeit der grünwachsenden Streptokokken in vitro auch auf eine schlechtere Beeinflußbarkeit im lebenden, bakteriell infizierten Gewebe zu schließen. Denn dem Reagensglasversuche, so wertvoll seine Ergebnisse auch für die Gewinnung bestimmter theoretischer Vorstellungen sein mögen, kommt für die Beurteilung praktisch brauchbarer chemotherapeutischer Antiseptica nur eine bedingte Bedeutung zu. Die Eignung eines Chemotherapeuticums zur allgemeinen wie örtlichen Behandlung bakterieller Infektionen beim Menschen muß auf dem Tierversuche beruhen, der sehr wohl als ein Modell der therapeutischen Anwendung beim Menschen gelten kann.

Im folgenden sollen einige vergleichende Reagensglas- und Tierversuche an hämolytischen und den von ihnen abgeleiteten vergrünenden Streptokokken beschrieben werden. Zum Tierversuch verwandten wir die von *Morgenroth* und *Abraham*²⁾ ausgearbeitete Methode des subcutanen Desinfektionsversuches an der Streptokokkenphlegmone der Maus. Bei derartigen Versuchen bietet die geringe Pathogenität der vergrünenden Stämme oft beträchtliche Schwierigkeiten, da man — wie schon *Schnitzer* und *Munter* (l. c.) gezeigt haben — zur Erzielung gut ausgebildeter Phlegmonen, die von hämolytischen Streptokokken in Kulturverdünnungen 1:100 bis 1:1000 erzeugt werden, bei den vergrünenden Stämmen stets unverdünnte Serumbouillonkulturen verwenden muß.

Es kann daher als Vergleichsobjekt nicht die Infektionsdosis, sondern nur ihr pathologisches Produkt im Subcutangewebe, die Phlegmone der Bauchdecken gelten. Bei den hier geschilderten Versuchen war trotz der oft wesentlich höheren Dosis die von den grünwachsenden Streptokokken hervorgerufene Phlegmone meist schwächer ausgebildet

¹⁾ *Morgenroth*, *Schnitzer* und *Rosenberg*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 44. — *Schnitzer* und *Rosenberg*, Klin. Wochenschr. 1922, S. 2383.

²⁾ *Morgenroth* und *Abraham*, Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 3, S. 57.

als die bei Infektion mit kleinerer Dosis hämolytischer Streptokokken auftretende.

Im einzelnen gestaltete sich die Ausführung der Versuche folgendermaßen.

In den Versuchen mit hämolytischen Streptokokken wurden Mäuse mit je 0,2 ccm verdünnter ca. 18stündiger Serumbouillonkultur subcutan am Bauche infiziert und die Infektionsquaddel sofort mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol umspritzt.

Von den wesentlich weniger pathogenen vergrüneten Stämmen wurden je 0,2—0,3 ccm unverdünnter ca. 18stündiger Serumbouillonkultur subcutan am Bauche injiziert und dann in gleicher Weise mit je 1 ccm abgestufter Verdünnungen von Rivanol umspritzt.

Alle Versuchstiere jeder Serie und außerdem 2—3 infizierte, aber nicht behandelte Kontrollmäuse wurden am folgenden Tage getötet, sezirt und von ihrem Subcutangewebe mit Glasspateln auf Blutagar abgeimpft.

Die folgenden Versuchsprotokolle zeigen das Ergebnis der Abimpfung, wobei zur Bezeichnung der Stärke des Streptokokkenwachstums die oben angeführten Zeichen zur Anwendung kommen.

Versuch 10 mit Str. 19.

Str. 19 war ein spontan grünwachsender Stamm, der aus Urin gezüchtet wurde; er wuchs auf Blutagar in zarten Kolonien mit grüner Verfärbung des Nährbodens, in Serumbouillon klar mit flockigem Bodensatz. Der Stamm (eine ausführliche Beschreibung siehe bei *Fr. Pulvermacher*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 89. 1922) wurde in Pferdeserum nach *Ungermann* konserviert. Eine nach 2 Wochen von diesem Serum gewonnene Kultur schlug nach fünf Nährbodenpassagen (Blutagar-Serumbouillon-Blutagar usw.) in den hämolytischen Zustand um. Von einer hämolytischen Einzelkolonie wurde ein — wesentlich virulenterer — Stamm weitergeführt, ebenso von einer grünen Einzelkolonie.

8. III. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes in vitro gegen Rivanol.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{100}$ Kultur.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Grünwachsender Stamm
1 : 16 000	0	0
1 : 32 000	0	0
1 : 64 000	0	++
1 : 128 000	+++	+++
Kontrolle	+++	+++

Im Reagensglasversuch mit Rivanol war der grünwachsende Stamm nur 2 mal weniger empfindlich als der Stamm im hämolytischen Zustande.

Am folgenden Tage, dem 9. III. wurde eine vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im subcutanen Desinfektionsversuch vorgenommen. Da der hämolytische Stamm wesentlich höhere Tierpathogenität zeigte als der grünwachsende, und besonders bei letzterem zur Erzielung ausreichender Infektionen die Verwendung von unverdünnter Serumbouillonkultur erforderlich war, so mußten für die beiden Versuchsreihen verschiedene Infektionsdosen gewählt werden.

Die Versuche gestalteten sich im einzelnen folgendermaßen:

8 Mäuse werden *subcutan am Bauche* infiziert mit je 0,2 ccm 1 : 500 verdünnter 18stündiger Serumbouillonkultur des *hämolytischen Stammes*. Bei 5 Mäusen erfolgt sofort die *örtliche Umspritzung mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol*. 3 Mäuse bleiben unbehandelt als Kontrollen.

6 weitere Mäuse werden *subcutan am Bauche* infiziert mit je 0,2 Serumbouillonkultur des *grünwachsenden Stammes*. Bei 3 Mäusen *sofort örtliche Umspritzung mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol*. 3 Mäuse bleiben unbehandelt als Kontrollen. Am nächsten Tage werden alle Tiere getötet, seziiert und vom Subcutangewebe auf Blutagar abgeimpft.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

1. Versuch mit dem *hämolytischen Stamm*.

Maus Nr.	Konzentration des Rivanols	Subcutangewebe auf Blutagar
1	1 : 10 000	0
2	1 : 20 000	0
3	1 : 40 000	(+)
4	1 : 80 000	0
5	1 : 160 000	+++
6	Kontrolle	+++
7	„	+++
8	„	+++

2. Versuch mit dem *grünwachsenden Stamm*.

9	1 : 500	+
10	1 : 1000	(+)
11	1 : 2000	+++
12	Kontrolle	+++
13	„	+++
14	„	+++

Der ursprünglich grünwachsende Str. 19 spaltet nach seiner Konservierung auf Pferdeserum bei weiterer Fortzüchtung *hämolytische Kolonien* ab. Der von diesen gewonnene Stamm zeichnet sich durch wesentlich höhere Pathogenität für Mäuse aus. Im Reagensglasversuche mit Rivanol wird der grünwachsende Stamm durch die Konzentration 1 : 32 000 abgetötet, der *hämolytische* durch Rivanol 1 : 64 000. *Es ist also der Stamm im grünen Zustande nur 1/2mal so empfindlich.*

Im *subcutanen Desinfektionsversuch* wird der *hämolytische Stamm* noch durch Rivanol in der Verdünnung 1 : 80 000 im Gewebe abgetötet, wobei einmal bei der Verdünnung 1 : 40 000 ein spärliches Wachstum von Streptokokken (ca. 50 Kolonien) erfolgt. *Der grünwachsende Stamm, von welchem zur Erzielung eines ausreichenden Infektion eine wesentlich größere Dosis injiziert werden muß als vom hämolytischen, wird durch Rivanol 1:500 und 1:1000 nur in seiner Entwicklung im Gewebe gegenüber den Kontrollen stark gehemmt, jedoch nicht völlig abgetötet.*

Versuch 11 mit Str. 51.

Str. 51, aus einem Tonsillarabsceß gezüchtet, wurde uns am 12. IV. von Herrn Prof. *U. Friedemann* freundlichst überlassen. Der Stamm bildet auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien, in Serumbouillon wächst er trübe mit Bodensatz.

Bei *fraktionierter Aussaat* von 1 Öse 18stündiger Serumbouillon auf Blutagar *findet keine Abspaltung grüner Kolonien statt.*

Am 26. V. wird mit diesem Stamme, der immer stark hämolytisches Wachstum zeigte, ein subcutaner Desinfektionsversuch mit Rivanol angestellt. Vom Subcutangewebe einer mit 0,2 ccm 1 : 100 verdünnter Serumbouillonkultur infizierten und lokal mit Rivanol 1 : 20 000 umspritzten Maus wuchs bei Abimpfung am nächsten Tage auf Blutagar *eine grüne Kolonie.* Die ungenügend oder gar nicht behandelten Mäuse dieses Versuches zeigten Wachstum dichten Rasens hämolytischer Streptokokken.

Die eine grüne Kolonie wird auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft. Der so gewonnene grünwachsende Stamm wächst klar mit zähem Bodensatz. Bei weiterer Fortzucht behält er den grünen Zustand unverändert bei.

8. VI. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des grünwachsenden Stammes im Reagensglasversuche gegen Rivanol.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrünter Stamm
1 : 10 000	—	0
1 : 20 000	—	0
1 : 40 000	—	+++
1 : 80 000	0	+++
1 : 160 000	0	—
1 : 320 000	+++	—
1 : 640 000	+++	—
Kontrolle	+++	+++

Der grünwachsende Stamm ist demnach 8 mal weniger empfindlich gegenüber Rivanol als der hämolytische.

Am Tage zuvor (7. VI.) war ein vergleichender subcutaner Desinfektionsversuch an der Maus angestellt worden.

Wegen der stets und auch hier vorhandenen wesentlich geringeren Pathogenität des vergrünten Stammes für Mäuse mußten verschiedene Infektionsdosen gewählt werden. Während eine 1 : 100 verdünnte Serumbouillonkultur des hämolytischen Stammes zur Erzeugung einer ausgehenden Phlegmone ausreichte, war von dem grünwachsenden Stamme die Anwendung von unverdünnter Kultur erforderlich.

Im einzelnen gestaltete sich die Versuchsanordnung folgendermaßen.

8 Mäuse werden subcutan am Bauche infiziert mit je 0,2 ccm 1 : 100 verdünnter 18stündiger Serumbouillonkultur des hämolytischen Stammes. Bei 5 Mäusen sofortige örtliche Umspritzung mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol. 3 Mäuse bleiben unbehandelt als Kontrollen.

6 weitere Mäuse werden subcutan am Bauche infiziert mit je 0,3 ccm unverdünnter Serumbouillonkultur des grünwachsenden Stammes, wobei 4 Mäuse sofort mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol örtlich behandelt werden; 2 unbehandelte Kontrollen.

Alle Mäuse am folgenden Tage getötet, seziiert und vom Subcutangewebe auf Blutagar abgeimpft.

Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis der Abimpfung auf Blutagar:

1. Versuch mit dem hämolytischen Stamm.

Maus Nr.	Konzentration des Rivanols	Subcutangewebe auf Blutagar
1	1 : 10 000	0
2	1 : 20 000	0
3	1 : 40 000	0
4	1 : 80 000	+++
5	1 : 160 000	+++
6	Kontrolle	+++
7	„	+++
8	„	+++

2. Versuch mit dem vergrünten Stamm.

9	1 : 1 000	0
10	1 : 5 000	(+)
11	1 : 10 000	+++
12	1 : 20 000	++
13	Kontrolle	++
14	„	+++

Der hämolytische Str. 51 wird im Subcutangewebe der Maus unter der Einwirkung des Rivanols in den grünen Zustand übergeführt. Der so vergrünte Stamm wird im Reagensglasversuche von Rivanol in der Konzentration 1:20 000 abgetötet, während zur Abtötung des hämolytischen Stammes eine Rivanolverdünnung 1:160 000 ausreicht. *Der Stamm ist also im grünen Zustande 8mal weniger empfindlich.*

Auch im lebenden Gewebe ist, wie der subcutane Desinfektionsversuch zeigt, der vergrünte Stamm schlechter beeinflussbar. *Gegenüber dem hämolytischen Stamme, der durch Rivanol 1:40 000 im Gewebe abgetötet wird, ist beim vergrünten Stamme eine Konzentration 1:1000 erforderlich, während 1:5000 noch zu erheblicher Hemmung des Streptokokkenwachstums führt.*

Trotz der großen Infektionsmenge ging bei einem der beiden Kontrolltiere die Infektion nur schwach an; aus diesem Verhalten ist auch der etwas unregelmäßige Ausfall des Versuches zu erklären.

Versuch 12 mit Str. 45.

Str. 45, am 1. IV. aus Exsudat bei Kniegelenkentzündung gezüchtet, wächst in Serumbouillon leicht trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Bei der wiederholt vorgenommenen fraktionierten Aussaat werden niemals grüne Kolonien abgespalten.

Am 1. VII. werden 3 Mäuse mit je 0,3 ccm einer 1 : 10 Millionen verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur intraperitoneal infiziert und nach 2 bzw. 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft. *Es wuchsen aus der Niere einer nach 3 Stunden gelöteten und bakteriologisch untersuchten Maus grüne Kolonien.*

Von einer grünen Einzelkolonie wurde auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft.

Gegenüber dem hochvirulenten hämolytischen Ausgangsstamm (binnen 48 Stunden tödliche Dosis 0,3 ccm 1 : 10 Millionen Serumbouillonkultur bei intraperitonealer Infektion) war der grünwachsende Stamm vollkommen avirulent. (0,5 ccm Serumbouillonkultur töteten bei intraperitonealer Infektion nicht.)

Der hämolytische Ausgangsstamm, sowie der grünwachsende Stamm werden in Pferdeserum nach *Ungermann* konserviert.

Am 24. VII. wird der hämolytische Stamm aus einem Serumröhrchen vom 13. VI., der vergrünte Stamm aus einem Serumröhrchen vom 4. VII. auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und beide in üblicher Weise fortgezüchtet.

26. VII. *Vergleichende Einstellung des hämolytischen und des vergrünten Stammes im Reagensglase gegen Rivanol.*

Einsaat: Je 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Kultur.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar.

Konzentration	Hämolyt. Stamm	Vergrüner Stamm
1 : 32 000	—	(+)
1 : 64 000	0	+++
1 : 128 000	0	+++
1 : 256 000	+++	+++
Kontrolle	+++	+++

Im Reagensglasversuche mit Rivanol erweist sich der *vergrünte Stamm als über 8 mal weniger empfindlich als der hämolytische Ausgangsstamm.*

Gleichzeitig wurde mit den beiden Stämmen eine *vergleichende Einstellung im subcutanen Desinfektionsversuche* vorgenommen.

Die hohe Virulenz des hämolytischen Stammes im Gegensatz zu der geringen Pathogenität, welche dem vergrünten Stamm für Mäuse zukam, erforderte wieder in den Versuchen die Anwendung verschiedener Infektionsmengen. Im einzelnen gestalteten sich die Versuche folgendermaßen:

7 Mäuse werden subcutan am Bauche infiziert mit je 0,2 ccm 1 : 5000 verdünnter 18stündiger Serumbouillonkultur des hämolytischen Str. 45. Bei 4 Mäusen erfolgt gleichzeitig die örtliche Umspritzung mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol. 3 Mäuse bleiben unbehandelt als Kontrollen.

8 weitere Mäuse werden subcutan am Bauche infiziert mit 0,3 ccm Serumbouillonkultur des grünwachsenden Stammes. 5 Mäuse werden sofort örtlich behandelt mit je 1 ccm fallender Verdünnungen von Rivanol. 3 Mäuse bleiben unbehandelt als Kontrollen. Alle Mäuse werden am nächsten Tage getötet, sezirt und vom Subcutangewebe auf Blutagar abgeimpft.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis des Versuches bei Abimpfung auf Blutagar:

1. Versuch mit dem hämolytischen Stamm.

Maus Nr.	Konzentration des Rivanols	Subcutangewebe auf Blutagar
1	1 : 10 000	3 hämolyt., 7 grüne Kol.
2	1 : 20 000	0
3	1 : 40 000	+++
4	1 : 80 000	+++
5	Kontrolle	+++
6	„	+++
7	„	+++

2. Versuch mit dem vergrünten Stamm.

8	1 : 5 000	11 Kol.
9	1 : 10 000	9 Kol.
10	1 : 20 000	+++
11	1 : 40 000	++
12	1 : 80 000	+++
13	Kontrolle	+++
14	„	+++
15	„	+++

Der hochvirulente, hämolytische Str. 45 wird durch kurze Passage durch den Mäuseorganismus in eine avirulente Form übergeführt, die durch grünes Wachstum auf der Blutagarplatte gekennzeichnet ist¹⁾. Der hämolytische, sowie der vergrünte Stamm werden einige Wochen auf Pferdeserum nach *Ungermann* konserviert und dann auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Rivanol in vitro und im Tierversuch vergleichend geprüft. Dabei ergibt sich, daß der grünwachsende Stamm im Reagensglase durch Rivanol 1:32 000 nicht völlig abgetötet wird, während auf den hämolytischen Stamm noch Rivanol 1:128 000 völlig abtötend wirkt. *Im grünen Zustande ist der Stamm also mehr als 4 mal weniger empfindlich.*

Im subcutanen Desinfektionsversuche bewirkt Rivanol 1:10 000 praktisch Abtötung des grünwachsenden Stammes im Gewebe. Auf den hämolytischen Stamm wirkt noch Rivanol 1:20 000, wobei allerdings bei 1:10 000 einzelne Kolonien auftreten, die zum Teil vergrünt sind.

Von den hier beschriebenen, im Reagensglas- und Tierversuche geprüften Streptokokken im grünen Zustande ist der eine (Str. 19) ein spontan grüner Stamm, der später einen hämolytischen Stamm abspaltete. Der zweite (Str. 51) ist im subcutanen Desinfektionsversuch unter der Einwirkung von Rivanol vergrünt, während der dritte Streptokokkus (Str. 45) nach *Schnitzer* und *Munter* durch kurze Tierpassage in den grünen Zustand übergeführt wurde.

¹⁾ Eine ausführliche Schilderung des hier kurz skizzierten Vergrünungsversuches erfolgt durch *Schnitzer* und *Munter* an anderer Stelle.

Von diesen 3 Stämmen ist Str. 19 *in vitro* im grünen Zustande 2 mal weniger empfindlich gegen Rivanol als der entsprechende hämolytische Stamm; der vergrünte Str. 51 ist 8 mal weniger empfindlich als im hämolytischen Zustande, Str. 45 grün mehr als 4 mal schlechter beeinflussbar.

Diesen Werten entsprechen die Ergebnisse der subcutanen Desinfektionsversuche nicht. Hier finden wir einen Stamm (Str. 19), der in hohem Grade unempfindlich ist; selbst die sehr starken Konzentrationen 1:500 und 1:1000 bewirken nur erhebliche Entwicklungshemmung, aber keine völlige Abtötung, während der hämolytische Stamm durch Rivanol 1:80 000 im Gewebe abgetötet wird.

Im Versuch mit Str. 51 tötet Rivanol 1:1000 die grünwachsenden Streptokokken noch völlig ab, 1:5000 bewirkt stärkste Hemmung; im hämolytischen Zustande wird der Stamm noch von Rivanol 1:40 000 beeinflusst.

Bessere Empfindlichkeit zeigt der vergrünte Str. 45, der durch die Rivanolverdünnung 1:10 000 im Gewebe abgetötet wird, während auf den hämolytischen Stamm 1:20 000 wirkt.

Dieser Stamm ist also im grünen Zustande nur $\frac{1}{2}$ mal weniger empfindlich als im hämolytischen.

In der folgenden Tabelle stellen wir die absoluten Werte der abtötenden Konzentrationen im Reagensglase und im Tierversuche mit den zugehörigen Empfindlichkeitsquotienten zusammen.

Tabelle III.

Empfindlichkeit der hämolytischen und vergrünerten Streptokokken gegen Rivanol im Reagensglas- und Tierversuche.

Versuch	Streptokokken-Stamm	Abtötende Konzentration <i>in vitro</i>		Empfindlichkeitsquotient	Abtötende Konzentration im Gewebe		Empfindlichkeitsquotient
		hämolytischer Stamm	vergrünter Stamm		hämolytischer Stamm	vergrünter Stamm	
10	19	1 : 64 000	1 : 32 000	$\frac{1}{2}$	1 : 80 000	> 1 : 500	$< \frac{1}{100}$
11	51	1 : 160 000	1 : 20 000	$\frac{1}{8}$	1 : 40 000	1:1000 bis 1:5000	$\frac{1}{40}$
12	45	1 : 128 000	> 1 : 32 000	$< \frac{1}{4}$	1 : 20 000	1 : 10 000	$\frac{1}{2}$

Die Tabelle zeigt, daß, verglichen mit der Wirkung des Rivanols auf hämolytische Streptokokken, im Tierversuch die Empfindlichkeit der vergrünerten Streptokokken in 2 Fällen ganz wesentlich, einmal aber nur in geringem Grade herabgesetzt ist.

Ein Blick auf die Werte der Empfindlichkeitsquotienten, die *in vitro* und im Tierversuche gefunden wurden, lehrt jedoch, daß engere quantitative Beziehungen zwischen den Ergebnissen beider Versuchsmethoden nicht bestehen. Zwar ist die geringere Empfindlichkeit vergrünter Streptokokken gegen Rivanol im Reagensglase und im Gewebe nachzuweisen, es ist weiterhin aus den Tierversuchen zu ersehen, daß auch hier die

verschiedene Empfindlichkeit verschiedener grünwachsender Streptokokken zum Ausdruck kommt, wie schon oben aus den Reagensglasversuchen geschlossen wurde, *jedoch ergibt der Vergleich von Reagensglas- und Tierversuch, daß diese verschiedenen Grade der Empfindlichkeit in vitro einerseits, im Gewebe andererseits nicht übereinstimmen*. Guter Beeinflussbarkeit in vitro entspricht keineswegs auch gute Empfindlichkeit im Gewebe, dagegen kann ein im Reagensglasversuch relativ unempfindlicher Stamm sich im Tierversuch als gut empfindlich erweisen. Auch hier muß also letzten Endes für die praktische Anwendung beim Menschen der Tierversuch entscheiden.

Es dürfte aber für die Praxis der chemotherapeutischen Antisepsis nicht ohne Bedeutung sein, *daß nach unseren bisherigen experimentellen Erfahrungen an vom Menschen gezüchteten Streptokokken verringerte Empfindlichkeit gegen sonst hochwirksame Chemotherapeutica stets mit einer erheblichen Abnahme der Pathogenität der betreffenden Keime für Mäuse verbunden ist*. Vielleicht beruhen die klinischen Beobachtungen an tiefenantiseptisch behandelten Fällen, bei denen gute klinische Heilung trotz der Anwesenheit von Mikroorganismen erzielt wurde, auf Vorgängen, die mit den hier experimentell nachgeahmten identisch sind. Trotzdem muß an der Forderung festgehalten werden, beim Menschen derartige Konzentrationen chemotherapeutischer Antiseptica anzuwenden, die in ihrer Wirksamkeit auch minder empfindliche Modifikationen der Streptokokken wirksam beeinflussen.

Vor allem ist auch dafür zu sorgen, daß wirksame Konzentrationen, z. B. des Rivanols, lange genug, d. h. für eine Reihe von Tagen einwirken, um auch evtl. gerade unter der Einwirkung des Desinfektionsmittels entstehende, wahrscheinlich wenig pathogene, aber auch wenig empfindliche, unter Umständen in verschwindender Minorität befindliche Modifikationen antiseptisch zu beherrschen.

Zusammenfassung.

1. Grünwachsende Streptokokken, die aus hämolytischen Kulturen im Tierversuch unter der Einwirkung chemotherapeutischer Antiseptica gewonnen waren, und solche, die spontan von hämolytischen, frisch vom Menschen gezüchteten Stämmen abgespalten wurden, zeigen, im Reagensglasversuch verglichen mit ihren hämolytischen Ausgangsstämmen, entsprechend den in der I. Mitteilung niedergelegten Erfahrungen, chemotherapeutischen Agenzien gegenüber ein abweichendes Verhalten.

2. Die Empfindlichkeit gegen Rivanol ist bei Streptokokken im grünen Zustande stets herabgesetzt. Der Rückgang der Beeinflussbarkeit weist verschiedene Grade auf und umfaßt Werte von $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{32}$ der Empfindlichkeit der entsprechenden hämolytischen Stämme.

3. Die Empfindlichkeit grünwachsender Streptokokken gegen Vuzin ist nicht gleichsinnig verändert. Die Stämme werden teils nur mäßig schlechter beeinflusst als ihre hämolytischen Ursprungskulturen ($1/2$), teils ist die Wirkung des Vuzins auf beide Stämme gleich. Einzelne grünwachsende Streptokokken werden besser beeinflusst als im hämolytischen Zustand.

4. Auch im subcutanen Desinfektionsversuche an der Maus steht die Wirkung des Rivanols auf vergrünte Stämme hinter der auf die entsprechenden hämolytischen zurück. Verschiedene Stämme werden verschieden gut beeinflusst, und neben einem vergrünten Stamme, der $1/160$ schlechter empfindlich war, fanden wir einen Stamm, bei welchem der Rückgang der Empfindlichkeit nur $1/2$ betrug.

5. Nach den bisherigen experimentellen Erfahrungen entsprach schlechtere Beeinflussbarkeit auch geringerer Pathogenität der betreffenden Streptokokken für Mäuse.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Geh.-Rat *Hahn*].)

Untersuchungen zur Wertung einiger neuer Sputumdesinfektionsverfahren.

Von

W. Strauss und W. Liese,

Assistenten am Institut.

Die Erkenntnis der unzureichenden Sicherheit aller bisher angewandten chemischen Sputumdesinfektionsmittel hat in letzter Zeit zur Aufstellung und Empfehlung verschiedener neuer Desinfektionsverfahren geführt, als deren wichtigste wohl zu nennen sind: *Uhlenhuth-Jöttens* Alkalysolverfahren¹⁾, *Simon-Wolffs* Chlorkalkdesinfektion²⁾ und ein von *Kaiser* stammendes, im hiesigen Institut von *Schuster*³⁾ ausgearbeitetes Kalkverfahren. Alle diese 3 Methoden glauben der an ein Desinfizien zu stellenden, nie erreichten idealen Forderung: sichere Wirkung und praktische Brauchbarkeit, bedeutend nahe gekommen zu sein.

Nachprüfungen liegen bis jetzt erst in geringem Maße vor. Mit Alkalysol hat *Messerschmidt* Untersuchungen angestellt, die sehr zugunsten des Präparats ausfielen. Fünf zähe Sputa wurden vollkommen desinfiziert. *Simon-Wolffs* und *Schusters* Methoden sind von *Uhlenhuth* und *Jötten* kritisiert worden. Beide Verfahren wurden abgelehnt; das *Simon-Wolfsche* als ganz unzuverlässig, das *Schustersche* als nicht völlig zuverlässig und als praktisch nicht brauchbar, da dem Mittel bezüglich der Handhabung schwerwiegende Mängel anhaften sollen.

Da nun diese Kritik der Ätzkalkmethode den Erfahrungen am hiesigen Institut durchaus widersprach, wir außerdem den Wert der

¹⁾ *Uhlenhuth* und *Jötten*, Die Abtötung der Tuberkelbacillen im Sputum mit chemischen Desinfektionsmitteln. Arch. f. Hyg. **90** und **91**.

²⁾ Ein einfaches Verfahren zur Desinfektion des tuberkulösen Auswurfs. Dtsch. med. Wochenschr. 1922, S. 256.

³⁾ Über die Desinfektion des tuberkulösen Auswurfs. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **92**. 1921.

beiden anderen Desinfektionsmittel aus eigener Anschauung kennenlernen wollten, entschlossen wir uns, die 3 genannten Verfahren einer kritischen Prüfung in bezug auf ihre Desinfektionskraft und praktische Verwendbarkeit zu unterwerfen.

Das Ätzkalkverfahren nach Schuster.

Die von *Schuster* gegebene Vorschrift sei hier in Kürze wiederholt: Man gießt in das Sputumglas in 1–2 Finger hoher Schicht Wasser oder — bei zähem Sputum — Kalkmilch und läßt den Kranken so lange in das Gefäß hineinspeien, bis die Flüssigkeit noch einmal so hoch gestiegen ist. Zur Desinfektion wird in das Gefäß so viel gebrannter Kalk geschüttet, daß der Kalk die Flüssigkeit etwa um ihre Höhe überragt.

Uhlenhuth und *Jötten* haben nun an dem Verfahren folgende Punkte auszusetzen:

1. Die nicht immer ausreichende Hitzentwicklung, die bei 3 Versuchen 1 Mißerfolg zeitigte.
2. Schwierigkeit der Bereitstellung größerer Mengen einwandfreien Kalkes.
3. Nicht befriedigende Homogenisierung.
4. Öfteres Springen der Gläser.
5. Verspritzen der Kalkpartikel während des Erhitzungsprozesses.

Diese 5 Punkte werden in der folgenden Versuchsdarstellung nacheinander besprochen werden.

Wir bezogen den Kalk von der staatlichen Berginspektion Rüdersdorf bei Berlin und bewahrten ihn im Institut nahezu $\frac{3}{4}$ Jahr ohne besonders peinliche Vorsichtsmaßregel in einer gewöhnlichen geschlossenen Blechbüchse auf, in der er sich ganz vorzüglich hielt. Als Kriterium der Güte des Kalkes und der gelungenen Desinfektion galt wie bei *Schuster* die Höhe der bei dem Prozeß erreichten Temperatur. Die erforderliche Erhitzung auf 90–105° trat innerhalb 15 Minuten in sämtlichen 44 Versuchen ausnahmslos ein (Punkt 1). Bereitstellung und Aufbewahrung genügender Mengen geeigneten Kalkes scheint uns hiernach durchaus möglich zu sein (Punkt 2).

Die Desinfektionsversuche führten wir wie früher in Speigefäßen aus, wie sie in der Charité benutzt werden. Das in Kalkmilch aufgefangene zähe Sputum wurde stets *vollkommen* homogenisiert. Hierauf müssen wir den größten Wert legen, weil überhaupt nur unter dieser Voraussetzung eine Hitzedesinfektion in kurzer Zeit möglich ist (Punkt 3). Was den 4. Einwand betrifft, so müssen wir feststellen, daß auch uns einmal ein Glas gesprungen ist. Um solche Gefahren auszuschalten, wäre es vielleicht angebracht, statt gläserner Speigefäße solche aus

Emaile oder Weißblech zu verwenden. Jedes Verstreuen von Kalkteilchen, die bei der Dampfentwicklung evtl. in die Luft gerissen werden könnten, läßt sich leicht dadurch vermeiden, daß während der Desinfektion ein Stück dicker Pappe, ein alter Kochtopfdeckel oder dgl. über das Gefäß gelegt wird. Diese Vorsichtsmaßregel ist unnötig, wenn das Gefäß so groß ist, daß nur etwa die Hälfte seines Raumes von dem Sputumkalkgemisch eingenommen wird; in kleineren Gefäßen allerdings wird man sie nicht umgehen können (Punkt 5).

Nach Abkühlung des Gefäßes wird der Inhalt, am besten unter Wasserzusatz, weggeschüttet.

So gehandhabt ist das Ätzkalkverfahren in seiner desinfizierenden Wirkung durchaus sicher und u. E. praktisch verwendbar. Wir haben bei unseren 44 Versuchen nur den einen Mißerfolg infolge Glasbruchs gehabt. Besonders betonen müssen wir aber, daß jede Kalksorte, die zur Desinfektion verwandt werden soll, vorher auf ihre Eignung zu prüfen ist. Ein durchaus billiges Verlangen, da ja auch jedes andere wirksame Mittel bei seiner fabrikmäßigen Herstellung einer sachverständigen Kontrolle untersteht. Die *Uhlenhuth-Jöttenschen* Fehlschläge lassen sich nur auf Verwendung ungeeigneten Kalkes zurückführen. In der betreffenden Arbeit ist leider nichts über die von *Schuster* geforderte Vorprüfung des Kalkes gesagt. Auch ist gegen das von den Autoren vorgenommene Glühen des Kalkes im Platintiegel von chemischer Seite manches einzuwenden. Eine Prüfung des von *Uhlenhuth* und *Jötten* gebrauchten Kalkes konnte von uns leider nicht vorgenommen werden, da diese Kalksorte nicht mehr zu beschaffen war.

Alkalysolverfahren nach Uhlenhuth und Jötten.

Wir führten, unter strenger Innehaltung der von den Autoren gegebenen Vorschrift, 2 Versuche aus¹⁾: Das zähe Sputum wurde mit der doppelten Menge einer 5 proz. wässrigen Lösung Alkalysol versetzt. Nach 4 Stunden, der vorgeschriebenen Desinfektionsdauer, hatte das Sputum z. T. die von *Uhlenhuth-Jötten* beschriebene rahmig fetzige Beschaffenheit, z. T. aber fanden sich noch ziemlich feste Sputumballen. Besonders solche Ballen, die den Eindruck ungenügender Einwirkung des Desinfiziens machten, verwendeten wir nach mehrfachem Auswaschen und Zentrifugieren für den nachfolgenden Tierversuch. Das Verfahren entsprach in seiner Wirkung nicht unseren Erwartungen, wie folgende Tabelle I zeigt:

¹⁾ Wir bezogen das Alkalysol von der Firma Schülke & Mayr in Hamburg, und zwar für jeden der beiden Versuche eine neue Probe. Die für die Desinfektion zu verwendende 5 proz. Lösung wurde jedesmal frisch hergestellt.

Tabelle I*).

Datum der Versuche	Versuchsanordnung	Tier Nr.	Tod am ... Tage († = gestorben, 0 = getötet)	Sektionsbefund
27. III. 1922	Sehr zähes, dickballiges Sputum. T. B. + +. 150 ccm Sput. + 300 ccm Desinfektionsflüssigkeit. Einwirkungsdauer: 4 ¹ / ₂ Stunden. Versuchstiere je 1,5 ccm s.c. Kontrolltier 0,4 ccm Sputum	1	† 18. V. 1922 = 52. Tag	Tuberkulose
		2	0 19. VI. 1922 = 84. "	o. B.
		3	0 19. VI. 1922 = 84. "	o. B.
		4	† 30. V. 1922 = 64. "	Tuberkulose
		5 (Kontrolltier)	† 1. V. 1922 = 34. "	Tuberkulose
23. V. 1922	Sehr zähes Sputum. T.B. + + +. 100 ccm Sputum + 200 ccm Desinfektionsflüssigkeit. Einwirkungsdauer: 4 Stunden. Versuchstiere je 2 ccm s.c. Kontrolltiere 0,5 ccm Sputum	6	0 26. VII. 1922 = 64. "	o. B.
		7	0 26. VII. 1922 = 64. "	o. B.
		8	0 26. VII. 1922 = 64. "	Tuberkulose
		9	† 20. VI. 1922 = 28. "	Tuberkulose
		10	0 26. VII. 1922 = 64. "	o. B.
		11	0 26. VII. 1922 = 64. "	o. B.
		12 (Kontrolltiere)	† 2. VII. 1922 = 40. "	Tuberkulose
		13	† 20. VII. 1922 = 58. "	Tuberkulose

*) Alle Tiere wurden vor dem Versuch mittels Tuberkulin auf Tuberkulosefreiheit geprüft.

Chlorkalkverfahren nach Simon-Wolff.

Nach der Vorschrift von *Simon-Wolff* werden je 25 ccm Sputum mit 15 g Chlorkalk und 50 g Staßfurter Salz versetzt, das Gemisch dann so lange, wenn nötig unter Zusatz von etwas Wasser, gerührt, bis völlige Homogenisierung eingetreten ist (Einwirkungsdauer 3 Stunden). Als wesentlichste Komponente ist neben der bei dem Prozeß sich bildenden unterchlorigen Säure und freiem Chlor der frei werdende Sauerstoff anzusehen.

Nähere Angaben über Ausführung und Ergebnis des gemeinsam mit Herrn Dr. *Wolff* im hiesigen Institut angestellten Versuches sind in folgender Tabelle II zusammengestellt.

Wir hatten also mit dem Präparat zwar nicht so schlechte Resultate wie *Uhlenhuth* und *Jötten*, aber es ist auf keinen Fall das, was es sein soll: ein sicher wirkendes Desinfiziens. Mißerfolge erklären sich hier wohl zum großen Teil aus dem Unsicherheitsfaktor, der jedem Chlorkalkverfahren von vornherein anhaften muß, da der Chlorkalk als ein sehr wenig stabiles Salz der Salzsäure und der unterchlorigen Säure schon durch den Wassergehalt und die Kohlensäure der Luft Schwankungen in seinem Chlorgehalt unterworfen ist. Auch wäre es denkbar, daß die Homogenisierung — einer zu zähen Konsistenz des Sputums wegen — mit den gegebenen Materialmengen und in der angegebenen Zeit nicht bis zu dem notwendigen Maße erfolgen konnte.

Tabelle II.

Tag des Versuchs: 5. Mai 1922. Zähes, wenig tuberkelbacillenhaltiges Sputum.
Aktives Chlor des verwendeten Chlorkalks = 20,1%.

Tier Nr.	Tod am ... Tage († = gestorben, θ = getötet)	Sektionsbefund	Bemerkungen
1	θ 26.VII.1922 = 86.Tag	Tuberkulose (Milz, Drüsen, Lunge)	Diese Tiere wurden mit dem nach der Uhlenhuthschen Prüfungsmethode behandelten Sputum-Chlorkalk-Gemisch gespritzt. (Zusatz von verdünnter Essigsäure, Auswaschen bis zu völliger Neutralreaktion.)
2	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
3	θ 26.VII.1922 = 86. "	Tuberkulose (Portaldrüsen, Milz, Lunge)	
4	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
5	† 22. V. 1922 = 17. "	Tuberkulose (Milz, Netzdrüsen). Weiterimpfg. von Milzbrei ergab bei dem nach 8 Tagen gestorbenen Tier: Impfabsceß mit T. B. Von der Impfstelle strahlig ausgehende multiple Bauchfelltuberkulose, Milzvergrößerung	
6	† 7. V. 1922 = 2. "	Blutig-seröses Exsudat an der Impfstelle	
7	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
8	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
9	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
10	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
11	θ 26.VII.1922 = 86. "	o. B.	
Kontrolltiere			
12	† 18. V. 1922 = 13. "	Tuberkulose	
13	† 31. V. 1922 = 26. "	Tuberkulose	

Als Ergebnis dieser Untersuchungen haben wir demnach festzustellen, daß nach unseren Erfahrungen eine vollkommene Sputumdesinfektion weder durch das *Simon-Wolffs*che noch durch das *Uhlenhuth-Jötten*sche Verfahren erreicht wird, daß jedoch der Ätzkalk bei Benutzung geeigneten Materials absolut sicher wirkt. Da die Hitzedesinfektion immer die sicherste Form der Keimabtötung darstellt, braucht uns diese Tatsache nicht wunderzunehmen. Und *nur darum* scheint uns das Ätzkalkverfahren besonders gut zu sein, weil der Erhitzungsprozeß — die geforderten Kontrollmaßnahmen vorausgesetzt — stets völlig gleichmäßig verlaufen muß, während wir bei anderen, nicht durch Wärme wirkenden chemischen Mitteln, bei denen auch die Homogenisierung nicht gewährleistet wird, unmöglich alle Faktoren übersehen, von denen die Auflösung zäher Sputumballen abhängt, deshalb auch

niemals von einem gesetzmäßigen Vorgang gesprochen, folglich niemals ein absolut sicherer Erfolg vorausgesehen werden kann.

Der Laboratoriumsversuch würde also sehr zugunsten des Ätzkalkverfahrens entscheiden. Nun ist der Laboratoriumsversuch aber niemals der einzige Maßstab zur Wertung eines für den praktischen Gebrauch bestimmten Präparates oder Verfahrens; er könnte in diesem Falle den wesentlichen Ausschlag nur dann geben, wenn der *Desinfektionserfolg* wirklich von entscheidender Wichtigkeit ist.

Hier anknüpfend sei zu der oft diskutierten Frage der Erfordernisse einer Sputumdesinfektion eine kurze Erörterung gestattet.

Inwieweit überhaupt das ins Speiglas entleerte Sputum im Rahmen der Kontaktinfektion eine Rolle spielt, ist mit Sicherheit nicht zu sagen. Der Beweis für eine so erfolgte Infektion wird im einzelnen Falle kaum zu erbringen sein. Immerhin glauben wir, daß man die Möglichkeit doch zugeben muß! Wir können uns nicht auf den verschiedentlich vertretenen Standpunkt stellen, daß einfaches Ausgießen des Sputums in den Abtritt vollkommen genüge. Allein durch Beschmutzen der Hände beim Ausgießen und durch Abwischen an einem Tuche werden für die Umgebung des Patienten neue Ansteckungsquellen (z. B. durch Ablösung feinsten infizierter Fäserchen) geöffnet. Auch ist es aus rein hygienisch-erzieherischen Rücksichten nicht angängig — und hierin müssen wir *Uhlenhuth* und *Jötten* beistimmen —, einem Menschen, der streng dazu angehalten wird, sein Sputum in einem Speiglas zu sammeln, andererseits die Ungefährlichkeit dieses Sputums dadurch zu veranschaulichen, daß man ihm gestattet, es einfach wegzuschütten. Bei dem selbstverständlichen Mangel einer kritischen Einstellung diesen Problemen gegenüber wird mit den Entleerungen bei anderen Infektionskrankheiten genau so sorglos verfahren werden.

Können wir uns also mit dieser extrem ablehnenden Stellung nicht befreunden, so scheint uns doch die von jeher und besonders in den neuen Desinfektionsmitteln angestrebte *absolute* Desinfektion überflüssig zu sein. Die Fehlschläge mit dem Chlorkalk und dem Alkalisol wie überhaupt mit den meisten früheren Präparaten sind doch offenbar darauf zurückzuführen, daß bei nicht genügender Homogenisierung der betreffende Desinfektionsstoff nicht in die Tiefen der Sputumballen eingedrungen ist. Nun kommt aber eine Infektionsmöglichkeit durch Tuberkelbacillen innerhalb solcher zäher Sputumballen praktisch doch überhaupt nicht in Frage! Vom praktischen Standpunkt aus könnte man sich daher mit einer ausreichenden Oberflächendesinfektion, besonders einer Desinfektion der Gefäßwände vollkommen begnügen und auf die Abtötung der in festen Sputumballen vermauerten, für die Umwelt unschädlichen Tuberkelbacillen verzichten.

Deswegen möchten wir für die Auswahl eines Sputumdesinfektionsmittels die sichere Wirksamkeit nicht so unbedingt in den Vordergrund rücken. Man wird sich für ein Mittel zu entscheiden haben, das bei relativ guter Desinfektionskraft die meisten praktischen Vorteile in sich vereinigt: Leichte bequeme Handhabung, Haltbarkeit, Billigkeit, möglichste Geruchlosigkeit und Ungiftigkeit.

Betrachten wir von diesem Gesichtspunkt die 3 Präparate, die uns in dieser Arbeit besonders beschäftigen, und wägen wir ihre Vor- und Nachteile gegeneinander ab!

Vorausgeschickt sei, daß wir von „relativ guter“ Desinfektionswirkung sprechen, wenn ein größerer Prozentsatz der Versuchstiere gesund blieb. Zufälle sind dabei nicht auszuschalten. Wir schließen aus solchen Ergebnissen auch nur, daß das betreffende Mittel genügende Oberflächenwirkung besitzt, daß also *die* Teile der Gefäßwand, die mit ihm in Berührung kommen, ebenso wie oberflächliche Sputumschichten als keimfrei gelten können und für Kontaktinfektionen nicht mehr in Frage kommen.

Das *Simon-Wolff*sche Chlorkalkverfahren scheint zwar von verhältnismäßig guter Desinfektionskraft zu sein, praktisch halten wir es seiner Umständlichkeit wegen für unmöglich. Einmal werden 2 Präparate gebraucht, die in bestimmtem Gewichtsverhältnis gemischt werden müssen, dann verläuft der Prozeß nicht automatisch, sondern zum Zwecke der Homogenisierung muß in Abständen gerührt werden. Es entwickelt sich dabei ein ziemlich starker Chlorgeruch! Weiter beansprucht der Desinfektionsprozeß großen Raum (auf 100 ccm Sputum 260 g Desinfektionsmasse). Schließlich ist die Beschaffung und Aufbewahrung des schlecht haltbaren Chlorkalkes eine schwierige technische Frage. Derartig komplizierte Verfahren wird man keinem Kranken oder seiner Umgebung zumuten können, besonders da keine erheblichen Vorteile diese Nachteile aufwiegen.

Die Ätzkalkmethode hat die großen Vorzüge sicherer Wirksamkeit, vollkommen automatischen Ablaufs, der Billig- und Geruchlosigkeit. Doch lassen sich bestimmte praktische Bedenken auch hier nicht unterdrücken. Vor allem kann die *Möglichkeit* des Gläserspringens nicht ausgeschaltet werden. In Glasgefäßen wird die Kalkdesinfektion in der Praxis deswegen überhaupt nicht ausgeführt werden können, zumal hier noch der besondere Mangel herrscht, daß die Gefäßwände nicht völlig zu desinfizieren sind, während bei Metallgefäßen infolge der besseren Leitfähigkeit die Gefäßwand viel stärker erhitzt wird. Weiter wird zwar für die einzelne Desinfektion nicht so viel Material gebraucht wie bei *Simon-Wolff*, immerhin jedoch ziemlich viel. Es entstehen daraus gewisse Schwierigkeiten, da bei gesteigertem Bedarf größere Depots für geeigneten Kalk geschaffen werden müßten. Für größere Anstalten

wird die Methode deshalb kaum in Betracht kommen, wohl aber z. B. bei vereinzelt Tuberkulosefällen in kleineren Krankenhäusern und Asylen, vor allem in der Tuberkulosefürsorge bei Menschen höherer Bildungsstufe, die jetzt infolge der Verarmung des Mittelstandes die Fürsorge in größerer Zahl als früher aufsuchen. In solchen einzelnen Fällen wird das Ätzkalkverfahren ausgezeichnetes leisten, es ist sehr bequem und vor allem *billig*, nimmt dem Sputum sein ekelerregendes Aussehen und anderer Vorteile mehr; mit einer Empfehlung für allgemeine Anwendung aber möchten wir wegen der angeführten Bedenken doch recht vorsichtig sein.

Das Alkalysol kann nach unseren Versuchen nicht als ein völlig sicheres Desinfiziens angesprochen werden. Es besitzt aber den Vorteil aller flüssigen Desinfektionsmittel, sehr bequem in der Handhabung zu sein und eine ausreichende Desinfektion der Gefäßwände zu verbürgen, da man das Gefäß in die Lösung untertauchen kann. Dem Sublimat gegenüber hat es den Vorteil relativer Billigkeit, den Nachteil des intensiven Kresolgeruches, der meist sehr unangenehm empfunden wird; drückt er doch dem betreffenden Wohnraum sofort den Stempel des Krankenzimmers auf! Dieser Nachteil muß namentlich bei beschränkten Wohnverhältnissen schwer ins Gewicht fallen: z. B. wird bei solchen Kranken der ohnehin herabgesetzte Appetit durch derartige andauernde Geruchsbelästigungen sicherlich nicht gehoben.

Immerhin scheint uns dieses Verfahren für weitere Verbreitung augenblicklich noch am geeignetsten zu sein. Die Herstellung der Verdünnung ist nicht schwer, und wenn man auf die doch nicht immer erreichbare und u. E. auch unnötige vollkommene Desinfektion verzichtet, ließe sich der ganze Prozeß wahrscheinlich auf einen Bruchteil der angegebenen Zeit beschränken, was sehr zu begrüßen wäre.

Wir glauben nun keineswegs, daß mit diesen Feststellungen die ganze Frage erledigt ist, im Gegenteil werden unsere Untersuchungen neue Nachprüfungen zur Folge haben, die höchstwahrscheinlich auch nur Material und keine endgültige Entscheidung bringen dürften. Doch bei den ungeheuren Kosten, die Tierversuche heutzutage machen, glauben wir unseren Standpunkt dahin präzisieren zu müssen, daß die Fragestellung, die den Ausgangspunkt der ganzen Untersuchungen bildet (*absolute* Desinfektion), von den Bedürfnissen der Praxis aus gesehen keine große Bedeutung hat. Geht man einmal von dieser Forderung, die wir für unnötig hoch gestellt halten, ab, so ergeben sich für die Sputumdesinfektion schon jetzt eine ganze Reihe von Möglichkeiten, und unzweifelhaft werden noch praktisch brauchbarere Verfahren gefunden werden. Über eines aber muß man sich klar sein: Genau so wie bei einer ganzen Reihe anderer hygienischer Maßnahmen wird auch hier nie ein Verfahren angegeben werden können, das in jedem

Einzelfälle alle Ansprüche befriedigt. Dazu sind die Verhältnisse zu verschieden geartet. In größeren Anstalten z. B. kann durch bereits vorhandene besondere Einrichtungen, wie hochgespannter Dampf, die Dampfsterilisation billiger und zweckmäßiger sein wie die Verwendung verbrennbarer Spucknäpfe oder eines Desinfektionsmittels. Bei der Versorgung der einzelnen Kranken werden materielle Lage, Bildungsstand, Wohnverhältnisse bestimmend für die Wahl des Desinfektionsverfahrens sein müssen. Der Verzicht auf absolute Sterilisation gewährt aber dem Arzt und dem Patienten eine reichere Auswahl an Verfahren, was wir für einen großen Vorteil ansehen: Eine, wenn auch nicht immer ganz vollständige Desinfektion, die regelmäßig durchgeführt wird, weil sie den sozialen Verhältnissen gut angepaßt ist, wird immer noch besser sein als eine absolut sichere, die wegen der unbequemen Handhabung nur nachlässig, mitunter überhaupt nicht durchgeführt wird.

Nachtrag.

Nach Abschluß der Arbeit erschienen die Untersuchungen von *Kirstein* über „Versuche mit Alkalysol, Parmetol und alkalischem Phobrol“ (Dtsch. med. Wochenschr. 1922, S. 1579). *Kirstein* prüfte Alkalysol in 2 Versuchsreihen mit 2 von Schülke & Mayr bezogenen Proben. Dabei stellte sich heraus, daß das eine Präparat völlig unbrauchbar, das andere sehr gut war. Wir haben ebenfalls 2 Proben für unsere Versuche benutzt, ohne einen Unterschied in der Güte feststellen zu können. Vielleicht hat uns der Zufall 2 schlechte Präparate in die Hände gespielt! Auf jeden Fall müssen wir uns in der Beurteilung an die uns von der Firma überwiesenen Proben halten.

(Aus der Seuchenabteilung des Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“,
Berlin [Abteilungsleiter: Dr. A. Schnabel].)

**Über Festigungsversuche an Bakterien,
mit besonderer Berücksichtigung der physikalisch-chemischen
Veränderungen¹⁾.**

Von
Dr. Claus W. Jungeblut.

Das Studium der Gewöhnung von einzelligen Lebewesen, speziell Bakterien, an Gifte und spezifische Immunkörper hat schon viele Forscher beschäftigt. Die genannte Erscheinung bietet insofern großes Interesse, als wir es durch Wahl und Dosierung der zugesetzten differentiellen Substanzen in der Hand haben, Bakterien willkürlich in den Zustand der Allergie im allgemeinen gegenüber diesen Stoffen zu versetzen. Während man sonst bei Beobachtung der biologischen Variationsmöglichkeiten einer Bakterienart mehr oder weniger auf bloße Konstatierung der Tatsachen angewiesen ist, ohne die Gründe für den Verlust oder das neue Auftreten einer kulturellen Eigentümlichkeit ermitteln zu können, gewinnt die Untersuchung von mit den eingangs erwähnten Mitteln vorbehandelten Bakterien insofern mehr Interesse, als wir die Ursache für den Eintritt des veränderten Verhaltens ja genau bestimmen, und so evtl. Wege finden können, auf denen sich unter Umständen eine Erklärung für die eingetretene, erblich fixierte, biologische Variation suchen läßt. Die Berechtigung von einem allergischen Zustand der Bakterien, der durch den Kontakt mit Giften erreicht wird, zu sprechen, ergibt sich aus den Untersuchungen von *Schnabel*, der zeigen konnte, daß zwischen den allergischen Phänomenen der höher organisierten Lebewesen und der veränderten Reaktionsfähigkeit der einzelligen Organismen beim Zusammentreffen mit einer bestimmten wirksamen Substanz eine weitgehende Ähnlichkeit besteht, insofern, als die Bakterien nach Vorbehandlung mit dieser Substanz je nach Wahl der Konzentration und Zeit, in der *gleichen* Versuchsreihe entweder eine erhöhte oder eine verminderte Resistenz gegenüber dem zugesetzten Mittel zeigen. Insofern gehören „Überempfindlichkeit“ und „Festigkeit“ eng zusammen, und die letztere wäre nur als Teilerscheinung eines viel-

¹⁾ Siehe vorläufige Mitteilung in „Klin. Wochenschr.“ 1923.

seitigen Prozesses aufzufassen, der sich in der verschiedenartigsten Beeinflussung der Bakterien zeigen kann.

Abgesehen von diesen rein theoretischen Erwägungen besitzt die Gewöhnung von Bakterien an Gifte auch eine praktische Bedeutung bei der Beurteilung der Wirksamkeit eines chemotherapeutischen Mittels, besonders hinsichtlich des schließlich erreichten Heilerfolges. Da die Erreichung der *Therapia magna sterilisans* bei den meisten chemotherapeutisch wirksamen Substanzen bislang wohl nur ein erstrebenswertes Ziel geblieben ist, dem man sich praktisch nur in gewissem Umfange genähert hat, ohne es vollständig zu erreichen, taucht die Frage auf, ob durch mehrmalige Einverleibung des Heilmittels in den Organismus die noch nicht vernichteten Erreger nicht eine erhöhte Resistenz gegen das früher bereits in geringeren Dosen wirksame Mittel gewinnen können und so schließlich als Endeffekt der Behandlung statt Abtötung der Infektionserreger nur eine Fortdauer der Infektion mit „festen“ Erregern herbeigeführt wird, die sich jetzt jeder Beeinflussung durch das Mittel entziehen. Diese Erscheinung beschäftigte schon in hohem Maße *P. Ehrlich*, der beim Studium der Bedingungen der Giftfestigkeit aus mit Atoxyl behandelten, an Trypanosomiasis leidenden Mäusen Trypanosomen züchten konnte, die sich als arsenfest erwiesen. Die gleiche Beobachtung konnte bei verschiedenen anderen Krankheiten gemacht werden; es sei in dieser Beziehung an Malaria und die chininfesten Plasmodien und die Untersuchungen von *Morgenroth* und *Kaufmann* bzw. von *Köhne* über die Optochininfestigkeit der Pneumokokken erinnert. Die Analogie des Wechselspieles zwischen „antigener“ Substanz und Bakterien einerseits und den Bedingungen des Verlaufs der bakteriellen Infektion und der Immunität des tierischen Organismus andererseits ist sehr groß. Hier wie dort eine Phase erhöhter Empfindlichkeit, Gleichbleiben der Empfindlichkeit, herabgesetzte Empfindlichkeit und unspezifische Resistenzverminderung. So würde sich jeder therapeutisch beeinflusste Krankheitsprozeß als eine über- und nebengeordnete Reaktion zwischen Organismus und Bakterien einerseits und Bakterien und wirksamen Substanzen andererseits auffassen lassen, wobei es natürlich für den endlichen Ausgang von fundamentaler Bedeutung ist, welcher der genannten Faktoren in diesem komplizierten Gleichgewichtssystem schließlich die Oberhand behält.

Nach den in der Literatur vorliegenden Angaben dürfte sich eine Gewöhnung von Bakterien an viele chemische Substanzen, wenn auch in wechselndem Maße, erzielen lassen; warum aber gerade diese oder jene Substanz oder diese oder jene Bakterienart sich besonders zur Festigung eignet, dürfte ebenso schwer zu erklären sein, wie es unmöglich ist, die Gründe für das Vorhandensein der chemotherapeutischen Wirksamkeit überhaupt genau anzugeben. Auf Grund der Untersuchun-

gen von *Schnabel* läßt sich sagen, daß die gleichen Mittel, die sich als gut festigend erweisen, sich auch als überempfindlich machend zeigen, worin sich wiederum die prinzipielle Zusammengehörigkeit beider Zellaaffektionen dokumentiert. Das veränderte Verhalten fester Bakterien im Vergleich mit normalen genauer zu untersuchen, war der Zweck dieser Arbeit. Dabei war einmal die Frage nach der Spezifität der Festigung (wie sie auch für die Überempfindlichkeit der Bakterien von *Schnabel* nachgewiesen ist) von ausschlaggebender Bedeutung, weil sie, bejahendenfalls, die Spezifität der Chemoreceptoren der Bakterienzelle wahrscheinlich machen könnte, und damit auch gestatten würde, die Erscheinung der Festigung, wie vorher erwähnt, gewissermaßen als „Bakterien-Immunität“ aufzufassen; ferner aber sollte hauptsächlich versucht werden, das Wesen der Festigung selber in der Äußerung von physikalisch-chemischen Verschiedenheiten zwischen festen und Normalstämmen näher zu untersuchen.

Daß bei einer so tiefgreifenden Zellveränderung wie der Festigung gleichzeitig das kulturelle Verhalten der betreffenden Bakterien hinsichtlich chemischer Leistungen (Säurebildung, Vergärung, Hämolyse usw.) sich verändern kann, ist von vornherein einleuchtend und auch verschiedentlich nachgewiesen. Dabei konnten die unter dem Einfluß der Festigung entstandenen, veränderten chemischen Leistungen in manchen Fällen direkt zur Erklärung der Festigung herangezogen werden. So gibt *Pringsheim* an, daß gegen Formaldehyd feste Bakterien ihre Resistenz gegenüber dem Desinfektionsmittel der vermehrten Oxydationskraft der Zelle verdanken, die das Formaldehyd unwirksam macht, ferner, daß gegen Fluorsalze gefestigte Bakterien die Fluorsalze durch ihren vermehrten Ca-Gehalt nicht eindringen lassen. In anderen Fällen ist dieser kausale Zusammenhang nicht ohne weiteres ersichtlich, sondern das veränderte kulturelle Verhalten tritt mehr als eine den allgemein veränderten Stoffwechsel begleitende Eigentümlichkeit in Erscheinung. Hier interessierte jedoch hauptsächlich die Frage, ob neben der Veränderung der biologischen Eigenschaften, die an das Leben der Zelle gebunden sind, sich auch Unterschiede des Zellprotoplasmas fester und normaler Stämme in physikalisch-chemischer Beziehung ergeben würden. Diese konnten einmal rein chemischer Natur sein und nur die Konstitution der an dem Zellaufbau beteiligten Eiweißmoleküle betreffen, andererseits in einer Änderung des kolloidalen Verhaltens einer Bakterienemulsion ihren Ausdruck finden.

Methodik.

Zur Festigung herangezogen wurden folgende Bakterienarten: Typhusbacillen, Shiga-Ruhrbacillen, Cholera vibriionen, Streptokokken, Pneumokokken, Staphylokokken.

Als festigende Mittel wurden gewählt: Immunsérum, Sublimat, Rivanol, Trypaflavin, Optochin und Methylenblau.

Da der Prozeß der Festigung wohl vorwiegend *während* des Wachstums der Bakterien in dem gifthaltigen Medium eintritt, wurden frisch-beimpfte Kulturen in fallenden Mengen mit dem betreffenden Mittel versetzt und nach jeder Passage aus der höchstgewachsenen Konzentration wieder in die abgestufte Reihe überimpft. Hierbei kam also bloß die Gewöhnung der Bakterien an die entwicklungshemmende Kraft des zugesetzten Mittels zum Ausdruck. Die normalen Stämme wurden prinzipiell ebenfalls immer in Bouillonkulturen weitergezüchtet, so daß sie bei Anstellung eines Vergleich-Versuches ebensoviele Passagen hinter sich hatten, wie die gefestigten; denn es wäre nicht ausgeschlossen, daß die fortgesetzte Überimpfung imstande wäre, die Bakterien an und für sich irgendwie zu verändern, und deswegen war die Kautele notwendig, um einen Vergleich zwischen festen und normalen Stämmen unter sonst gleichen Bedingungen durchführen zu können. In den folgenden Abschnitten sollen die verschiedenen Versuche getrennt besprochen werden.

1. *Versuche über Sublimatgewöhnung von Typhusbacillen, Cholera-vibrionen und Shiga-Ruhrbacillen.*

Diese Versuche wurden ausgeführt mit je einem Cholera-, Typhus- und Shiga-Ruhrstamm, die der Sammlung des Instituts entnommen wurden. Die Versuchsanordnung gestaltete sich im einzelnen so, daß zu frischbeimpften Bouillonkulturen der Bakterien (Einsaat: je 0,1 ccm einer 24 stündigen Bouillonkultur) in Menge von 10 ccm fallende Zusätze von Sublimat gegeben wurden und die Róhrchen nach etwa 18 stündigem Verweilen bei 37° auf Wachstum kontrolliert wurden. Cholera-vibrionen wurden in stark alkalischer Bouillon gezüchtet, für Typhus- und Ruhrbacillen kam gewöhnliche Nährbouillon zur Verwendung. Die Prüfung der Ausgangsempfindlichkeit ergab nicht immer die gleichen Resultate, und es sei daher der Mittelwert wie folgt gegeben: Cholera wächst noch bei einer Sublimatkonzentration von 1 : 200 000, Typhus bei 1 : 100 000; für Ruhr betrug die noch tolerierte Konzentration 1 : 500 000. Die Festigung wurde dann in der Weise angestrebt, daß nach jeder Passage von der noch gerade gewachsenen bzw. nächstschwächeren Konzentration eine Menge von 0,1 ccm wieder in die nach oben und unten angrenzenden Sublimatkonzentrationen übertragen wurde. Es seien im folgenden die für Cholera tabellarisch zusammengestellten Ergebnisse der ersten Passage wiedergegeben, weil sie in sehr instruktiver Weise Überempfindlichkeit und Festigung in der gleichen Versuchsreihe zeigt:

Tabelle I.

Sublimat	1 000 000	500 000	200 000	100 000	50 000	Kontrolle
Vorkultur in 1:25 000 000	++	++	+	—	—	++
" 15 000 000	++	—	—	—	—	++
" 5 000 000	++	+	—	—	—	++
" 1 000 000	++	++	+	±	—	++
" 200 000	++	+	—	—	—	++
" 100 000	+	—	—	—	—	++
Kontrolle	++	+	±	+	—	++

Die Tabelle zeigt drei verschiedene Empfindlichkeitsstufen: während die in der Sublimatkonzentration 1 : 1 000 000 gezüchtete Kultur bei der nächsten Passage sich als gefestigt erweist, zeigt die bei einem Sublimatgehalt 1 : 15 000 000 gewachsene eine deutliche Überempfindlichkeit; die aus der HgCl₂-Konzentration 1 : 100 000 erhaltene Kultur zeigt die bekannte, auf Resistenzverminderung beruhende unspezifische Überempfindlichkeit (*Schnabel*).

Die Ergebnisse vorstehender Tabelle sind allerdings in dieser Eindeutigkeit einzigdastehend unter vielen gleichsinnigen Versuchen, ohne daß ich für das Mißlingen in anderen Fällen eine Erklärung zu geben vermöchte. Bei Typhus und Ruhr tritt ferner Festigung und Überempfindlichkeit nicht in der Weise wie bei Cholera hervor, vielmehr zeigen sich in der ganzen Versuchsbreite einer Passage nur geringe Unterschiede bei den einzelnen Konzentrationen. Während das Phänomen der Überempfindlichkeit äußerst flüchtig und schon bei der nächsten Passage nicht mehr nachweisbar ist, tritt bei den folgenden Passagen nunmehr allmählich die Festigung deutlicher hervor. Dabei verläuft die Festigungskurve aber nicht in gleichmäßigem Anstieg, sondern wird oft durch große Zacken unterbrochen, die eine Verminderung der Resistenz anzeigen. Um sicher zu sein, daß nicht eine allgemeine unspezifische Resistenzverminderung, hervorgerufen durch den toxischen Einfluß des Desinfiziens, an diesem Sturz („Chute“), den schon *Richet*, *Bachrach* und *Cardot* beschrieben haben, schuld ist, wurde mehrmals in solchen Fällen nicht nur aus den höchstgewachsenen, sondern auch aus verdünnteren Konzentrationen in parallelen Reihen abgeimpft und gelegentlich auch eine Passage in einfacher Bouillon dazwischen geschaltet, ohne daß die Erscheinungen des Sturzes dadurch verschwunden wären. Dieser „Chute“ konnte mitunter ganz erheblich sein und mehrere Konzentrationen überspringen; er zeigte sich bei meinen Versuchen besonders bei der Cholera, die sich im übrigen von allen 3 Bakterienarten am schnellsten festigte. Schon nach 10 Passagen wuchs sie vorübergehend in 1 : 50 000 HgCl₂. Die Festigung des Typhus verlief viel langsamer und gleichmäßiger und brauchte 17 Passagen, um zum

ersten Male in der vierfach stärkeren Konzentration als zu Anfang, nämlich 1 : 25 000 Sublimat zu wachsen. Am schwersten war Ruhr zu festigen; erst nach 11 Passagen wurden die ersten Anzeichen von Festigung beobachtet, und ein Herabdrücken der Empfindlichkeit auf das Vierfache des Originalstammes gelang erst nach über 20 Passagen. Dafür habe ich den „Chute“ nie bei Ruhr gesehen. Dieses sprunghafte Zurückschnellen der Empfindlichkeit scheint also in ursächlichem Zusammenhang mit der Ausbildung der Bakterienfestigkeit zu stehen, und zwar in der Weise, daß sich schnell festigende Bakterien eher einen solchen Chute zeigen, als Bakterien, bei denen die Festigung in langsamerem Tempo verläuft. Im übrigen war der Verlauf der Cholerafestigung während der weiteren 40 Passagen dadurch gekennzeichnet, daß mit fortschreitender Gewöhnung die erreichte Festigkeit innerhalb weniger Tage ohne ersichtliche Gründe in weiten Grenzen schwankte, so daß von einer nur mit einigermaßen gleichmäßiger Konstanz beibehaltenen Festigkeit nicht gesprochen werden konnte. Im Gegenteil ging mit weiterer Fortzucht im gifthaltigen Medium die Festigung bei Cholera wieder so weit verloren, daß schließlich nach etwa 60 Passagen für Cholera eine durchschnittliche Resistenz von 1 : 100 000 resultierte. Bei Typhus machte die anfänglich erzielte Festigkeit sogar einer gewissen Resistenzverminderung Platz, indem die nach 60 Passagen vorhandene Sublimatempfindlichkeit durchschnittlich zwischen 1 : 200 000 und 1 : 300 000 lag. Ruhrbacillen bewahrten am besten ihre Festigkeit und hielten sich auf einer ziemlich gleichmäßigen Höhe von 1 : 50 000. Die maximale Festigkeit zeigten alle 3 Bakterienarten zwischen der 30. und 40. Passage, und zwar stellen sich die erreichten Werte wie folgt dar: Cholera 1 : 10 000, Typhus 1 : 20 000, Ruhr 1 : 50 000. Kulturelle Verschiedenheiten der einzelnen Stämme sind mir im Verlaufe der Festigung nicht aufgefallen, außer daß feste Cholera etwas mehr Neigung zum sedimentierenden, bröckligen Wachstum in Bouillon zu zeigen schien, gelegentlich auch unter Kahmhautbildung; ebenso war morphologisch kein Abweichen von den Ausgangsstämmen zu beobachten.

Die Frage nach der Spezifität der Festigung wurde durch einen Vergleich der AgNO_3 - und Phenolempfindlichkeit fester und normaler Stämme entschieden. Es zeigte sich, daß gegenüber Phenol die Empfindlichkeit von Typhus gleichgeblieben war; in einer Grenzkonzentration von 1 : 500 trat bei festen *und* normalen Stämmen noch Wachstum ein. Hingegen zeigten feste Cholera- und Ruhrbacillen eine deutlich verminderte Resistenz, insofern, als normale Cholera- und normale Ruhrbacillen noch bei einer Phenolkonzentration von 1 : 2000 resp. 1 : 1000 entwicklungsfähig waren, während die entsprechenden Werte für die festen Stämme bei 1 : 5000 resp. 1 : 4000 lagen. Beim Silbernitrat wuchsen normale Cholera-, normale Typhus- und normale Ruhrkulturen

noch bei einer Konzentration von 1 : 100 000 resp. 1 : 50 000 resp. 1 : 100 000, und annähernd die gleiche Empfindlichkeit zeigten auch die festen Stämme.

Obwohl also in diesen Versuchen von einer eigentlichen, konstanten Sublimatfestigkeit bei Cholera und Typhus nicht die Rede sein konnte und auch für Shigaruhr die Gewöhnung nur eine relativ geringe war (Ertragen der 10 mal stärkeren Konzentration als der Originalstamm), war es um so interessanter, durch physikalisch-chemische Methoden zu untersuchen, ob die vorbehandelten Bakterien nicht doch Unterschiede gegenüber den Normalstämmen zeigen würden, die mit ihrer veränderten Empfindlichkeit in Zusammenhang stehen würden. Als erstes Kriterium wurde hier die Agglutination herangezogen. Betrachtet man die Agglutination als eine kolloidale Ausfällungsreaktion, hervorgerufen durch die veränderte Oberflächenspannung der kolloidalen Anteile einer Bakteriensuspension bei ihrem Zusammentreffen mit dem spezifischen Immuns Serum, so erscheint diese Immunitätsreaktion als brauchbare Methode zum Nachweis von physikalisch-chemischen Änderungen der festen Bakterienstämme geeignet. Es zeigte sich bei zu verschiedenen Etappen der Festigung vorgenommenen Vergleichsagglutinationen, daß ein deutlicher Unterschied nur bei Cholera festzustellen war. Während der Originalstamm durch ein Pferde-Choleraserum bis etwa 1 : 20 000 agglutiniert wurde, lag die Titergrenze für den festen Stamm durchschnittlich bei etwa 1 : 10 000. Dieses Verhalten wurde das erste Mal nach etwa 10 Passagen festgestellt und änderte sich auch im weiteren Verlauf der Festigung nicht mehr erheblich, weder nach oben noch nach unten. Für Typhus und Ruhr ließ sich ein einheitlicher Befund nicht erheben. Manchmal schienen die festen Stämme, manchmal die Normalstämmen stärker agglutiniert, im allgemeinen war kein erheblicher Unterschied nachweisbar; die Titergrenzen lagen durchschnittlich bei beiden Bakterienarten bei etwa 1 : 10 000 resp. 1 : 5000. Als agglutinierende Sera dienten Pferde-Typhusserum und Shiga-Kaninchenserum, das leider nicht sehr hochwertig war.

Als nächste Untersuchungsmethode wurde das Ausfällen der Bakterienemulsion mit Schwermetallsalzen versucht. Eingehende Studien hierüber sind bereits von Schwarz mitgeteilt. Dieser Autor studierte die Änderung der Spezifität des bakteriellen Antigens durch Ausfällung mit verschiedenen Metallsalzen, ohne allerdings in diesem Zusammenhang die Beziehungen zur Festigkeit zu verfolgen. In meinen Versuchen wurden als ausfällende Mittel gewählt: Sublimatlösung $\frac{1}{20}$, heißgesättigte Ammoniumsulfatlösung und gesättigte Eisenchloridlösung. Die Versuchsanordnung gestaltete sich im einzelnen so, daß zu einer einheitlichen Menge von 0,5 ccm einer dichten Bakterien-

emulsion (Abschwemmung des Rasens einer Schrägagarkultur mit 10 ccm dest. Wasser) fallende Mengen der ausfallenden Salzlösung (0,5—0,05 ccm) hinzugefügt und der Inhalt jedes Röhrchens dann auf 1 ccm mit dest. Wasser ergänzt wurde. Es schien, als ob beim Sublimat die festen Stämme stärker aufgeflockt würden als die normalen, während beim Ammoniumsulfat und Eisenchlorid das umgekehrte Verhalten zu beobachten war. Der erwähnte Unterschied war aber immerhin nur gering und zeigte sich mehr qualitativ in der Art der Flockung als in den quantitativen Mengen des zum gleichen Effekt benötigten ausfallenden Mittels. Die Flockung war bei den festen Stämmen durchwegs grobflockiger, und auch nach Schütteln der Röhrchen blieb ein deutlicher Unterschied gegen die feinkörnige Flockung der Normalstämme bestehen.

Wegen der Inkonstanz der erzielten Festigung wurden diese Versuche nach etwa 2 Monaten abgebrochen und die Stämme einstweilen in Schrägagarkultur aufbewahrt. Nach Ablauf weiterer 3 Monate kamen die Stämme nochmals zur Untersuchung und zeitigten jetzt folgende Ergebnisse:

Bei einem vergleichenden Versuch der Sublimatempfindlichkeit der festen und normalen Stämme stellte sich heraus, daß die feste Cholera bei 1 : 200 000 und die normale Cholera bei 1 : 100 000 wuchs. Typhus „fest“ und Typhus „Original“ wuchsen beide bei 1 : 200 000. Für Shiga-Ruhr „Original“ trat Wachstum noch bei 1 : 500 000 ein, während Shiga-Ruhr fest bei einer Konzentration von 1 : 50 000 gut wuchs. Von allen gefestigten Bakterienarten hatte also bloß Ruhr die Festigung beibehalten, und zwar unvermindert. Eine nochmalige Nachprüfung des agglutinatorischen Verhaltens zeigte für Cholera „original“ Agglutination bis 1 : 25 000, für Cholera „fest“ bis 1 : 10 000; Typhus „Original“ und „fest“ wurden beide bis 1 : 20 000 in gleichmäßiger Stärke agglutiniert. Bei beiden Ruhrstämmen entsprach der verschiedenen Sublimatempfindlichkeit auch ein Unterschied bei der Agglutination, insofern als beide Stämme zwar bis zur gleichen Titergrenze, aber in verschiedener Stärke agglutiniert wurden; der feste Stamm wurde durchwegs stärker agglutiniert. Das Verhalten fester und normaler Stämme gegen Ausfällung mit Sublimat und Magnesiumsulfat bot bei Cholera und Typhus nichts Bemerkenswertes, hingegen zeigten sich bei Ruhr jetzt deutliche Unterschiede, die vor 3 Monaten nicht so hervorgetreten waren. Die erste Ablesung der Resultate geschah nach etwa 3 Minuten langem, intensivem Schütteln der Röhrchen, wodurch der Eintritt der Reaktion augenscheinlich sehr stark beschleunigt wurde; eine zweite Ablesung wurde nach 1 Stunde Verweilen bei 37° notiert. Die Ergebnisse sind in folgenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle II.

Sublimat 1:20	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Shiga Orig. {1. Abl.	-	-	-	-	-	-	} normal
2. Abl.	±	±	±	++	++	++	
Shiga fest {1. Abl.	-	-	-	+	++	+++	} normal
2. Abl.	±	+	+++	++++	++++	++++	

Tabelle III.

MgSO	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Shiga Orig. {11.3'	-	-	-	-	-	-	} normal
1.60'	+	+	++	++	++	+++	
Shiga fest. {	++	+++	++	++	+	+	} normal
	+++	++++	+++	+++	+++	+++	

Aus obenstehenden Resultaten erhellt deutlich eine stärkere Ausflockbarkeit des festen Stammes, wobei auffälligerweise die Flockung des festen Stammes durch $MgSO_4$ in Form einer Kurve verläuft, die ihren Gipfelpunkt bei Zusatz von 0,1 $MgSO_4$ hat. Dieses Fällungsoptimum kommt wahrscheinlich dadurch zustande, daß der Überschuß des Gefällten bei stärkeren Zusätzen sich wieder auflöst. Das Ergebnis obenstehender Tabellen, das ungemein charakteristisch auftrat, konnte in mehrfach wiederholten Versuchen, auch mit anderen Fällungsmitteln, wie Bleiacetat, Eisenchlorid und Calciumchlorid beobachtet und bestätigt werden.

Zum Schluß wurde noch eine Prüfung der festen und normalen Stämme mit der Säureagglutination (*Michaelis*) durchgeführt. Es wurden Pufferlösungen von verschiedenem p_H -Gehalt nach folgendem Schema dargestellt und die H-Ionenkonzentration dieser Lösungen mittels der einfarbigen Indicatoren nach *Michaelis* festgestellt. Die Lösungen VI und VII ließen sich nicht näher bestimmen, da ihre p_H -Zahl außerhalb des Umfangsbereiches der angewandten einfarbigen Indicatoren liegt.

Lösung:	I	II	III	IV	V	VI	VII
n. Weinsäure	0,5	0,5	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
1/2 n. weinsaures Natrium . .	8,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Destilliertes Wasser	1,5	8,5	9,0	8,5	7,5	5,5	1,5
p_H	4,9	3,7	3,3	3,0	2,7	—	—

Im einzelnen wurde so vorgegangen, daß zu je 1 ccm Lösung 0,5 ccm einer dichten Bakteriensuspension in destilliertem Wasser zugefügt und auf Agglutination sofort und nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank geachtet wurde. Bei Cholera und Typhus zeigten sich nur

geringfügige Unterschiede; für Originalstämme schien die Ausfällung in einer etwas größeren Breite stattzufinden, das Optimum jedoch lag bei beiden Bakterienarten einheitlich, und zwar bei etwa p_H 2,7 resp. p_H 3,3. Die Ruhrstämme wurden überhaupt nicht in der gewählten p_H -Breite des Versuches deutlich agglutiniert.

In den beschriebenen Versuchen liegen unverkennbare Anzeichen vor, daß der Festigungsprozeß von Bakterien mit einer Änderung ihres physikalisch-chemischen Verhaltens einhergeht; inwieweit diese Tatsache jedoch ein wesentliches Kennzeichen, oder nur als Begleiterscheinung aufzufassen ist, läßt sich nicht entscheiden, insbesondere, da zunächst noch weitere Befunde über die biochemische Zusammensetzung des Bakterienprotoplasmas fester und normaler Stämme fehlen.

2. Versuche über Optochingewöhnung von Pneumokokken.

Die Versuche zur Erzielung einer Optochinfestigkeit von Pneumokokken wurden auf ähnliche Weise ausgeführt, wie schon im vorhergehenden Abschnitt für Cholera usw. beschrieben. Zur Verwendung kam ein typischer Pneumokokkenstamm „Amerika I“; als wirksame Substanz wurde salzsaures Optochin¹⁾ in physiologischer Kochsalzlösung angewandt. Als Kulturmedium diente 10proz. Pferdeserumbouillon resp. 10proz. Hammelblutagar.

Die Festigung gelang sehr rasch. Die Ausgangsempfindlichkeit von 1 : 100 000 Optochin konnte schon nach 4 Passagen auf 1 : 25 000 gebracht werden, nach weiteren 5 Passagen auf 1 : 10 000. In den nächsten 5 Passagen ging die Optochinempfindlichkeit bis auf 1 : 5000 herunter, bei welcher Konzentration sie einige Zeit verblieb. Im weiteren Verlauf der Festigung wuchsen die Pneumokokken schließlich noch bei 1 : 2000, womit der maximal erreichte Festigungswert erzielt wurde. Bei Vergleich dieses Wertes mit der Optochinempfindlichkeit des Ausgangsstammes ist jedoch zu beachten, daß die normalen Pneumokokken durch die fortgesetzte tägliche Überimpfung nach einigen Wochen auch bereits resistenter wurden, so daß sie schließlich in 1 : 50 000 bis 1 : 125 000 Optochin gut zum Wachstum kamen. Die relativ geringe Optochinempfindlichkeit der normalen Stämme mag zum Teil auf die verhältnismäßig große Einsaatmenge (0,1 ccm 24stünd. Serumbouillonkultur) zurückzuführen sein. Immerhin stellte die erzielte Festigung eine ganz erhebliche Steigerung der Resistenz gegenüber dem Optochin dar. Es ist bereits erwähnt worden, daß Bakterien, die sich gut festigen lassen, im allgemeinen auch deutlich das Phänomen der spezifischen Überempfindlichkeit zeigen. In diesem Zusammenhang möchte ich auf die Untersuchungen von *Schnabel* hinweisen und hier nur bemerken, daß seine Resultate bestätigt werden konnten. Ein Versuch, diese Erscheinung

¹⁾ Aethylhydrocupreinum hydrochloricum.

auch im festen Nährboden (Blutagarplatten mit Zusatz von Optochin in Verdünnungen von 1 : 20 000 000 bis 1 : 5000) zu demonstrieren, blieb ergebnislos; auch konnten deutliche Zeichen von Festigung in der *nächsten* Passage bei dieser Versuchsanordnung nicht wahrgenommen werden, wie es im flüssigen Medium der Fall ist. Rückschläge während der Festigung wurden fast nie gesehen, und wenn ausnahmsweise vorhanden, waren sie sehr gering. Die Optochingewöhnung wurde ferner im allgemeinen auch gut beibehalten; so zeigte sich erst nach 8 Passagen im optochinfreien flüssigen Medium und nach 4 Passagen auf der optochinfreien Blutplatte ein Zurückgehen der Festigung, die jedoch leicht wieder durch Züchtung im gifthaltigen Medium auf ihre ursprüngliche Höhe zurückgebracht werden konnte. Ebenso änderte die Passage durch den Tierkörper die Optochinfestigkeit nicht. Bei diesem letzten Versuche stellte sich eine deutliche Virulenzverminderung des festen Stammes heraus.

Am 14. VI. 11 Uhr vorm. wurden 2 weiße Mäuse von je 25 g Gewicht mit je 0,5 ccm einer 2000fachen Verdünnung einer 24stündigen Serumbouillonkultur des festen bzw. normalen Stammes intraperitoneal gespritzt. Am 15. VI. 2 Uhr 30 Min. pm. starb das Kontrolltier, am 16. VI. morgens wurde die mit festen Pneumokokken gespritzte Maus tot gefunden. Die aus dem Herzblut gezüchteten Pneumokokken verhielten sich wie oben erwähnt.

Kulturelle Verschiedenheiten sind beim Vergleich fester und normaler Pneumokokken nicht aufgefallen, außer daß vielleicht das Methämoglobinbildungsvermögen bei dem festen Stamm etwas verzögert schien. Der Versuch wurde so angestellt, daß zu je 0,5 ccm einer mit destilliertem Wasser lackfarbig gemachten Blutkörperchenaufschwemmung (geprüft wurden Menschen-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Pferde- und Hammelblutkörperchen ohne wesentlichen Unterschied) fallende Mengen einer 24 stündigen Serumbouillonkultur gegeben und dann der Inhalt jedes Röhrchens auf 1 ccm ergänzt wurde. Nach Ablauf einer Viertelstunde bei 37° waren die Röhrchen des normalen Stammes bei den größeren Zusätzen schon braun gefärbt, während der feste Stamm zurückblieb; dieser Unterschied glich sich jedoch im Verlauf der nächsten 10 Minuten wieder aus. Eine gelegentliche spektroskopische Prüfung ließ quantitative Unterschiede nicht ermitteln. Morphologische Abweichungen waren insofern festzustellen, als die festen Pneumokokken oft in längeren Ketten wuchsen, die von Streptokokken mikroskopisch kaum zu unterscheiden waren. Die aus dem Tierkörper gezüchteten Pneumokokken dagegen wuchsen jedesmal in der ersten Kultur wieder durchwegs typisch in Doppelkokkenform mit gut ausgebildeten Kapseln.

Die erzielte Optochinfestigkeit war streng spezifisch. Zur Feststellung der Spezifität wurde die Empfindlichkeit der Pneumokokken gegen Sublimat, Phenol, Chinin und Galle herangezogen. Feste und

normale Stämme wuchsen gleichmäßig noch bei 1:100 000 Sublimat und 1:1000 Phenol, und ein Zusatz von 0,8 ccm Ochsengalle zu 10 ccm Serum-bouillon vermochte bei beiden Stämmen gerade das Wachstum zu verhindern. Gegenüber Chinin erschien die Spezifität jedoch insofern etwas durchbrochen, als die festen Pneumokokken noch bei einer Konzentration von 1:10 000 wachsen konnten, während die Wachstumsgrenze für den Ausgangsstamm bei 1:25 000 lag, ein Unterschied, der jedoch bei der nahen chemischen Verwandtschaft beider Desinfektionsmittel gering ist.

Die Aufällungsversuche fester und normaler Pneumokokkenkulturen wurden mit heißgesättigten Lösungen von Calciumchlorid, Sublimat, Ferrosulfat, Zinksulfat, Ammoniumsulfat und 10 proz. Optochin- und Chininlösung ausgeführt. Als Bakterienemulsion diente eine dichte Aufschwemmung einer 24 stündigen Blutplattenkultur in dest. Wasser. Hier ergab sich bei den anorganischen Fällungsmitteln kein wesentlicher Unterschied; hingegen wurden in mehrfach wiederholten Versuchen *die normalen Pneumokokken durch Optochin und Chinin stets stärker ausgeflockt als die festen*. Zum Vergleich wurden außer dem homologen Stamm noch 2 andere Pneumokokkenstämme herangezogen. Die folgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung für die erhaltenen Resultate:

Tabelle IV.

Optochin 10%	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Pn. A. I. fest.	—	—	±	±	+	normal
Pn. A. I. org.	±	+	+	++	++	„
Pn. Morg. . . .	—	+	+	++	++	„
Pn. Wachh. . . .	—	±	+	++	++	„

Die ersichtlich geringere Ausflockbarkeit des festen Stammes durch das festigende Mittel steht im Gegensatz zu den für Cholera, Typhus und Ruhr gefundenen Ergebnissen; doch wäre, ganz allgemein, den hier gefundenen Resultaten größerer Wert beizulegen, weil es sich hier um hochfeste Stämme handelt im Gegensatz zu der nur relativ geringen und inkonstanten Gewöhnung der erwähnten Sublimatbakterien. Es ist ja auch an und für sich plausibler, daß die Gewöhnung an die chemisch wirksamen Qualitäten einer Substanz Hand in Hand geht mit einer stärkeren physikalisch-chemischen Veränderung, die sich in einer geringeren Ausfällung durch das betreffende Mittel offenbart, wobei allerdings die Frage nach dem kausalen Zusammenhang der beiden Erscheinungen zunächst noch offen bleiben muß.

Die *Säureagglutination*, die nach dem bereits früher erwähnten Schema durchgeführt wurde, ergab eine Verschiebung der optimalen Ausfällungsgrenze nach der alkalischen Seite des früher angeführten Schemas für die festen Pneumokokken. Die gefundenen Werte lagen bei Lösung III (p_H . 3,3), resp. Lösung V (p_H . 2,7). Im Zusammen-

hang mit diesen Versuchen wurden die in 3proz. Milchzuckerbouillon innerhalb 24 Stunden bei 37° von festen und normalen Pneumokokken gebildeten Säuremengen nach *Michaelis'* Indicatorenmethode bestimmt. Die gefundenen Werte waren für feste Pneumokokken: p_H 4,7, für normale Pneumokokken: p_H 4,8—4,7. Auffallend ist, daß die festen Pneumokokken keine geringere Säureproduktion zeigen als die normalen; dieses Verhalten steht im Gegensatz zu dem gewöhnlich allgemein herabgesetzten Stoffwechsel fester Bakterien und auch zu den bei Streptokokkenfestigung gefundenen Resultaten (siehe später).

Typenagglutination: Von großem Interesse war, zu untersuchen, ob die serologisch so scharf zu trennende Typenspezifität auch für den festen Pneumokokkenstamm beibehalten wurde; der Stamm A. I gehörte zu Typ I. Zu diesem Zwecke wurden normale und feste Pneumokokken mit 3 Kaninchenseren agglutiniert, die durch Immunisierung mit Repräsentanten der 3 Typen gewonnen waren. Das Serum für Typ I war außerdem noch direkt durch Immunisierung mit dem Stamm A. I hergestellt worden. Es stellte sich heraus, daß sich die gefestigte Variante des Stammes A I gegenüber Sera für Typ II und Typ III absolut negativ verhielt; das Serum für Typ I agglutinierte den Originalstamm bis 1 : 25 gut, bis 50 zweifelhaft, während der feste Stamm bis 1 : 50 sehr stark agglutiniert wurde und noch bei 1 : 100 feinste Flockung zeigte. Ein Übergreifen eines Typs auf den anderen infolge der Festigung erscheint also hiernach ausgeschlossen; die stärkere Ausflockung durch das homologe Serum entspricht im übrigen dem labileren physikalisch-chemischen Verhalten, das auch bei manchen anderen Ausfällungsversuchen für die festen Stämme zutage tritt, nicht aber gegenüber der zur Festigung verwandten Substanz.

3. Versuche über Gewöhnung von Streptokokken an Rivanol und Trypaflavin.

Trypaflavin (3,6 Diamino-lo-methylacridiniumchlorid) und Rivanol (salzsaures 2-Äthoxy-6,9-Diaminoacridinium) sind 2 Substanzen aus der Reihe der Acridinfarbstoffe, die wegen ihrer hohen bactericiden Kraft gegenüber Streptokokken (aber auch anderen Keimen) in letzter Zeit viel Verwendung gefunden haben, und zwar zur chirurgischen Wunddesinfektion und auch zur Behandlung der Streptokokkensepsis. Die Möglichkeit einer weitgehenden Festigung von Bakterien (Vibrionen) gegen Trypaflavin hat *Shiga* erstmalig nachgewiesen; entsprechende Mitteilungen über Kokken sind in der Literatur nur spärlich vorhanden (*Fürstenau*). Rivanol wurde von *Morgenroth* zur Heilung der chronischen phlegmonösen Streptokokkeninfektion der Maus mehrmals dem Organismus durch Umspritzung des subcutanen Infektionsherdes mit Erfolg einverleibt, ohne daß augenscheinlich eine Einbuße der desinfektorischen Wirksamkeit durch Festwerden der Streptokokken beobachtet wurde. Bei diesen Versuchen brachte Rivanol in Konzentration von 1 : 80 000

definitive klinische und bakteriologische Heilung. Die Angaben der einzelnen chirurgischen Autoren über die desinfektorisch wirksame Konzentration des Trypaflavins lauten verschieden; Beobachtungen über Festigung sind nicht zu finden.

Verwendet wurde in den vorliegenden Versuchen Streptokokkus „Aronson“, ein typischer hämolytischer Streptokokkenstamm; als Medium diente 10 proz. Pferdeserumbouillon. Die Ausgangsempfindlichkeit der Streptokokken betrug in Entwicklungshemmungsversuchen (die Experimente wurden auf die gleiche Weise, wie schon früher für Cholera usw. beschrieben, unternommen) für das Trypaflavin ca. 1 : 200 000, für das Rivanol ca. 1 : 80 000. Die Festigung beim Trypaflavin war verhältnismäßig rasch zu erzielen. Schon nach wenigen Passagen gelang die Züchtung in einer Konzentration, die 2- bis 3fach höher war als die Ausgangskonzentration, nach etwa 60 Passagen wuchsen die Streptokokken bei etwa 1 : 2000, womit die maximale Festigungsgrenze innerhalb der angegebenen Zeit erreicht wurde. Die Festigung selbst verlief ohne Rückschläge. Beim Rivanol gestaltete sich die Festigung äußerst schwierig. Nach etwa 40 Passagen erst waren die ersten Anzeichen von Festigung zu beobachten und nach etwa 70 Passagen wuchsen die Streptokokken schließlich stets bei 1 : 50 000, mitunter sogar bei 1 : 25 000. Die Festigung verlief im übrigen bei beiden Giften ohne Besonderheiten und wurde im allgemeinen auch gut beibehalten. Nach 10 Passagen in rivanol- resp. trypaflavinfreier Serumbouillon hatten die Streptokokken nichts von ihrer Festigung eingebüßt, ebensowenig nach verschiedenen Passagen auf Blutplatten. Im Tierversuch zeigte sich für beide festen Stämme eine deutliche Verminderung der Virulenz. Die aus dem Tierkörper gezüchteten rivanolfesten Streptokokken hatten von ihrer Festigkeit etwas eingebüßt, während die trypaflavinfesten sich unverändert zeigten. Folgende Tabelle gibt über das Gesagte näheren zahlenmäßigen Aufschluß; auch zeigte sich eine merkwürdige Durchbrechung der Spezifität der Rivanolfestigung, die noch näher besprochen werden soll.

Tabelle V.

Rivanol	200 000	100 000	50 000	25 000	Kontr.	Trypaflavin	400 000	200 000	100 000	50 000	5000	Kontr.
Strept. „Orig.“	++	+	-	-	++	Strept. „Orig.“	++	±	-	-	-	++
Strept. „Orig.“ Maus . . .	++	++	-	-	++	Strept. „Orig.“ Maus . . .	++	±	-	-	-	++
Strept. „Rivanol“	++	++	++	-	++	Strept. „Rivanol“	++	++	++	++	++	++
Strept. „Rivanol“ Maus . . .	++	++	±	-	++	Strept. „Rivanol“ Maus . . .	++	++	++	+	-	++
Strept. „Trypaflavin“	++	++	-	-	++	Strept. „Trypaflavin“	++	++	++	±	-	++
Strept. „Trypaflavin“ Maus . . .	++	++	-	-	++	Strept. „Trypaflavin“ Maus . . .	++	++	++	±	-	++

Generated on 2019-08-03 14:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788980
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hier fällt außer den bereits erwähnten Tatsachen die merkwürdige Resistenzsteigerung auf, die rivanolfeste Streptokokken gegenüber Trypaflavin zeigen; dieses Verhalten ist um so interessanter, als es bereits beobachtet wurde zu einer Zeit, wo von Rivanolfestigkeit noch keine Rede sein konnte. Folgende Tabelle enthält die Ergebnisse einer solchen „gekreuzten Spezifitätsprüfung“, die nach der 10. Passage der Rivanol- und Trypaflavinfestigung vorgenommen wurde.

Tabelle VI.

Trypaflavin	400 000	200 000	100 000	50 000	5000	Kontr.	Rivanol	200 000	100 000	50 000	25 000	Kontr.
Strept. „Orig.“	++	±	-	-	-	++	Strept. „Orig.“	++	+	-	-	++
Strept. „Rivanol“	++	++	++	+	±	++	Strept. „Rivanol“	++	++	-	-	++
Strept. „Trypaflavin“	++	++	+	-	-	++	Strept. „Trypaflavin“	++	+	-	-	++

Mit zunehmender Festigung gegenüber Rivanol und Trypaflavin trat dieses Verhalten noch stärker in Erscheinung, wie aus einer Tabelle hervorgeht, die die Ergebnisse nach etwa 60 Passagen im gifthaltigen Milieu wiedergibt:

Tabelle VII.

Trypaflavin	400 000	200 000	100 000	50 000	5000	4000	2000	K.	Rivanol	200 000	100 000	50 000	25 000	K.
Strept. „Orig.“	++	±	-	-	-	-	-	++	Strept. „Orig.“	++	+	-	-	++
Strept. „Rivanol“	++	++	++	++	++	±	-	++	Strept. „Rivanol“	++	++	++	+	++
Strept. „Trypaflavin“	++	++	++	++	++	++	+	++	Strept. „Trypaflavin“	++	++	+	-	++

In vorstehender Tabelle zeigt sich außerdem auch eine vermehrte Resistenz der trypaflavinfesten Streptokokken gegenüber Rivanol, wenn sie auch nicht so deutlich hervortritt wie die Resistenzsteigerung der rivanolfesten Streptokokken gegenüber Trypaflavin, die in manchen Versuchen sogar über die durch spezifische Festigung erreichten Werte hinausging. Besonders wichtig muß diese letztere Feststellung erscheinen, weil sich bei einer weiteren Prüfung der Spezifität der Rivanol- und Trypaflavinfestigkeit gegenüber Sublimat und Phenol keinerlei Unterschied zwischen Resistenz der normalen und der beiden festen Stämme ergab. Alle 3 Stämme wuchsen gleichmäßig bei einer Sublimatkonzentration von einschließlich 1 : 100 000 und einem Phenolgehalt der Bouillon von 1 : 1000. Die erhöhte Resistenz der trypaflavingewöhnten Streptokokken gegen Rivanol erklärt sich aus der nahen chemischen Beziehung beider Desinfizienten, analog dem Verhalten optochiniferer Pneumokokken gegenüber Chinin. Die Züchtung von Streptokokken im rivanolhaltigen Medium hat aber eine Festigung gegenüber Trypa-

flavin herbeigeführt zu einer Zeit, wo eine solche gegenüber dem eigentlichen Gewöhnungsmittel entweder gar nicht oder nur angedeutet nachweisbar war. Diese merkwürdige Erscheinung könnte durch gewisse, nicht näher definierbare, der Festigung entgegenwirkende Einflüsse der Seitenketten des Rivanols bedingt sein.

Morphologische Veränderungen der festen Streptokokken ließen sich insofern feststellen, als sie in ungeheuer langen Ketten wuchsen, die oft ununterbrochen das ganze Gesichtsfeld durchzogen, vielfach in schlangenartig gewundenen Linien. Dabei erschienen sie oft im Grampräparat ungleichmäßig gefärbt; das Protoplasma wies hier und da Körnelung auf, und mitunter fanden sich an den Endgliedern der Ketten kolbenartige Auftreibungen. Diesen Degenerationserscheinungen entsprechen auch gewisse kulturelle Minderleistungen.

Zunächst ließ sich in gefestigten Streptokokkenkulturen (24 stündige 3 proz. Milchzuckerbouillon) eine geringere Säureproduktion feststellen, die besonders bei den tryptaflavinfesten Streptokokken erheblich hinter dem Säurewert der normalen Kulturen zurückblieb. Die gefundenen Werte sind im Durchschnitt die folgenden: normale Streptokokken: p_H 4,5; rivanolfeste Streptokokken p_H 4,8; tryptaflavinfeste Streptokokken p_H 5,4. Ferner stellte sich eine erhebliche Abschwächung des hämolytischen Vermögens der festen Streptokokken heraus, die aber beim Wachstum auf der Blutplatte nicht zum Ausdruck kam, weil es sich nur um eine zeitliche Verzögerung der Reaktion gegenüber der Normalkultur handelte. Die Versuchsanordnung wurde analog der schon bei Pneumokokken beschriebenen Methode gewählt, nur daß hier zu fallenden Kulturmengen gleiche Mengen einer 10 proz. NaCl-Aufschwemmung von roten Blutkörperchen der verschiedenen Tierarten hinzugesetzt wurden. Die Abschwächung der Hämolyse war bei rivanolfesten Streptokokken stärker ausgeprägt als bei tryptaflavinfesten und zeigte sich in einem Parallelversuch besonders den Pferdeblutkörperchen gegenüber, in geringerem Grade bei dem Blute von Meerschweinchen, Kaninchen, Hammel und Menschen.

Die Ausfällungsversuche fester und normaler Kulturen mit anorganischen Salzen und den beiden festigenden Mitteln ergaben besonders beim $MgSO_4$ eine deutlich herabgesetzte Flockbarkeit der festen Stämme. Der Ausfällung mit den festigenden Mitteln unterworfen erwiesen sich ebenfalls die Normalkulturen leichter ausflockbar. Folgende Tabellen enthalten eine Zusammenstellung der Ergebnisse:

Table VIII.

$MgSO_4$ (gesätt. Lösung)	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Strept. Orig. . . .	++	+++	++	++	++	normal
Strept. Riv. . . .	+	+	±	±	-	"
Strept. Tryp. . . .	+	±	±	-	-	"

Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 99.

19

Tabelle IX.

Rivanol 1:1000	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Strept. Orig. . . .	++	++	++	++	++	normal
Strept. Riv. . . .	+	±	±	±	—	„
Strept. Tryp. . . .	++	+	±	±	—	„

Tabelle X.

Trypaflavin 1:200	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	Kontrolle
Strept. Orig. . . .	+++	+++	+++	+++	+++	normal
Strept. Riv. . . .	++	++	+	+	+	„
Strept. Tryp. . . .	±	+	±	±	±	„

Wie aus obenstehenden Tabellen ersichtlich, dokumentiert sich die gekreuzte Resistenzvermehrung der rivanol- und trypaflavinfesten Stämme auch in einem entsprechenden Verhalten bei der Ausflockung.

Die Säureagglutination, nach dem schon beschriebenen Schema durchgeführt, ergab keine wesentlichen Unterschiede zwischen festen und normalen Kulturen. Die spezifische Agglutination wurde mit einem Kaninchenserum ausgeführt, das durch direkte Immunisierung mit Stamm Aronson erhalten war. Die Herabsetzung der Agglutinabilität der trypaflavinfesten Kulturen erhellt aus folgender Tabelle:

Tabelle XI.

Immunserum	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000	Kontrolle
Strept. Orig. . . .	+++	++	++	+	+	normal
Strept. Riv. . . .	+++	+++	++	++	+	„
Strept. Tryp. . . .	+++	±	—	—	—	„

Die angeführten Versuche machen es, besonders auch beim Vergleich mit den für Pneumokokken erhaltenen Resultaten, wahrscheinlich, daß es sich bei der Festigung um einen einheitlichen Prozeß handelt, der mit einer Veränderung des physikalisch-chemischen Verhaltens einhergeht, die sich besonders in einer geringeren Ausflockbarkeit des festen Stammes durch das festigende Mittel äußert.

4. Versuche über Gewöhnung von Staphylokokken an Methylenblau.

Die Mitteilungen über die bactericide Kraft des Methylenblaus, die dasselbe gegenüber den meisten Bakterien und Protozoen entfaltet, sind äußerst zahlreich, Versuche über Festigungserscheinungen jedoch mit diesem Farbstoff sind weniger bekannt. Von großem Interesse ist in diesem Zusammenhang eine Arbeit von *Shiga*, der über Festwerden von Choleravibrionen gegen Farbstoffe aus der Gruppe des Methylenblaus berichtet. Dieser Autor konnte eine schnell eintretende

und äußerst weitgehende Festigung dieser Bakterien durch Züchtung im gifthaltigen Medium erreichen, derart, daß die an Methylenblau gewöhnten Keime das 20fache der von der Normalkultur tolerierten Konzentration betrogen. Die erreichte Festigung blieb lange bestehen; von einem Rückschlage während des Festigungsprozesses ist keine Erwähnung getan. Die Spezifitätsprüfung der Festigkeit beschränkte sich auf die dem Methylenblau nahestehenden Farbstoffe, wie Neumethylenblau, Äthylviolett u. a. und erwies ein Übergreifen der Methylenblaufestigung auf die chemisch nächst verwandten Verbindungen. Besondere Berücksichtigung erfuhr ferner die Bewertung der Festigung hinsichtlich des bactericiden und entwicklungshemmenden Effekts, wobei sich zeigte, daß die Festigung gegenüber der entwicklungshemmenden Kraft des Methylenblaus viel größer war als gegenüber der abtötenden Kraft. Gegen Farbstoff feste Cholerakeime endlich haben gegen die Serumwirkung (Bakteriolyse) keine Festigung gewonnen, unterlagen vielmehr oft leichter als die Normalkulturen. Versuche über Festigung von Staphylokokken an Desinfektionsmittel sind von *Regenstein* (Phenol) und *Abott* (Sublimat u. a.) unternommen, und in einer neueren Arbeit berichtet *Mayeda* über künstlich erzielte Vuzinfestigkeit von Staphylokokken; er konnte nach verhältnismäßig kurzer Zeit eine Resistenzsteigerung um ungefähr das Doppelte gegenüber derjenigen Vuzinkonzentration, in der die Kokken nach 24stündigem Verweilen noch teilweise fortpflanzungsfähig bleiben, erreichen. Dabei fielen ihm größere Unterschiede betreffs der Leichtigkeit oder Schwierigkeit, eine Vuzingewöhnung zu erzielen, zwischen den einzelnen untersuchten Staphylokokkenstämmen auf; ferner berichtet er auch über eine gelegentliche Abnahme der Vuzinresistenz im Verlaufe der Festigung, ohne nähere Gründe dafür angeben zu können. Das gleiche Verhalten ist auch von *Masson* und *Ehrlich* bereits bei anderen Mikroorganismen und Desinfizienten beschrieben; gelegentlich sei sogar eine ausgesprochene Überempfindlichkeit beobachtet worden, welche letztere Bemerkung besonders Interesse gewinnt beim Vergleich mit den auch von mir im Laufe dieser Arbeit gemachten Beobachtungen des „Chute“ und einer darauffolgenden erhöhten Empfindlichkeit (vgl. Abschnitt 1). *Mayeda* konnte ferner nicht mit Sicherheit bestimmen, ob die durch Vuzinpassage erhöhte Resistenz der Staphylokokken dem Vuzin gegenüber spezifisch sei oder nicht, weil die einzelnen vorbehandelten Stämme sich bei einer Prüfung gegen Sublimat verschieden verhielten.

Meine Versuche wurden aus prinzipiellen Gründen, die am Anfang der Arbeit näher dargelegt sind, wieder so angestellt, daß Festigungsmittel und Bakterien *während* des Wachstums der letzteren in Kontakt waren, so daß auch hier nur von einer Gewöhnung an die entwicklungshemmende Kraft des Methylenblaus gesprochen werden kann. Die

Methodik dieser Versuche unterscheidet sich also in nichts von der bereits für Cholera usw. beschriebenen. Als Kulturmedium gelangte gewöhnliche, schwach alkalische Nährbouillon zur Verwendung; das Methylenblau wurde in einer dunklen Flasche als Stammlösung nach folgender Zusammensetzung aufbewahrt: Methylenblau 1,0, Alkohol 20,0, Aqua dest. ad 50,0. Der Staphylokokkenstamm war ein *Staphylococcus aureus* von typischem kulturellen Verhalten.

Die Festigung verlief äußerst unregelmäßig. Schon nach wenigen Passagen konnte die Ausgangsempfindlichkeit des Normalstammes, die mit etwa 0,1 ccm Zusatz Methylenblaulösung zu 10 ccm Bouillon als durchschnittlich tolerierte Konzentration gefunden wurde, auf das 3- bis 4fache gesteigert werden. Das Wachstum der Staphylokokken in der methylenblauhaltigen Bouillon ging mit fast vollständiger Zerstörung des Farbstoffes einher, so daß bei gutem Wachstum die früher tiefblaue Farbe vollkommen verlorenging und nur noch ein schwach grünlicher Schimmer die Anwesenheit des reduzierten Methylenblaus in der Bouillon verriet; bei schwächerem Wachstum war die Entfärbung nur eine partielle und hauptsächlich auf die unteren Teile des Röhrchens beschränkt. Bei intensivem Schütteln der Röhrchen kam die blaue Farbe fast momentan wieder zum Vorschein, um nach kurzem Aufenthalt im Brutschrank von neuem zu verschwinden. So konnte dieses Wechselspiel zwischen Reduktion und Oxydation des Methylenblaus beliebig oft wiederholt werden. In den folgenden Passagen zeigte sich nun nach anfänglicher Festigung eine sehr starke Resistenzverminderung, die dazu führte, daß die vorbehandelten Staphylokokken nicht einmal bei Gegenwart von 0,05 Methylenblau wuchsen. Bemerkenswert sei, daß dieser Sturz nicht durch den direkt schädigenden Einfluß des Desinfiziens hervorgerufen zu sein schien, weil er sich am selben Tage gleichmäßig in 3 Parallelserien zeigte, die sich aus Abimpfungen aus der höchstgewachsenen, einer mittleren Konzentration und der Kontrolle der gefestigten Kultur in gewöhnlicher Bouillon zusammensetzten. Die Verhältnisse liegen hier also ganz ähnlich wie bei dem schon für die Sublimatfestigung der Cholera beschriebenen Sturz. Nach wenigen Passagen wurde dieses Stadium der Resistenzverminderung jedoch überwunden, die Festigungskurve stieg langsam wieder an, um nach etwa 30 Passagen zu dem maximal erreichten Festigungswert von 0,6 ccm Zusatz Methylenblaulösung zu 10 ccm Bouillon zu gelangen. Auf dieser Höhe hielt sich die Festigung eine Zeitlang mit geringen Schwankungen nach oben und unten, um dann von einem neuen unvermittelten Sturz bis 0,1 ccm Methylenblau pro 10 ccm Bouillon gefolgt zu werden. Dieses Mal konnte die Spezifität dieser auffälligen Resistenzverminderung näher verfolgt werden; dabei wurde festgestellt, daß es sich hier um eine *unspezifische Resistenz*

verminderung handelte (Schnabel). Zur Prüfung wurden außer Sublimat und Phenol noch das Vuzin (Isoctylhydrocupreinum bihydrochloricum) herangezogen. Nachstehende Tabellen geben über das Gesagte einen Überblick:

Tabelle XII.

Methylenblau	0,95 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	0,6 ccm	Kontrolle
Staph. fest aus 0,6 ccm	++	±	-	-	-	-	-	++
Staph. Orig. . . .	++	++	-	-	-	-	-	++
Staph. fest aus Kontr.	++	+	-	-	-	-	-	++

Tabelle XIII.

Sublimat	100 000	50 000	20 000	10 000	Kontrolle
Staph. Orig. . . .	++	++	+	-	++
Staph. fest	++	++	-	-	++

Tabelle XIV.

Phenol	50 000	20 000	10 000	5000	1000	Kontrolle
Staph. Orig. . . .	++	++	++	-	-	++
Staph. fest	++	+	-	-	-	++

Tabelle XV.

Vuzin	100 000	50 000	20 000	10 000	Kontrolle
Staph. Orig. . . .	++	±	-	-	++
Staph. fest	++	-	-	-	++

Mit den angeführten Versuchen konnte die Frage der Spezifität des Sturzes also im negativen Sinne beantwortet werden. Von den oben angeführten Versuchen ist allerdings die Resistenzverminderung der festen Staphylokokken gegenüber Sublimat nicht maßgebend, weil sich herausstellte, daß Staphylokokken selbst auf der Höhe der Festigung eine im Vergleich zur Normalkultur etwas verminderte Resistenz gegen Sublimat aufweisen können; hingegen berechtigt das Verhalten gegen Vuzin zu einem absolut bündigen Schluß, weil wirklich feste Staphylokokken im allgemeinen eine etwas stärkere Resistenz gegen dieses Mittel zeigten als normale. Gegenüber Phenol schließlichi verhielten sich wirklich feste und normale Staphylokokken unterschiedslos, so daß die Spezifität der Festigung im allgemeinen gewahrt erschien.

Die zum Vergleich für kulturelle Unterschiede und verändertes physikalisch-chemisches Verhalten verwandten festen Staphylokokken stammten aus der kurzen Zeit des konstanten Festigungsniveaus bei etwa 0,6 Methylenblau, so daß hier wirklich feste Staphylokokken

vorlagen. Zur näheren quantitativen Bestimmung des im Kulturversuch so deutlich hervorgetretenen verstärkten Reduktionsvermögens der festen Staphylokokken wurden fallende Mengen fester und normaler Bouillonkulturen in verschiedenen Röhren mit Bouillon auf je 1 ccm Flüssigkeitsmenge ergänzt, zu jedem Röhren ein Tropfen Methylenblaulösung hinzugefügt, darüber 1 ccm Paraffin geschichtet und die so beschickten Röhren bei 37° gehalten; nach relativ kurzer Zeit zeigte sich eine Entfärbung in abgestufter Reihenfolge, wobei die festen Staphylokokken etwas schneller entfärbten. Im allgemeinen war aber der Unterschied nicht so eklatant, wie man nach dem Ausfall des Kulturversuches hätte erwarten können. An kulturellen Verschiedenheiten fiel zunächst eine sehr verlangsamte Gelatineverflüssigung der festen Staphylokokken auf; um eine ungefähr gleich hohe Schicht Nährgelatine zu verflüssigen, brauchten die festen Staphylokokken etwa das 3fache der Zeit wie die normalen Keime. Diese Feststellung stimmt mit den Angaben *Mayedas* überein, der für seine vuzinfesten Staphylokokken ebenfalls eine erhebliche Verminderung des Gelatineverflüssigungsvermögens beobachtete. Des weiteren lehren *Mayedas* Versuche, daß durch die Vuzinfestigung eine verminderte Staphylolysinbildung eintritt. Ohne die gleiche Versuchsanordnung wie *Mayeda* mit optimalen Bedingungen zu gebrauchen, konnte ich in meinen Versuchen, die analog der für Streptokokken beschriebenen Methodik angestellt wurden, das gleiche Resultat verzeichnen. Nach vorhergehender 2stündiger Bebrütung wurden die mit fallenden Kulturmengen und gleichen Mengen Blutkörperchenaufschwemmung beschickten Röhren bei Zimmertemperatur gehalten und täglich auf den Eintritt von Hämolyse kontrolliert; diese trat bei den Normalkulturen schon nach 2 Tagen in den stärksten Konzentrationen (0,5—0,3 ccm) angedeutet auf und manifestierte sich nach 3 Tagen auch im letzten Röhren (0,05 ccm); hingegen war die Hämolyse bei den festen Kulturen sehr stark verzögert, derart, daß bei 0,5—0,3 ccm Kulturmenge erst nach 4 Tagen eine komplette Hämolyse eintrat und in den schwächeren Konzentrationen die Hämolyse innerhalb der angegebenen Zeit überhaupt ausblieb. Dieser Verlust der Hämolysebildung wurde schon nach wenigen Festigungspassagen beobachtet; er wurde im weiteren Verlauf weder stärker noch schwächer, insbesondere blieb er auch zur Zeit des Sturzes bestehen. Unterschiede in der Resistenz gegenüber dem Staphylolysin konnten bei den verschiedenen untersuchten Blutkörperchenarten nicht festgestellt werden. Etwaige Differenzen in der Menge des von den festen bzw. normalen Kulturen gebildeten Leukocidins wurden nicht näher bestimmt. Verschiedene Versuche, die von den Staphylokokken in 24stündiger Milchzuckerbouillonkultur gebildeten Säuremengen zu bestimmen, bestätigten die

Tatsache, daß die Festigung im allgemeinen mit einer Verminderung der Säureproduktion einhergeht. In einem Versuch z. B. waren die Werte für unbehandelte Staphylokokken: $p_{\text{H}} = 5,4$ und für feste Staphylokokken: 6,1.

Was die nähere Prüfung des physikalisch-chemischen Verhaltens anbetrifft, so zeigte die Säureagglutination zunächst eine konstante Verschiebung der Ausfällungsgrenze für die festen Staphylokokken nach der alkalischen Seite des eingangs angeführten Schemas. Unbehandelte Staphylokokken fielen nach 1 Stunde bei 37° erst bei Lösung VI aus, feste Staphylokokken dagegen spurweise schon bei Lösung III, sehr deutlich bei Lösung IV. Nach längerer Beobachtungsdauer verwischte sich allerdings dieser Unterschied. Die spezifische Agglutination konnte leider nicht unternommen werden, da ein agglutinierendes Immunserum nicht zur Verfügung stand. Die mit verschiedenen anorganischen Salzen durchgeführten Ausfällungsversuche zeigten keine erheblichen quantitativen Unterschiede, wohl aber schien die Ausflockung der Originalstämme im ganzen etwas grobflockiger zu sein als die der festen; mikroskopisch untersucht bestätigte sich auch die gröbere Struktur der Normal-Staphylokokken-Flockung. Die Ausflockung mit konzentrierter Methylenblaulösung führte zu keinem eindeutigen Ergebnis, da eine Ablesung unmöglich war.

5. Versuche über Züchtung von Cholera-vibrionen in spezifischem Immunserum.

Wie es gelingt, durch langsame Gewöhnung an die toxische Wirkung eines Giftes oder Desinfiziens den meisten Bakterien eine vermehrte Resistenz gegen diese Substanzen zu verleihen, so ist es ebenso möglich, durch langsame Steigerung der Konzentrationen eine Gewöhnung der Bakterien an die bactericiden Antikörper eines Immunserums zu erzielen und damit ebenfalls eine Art Festigung herbeizuführen. Der Begriff der „Serumfestigkeit“ in diesem Zusammenhang ist zum ersten Male von *Friedberger* und *Moreschi* aufgestellt worden, als der Ausdruck für den Zustand der „Agglutinationsresistenz“ gewisser Rassen von Bakterienstämmen. Späterhin ist dieser Begriff oft in mehrdeutigem Sinne gebraucht worden, wobei im einzelnen nicht immer klar war, ob es sich erstens um eine natürliche oder künstlich erzeugte Festigung handelte, und ferner, ob diese gesteigerte Resistenz sich nur auf die herabgesetzte Agglutinabilität oder verminderte Bakteriolyse oder schließlich auf eine allgemein vermehrte Widerstandsfähigkeit gegenüber der Summe der bactericid wirkenden Schutzstoffe eines spezifischen Immunserums bezieht. In der Übertragung des Begriffs „Festigkeit“ auf die erhöhte serologische Resistenz der Bakterien liegt insofern eine große Gefahr der Unübersichtlichkeit, als wir bei einem Desinfi-

ziens nur seine antibakterielle Wirkung beobachten, während beim Zusammentreffen von Bakterien und Immuns serum ja der ganze Komplex der in letzterem enthaltenen Antikörper (Agglutinine, Bakteriolysine, Präcipitine, *Bordetsche* Antikörper usw.) in Betracht kommt. Nach einer Arbeit von *Braun* und *Feiler* erscheint es z. B. erwiesen, daß diese verschiedenen erwähnten Antikörper bei der „Serumfestigung“ nicht in gleichem Maße wirksam sind, insofern als durch Züchtung in Immuns serum künstlich schwer agglutinabel gemachte Typhusstämmen trotzdem im bactericiden Versuch sich genau so empfindlich verhalten wie die Ausgangsstämme. *Amako* ferner konnte zeigen, daß in Immuns serum gezüchtete Dysenteriestämme außer dem Verlust der Agglutinabilität noch eine Verminderung ihrer antigenen Eigenschaft bei der Komplementbindung aufwiesen. Es erscheint darum ratsam, den Begriff der Serumfestigkeit als Kollektivbezeichnung überhaupt fallen zu lassen und statt dessen die erreichte *künstliche* Resistenzsteigerung mit Ausdrücken, wie „agglutininfest“ usw. näher zu präzisieren. Bei den hier angeführten Festigungsversuchen gegen die agglutinierende Wirkung des Choleraimmuns serum konnte z. B. keine Resistenzhöhung der agglutininfesten Cholera vibrien gegen die *bactericide* Wirkung des Serums gefunden werden. Zur Feststellung dieser Tatsache wurden gleiche Mengen einer stark verdünnten agglutininfesten Cholera vibrienaufschwemmung (1,0 ccm) mit der gleichen Menge Komplement (0,1 ccm frisches Meerschweinchens serum) und mit fallenden Mengen Immuns serum (0,5—0,1 ccm) versetzt, diese Mischung eine Stunde bei 37° belassen und dann von jedem Röhrchen 0,5 ccm mit 10 ccm Agar zu Platten verarbeitet. Über die Zahl der angegangenen Keime orientiert folgende Tabelle.

Tabelle XVI.

Immuns serum	0,5 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	Kontrolle mit Kompl.	Kontrolle ohne Kompl.
Chol. fest . . .	42	12	16	25	∞	∞
Chol. Orig. . . .	33	18	20	28	∞	∞

Zum Erzielen der Agglutininfestigkeit wurde der gleiche Cholera stamm wie für die Sublimatfestigung verwendet. Die Züchtung geschah in stark alkalischer Bouillon, der fallende Mengen Pferde-Cholera immuns serum hinzugefügt wurden; überimpft wurde jedesmal 0,1 ccm Kulturflüssigkeit und das Ganze während etwa 18 Stunden bei 37° bebrütet. Im Anfang war das Wachstum im agglutinierenden Medium spärlich und so stark sedimentierend, daß die agglutinierten Bakterien vollkommen verklumpt als krümeliger Bodensatz am Grunde des Röhrchens lagen. Dieser Einfluß des Immuns serum machte sich noch deutlich bis zu einer Verdünnungsgrenze von 1 : 50—100 000 geltend.

während im gewöhnlichen Agglutinationsversuch der Titer des Serums für den angewandten Cholera Stamm bei 1 : 20 000 lag. Durch langsame Steigerung der Konzentrationen konnte nach etwa 30—40 Passagen erreicht werden, daß die Cholera noch bei 1 : 1000 *ohne* stärkeres Sediment wuchs und im Agglutinationsversuch die Titergrenze des Serums auf 1 : 500 herabgedrückt war. Es wäre noch zu erwähnen, daß die Agglutininfestigkeit rein quantitativer Natur war, insofern, als sie sich nur in einer Herabdrückung der wirksamen Titergrenze beim Agglutinationsversuch äußerte, nicht aber von einer entsprechenden progressiv verteilten Intensitätsabnahme der Flockung begleitet war, so daß z. B. hinsichtlich der Qualität des Ausgeflockten bei einer Immunserumwertung von 1 : 100 oder 1 : 250 zwischen normalem und festem Stamm kein wesentlicher Unterschied bestand. Die „Serumfestigung“ selbst verlief ohne größere Sprünge in gleichmäßig zunehmender Kurve und wurde auch scheinbar gut beibehalten, denn nach 10 Passagen im serumfreien Medium (Drigalskiplatte) hatte der gefestigte Stamm nichts von seiner herabgesetzten Agglutinabilität verloren. Morphologische oder kulturelle Änderungen sind im Verlaufe der Festigung nicht aufgefallen, speziell erschienen auch das Gelatineverflüssigungsvermögen und die Indolbildung in Peptonwasser unverändert.

Die Frage der Spezifität der Agglutininfestigkeit konnte hier überhaupt nur im negativen Sinne von Interesse sein, insofern als mit der erreichten Festigung vielleicht eine so tiefgehende Änderung des Receptorenapparates entstehen konnte, daß andere heterologe Sera einen Einfluß auf die agglutininfesten Cholera vibrien gewinnen würden. Diese Vermutung traf jedoch nicht zu. Sowohl normales Pferdeserum wie agglutinierendes Typhus- und Dysenterieserum ließen unbehandelte und gefestigte Cholera vibrien in gleicher Weise selbst in Verdünnungen bis $\frac{1}{10}$ vollkommen unbeeinflusst. Zur Ergänzung wurde schließlich noch die Sublimat- und Phenolempfindlichkeit der normalen und agglutininfesten Cholera vibrien geprüft und als gleich befunden. Das Verhältnis der antigenen Eigenschaften solcher „serumfesten“ Bakterien zu den normalen bei Immunisierungsversuchen ist bereits mehrfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen; infolgedessen wurde diese Frage hier nicht weiter verfolgt. Dafür trat das Studium der Bedingungen des Eintritts solcher Agglutininfestigkeit mehr in den Vordergrund, speziell das Verhalten der festen und normalen Cholera vibrien hinsichtlich ihrer Abhängigkeit vom Vorhandensein von Kochsalz zum Zustandekommen des Agglutinationsphänomens. Es konnte festgestellt werden, daß die agglutininfesten Cholera vibrien bei einer gegebenen gleichen Immunserumverdünnung zum Eintritt des gleichen Agglutinationseffektes ein Vielfaches derjenigen Kochsalzmenge benötigen, die für die unbehandelten Cho-

leravibrionen ausreichend erschien. Zur Methodik des betreffenden Versuches sei bemerkt, daß in parallelen Serien feste und normale Cholera kulturen mit fallenden NaCl-Mengen bei Verdünnungen des Immunserums von $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{10000}$ in einer Gesamtmenge von je 1,0 ccm im Röhrchen auf die Stärke der eingetretenen Agglutination geprüft wurden; selbstverständlich wurden sowohl die Bakterienaufschwemmung wie die Serumverdünnung mit destilliertem Wasser hergestellt. Ablesung und Notierung geschah wie üblich. Folgende Tabellen geben näheren Aufschluß über das Gesagte.

Tabellen XVII—XXI.

Serumverdünnung 1 : 100						Serumverdünnung 1 : 200					
NaCl (konz.)	0,4 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	NaCl (konz.)	0,4 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm
Chol. Orig.	+++	+++	++	+	—	Chol. Orig.	+++	+++	++	±	—
Chol. fest	++	+	+	±	—	Chol. fest	++	+	±	—	—

Serumverdünnung 1 : 500						Serumverdünnung 1 : 1000					
NaCl (konz.)	0,4 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	NaCl (konz.)	0,4 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm
Chol. Orig.	+++	+++	+	±	—	Chol. Orig.	+++	++	±	—	—
Chol. fest	++/+	±	—	—	—	Chol. fest	—	—	—	—	—

Serumverdünnung 1 : 10000					
NaCl (konz.)	0,4 ccm	0,3 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm
Chol. Orig.	++	++	±	—	—
Chol. fest	—	—	—	—	—

Es zeigt sich deutlich, daß z. B. bei einer Serumverdünnung von $\frac{1}{100}$ zum Erzielen einer mit + bezeichneten Agglutinationsstärke für die normale Cholera schon die Gegenwart von 0,1 ccm NaCl genügt, während die agglutininfeste Cholera für den gleichen Effekt das 2- bis 3fache verlangt; ähnlich liegt es auch bei den stärkeren Verdünnungen des Immunserums. Da die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen war, daß das dest. Wasser die Bakterien vielleicht in ungleichem Maße schädigt, wurde in anderen Versuchen zur Herstellung der Bakterien-suspension und Serumverdünnung noch eine isotonische Traubenzuckerlösung verwandt, ohne daß die angeführten Resultate sich dadurch wesentlich verändert hätten.

Weitere Studien über das physikalisch-chemische Verhalten der agglutininfesten Cholera wurden in der gleichen Richtung ausgeführt, wie schon in früheren Abschnitten beschrieben. Was zunächst die Säureagglutination der festen Cholera betrifft, so wurde gefunden, daß der gefestigte Cholera Stamm durchweg in größerer Flockung ausfiel, ferner konnte eine Verschiebung der Ausfällungsbreite nach beiden Seiten

des p_H -Schemas festgestellt werden. Die genauen Werte sind: Cholera-, „Original“-Lösung II—VI, Cholera-, „fest“-Lösung I—VII. Bei dieser Gelegenheit wurden noch mehrere andere Cholerastämme vergleichsweise geprüft, wobei es auffiel, daß erhebliche Unterschiede zwischen einzelnen Stämmen hinsichtlich ihre optimalen Ausfällungsgrenze bestehen können, ohne daß die betreffenden Stämme sonst irgendwelche Abweichungen gezeigt hätten.

Die Ausfällungsversuche mit verschiedenen Fällungsmitteln (gesättigte Salzlösungen von Schwermetallen und organische Fällungsmittel) ergaben ebenfalls fast ausschließlich eine stärkere Ausflockbarkeit der festen Cholerakeime. Diese trat unter den organischen Fällungsmitteln, von denen Phenol, Essigsäure, Alkohol, Aceton und Formaldehyd herangezogen wurden, jedoch nur beim Formaldehyd deutlicher hervor. Die anorganischen Fällungsmittel ($ZnSO_4$, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $AgNO_3$, $NaAs_2SO_3$, $FeSO_4$, $HgCl_2$, KJ , $CuSO_4$, Bleiacetat) ließen in der weit überwiegenden Mehrzahl den festen Stamm sowohl in quantitativer wie in qualitativer Hinsicht erheblich stärker ausfallen. Eine Ausnahme machten nur Jodkalium und Natriumarsenit. Die angeführten Resultate scheinen also die Verallgemeinerung der schon früher gefundenen Feststellungen zu erlauben, in dem Sinne, daß mit jedem Prozeß, der als eine künstliche Festigung angesprochen werden kann, eine Veränderung des physikalisch-chemischen Gleichgewichts einhergeht, die sich vornehmlich in einer stärkeren Widerstandsfähigkeit gegen die fallende Wirkung des festigenden Mittels äußert; aber dabei kann eine erhöhte Labilität gegen unpezifische Fällungsmittel bestehen.

Zusammenfassung.

Versuche über die Gewöhnung von Bakterien an Desinfektionsmittel und Immunserum ergaben folgende Resultate:

1. Es gelingt nur sehr schwer, Cholera-vibrionen, Shiga-Ruhrbacillen und Typhusbacillen durch Züchtung im toxischen Medium eine erhöhte Sublimatresistenz zu verleihen. Dies bezieht sich einmal auf die große Anzahl der zu dauernder Erhöhung der Sublimatresistenz notwendigen Passagen und ferner auf das inkonstante Beibehalten der Festigung. Im einzelnen wurde festgestellt, daß die Cholera-Sublimatfestigung in Form einer sehr ungleichmäßig ansteigenden Kurve verlief, die oft durch einen Sturz („Chute“) unterbrochen wurde, um nach länger fortgesetzter Züchtung sogar wieder dauernd abzufallen. Die maximale Festigkeit wurde nach etwa 30 Passagen erreicht und betrug das 20fache der Ausgangssublimatkonzentration. Die Festigung des Typhus verlief viel gleichmäßiger und erreichte nach 30 Passagen das 5fache der Ausgangsempfindlichkeit. Aber auch hier machte nach längerer Züchtung die anfangs erreichte Festigung einer Resistenzverminderung

Platz. Am schwersten waren Ruhrbacillen zu festigen; die 4fach tolerierte Konzentration wurde erst nach etwa 20 Passagen erreicht, dafür aber konstant beibehalten. Die erzielte Festigung war, verglichen mit der Phenol- und AgNO_3 -Empfindlichkeit, für die 3 Bakterienarten spezifisch.

Das Phänomen der spezifischen Überempfindlichkeit, das von *Schnabel* beschrieben wurde, konnte speziell für Cholera bestätigt werden.

Zur Untersuchung der Beziehungen zwischen Festigkeit und physikalisch-chemischem Verhalten wurden die gefestigten Stämme hinsichtlich ihrer Ausflockbarkeit durch spezifisches Immenserum (Agglutination), Säure (Säureagglutination), spezifische (Sublimat) und unspezifische anorganische Fällungsmittel (Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Eisenchlorid u. a.) geprüft. Es konnte festgestellt werden, daß der feste Cholera Stamm schwächer agglutiniert wurde als der Ausgangsstamm, während für Typhus- und Ruhrbacillen ein einheitlicher Befund nicht erhoben werden konnte. Ausfällungsversuche mit den oben erwähnten Metalllösungen ergaben Anzeichen für eine stärkere Ausflockbarkeit der festen Stämme, die für Cholera- und Typhusbacillen hauptsächlich dem Sublimat gegenüber in Erscheinung trat, für Ruhrbacillen dagegen auch bei den unspezifischen Fällungsmitteln zu beobachten war. Die Säureagglutination ließ keine deutlichen Verschiedenheiten zwischen festen und normalen Stämmen hervortreten.

2. In weiteren Versuchen wurde die Festigung eines Pneumokokkenstammes gegen Optochin angestrebt. Es gelang sehr rasch, Pneumokokken gegen Optochin so unempfindlich zu machen, daß sie noch in einer Konzentration von 1 : 2000 gut gedeihen konnten, während die Ausgangsempfindlichkeit 1 : 100 000 betrug. Diese Festigung verlief ohne Besonderheiten und wurde auch gut beibehalten. Mit der Festigung ging eine deutliche Verminderung der Pathogenität für Mäuse und eine geringgradige Abschwächung des Methämoglobinbildungsvermögens einher. Die erreichte Resistenzerhöhung gegen Optochin war spezifisch; ein leichtes Übergreifen war nur dem Chinin gegenüber zu konstatieren.

Ausfällungsversuche, wie unter 1. beschrieben, führten zu dem Ergebnis, daß feste Pneumokokken durch Optochin weniger stark ausgefällt wurden als nichtvorbehandelte, während die anorganischen Fällungsmittel keine wesentlichen Verschiedenheiten erkennen ließen. Dieses Verhalten steht im Widerspruch zu den im vorhergehenden Abschnitt gefundenen Resultaten, verdient aber, ganz allgemein, wegen der stärker ausgesprochenen Konstanz der Festigung mehr Berücksichtigung. Die Säureagglutination zeigte eine leichte Verschiebung des Ausfällungsoptimums für die festen Pneumokokken nach der

alkalischen Seite. Die mit 3 verschiedenen Seren angestellte Typenagglutination ergab keine Änderung der Typenspezifität für die gefestigten Pneumokokken.

3. Es wurde ferner die Gewöhnung von Streptokokken an Trypaflavin und Rivanol näher studiert. Die Gewöhnung des angewandten hämolytischen Streptokokkenstammes an Trypaflavin erfolgte sehr rasch und leicht. Nach wenigen Passagen wurde das 4fache der Ausgangskonzentration erreicht, und im weiteren Verlaufe der Festigung konnte die Trypaflavinempfindlichkeit bis auf maximal $\frac{1}{10}$ der ursprünglichen herabgedrückt werden (1 : 2000). Demgegenüber erwies sich das Rivanol als ein äußerst schwer festigendes Mittel. Erst nach 40 Passagen waren die ersten Anzeichen von Festigung bemerkbar; nach etwa 60 Passagen wuchsen die Streptokokken in dem 4fachen der Ausgangskonzentration. Beide Festigungen wurden gut beibehalten. Auch hier konnte wie bei den Pneumokokken eine deutliche Pathogenitätsverminderung der festen Streptokokken festgestellt werden. Die erzielte Festigung war, verglichen mit Sublimat und Phenol, spezifisch. Hingegen konnte eine gekreuzte Resistenzerhöhung beider festen Stämme gegen Rivanol und Trypaflavin konstatiert werden, in dem Sinne, daß rivanolfeste Streptokokken dem Trypaflavin gegenüber sich annähernd so resistent verhielten wie die spezifisch an dieses Desinfektionsmittel gefestigten Streptokokken; umgekehrt wies auch der trypaflavin feste Stamm dem Rivanol gegenüber eine erhöhte Resistenz, verglichen mit dem Normalstamm, auf.

Kulturelle und morphologische Abweichungen (Verminderung der Hämolyse und des Säurebildungsvermögens, Degenerationserscheinungen) der festen Stämme konnten festgestellt werden.

Die Analyse der physikalisch-chemischen Veränderungen der festen Stämme ergab übereinstimmend mit den unter 2. angeführten Resultaten eine deutlich herabgesetzte Flockbarkeit der festen Stämme durch die festigenden Mittel. Die Säureagglutination zeigte keine wesentlichen Unterschiede, während die Agglutination mit spezifischem Immuserum eine erheblich verminderte Agglutinabilität des trypaflavin festen Stammes erwies.

4. In einem weiteren Abschnitte wurden die Bedingungen über den Eintritt der Gewöhnung von Staphylokokken an Farbstoffe, speziell Methylenblau, näher studiert. Die Methylenblaufestigung der Staphylokokken verlief äußerst ungleichmäßig, indem die steil ansteigende Festigungskurve oft durch einen bis weit unter das Normale gehenden Abfall unterbrochen wurde. Dieser Sturz erwies sich bei näherer Prüfung als eine unspezifische Resistenzverminderung. Hingegen erschienen die auf der Höhe der Festigungskurve geprüften Staphylokokken im Vergleich mit ihrer Sublimat-Phenol- und Vuzinempfindlichkeit als

spezifisch methylenblau-fest. Die maximale Festigkeit wurde nach etwa 30 Passagen erreicht.

Beim gefestigten Stamm konnte eine intensivere Methylenblau-reduktion konstatiert werden; ebenso fielen einige weitere kulturelle Abweichungen auf, die mit dem allgemein verringerten Stoffwechsel der festen Bakterien in Zusammenhang stehen. Hier wäre das sehr verlangsamte Gelatineverflüssigungsvermögen, ferner ein fast völliger Verlust der hämolytischen Eigenschaften und eine sehr verringerte Säureproduktion in Milchzuckerbouillon zu nennen.

Was die Prüfung des physikalisch-chemischen Verhaltens anbe-trifft, so zeigte die Säureagglutination eine konstante Verschiebung der Ausfällungsgrenze für die festen Staphylokokken nach der alka-lischen Seite. Ausfällungsversuche mit Metallsalzlösungen bestätigten im allgemeinen die schon für Pneumo- und Streptokokken gefundene Tatsache, daß mit der Festigung eine Veränderung des physikalisch-chemischen Gleichgewichts einhergeht, die sich vielfach in einer herab-gesetzten Flockbarkeit durch unspezifische Fällungsmittel äußert.

5. Zum Schluß wurde die Gewöhnung von Cholera-vibrionen an die Serumwirkung eines agglutinierenden Cholera-Pferdeimmunserums näher verfolgt, indem während längerer Zeit Cholera-vibrionen in serum-haltigem Medium gezüchtet wurden. Es zeigte sich, daß durch diese Züchtung, die nach den gleichen Grundsätzen wie die vorhergehen-den Festigungen vorgenommen wurde, nur eine Gewöhnung an die Agglutinationswirkung, nicht aber eine Festigkeit an die bactericide Kraft des Immunserums eintritt. Die erreichte Agglutininfestigkeit war derart, daß der vorbehandelte Stamm im Kulturversuch nach etwa 40 Passagen noch bei einer Konzentration von 1 : 1000 ohne stärkeres Sediment wuchs und im Agglutinationsversuch die Titer-grenze des Serums auf 1 : 500 herabgedrückt wurde. (Aggl.-Titer für den normalen Stamm 1 : 20 000.)

Morphologische und kulturelle Änderungen der Cholera-vibrionen konnten im Verlauf dieser Festigung nicht konstatiert werden.

Ferner konnte festgestellt werden, daß die agglutininfesten Cho-leravibrionen zum Eintritt des gleichstarken Agglutinationseffektes bei einer gegebenen gleichen Immunserumverdünnung ein Vielfaches derjenigen Kochsalzmenge benötigten, die für die unbehandelten Cholera-vibrionen ausreichend erschien.

Die Ausfällungsversuche mit verschiedenen Fällungsmitteln ergaben fast ausschließlich eine stärkere Ausflockbarkeit der festen Cholera-kulturen. Nach den angeführten und den schon in den vorhergehenden Abschnitten gefundenen Resultaten erscheint es wahrscheinlich, daß mit jedem Prozeß, der als eine künstliche Festigung angesprochen werden kann, eine Veränderung des physikalisch-chemischen Gleich-

gewichts einhergeht, die sich vornehmlich in einer stärkeren Widerstandsfähigkeit gegen die fallende Wirkung des festigenden Mittels äußert, auf der anderen Seite aber, vielfach in einem labileren Verhalten gegen unspezifische Fällungsmittel ihren Ausdruck findet.

Literaturverzeichnis.

Abott, Journal of med. Research **26**. 1912. — *Amako*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **6**. 1910. — *Braun und Feiler*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **21**. 1914. — *Ehrlich*, Berl. klin. Wochenschr. 1907. — *Friedberger und Moreschi*, Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 45. — *Fürstenau*, Zeitschr. f. Augenheilk. **46**, 1. 1918. — *Köhne*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **20**, 531. — *Marks*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **6**. 1910. — *Masson*, C. r. Acad. sciences **150**. 1910. — *Mayeda*, Zentralbl. f. Bakteriol. **88**. 1922. — *Michaelis*, Dtsch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 21. — *Morgenroth und Kaufmann*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **15**. 1912. — *Morgenroth*, Klin. Wochenschr. Heft 8. 1922. — *Pringsheim*, Variabilität niederer Organismen. — *Regenstein*, Zentralbl. f. Bakteriol. **63**. 1912. — *Richet, Bachrach et Cardot*, C. r. Acad. sciences **171** u. **172**. — *Schnabel*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **96**. 1922. — *Schnabel*, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 20. — *Schwarz*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **1**. 1909. — *Shiga*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **18**. 1913. — *Willkens*, Zentralbl. f. Bakteriol., Ref. 1922.

(Aus dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie Frankfurt a. M.
[Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. Kolle].)

Über den Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf die entwicklungshemmende Wirkung chemischer Substanzen.

Von
L. Bonacorsi, Parma.

Seit den grundlegenden Untersuchungen *Rob. Kochs* über chemische Desinfektion haben zahlreiche Autoren sich bemüht, die von ihm zur Erprobung chemischer Substanzen auf ihre bakterienfeindliche Wirkung ausgearbeitete Technik zu vervollkommen. Insbesondere machte sich sehr bald das Bedürfnis nach einer Methode geltend, welche unter Ausschaltung der Variabilität der verschiedenen bei der Prüfung in Betracht kommenden Faktoren eine einheitliche zahlenmäßige Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln gestatten sollte. Diese Bestrebungen stießen aber auf recht erhebliche Schwierigkeiten, die heute erst zum Teil überwunden sind. In Anbetracht der praktischen Wichtigkeit des Problems haben sich die meisten Autoren in erster Linie mit dem Studium der Fehlerquellen, die bei der Feststellung des Bakterienabtötungsvermögens chemischer Stoffe eine Rolle spielen, beschäftigt, dagegen wurden diejenigen Momente, welche die entwicklungshemmende Wirkung der Substanzen beeinflussen, im allgemeinen nur nebenbei berücksichtigt.

Um die entwicklungshemmenden Eigenschaften chemischer Substanzen gegenüber bakteriellen Infektionserregern zahlenmäßig zu bestimmen, ging man seither so vor, daß man feste oder flüssige Nährböden mit fallenden Mengen der betreffenden Substanz versetzte und dann gleichmäßig mit geringen Bakterienmengen beimpfte. Diejenige Mindestkonzentration des Mittels, die nach mehrtägigem Aufenthalt der Röhren im Brutschrank eben noch eine vollständige Proliferationshemmung bewirkte, galt dann als brauchbarer Maßstab für die Beurteilung der antiseptischen Wirksamkeit des Chemikals. Hinsichtlich der Zusammensetzung und Reaktion der bei den Prüfungen benützten Nährböden bemühte man sich, möglichst optimale Wachstumsbedingungen für die gewählte Bakterienart zu schaffen. Speziell bei der Erprobung von Wunddesinfektionsmitteln wurde außerdem durch Zusatz von Serum oder Ascites festzustellen versucht, ob mit einer Beeinträchtigung der

antiseptischen Eigenschaften des Chemikals unter der Wirkung der Körpersäfte zu rechnen ist.

So einwandfrei diese Methode auch auf den ersten Blick erscheint, so hat sich doch im Laufe der Jahre gezeigt, daß die von verschiedenen Autoren mit derselben chemischen Substanz und bei Benützung derselben Bakterienart erhaltenen Prüfungsergebnisse häufig recht erheblich divergieren. Selbst die bei Benützung ein und desselben Bakterienstamms zu verschiedenen Zeiten oder in verschiedenen Laboratorien vorgenommenen Untersuchungen ergaben oft derart voneinander abweichende Ergebnisse, daß man vielfach, um brauchbare Anhaltspunkte über die entwicklungshemmende Wirkung chemischer Substanzen erzielen zu können, bei deren experimenteller Erprobung ein bekanntes Desinfektionsmittel, z. B. Carbolsäure, unter denselben Bedingungen mitprüfte und dann die erhaltenen Werte miteinander verglich. Diese vergleichende Methode, die ursprünglich von *Rideal* und *Walker* zur einheitlichen Bestimmung des Abtötungswerts von Chemikalien angegeben wurde, die jedoch auch bei Entwicklungshemmungsversuchen besonders in England und Amerika eine ausgedehnte Anwendung gefunden hat, hat sich indessen trotz mannigfachen Modifikationen aus begreiflichen Gründen nicht bewährt. Vor allen Dingen ist es, worauf u. a. *Klimmer* hinweist, zweifellos unrichtig, wenn man Desinfektionsmittel jeder Art mit Carbolsäure vergleichen will.

Da die Resultate der zu verschiedenen Zeiten vorgenommenen Prüfungen, wie gesagt, auch bei Verwendung desselben Bakterienstammes vielfach keine Übereinstimmung aufweisen, lag es nahe, für diese Verschiedenheit der Ergebnisse die *wechselnde Zusammensetzung* der jedesmal zur Verwendung kommenden Nährböden, vor allem *Abweichungen der Reaktion* verantwortlich zu machen. Daß hier in der Tat die Ursache für die inkonstanten Prüfungsergebnisse zu suchen ist, wurde vor allen Dingen durch die ausgedehnten Untersuchungen von *Michaelis* und anderen, besonders amerikanischen Forschern, wahrscheinlich gemacht. Diese Autoren konnten den Nachweis erbringen, daß die seither übliche Einstellung der Nährbodenreaktion mittels *Lackmuspapier* eine *außerordentlich grobe und höchst unzuverlässige Methode* darstellt, da dadurch recht erhebliche Unterschiede in der Wasserstoffionenkonzentration dem Nachweis vollständig entgehen. Die Richtigkeit der Annahme, daß solche durch die Prüfung mit Lackmuspapier nicht feststellbaren Reaktionsunterschiede für das Ergebnis von Desinfektionsversuchen von ausschlaggebendem Einflusse sein können, konnte neuerdings durch *Michaelis* und *Dernby* hinsichtlich der Chinaalkaloide, sowie von *Fleischer* mit einer Anzahl verschiedener Desinfektionsmittel (Farbstoffe, Phenol) experimentell bewiesen werden. *Michaelis* und *Dernby*, die bei ihren Untersuchungen allerdings von einer ganz anderen Fragestellung aus-

gingen, stellten fest, daß die Wirksamkeit des Eukupins gegenüber gelben Staphylokokken, welche bei einer Wasserstoffionenkonzentration p_H 5,7 bis p_H 8,0 in Nährbouillon ein optimales Wachstum aufweisen, mit zunehmender Alkalität des Nährbodens steigt. Während z. B. das Staphylokokkenwachstum bei einer Reaktion des Nährbodens p_H 8,0 noch durch eine Eukupinverdünnung 3:100 000 vollkommen aufgehoben wurde, war in einer sauer reagierenden Bouillon (p_H 4,5–5,1) selbst bei einer Eukupinkonzentration 3:10 000 noch schwaches Kokkenwachstum nachzuweisen. Diese Unterschiede in der Wirksamkeit des Chininderivats suchen die beiden Autoren durch die Annahme zu erklären, daß nur die freien Basen, nicht aber die Salze der Alkaloide eine bactericide Wirksamkeit entfalten.

Es mußte nun im Anschluß an diese für die Theorie der Desinfektionswirkung bedeutungsvollen Untersuchungen von *Michaelis* und *Dernby* besonders reizvoll erscheinen, auch die entwicklungshemmende Wirksamkeit andersartiger Desinfizientien gegenüber verschiedenen Bakterienarten bei wechselnder Reaktion des Nährbodens zu untersuchen. Daß selbst durch ganz geringen Säure- oder Alkalizusatz das Bakterienabtötungsvermögen oder die entwicklungshemmende Kraft chemischer Substanzen verstärkt oder abgeschwächt werden kann, wurde zwar schon mehrfach festgestellt (u. a. *Krönig* und *Paul*, *Graham-Smith*, *Labes*, *Fleischer*). Bei diesen Untersuchungen war aber die Frage, ob nicht schon durch den Säure- oder Alkalizusatz an sich eine Schädigung der Bakterien bzw. eine Verzögerung ihres Wachstums stattfindet, nicht berücksichtigt worden. Vielmehr kam es den Autoren bei ihren Studien lediglich auf die Feststellung an, ob durch die verschiedenen Zusätze das Desinfektionsmittel in seiner Wirksamkeit gesteigert wird oder nicht. Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen suchten wir die Frage *experimentell* zu beantworten, ob bei Verwendung verschieden reagierender, aber stets dabei ein optimales Bakterienwachstum gestattender Nährböden Unterschiede in der entwicklungshemmenden Wirkung chemischer Substanzen festzustellen sind. Über unsere diesbezüglichen Versuchsergebnisse soll im folgenden kurz berichtet werden.

Als Nährboden verwendeten wir gewöhnliche Fleischwasserbouillon, von welcher abgemessene Quantitäten durch Zugabe fallender Mengen Normalsalzsäure bzw. Normalnatronlauge auf verschiedene Wasserstoffionenkonzentration gebracht wurden. Die Bestimmung der Reaktion geschah ausschließlich mittels der von *Michaelis* angegebenen Indikatorenmethode.

Zu den Versuchen wurden 5 Bakterienarten, nämlich Schweinerotlaufbacillen, *Bact. coli*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, Milzbrand- und *Pyocyaneusbacillen* herangezogen. Zunächst stellten wir in Vorversuchen mit verschieden reagierender Nährbouillon die Breite des opti-

Tabelle I*).
Wachstum von Schweinerotlaufbacillen, Bacterium coli, Staphylococcus pyogenes aureus, Milzbrand und Pycocyaneus in Nährbouillon von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration bei 37°.

pH	Schweinerotlaufbacillen, Wachstum nach			Bacterium coli, Wachstum nach			Staphylococcus pyogen. aureus, Wachstum nach			Milzbrandbacillen, Wachstum nach			Bact. pycocyaneus, Wachstum nach		
	24 St. 48 St. 3 Tag.	4 Tag.	4 Tag.	21 St. 48 St. 3 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	24 St. 48 St. 3 Tag.	4 Tag.	24 St. 48 St. 4 Tag.	24 St. 48 St. 3 Tag.	4 Tag.	24 St. 48 St. 4 Tag.	24 St. 48 St. 3 Tag.	4 Tag.	24 St. 48 St. 4 Tag.
3,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
6,7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7,9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8,0	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8,1	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8,2	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8,4	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
> 8,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) Es bedeuten: 0 = kein Wachstum, ± = Spur Wachstum, + = deutliches Wachstum, ++ = gutes Wachstum, +++ = sehr gutes Wachstum.

malen Wachstums der von uns benützten Stämme fest. Die Resultate dieser Versuche sind in der Tab. I zusammengestellt. Wie sich aus dieser Übersicht ergibt, weisen die zu unseren Entwicklungshemmungsversuchen verwendeten Bakterienstämme folgende Zonen guten Wachstums auf:

Schweinerotlaufbacillus	p_H	7,0—7,9
Bact. coli	p_H	6,6—8,1
Staphylococc. pyog. aur.	p_H	6,6—8,5
Milzbrandbacillus.	p_H	6,7—8,1
Bac. pyocyaneus	p_H	6,7—8,1

Entsprechend der eingangs entwickelten Fragestellung wurde nun die Wachstumsbeeinträchtigung jedes dieser 5 Bakterienstämme unter der Wirkung chemischer Desinfektionsmittel bei 3 verschiedenen, ein gutes Bakterienwachstum ermöglichenden p_H -Werten geprüft. Für die einzelnen Stämme wurden Nährböden mit folgenden Wasserstoffionenkonzentrationen verwendet:

Schweinerotlaufbacillus	p_H	7,0	7,6	7,9
Bact. coli	p_H	6,6	7,6	8,1
Staphylococc. pyogen. aur.	p_H	6,6	7,6	8,4
Milzbrandbacillus.	p_H	6,8	7,9	8,1
Bac. pyocyaneus	p_H	6,7	6,9	8,1

Außer einigen durch ihre starke antiseptische Wirksamkeit bekannten Substanzen, wie Sublimat, Formaldehyd, Phenol und Kupfersulfat, haben wir noch Farbstoffe, nämlich Eosin und Krystallviolett, die nach *Churchmans* Untersuchungen noch in starken Verdünnungen besonders die grampositiven Bakterien in ihrem Wachstum beeinflussen, ferner Neosalvarsan sowie Natriumtellurit, das nach *Joachimoglu* eine starke Wirksamkeit gegenüber den Angehörigen der Typhuscoligruppe besitzt, und endlich noch das zur Tuberkulosebehandlung empfohlene Goldpräparat Krysolgan (4-amino-2-aurothiophenolcarbonsaures Natrium) zu den vergleichenden Prüfungen herangezogen. Fallende Verdünnungen dieser Chemikalien in sterilem destilliertem Wasser wurden zu je 0,5 ccm in Reagensröhrchen eingefüllt, mit 4,5 ccm Nährbouillon verschiedener Wasserstoffionenkonzentration versetzt und dann durch Zufügen von je 1 Tropfen einer frisch bereiteten Bakterienaufschwemmung (in physiologischer Kochsalzlösung) gleichmäßig beimpft. Die Röhrchen kamen sodann in den Brutschrank bei 37° und wurden täglich auf Bakterienwachstum kontrolliert. Die wachstumshemmende Wirkung von Kupfersulfat, Natriumtellurit, Neosalvarsan und Krystallviolett wurde außerdem noch bei Verwendung serumbaltiger Bouillon (20 Teile steriles Pferdeserum auf 80 Teile Nährbouillon) von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration in analoger Weise ausgewertet. Daß durch den Zusatz der Substanzverdünnungen, besonders durch die stärkeren Konzentrationen, der Wasserstoffionengehalt des Nährmediums eine nachträgliche Änderung nach der einen oder anderen Seite erfährt, ist mit Bestimmtheit an-

zunehmen. Diese Abweichungen sind aber bei der uns interessierenden Fragestellung ohne wesentliche Bedeutung¹⁾. Zu erwähnen wäre noch, daß die Versuche wegen der überraschenden Ergebnisse zum Teil wiederholt und daß bei der Nachprüfung stets dieselben Resultate erhalten wurden.

Die in den folgenden Tab. II und III übersichtlich zusammengestellten Ergebnisse dieser Entwicklungshemmungsversuche sind in mehrfacher Hinsicht bemerkenswert. Zunächst ergibt sich daraus die Tatsache, daß die wachstumshemmende Wirkung chemischer Substanzen in *weitgehendem Maße von der Reaktion des Nährbodens abhängig* ist. Unterschiede in der Wirksamkeit bestehen hierbei in doppelter Hinsicht. Einmal zeigen nämlich die Versuche, daß *ein und derselbe Bakterienstamm* von verschiedenen Desinfektionsmitteln *nicht stets bei derselben p_H am intensivsten in seinem Wachstum beeinträchtigt* wird, daß vielmehr die Empfindlichkeit des Stammes je nach dem Chemikale wechselt, also das eine Mal bei schwach saurer, das andere Mal bei schwach alkalischer, das dritte Mal bei neutraler oder nahezu neutraler Reaktion des Mediums am deutlichsten ausgesprochen ist. So wurde z. B. das Wachstum des Schweinerotlaufbacillus durch Neosalvarsan, Kupfersulfat, Phenol und Natriumtellurit bei p_H 7,0, durch Krystallviolett bei p_H 7,6, durch Sublimat bei p_H 8,0 am stärksten gehemmt. Ähnliche Unterschiede ergaben sich auch bei den anderen Bakterienarten, so z. B. beim Colibacillus, bei dem die stärkste entwicklungshemmende Wirkung des Natriumtellurits in schwach saurem, des Krystallvioletts, Neosalvarsans und Kupfersulfats in schwach alkalischem Nährboden festzustellen war. Die geringsten Unterschiede waren im allgemeinen beim Krysolgan und beim Formaldehyd nachzuweisen; beide Substanzen zeigten bei verschiedener p_H des Nährbodens nur geringe Schwankungen ihrer wachstumshemmenden Wirksamkeit.

Andererseits ergibt sich aber aus der Betrachtung der Tab. II noch die interessante Feststellung, daß der höchste Grad von Entwicklungshemmung einer bestimmten Substanz gegenüber verschiedenen Bakterienarten *nicht stets bei derselben Reaktion nachzuweisen ist, daß vielmehr je nach der geprüften Bakterienart auch hier Unterschiede* bestehen. So wirkt z. B. Kupfersulfat auf Colibacillen am stärksten bei schwach alkalisch, auf Milzbrand- und Pyocyaneusbakterien sowie Schweinerotlaufbacillen bei schwach sauer reagierender Nährbouillon. Durch

¹⁾ In den ersten Versuchen wurden die mit dem Chemikale versetzten Bouillonröhrchen vor der Beimpfung nochmals sterilisiert. Später wurde davon Abstand genommen, da durch die nachträgliche Erhitzung offenbar wesentliche Änderungen der p_H eintreten, die das Versuchsergebnis recht erheblich beeinflussen. In einer späteren Arbeit wird auf diese Veränderungen zurückzukommen sein.

*Tabelle II¹⁾.
Übersicht über die Entwicklungshemmungsversuche mit verschiedenen Substanzen in gewöhnlicher Nährbouillon in verschiedener p_H.*

Substanz	Schweinerotlaufbacillen				Bact. coli				Staphylococc. pyog.				Milzbrand				Pyocyaneus			
	p _H 7,0	7,6	8,0	7,6	6,8	7,6	8,2	6,6	7,6	8,4	6,6	7,6	8,4	6,8	7,9	8,1	6,7	6,9	8,1	
Sublimat	128 000	128 000	768 000	64 000	128 000	64 000	128 000	64 000	128 000	512 000	64 000	128 000	64 000	128 000	128 000	128 000	8 000	8 000	8 000	
Kupfersulfat	16 000	8 000	2 000	1 000	1 000	1 000	8 000	2 000	2 000	2 000	8 000	2 000	4 000	4 000	4 000	2 000	2 000	1 000	1 000	
Neosalvarsan	128 000	16 000	32 000	8 000	2 000	2 000	8 000	16 000	4 000	4 000	8 000	4 000	256 000	82 000	16 000	16 000	16 000	4 000	4 000	
Eosin	800	800	200	200	200	400	600	800	800	8 200	800	800	400	200	200	100	100	100	100	
Krytallviolett	16 000	64 000	16 000	16 000	2 000	16 000	68 000	256 000	768 000	256 000	256 000	204 800	128 000	256 000	256 000	1 000	1 000	1 000	1 000	
Phenol	800	400	200	800	800	800	200	800	800	600	8 200	1 600	8 200	8 200	1 600	1 600	1 600	1 600	1 600	
Formol, 40%	6 400	12 800	12 800	6 400	6 400	6 400	6 400	12 800	12 800	25 600	25 600	12 800	25 600	12 800	12 800	12 800	6 400	6 400	6 400	
Krysolgan	1 000	1 000	2 000	1 000	1 000	1 000	1 000	2 000	2 000	4 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	2 000	2 000	4 000	4 000	
Natriumtellurit	51 200	25 600	6 400	12 800	51 200	12 800	12 800	153 600	12 800	204 800	307 200	73 800	25 600	25 600	25 600	73 800	51 200	12 800	12 800	

*Tabelle III.
Übersicht über die Entwicklungshemmungsversuche mit verschiedenen Substanzen in Serumbouillon von verschiedener p_H.*

Substanz	Schweinerotlaufbacillen				Bact. coli				Staphylococc. pyog.				Milzbrand				Pyocyaneus			
	p _H 7,0	7,6	8,0	6,6	7,6	8,2	6,6	7,6	8,4	6,6	7,6	8,4	6,8	7,9	8,1	6,7	6,9	8,1		
Kupfersulfat	4 000	4 000	1 600	500	500	2 000	750	1 000	2 000	1 000	2 000	1 000	1 000	2 000	1 000	500	500	500		
Natriumtellurit	102 400	102 400	25 600	102 400	102 400	25 600	204 800	51 200	256 000	358 400	168 000	102 400	168 000	168 000	102 400	102 400	51 200	51 200		
Krytallviolett	64 000	128 000	64 000	8 000	32 000	64 000	768 000	1 024 000	768 000	256 000	768 000	512 000	512 000	768 000	512 000	2 000	2 000	2 000		
Neosalvarsan	128 000	64 000	64 000	16 000	4 000	768 000	64 000	16 000	16 000	1 024 000	64 000	64 000	1 024 000	64 000	64 000	82 000	16 000	8 000		

¹⁾ In dieser und der folgenden Tabelle stellen die in den Rubriken aufgeführten Zahlen die reziproken Werte der gerade noch eine vollständige Wachstumshemmung bewirkenden Mindestkonzentrationen dar.

Neosalvarsan werden Schweinerotlauf- und Milzbrandbacillen besonders bei p_H 7,0, Colibakterien dagegen bei p_H 8,2 im Wachstum gehemmt. Krystallviolett ist gegenüber Schweinerotlaufbacillen und Staphylokokken am wirksamsten bei schwach alkalischer (p_H 7,6), gegenüber Colibacillen bei stark alkalischer Reaktion (p_H 8,2). Auch für das Phenol, Eosin, Formaldehyd sowie Natriumtellurit ergaben sich ähnliche, mehr oder weniger deutliche Unterschiede. Nur das Sublimat, sowie das Krysolgan verhalten sich in dieser Beziehung ziemlich einheitlich, indem bei diesen beiden Substanzen die maximale Wirksamkeit stets in alkalischen Nährböden nachzuweisen war.

Durch den *Serumzusatz* wird von den 4 derart geprüften Substanzen, wie die Tab. III zeigt, nur das Kupfersulfat in seiner entwicklungshemmenden Wirksamkeit wesentlich herabgesetzt. Beim Natriumtellurit, Krystallviolett und Neosalvarsan war dagegen eine geringe Steigerung der antiseptischen Eigenschaften nachweisbar. Im übrigen zeigten jedoch die mit serumhaltiger Bouillon ermittelten Resultate keine Abweichungen von den mit gewöhnlicher Nährbouillon erhaltenen Versuchsergebnissen.

Was die *Deutung der Versuchsergebnisse* anlangt, so ist es, wenigstens soweit es sich um Elektrolyte handelt, besonders auch unter Berücksichtigung der Versuchsergebnisse von *Michaelis* und *Dernby* mit Eukupin, sowie von *Fleischer* mit Farbstoffen, zweifellos am nächstliegenden, an *Verschiedenheiten in der Dissoziation der Substanzen* unter dem Einfluß des verschiedenen Wasserstoffionengehalts der Nährböden zu denken. Diese Annahme mag zweifellos hinsichtlich des Sublimats, des Kupfersulfats und auch des Eosins, die nach unseren Untersuchungen im alkalischen Medium fast stets die stärkste entwicklungshemmende Wirkung entfalten, wenigstens zum Teil zutreffen. Bekanntlich haben schon *Krönig* und *Paul* die von ihnen festgestellte Tatsache, daß die Desinfektionswirkung wässriger Sublimatlösungen durch Salzsäurezusatz eine Verminderung erfährt, auf eine Zurückdrängung der elektrolytischen Dissoziation zurückgeführt. Auch für die verschiedene Wirksamkeit des *Neosalvarsans* bei alkalischer und saurer Reaktion sind neben anderen Gründen vielleicht gewisse chemische Umsetzungen dieser Art unter dem Einfluß der wechselnden Wasserstoffionenkonzentration verantwortlich zu machen. So ist wohl anzunehmen, daß in sauer reagierender Nährbouillon durch die Umsetzung der Säure mit dem Natriumsalz des Sulfoxylats eine *Ausfällung der Sulfoxylsäure des Salvarsans* stattfindet und daß diese Substanz speziell bei Schweinerotlauf- und Milzbrandbacillen eine maximale entwicklungshemmende Wirksamkeit entfaltet. Umgekehrt bildet sich bei Alkaliüberschuß ein *Natriumphenolat* des *Neosalvarsans*; daneben besteht aber, besonders in Anbetracht des mehrtägigen Aufenthalts der Gemische im Brutschrank, noch die Möglichkeit,

daß sich in alkalischer Lösung das Neosalvarsan wenigstens zum Teil in seine wesentlich *giftiger wirkenden Oxyde* umwandelt, die ihrerseits die starke Wirkung auf Colibacillen bedingen könnten.

Trotzdem kann aber diese Erklärungsweise nicht restlos befriedigen, da sie zudem für die übrigen, sich vollkommen abweichend verhaltenden Substanzen entweder gar nicht zutrifft oder, soweit es sich um Nicht-elektrolyte handelt, überhaupt nicht in Betracht kommt. Vielmehr deuten alle unsere Beobachtungen darauf hin, daß in erster Linie *in dem Verhalten der Bakterienzelle selbst die Ursache* für die *erwähnten*, durch die *Reaktion des Milieus bedingten Unterschiede in der Wirksamkeit der Chemikalien* zu suchen ist. Bei unseren geringen Kenntnissen über den Aufbau und die normalen Stoffwechselforgänge der Bakterienzelle, die hier durch das Hinzutreten giftig wirkender Substanzen noch mehr kompliziert werden, ist es aber auch unter diesem Gesichtswinkel nicht möglich, die Befunde in einer nur annähernd exakten Weise zu interpretieren. Auffallend ist immerhin die Tatsache, daß die Reaktion des Nährbodens auf die entwicklungshemmende Wirksamkeit des *Formaldehyds*, von dem ohne Rücksicht auf die Konzentration stets eine konstante Menge durch die Mikroorganismenzelle verankert, der also offenbar primär durch chemische Bindung von dem Bakterienprotoplasma aufgenommen wird (*Herzog und Betzel*), nur einen *geringen Einfluß* hat, daß dagegen bei denjenigen Substanzen, bei deren Aufnahme in die Bakterienzelle vor allem *physikalisch-chemische Vorgänge*, z. B. Absorption (Phenol, Farbstoffe) oder Adsorption (Metallsalze) interferieren, die Wasserstoffionenkonzentration des Mediums von ausschlaggebendem Einfluß auf die Wirkungsstärke ist. Die Versuche würden also dafür sprechen, daß die *Adsorptions- und Permeabilitätsverhältnisse der Bakterienmembran je nach der Reaktion der umgebenden Flüssigkeit gewisse physikalische Änderungen* erfahren, die ein leichteres oder schwereres Eindringen der Substanzen in das Bakterieninnere zur Folge haben. Daß dabei aber auch noch anderen von der Reaktion abhängigen Faktoren, wie z. B. der *Oberflächenspannung des Mediums, dem Lösungszustand der Chemikalien*, bei lipidlöslichen Stoffen auch dem *Verteilungskoeffizienten* eine gewisse Bedeutung zukommt, ist wohl mit Sicherheit anzunehmen. Dadurch wird aber die Frage noch verwickelter, ihre Beurteilung noch mehr erschwert. Die auch von *Fleischer* auf Grund von Abtötungsversuchen gestützte Hypothese von *Bethe*, daß basische Farbstoffe vor allem in alkalischer Lösung und saure Farbstoffe hauptsächlich in saurer Lösung von den Zellen gespeichert werden, hat in Anbetracht der von uns gemachten Feststellung, daß sowohl Krystallviolett als auch Eosin fast durchweg bei alkalischer Reaktion am stärksten entwicklungshemmend wirken, wohl keine allgemeine Gültigkeit.

Die Angabe von *Churchman*, daß gramnegative Bakterien durch Farbstoffe in ihrem Wachstum weit weniger als grampositive Arten gehemmt werden, konnte auch durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Auffallend ist aber immerhin die Beobachtung, daß bei stärker alkalischer Reaktion (p_{H} 8,2) auch die Entwicklung des *Bact. coli* noch durch verhältnismäßig *schwache Farbstoffkonzentrationen aufgehoben wird*. Dieser Befund ist vielleicht auf die von *Eisenberg* ermittelte Tatsache, daß gramnegative Bakterien gegenüber quellenden Agenzien empfindlicher sind als grampositive, zurückzuführen; man könnte sich vorstellen, daß die für Farbstoffe an sich nur wenig permeable Zellmembran des *Colibacillus* unter der Wirkung des Alkaligehalts der Nährbouillon quillt und so für die Farbstoffe stärker durchlässig wird.

Was das *Neosalvarsan* anlangt, so steht die Feststellung, daß bei nahezu neutraler Reaktion Schweinerotlauf- und Milzbrandbacillen besonders stark in ihrem Wachstum gehemmt werden, mit den Angaben von *Roos*, *Neufeld* und *Schiemann*, *Schiemann* und *Ischiwara* (s. auch *Schiemann*), sowie *Tallo* in Übereinstimmung. Daß *Baum* und *Herrenheiser* im Gegensatz zu diesen Autoren bei ihren Versuchen nur eine geringe Hemmungswirkung des *Neosalvarsans* gegenüber Schweinerotlaufbakterien nachweisen konnten, beruht nach unseren Ergebnissen offenbar auf einer stärker alkalischen Reaktion der zu ihren Prüfungen benutzten Nährsubstrate.

Neben diesen aus unseren Versuchsergebnissen sich ergebenden theoretischen Erwägungen dürfte aber den Befunden auch *in praktischer Hinsicht* ein gewisses Interesse zukommen. Wie aus den beiden Tab. II und III einwandfrei hervorgeht, sind Entwicklungshemmungsversuche mit Nährböden, deren Reaktion lediglich mittels *Lackmuspapier* festgestellt ist, für die Beurteilung der antiseptischen Eigenschaften chemischer Substanzen *nicht verwertbar*. Vielmehr ist für derartige Untersuchungen unbedingt die genaue Titrierung der Nährböden auf ihren *Wasserstoffionengehalt*, am einfachsten mit der von *Michaelis* angegebenen Indikatorenmethode zu fordern. Weiter ergibt sich aus unseren Untersuchungen, daß *vergleichende Prüfungsmethoden*, bei denen die entwicklungshemmende Wirksamkeit bekannter Desinfektionsmittel als Standard dient, *absolut irreführende Resultate* liefern können. So wirkt nach unseren Feststellungen z. B. das Krystallviolett bei schwach saurer Reaktion (p_{H} 7,0) 20 mal stärker, bei alkalischer Reaktion (p_{H} 8,0) 80 mal stärker entwicklungshemmend auf Schweinerotlaufbacillen als Phenol. Da also die Wirkungsstärke chemischer Stoffe gegenüber derselben Bakterienart je nach der Alkalität oder Acidität des Mediums erheblich differiert, ist es, um brauchbare Vergleichswerte zu erhalten, notwendig, *Nährböden verschiedener an sich das Bakterienwachstum nicht beeinträchtigender Reaktion zu den Prüfungen heranzuziehen*.

Zusammenfassung.

1. Die entwicklungshemmende Wirkung chemischer Substanzen kann bei Benützung desselben Bakterienstammes je nach der Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens außerordentlich große Unterschiede aufweisen.

2. Gegenüber verschiedenen Bakterienarten ist die maximale Wirksamkeit eines bestimmten Chemikals nicht stets bei derselben p_H des Nährbodens festzustellen, vielmehr sind hier je nach der Bakterienart Unterschiede nachzuweisen.

3. Dieses wechselnde Verhalten unter dem Einfluß der Alkalität oder Acidität des Nährbodens ist zum Teil durch Änderungen des Dissoziationsgrades der betreffenden Substanzen, in erster Linie aber durch physikalisch-chemische Vorgänge in der Bakterienzelle, vor allem in der Membran, z. B. durch Steigerung oder Herabsetzung der Durchlässigkeit, bedingt.

4. Um die entwicklungshemmenden Eigenschaften einer chemischen Substanz gegenüber einer bestimmten Bakterienart einwandfrei festzustellen, muß die Prüfung bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen, die an sich ein gutes Bakterienwachstum gestatten, vorgenommen werden.

Literaturverzeichnis.

Baum, O. und *G. Herrenheiser*, Chemotherapeutische Versuche mit Salvarsan. Wien. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 24, S. 843. — *Bethe, A.*, Gewebespermeabilität und H-Ionenkonzentration. Wien. med. Wochenschr. 1916, Nr. 14, S. 499. — *Churchman, J. W.*, The selective bactericidal action of gentian violet. Journ. of exp. med. **16**, 221. 1912; The cause of the parallelism between the gram reaction and the gentian violet reaction. Proc. of the soc. f. exp. biol. and med. **18**, 17. 1920; Bacteriostatic action of the triphenylmethane dyes. Journ. of the Americ. med. assoc. **78**, 969. 1922. — *Dernby, K. G.*, La concentration optima en ions hydrogène favorisant le développement de certains microorganismes. Ann. de l'inst. Pasteur **35**, 277. 1921. — *Eisenberg, P.*, Über spezifische Desinfektion. Wiener med. Wochenschr., Beilage „Der Militärarzt“, 1916, Nr. 25; Untersuchungen über spezifische Desinfektionsvorgänge II. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **82**, 69. 1919. — *Fleischer*, Diskussionsbemerkungen. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **89**, 65. 1922. — *Graham-Smith, G. S.*, Some factors influencing the action of dyes and allied compounds on bacteria. Journ. of hyg. **18**, 1. 1920. — *Herzog, R. O.* und *R. Betzel*, Zur Theorie der Desinfektion. Zeitschr. f. physiol. Chemie **67**, 309. 1910. — *Joachimoglu, G.*, Über die elektive Wirkung von Tellurverbindungen auf die Bacillen der Typhus-Coligruppe und ihre praktische Bedeutung für die Urologie. Zeitschr. f. Urol. **16**, 97. 1922. — *Klimmer, M.*, Prüfung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel. Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921, Nr. 25, S. 309. — *Krönig, B.* und *T. Paul*, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **25**, 1. 1897. — *Labes, R.*, Über die Steigerung der Schnelligkeit und Intensität der Giftwirkung einiger Gruppen giftig bzw. pharmakologisch wirkender Stoffe auf Bakterien und Kaul-

quappen durch Variation des Aciditäts- bzw. Alkalitätsgrades. *Biochem. Zeitschr.* **130**, 14. 1922. — *Michaelis, L.*, Die Bestimmung der Wasserstoffzahl durch Indicatoren. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1920, Nr. 45, S. 1238; Vereinfachung der Indicatorenmethode. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1921, Nr. 17, S. 465; Erweiterung der vereinfachten Indicatorenmethode. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1921, Nr. 24, S. 673; Die Prüfung der Alkalität in Nährböden. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig.*, **32**, 194. 1921. — *Michaelis, L.* und *K. G. Derby*, Der Einfluß der Alkalität auf die Wirksamkeit der Chinaalkaloide. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig.*, **34**, 194. 1922. — *Neufeld, F.* und *O. Schiemann*, Über die Wirkung chemotherapeutischer Stoffe auf verschiedene Bakterien in vivo und in vitro. *Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Ref.*, **57**, Beiheft, 183. 1913. — *Roos, O.*, Über die Einwirkung von Salvarsan auf Milzbrandbacillen. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig.*, **15**, 487. 1912. — *Schiemann, O.*, Über die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro. *Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig.*, **75**, 365. 1915; Weitere Untersuchungen über die Wirkung chemotherapeutischer Mittel in vitro. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig.*, **24**, 167. 1916. — *Schiemann, O.* und *T. Ischiwara*, Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von chemotherapeutischen Präparaten und anderen Antiseptica auf Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* **77**, 49. 1914. — *Schoenholz, P.* und *K. F. Meyer*, The optimum H-ion concentration for the growth of *B. typhosus*, and the effect of changes in H-ion concentration on the generation time. *Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med.* **16**, 151. 1919. — *Tallo, F.*, Azione in vitro del neosalvarsan sui bacilli del carbonchio da cultura (senza capsula) e sui bacilli provenienti dall'organismo animale (con capsula). *Rif. med.* **36**, 1145. 1920.

Über die Schädigung der Mundschleimhaut durch Tabakstaub.

Von

Dr. med. dent. **Fischer** in Sontra.

Beobachtungen von häufig auftretenden entzündlichen Vorgängen an der Gingiva bei Arbeiterinnen zweier Zigarrenfabriken führten mich zu systematischen Untersuchungen, deren Ergebnisse, soweit sie ein allgemeineres medizinisches Interesse besitzen, ich im folgenden wiedergebe¹⁾).

In der Literatur ist über die Einwirkung des Tabakstaubes wenig niedergelegt. Zwar erwähnen verschiedene Autoren den nachteiligen Einfluß dieser Staubart und stellen fest, daß bitterer Geschmack neben Reizungen der Conjunctival- und Nasenschleimhaut die wesentlichsten Merkmale sind. Die Schuld an der Häufigkeit der Lungenerkrankungen schreibt *Seiffert* nicht dem Arbeitsmaterial zu, sondern dem Umstand, daß sich meist schwächliche, kränkliche Leute diesem Arbeitszweig zuwenden. *Grünwald* schreibt dem Tabak, besonders dem gekauten und geschnupften, die Erregung chronischer Katarrhe zu.

Nach meinen Erfahrungen auf Grund längerer Beobachtungen in der Praxis stehen Schädigungen zweifelsohne fest. In der Hauptsache handelt es sich um Katarrhe, die leicht rezidivieren und hartnäckig im Verlauf sind. Daß hier die Konstitution und besondere Verhältnisse, wie z. B. der Atmungsweg — ob Nasen- oder Mundatmung —, eine erhebliche Rolle spielen, versteht sich von selbst. Der Auffassung *Seifferts*, daß die Häufigkeit der Lungenerkrankungen dem Umstand zuzuschreiben ist, daß auch viel schwächliche Individuen sich diesem Beruf widmen, ist ohne weiteres zuzustimmen. Jedenfalls ergibt sich auch aus meiner Erfahrung, daß bei gesunder Konstitution eine wesentliche Gefahr für den Atmungsapparat nicht besteht. Aus eigenen etwa 2jährigen Beobachtungen hat sich ferner ergeben, daß zwischen Gingivitis und Tabakstaubwirkung ein unmittelbarer Zusammenhang besteht und letztere ein erschwerendes bzw. verzögerndes Moment in das Krankheitsbild und den Heilungsverlauf bringt.

Eine intensive Staubentwicklung und Wirkung kommt nur bei Verarbeitung des getrockneten Materials in geschlossenen Räumen in Frage. Die Blätter sind in Bündel geschnürt und zu Ballen vereinigt.

¹⁾ Bezüglich weiterer Einzelheiten vgl. meine Arbeit: „Über die Gingivitis in ihren Beziehungen zu gewerblichen Berufen, insbesondere stark staubenden Beschäftigungsweisen.“ Diss. Göttingen 1922.

Die Verarbeitung beginnt mit Lösung der Bündel, dann werden die einzelnen Blätter gebreitet und geglättet. Die größeren Blattrippen werden entfernt, die Blätter zugeschnitten. Bis hierher ist die Staubentwicklung am größten, und der entstandene Staub hat sich mit der Luft des Arbeitsraumes vermengt oder zum Teil niedergeschlagen. Daß nun die Wirkung des Staubes abhängig ist von besonderen baulichen Verhältnissen, ist ohne weiteres klar. Glücklicherweise bot sich mir Gelegenheit, ziemlich starke Gegensätze in dieser Hinsicht beobachten zu können. Während die eine Anlage aus modern eingerichteten, großen, luftigen und hellen Räumen bestand mit guter Ventilation und viel Platz für den einzelnen, war die Arbeiterschaft der zweiten in einem im Verhältnis zur Arbeiterzahl viel zu kleinen und dumpfen Raum untergebracht. Dadurch hatte jeder unter der Staubentwicklung sowohl seiner eigenen Arbeit als auch der seiner gesamten Nachbarschaft zu leiden. Infolge dieser Raumverhältnisse war auch der Luftkubus zu gering. Je nach dem Stand der Einrichtungen wird das Maß der Staubeinatmung verschieden groß sein, da ja diese abhängig ist vom Staubgehalt der verfügbaren Luftmenge. Nach Untersuchungen von *Ahrens*, *Hesse* u. a. wurden in 1 cbm Luft in der Tabakfabrik 150 mg Staub festgestellt. Nach *Hesse* atmet ein Tabakarbeiter jährlich etwa 140 g Tabakstaub ein.

Während nun von 95 Arbeitern der ersterwähnten, modern eingerichteten Fabrik nur vereinzelt ein Brennen und Tränen der Augen, bitterer Geschmack, Hustenreiz oder Atembeschwerden angegeben werden — es handelt sich hier fast ausschließlich um Neulinge im Beruf —, häufen sich diese Angaben bei 63 Arbeitern des zweiten Betriebes. In der Tat konnte ich auch an mir diesen erheblichen Unterschied in hohem Maße beobachten, und die unangenehmen Staubwirkungen, die sich bei kurzem Aufenthalt bereits in Kratzen im Hals, leichtem Hustenreiz und Augenbrennen bemerkbar machten, belästigten mich in dem hygienisch mangelhafteren Arbeitsraume unangenehm stark, in dem technisch und damit hygienisch vollkommeneren dagegen kaum. Daraus ergibt sich vom Standpunkt der Hygiene die Forderung, die denkbar günstigsten Arbeitsbedingungen in großen Räumen mit guter Lüftung zu schaffen, da hierdurch die Arbeitstätigkeit erleichtert, Schädigungen herabgesetzt und das Arbeitsergebnis zweifellos gesteigert werden könnte.

Auffallend ist zunächst, was uns am brennendsten interessiert, die überraschend hohe Zahl von vorhandenen Reizungen bzw. Entzündungen der Schleimhaut. Daraus allein wäre u. U. zu schließen, daß der Tabakstaub als Ursache anzusprechen ist.

Ein typischer Fall spricht ferner zugunsten dieser Auffassung. Patientin, die seit längerem von mir zahnärztlich überwacht wurde und bei völlig gesunden Mundverhältnissen keinerlei Zeichen einer

Entzündung je aufwies, klagte nach 14tägiger Arbeit in der Fabrik über leichte Schmerzen und geringes Bluten der Gingiva auf Druck. Es ergab sich eine beginnende Entzündung an den mittleren unteren Schneidezähnen, die sich nach weiteren 14 Tagen zur lebhafteren Rötung und stärkeren Schwellung gesteigert und sich auf die ganze untere Front ausgedehnt hatte. Bereits bei schwächerer Berührung schmerzte und blutete die entzündete Partie in ihrer ganzen Ausdehnung. Stellt dieser Fall auch keinen einwandfreien Beweis dar, so spricht er doch sicher zugunsten der Annahme um so mehr, als die übrigen Lebensbedingungen genau dieselben geblieben waren.

Von den Untersuchten waren nur 35 von 158 völlig verschont, der größere Rest wies chronische Entzündungen auf, die nur bei wenigen in einer vorübergehend schweren Form mit Schmerzen und Übergang in Ulceration bestand. Als charakteristisch für das Entstehen der chronischen Form der Gingivitis sind uns mechanische Insulte sowie durch Beläge entstehende dauernde Irritationen bekannt. In unserem Falle kommen die fortgesetzten Reizungen durch den Tabakstaub und die aus ihm sich bildenden Beläge als Ursache in Betracht.

Diese chronische Gingivitis, die leicht zu erkennen ist und in den weitaus meisten Fällen harmlos und ohne besondere Schmerzen verläuft, bildet sich leicht durch vermehrte Reize oder auch infolge von Allgemeitleiden weiter aus und kann uns dann das Bild einer schweren akuten Entzündung zeigen. Diese ist im allgemeinen nach meinen Erfahrungen recht hartnäckig und verursacht den Patienten erhebliche Schmerzen. Vor allem trotz sie sehr lange einer Behandlung, die in allen anderen Fällen meist schnell zum Ziel führt. Darüber ist weiter unten an der Hand einiger Fälle Näheres zu sagen.

Wenn wir uns die Gingivitis in bezug auf ihre Ätiologie noch einmal betrachten und außer den Tabakreiz mangelhaften Zustand des Gebisses oder Zahnsteinansatz mitverantwortlich machen, so müssen wir feststellen, daß im ganzen nur wenig tiefcariöse Zähne bzw. Wurzeln oder auch Zahnsteinansatz vorhanden sind, die als Ausgangspunkt für die Entzündung in Frage kommen könnten. Im Gegenteil, die Mundhöhle der meisten Arbeiterinnen — um solche handelt es sich fast ausschließlich — zeigt im Hinblick auf die soeben genannten Schäden einen recht guten Gesundheitszustand. Dies erklärt sich daraus, daß meist jugendliche Personen in Frage kommen, die von Caries noch wenig befallen sind. Wenn trotzdem auch bei ihnen die Gingivitis nicht haltmacht, so ist mit um so größerer Sicherheit die Tabakstaubwirkung allein für ihr Entstehen verantwortlich zu machen, um so mehr, als die Mundpflege, wenn auch nicht als gut und regelmäßig, so doch im Durchschnitt als leidlich bezeichnet werden muß.

Auffallend war mir, was die Lokalisation der Erkrankung anbetrifft, die Häufigkeit des Vorkommens an den Frontzähnen, wobei meistens an den unteren Schneidezähnen der Prozeß weiter vorgeschritten war als im Oberkiefer. Nach meiner Auffassung rührt dies daher, daß durch Sprechen und überhaupt jegliches Mundöffnen der Staub in reichlichem Maße in die Mundhöhle gelangt und sich naturgemäß an den vorderen Partien stärker niederschlägt; und zwar im Unterkiefer mehr als im Oberkiefer, weil hier durch das Vortreten der Gingiva über die Zahnfläche eine gute Ablagerungsstätte geschaffen ist, auf die der Staub sich *senkt*, während er im Oberkiefer, wo anatomisch dieselben Verhältnisse vorliegen, sich geringer ablagert und auch durch den Lippendruck nach unten vom Zahnfleischrand weggepreßt wird.

Wenn wir nun die Frage aufwerfen, ob mit der Dauer der Tätigkeit im Beruf eine Abnahme der nachteiligen Wirkungen zu verzeichnen sei, so muß dies mit Rücksicht auf das Brennen und Tränen der Augen, den Hustenreiz sowie den bitteren Geschmack unbedingt bejaht werden. Im allgemeinen wird der Staub nach einigen Wochen oder Monaten nicht mehr als besonders unangenehm empfunden. In den Fällen, wo noch nach Jahren ununterbrochenen Aufenthaltes Nebenwirkungen obengenannter Art empfunden werden, handelt es sich um eine individuelle Empfindlichkeit, die durchaus nicht immer mit schwacher körperlicher Konstitution verbunden ist. Allerdings lagen vereinzelt Fälle vor, in denen sie bei allgemeiner Schwäche festgestellt wurde. Was die Gingivitis anbelangt, ist zu betonen, daß sie ohne Rücksicht auf die Dauer der Beschäftigung sowohl bei Anfängern als auch bei lange im Beruf Tätigen in gleicher Weise sich zeigte.

Die allgemeine körperliche Konstitution war fast durchweg als eine gute anzusprechen, und der Zustand der Mundhöhle selbst war durchschnittlich gut.

Die mikroskopische Untersuchung von Teilen des Zahnfleischrandes einer 22 Jahre im Beruf tätigen Arbeiterin ergab ein Vorhandensein von kleinen braun gefärbten Partikeln, vor allem in den Randpartien in den Lücken des Epithels, die dem Tabakstaub sehr ähnlich sind. Es wurde ferner eine Auflagerung der braunen Staubteile auf die Gingiva festgestellt. Aus dem vorhandenen kleinzelligen Infiltrat ist auf eine Entzündung zu schließen, die auch tatsächlich vorhanden war.

Als Ergebnis der Untersuchungen stelle ich fest:

1. Die Tabakstaubwirkung zieht schädliche Folgen nach sich:
 - a) für den Gesamtorganismus nur bei besonderer individueller Empfänglichkeit,
 - b) für die Mundhöhle und das Zahnfleisch im besonderen in den weitaus meisten Fällen und ohne Rücksicht auf die Konstitution.

2. Die sich entwickelnden Entzündungen treten mit Vorliebe an der Front des Gebisses auf und hier meist an den unteren Frontzähnen, da hier die günstigste Ablagerungsstätte geschaffen ist, die der Staubwirkung am Eingang der Mundhöhle besonders stark unterliegt.

3. Diese Entzündungen zeigen chronische Form, die gelegentlich durch verstärkte lokale Reize oder auch Allgemeinleiden zu schwereren akuten Entzündungen sich entwickeln und dann

4. nach den Erfahrungen der Praxis schlechte Heilungstendenz zeigen und dem Patienten heftige Beschwerden verursachen.

Über diesen vierten Punkt ist an der Hand mehrerer Beispiele einiges zu bemerken. Ich habe nur solche Fälle im Auge, die bei gesundem Gebiß den oben dargelegten Charakter aufwiesen, d. h. deren Ätiologie nicht auf Zahnsteinansatz oder weit ausgedehnte Zerstörungen an Zähnen oder auch auf Leiden allgemeiner Natur zurückzuführen ist, sondern deren Ursache m. E. nur in dem Reiz des Tabakstaubes, der ja auch während der Behandlung dauernd weiter bestand und zweifellos die ungewöhnliche Hartnäckigkeit im Verlauf zur Folge hat, zu suchen ist.

Patientin L. B., 20 Jahre, gesund, weist eine allgemeine schwere Entzündung auf mit starker Schwellung und Rötung der Papillen, die bei leichter Berührung bereits bluten. Papillen sowie Zahnfleischsaum beginnen im Bereich der Frontzähne ulcerös zu zerfallen. Die Erkrankung besteht seit etwa 3—4 Tagen. Pat. klagt über starke Schmerzen, Bluten bei der geringsten Berührung, so daß jede Mundpflege unmöglich wurde, über schlechten Geschmack im Mund sowie starke Beschwerden beim Kauakt. Nach Entfernung der Beläge war Zahnstein nirgends feststellbar. Die Behandlung, die anfangs täglich, dann alle 2—3 Tage vorgenommen wurde, führte nach mehreren Sitzungen zwar zu einem Verschwinden der Ulcerationen, doch blieben Rötung und Schwellung der Papillen nahezu unverändert bestehen, auch entleerte sich auf Druck noch immer Blut. Erst nach 23 Sitzungen war die Erkrankung so weit behoben, daß die Pat. als geheilt entlassen werden konnte. Allerdings bestand noch nach einem Jahr das Bild der chronischen Gingivitis.

Bei dem folgenden Fall handelt es sich um eine Pat. von 18 Jahren, die 4 Jahre ihren Beruf ausübt. Die Erkrankung zeigte sich fast im ganzen Oberkiefer und an den Frontzähnen des Unterkiefers. Zur Ulceration war es hier nicht gekommen. Die Papillen zeigten verhältnismäßig starke Wucherung und Verfärbung, auf leichten Druck trat sofort Bluten ein. Beläge waren schwach, Zahnstein nicht vorhanden. Erst nach 15 Sitzungen konnte die Pat. entlassen werden, doch trat nach 4 Wochen ein Rezidiv auf, das gleich hartnäckig sich zeigte im Verlauf wie die erste Erkrankung.

Es liegen noch mehrere derartige Fälle vor, die ich der Kürze halber nicht anführe. Auch alle die, welche nicht diese lange Ausdehnung zeigten, hatten doch einen wesentlich ungünstigeren Heilungsverlauf als die Gingivitiden jener Patienten aus bauerlichen Kreisen, die sich in ähnlichen Lebensbedingungen befanden. Obwohl letztere meist schwerere Krankheitsbilder aufwiesen, weil die Erkrankung schon länger bestanden hatte, war doch nach 3—5 maliger Behandlung der krank-

hafte Zustand behoben. Hieraus ergibt sich, daß die Arbeitsbedingungen von eminenter Bedeutung sind für den Verlauf der Erkrankung, um so mehr, als die Mundpflege bei den Tabakarbeiterinnen nach meinen Feststellungen eine weit regelmäßigere und bessere war als bei den landwirtschaftlich Tätigen und nennenswerte Unterschiede in der allgemeinen Konstitution nicht bestanden.

Meines Erachtens ergibt sich auch hieraus, daß der Tabakstaub eine gesundheitsschädliche Wirkung auf das Zahnfleisch ausübt¹⁾.

Auszug aus dem Literaturverzeichnis.

Grünwald, Atlas und Grundriß der Krankheiten der Mundhöhle. *Lehmanns med. Handatlas*. — *Seiffert*, Über die Gewerbekrankheiten der Mundhöhle. *Dtsch. Monatsschr. f. Zahnheilk.* 1898, S. 281. — *Williger*, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* 1910.

¹⁾ Besonders interessierte Leser werden auf meine oben zitierte Dissertation hingewiesen, in der alle Belege, Tabellen usw. zu finden sind.

(Aus dem Institut für Allgemeine Biologie der Universität Lwow [Lemberg].)

Die Beziehungen der X-Stämme zur *Rickettsia Prowazeki*.

Vorläufige Mitteilung.

Von
Prof. Weigl.

Die neueren Publikationen über Züchtung des Fleckfiebererregers, insbesondere die von *Borykin*¹⁾ und der eben erschienene Aufsatz von *Kuczynski*²⁾, bewogen mich dazu, auch die Ergebnisse meiner diesbezüglichen Untersuchungen in einer vorläufigen Mitteilung weiteren Kreisen bekanntzugeben. Bestimmend war außer Wahrung gewisser Prioritätsrechte auch die Hoffnung, daß diese Untersuchungen, die einen ganz anderen Ausgangspunkt wählten, und zwar von der *Rickettsia Prowazeki* ausgehen, im Verband mit den Ergebnissen der obengenannten Autoren Anstoß zu weiteren Arbeiten geben werden. Neue, von diesem Gesichtspunkte aus unternommene Untersuchungen werden dann hoffentlich die endgültige Klärung des so äußerst eigenartigen und vielversprechenden, aber immer noch strittigen Problems des Verhaltens des Fleckfiebererregers zur *Rickettsia Prowazeki* einerseits und den X-Bacillen anderseits bringen.

Borykin berichtet, daß es ihm in 76 und mehr Prozent der Untersuchungen gelingt, aus mit *Kalinkinscher* Lösung verdünntem oder verdautem Organbrei von Gehirn und Milz fleckfieberkranker Menschen und Tiere (Meerschweinchen) unter anaeroben Verhältnissen einen Mikroorganismus „*Microbion typhi exanthematici*“ zu züchten, der allen Anforderungen, die man an einen spezifischen Krankheitserreger stellt, entspricht. Entgegen allen so zahlreichen, bisher von verschiedener Seite aus Fleckfiebermaterial gezüchteten und als Erreger dieser Seuche proklamierten Mikroorganismen versagt nämlich, den Angaben *Borykins* zufolge, das *Microbion* auch im Tierexperiment nicht. Die Impfung von $\frac{1}{3}$ —3 Ösen der *Microbion*kultur ruft — nach *Borykin* — nämlich beim Meerschweinchen das für diese Tiergattung typische Fleckfieberbild hervor, das dem durch Krankenblut erzeugten vollkommen entspricht und sich auch in langen Passagenreihen von Meerschweinchen

¹⁾ Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 74, Nr. 1/2. 1922.

²⁾ Med. Klinik 1922, Nr. 50.

auf Meerschweinchen übertragen läßt. Die Virulenz des Mikrobions für Meerschweinchen bleibt auch nach öfteren Nährbodenüberimpfungen vollkommen erhalten.

Über die Beziehungen dieses Mikrobions zu den von verschiedener Seite beschriebenen vermutlichen Fleckfiebererregern spricht sich *Borykin* nicht aus. Er nimmt bloß, und zwar ohne jede Einschränkung, an, daß es der *Rickettsia Prowazeki* entspricht. Nach den Äußerungen *Borykins* über *Rickettsia* zu urteilen, scheint dieser Autor jedoch über die *Rickettsienfrage* nicht recht orientiert zu sein. Auch über das Verhalten des Mikrobions zu den X-Stämmen wird nichts ausgesagt.

Über ähnliche Befunde berichtet *Kuczynski*. Auch ihm gelang es, auf einem speziell zubereiteten Nährboden, dem As-Nährboden, aus Fleckfiebermaterial — Mensch und Meerschweinchen — einen Bacillus zu züchten, den *Kuczynski* auf Grund seines Verhaltens im Tierversuch als den Fleckfiebererreger anspricht. Er ruft nämlich beim geimpften Meerschweinchen eine fieberhafte Erkrankung hervor, die der durch Fleckfieberpassagevirus hervorgerufenen in klinischer wie auch immunisatorischer Hinsicht vollständig entspricht. Auch im Kaninchenversuch verhält sich wenigstens ein Teil der As-Kulturen ähnlich wie das Meerschweinchen-Fleckfieberpassagevirus, indem sie eine nur flüchtige X₁₉-Agglutination erzeugen. Durch Züchtung in caseinhaltigen Nährsubstraten gelingt es nach *Kuczynski*, die Virulenz dieses Mikroorganismus für Meerschweinchen auch nach weiteren Nährbodenüberimpfungen zu erhalten. Über die Beziehungen dieses Mikroorganismus zu dem *Plotz*schen Bacillus wie auch anderen vermutlichen Fleckfiebererregern äußert sich *Kuczynski* nicht, dagegen werden seine Beziehungen zu den X-Stämmen wie auch der *Rickettsia Prowazeki* eingehend besprochen.

Das durch *Kuczynski* erbrachte Tatsachenmaterial, die serologischen Eigenschaften der As-Bacillen wie auch ihr Verhalten auf Nährböden, läßt es als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß die von *Kuczynski* gezüchteten As-Stämme tatsächlich in die Gruppe des *Proteus* gehören, und zwar den *Proteus*-X-Stämmen sehr nahe kommen, in manchen Fällen ihnen auch vollständig entsprechen. Von denen unterscheiden sie sich dann nur, oft aber auch nur in den ersten Generationen, durch ihr Verhalten im Tierexperiment.

Kuczynski gelang also das, was bisher nicht gelingen wollte, die Züchtung von X-Stämmen aus dem Organismus des fleckfieberkranken Meerschweinchens.

Kuczynski zieht jedoch aus diesen Ergebnissen viel weittragendere Konsequenzen. Da er — wie es aus seiner Arbeit ersichtlich — die *Rickettsia Prowazeki* als Fleckfiebererreger anerkennt, identifiziert er also kurzweg — wie es übrigens auch *Borykin* und andere tun — seine für Meerschweinchen pathogenen Kulturen mit der *Rickettsia Prowazeki*.

Als einzige Begründung dieser jedenfalls gewichtigen und zu weitläufigen Konsequenzen führenden Aussage finden wir aber dann bloß den Hinweis, daß gewisse Formen der As-Kulturen in morphologischer wie auch tinktorieller Hinsicht ein Verhalten zeigen, das an das gewisser Formen der *Rickettsia Prowazeki* erinnert.

Selbstverständlich ist eine solche Schlußfolgerung ganz unbegründet und unberechtigt, wenn *Kuczynski* auf Grund ganz oberflächlicher, rein morphologischer Ähnlichkeit seiner Kulturbacillen mit bestimmten Formen der Rickettsien den Schluß zieht, daß auch die Rickettsien, und zwar nicht nur die *Rickettsia Prowazeki*, sondern alle bisher beschriebenen Gattungen insgesamt, nicht nur in die Proteusgruppe gehören, sondern kurzweg etwas eigenartig ausgebildete Proteusstämme sind.

Vom prinzipiellen Standpunkt aus möchte ich bereits hier bemerken, daß — sofern wir selbstverständlich die Kriterien der heutigen Bakteriensystematik anerkennen — uns nicht einmal der tatsächliche Beweis, daß *Rickettsia Prowazeki* faktisch von *Proteus* abstammt, dazu berechtigen möchte, *Rickettsia Prowazeki* in „*Proteus Rickettsia Prowazeki*“ umzutauften, wie es *Kuczynski* versucht. Wenn wir z. B. auch davon überzeugt sind, daß der *Ebert-Gaffkysche* Typhusbacillus in die Coligruppe gehört, und wenn es uns auch gelänge — was doch gar nicht unwahrscheinlich ist —, zu konstatieren, daß dieser spezifische Mikroorganismus einmal unter günstigen Bedingungen auch tatsächlich typische Colibacillen abspaltet, so wird doch niemand auf Grund dieser Tatsachen dem Typhusbacillus seine Sonderstellung im Bakteriensystem strittig machen und ihn in *Colityphusbacillus* umtaufen. So ist meiner Ansicht nach auch die *Rickettsia Prowazeki* durch ihre äußerst konstanten und artspezifischen morphologischen und biologischen Eigenschaften als gute Spezies scharf charakterisiert und abgegrenzt. Diese Eigenschaften sind von denen des *Proteus*, auch denen der typischen X-Stämme grundverschieden. Von allen bisher erforschten Eigenschaften der Rickettsien finde ich nämlich auch nicht eine einzige bei den typischen *Proteus*-X-Stämmen. Ob dagegen *Rickettsia Prowazeki* in serologischer Hinsicht sich den X-Stämmen anschließt, darüber wissen wir ja noch gar nichts — da bleibt eben noch alles zu erforschen¹⁾.

Wenn *Kuczynski* also dazu berechtigt sein wollte, in seine Umwandlungskette der X-Bacillen über das Fleckfiebertyphusvirus in die *Rickettsia*, die *Rickettsia Prowazeki* als Endglied einzufügen, so müßte er entweder von der typischen *Laus-Rickettsia* ausgehen oder letzten Endes auf sie zurückkommen. Er müßte also entweder die *Rickettsia* selbst in die X-Form umwandeln, oder aber die X-Stämme in reine *Laus-Rickettsien* umzüchten.

¹⁾ Dies Problem ist Gegenstand eingehender, gemeinsam mit Dr. *Krukowski* unternommener Untersuchungen.

Wie sich nun die As-Kulturen *Kuczynskis* in der Laus verhalten, darüber berichtet *Kuczynski* nichts; auch nichts darüber, wie sich die *Rickettsia* auf den As-Nährböden verhält.

Wenn wir also, wie bereits betont, auf Grund der von *Kuczynski* vorgebrachten Tatsachen dazu beistimmen müssen, daß seine As-Kulturen mit den X-Stämmen verwandt sind, in manchen Fällen ihnen auch tatsächlich entsprechen, so spricht andererseits nichts, also keine der von *Kuczynski* vorgebrachten Tatsachen, für ihre supponierten nahen Beziehungen zur *Rickettsia Prowazeki*.

Nicht auf Grund spekulativer Erwägungen, sondern auf Grund vieljähriger, immer wieder wiederholter Untersuchungen über Zuchtversuche des Fleckfiebererregers, insbesondere aber der *Rickettsia Prowazeki*, gelange ich zur Überzeugung, daß der *Plotzsche Bacillus*, das *Mikrobion Typhi exanthematici Borykin*, die As-Stämme *Kuczynskis*, wie auch die *Weilschen X-Stämme* uns insgesamt Abkömmlinge des Fleckfiebererregers wie auch der *Rickettsia Prowazeki* darstellen¹⁾; und zwar haben wir es da teils bloß mit Varianten des Fleckfiebererregers zu tun, also mit Formen, die durch den Milieuwechsel entsprechend der Züchtungsart ihren spezifischen Artcharakter mehr oder weniger erhalten oder eingebüßt haben (*Mikrobion Borykin*, ein Teil der As-Stämme *Kuczynskis*), teils sind es wieder vielleicht doch wahre Mutationsformen dieses Erregers (ein Teil der As-Stämme, X-Stämme, *Bacillus Plotz*).

Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen bildeten Kulturen, die ich bereits vor 3 Jahren in überlebenden Geweben (Gehirn, Milz, Nebenniere, Leber) von fleckfieberkranken Menschen wie auch im Brei dieser Gewebe erhielt, die, teils in verdünntem Serum, teils in hoher Agarschicht eingebettet, bis 2 Wochen bebrütet wurden²⁾.

In einem gewissen Prozentsatz der so angestellten Kulturen gelang es, einen Mikroorganismus zu züchten, den ich auf Grund seiner morphologischen und serologischen Eigenschaften wie auch des Verhaltens im Tierversuch dem *Plotzschen Bacillus* zur Seite stellte³⁾. Die Be-

¹⁾ Der Vergleich meines Zuchtverfahrens und der mit ihnen erhaltenen Ergebnisse mit denen *Borykins* und *Kuczynskis* läßt es nämlich als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß die Übergangsformen meiner Kulturen tatsächlich dem *Mikrobion* wie auch den As-Stämmen entsprechen.

²⁾ Diese primitive Art der Züchtung nähert sich einerseits der Gewebeskulturzucht *Kuczynskis*, entspricht auch andererseits der Methode *Borykins* (Versetzen des Agars mit frischem Organbrei).

³⁾ Er war vorwiegend grampositiv und anaerob wachsend. Bei weiterer Überimpfung änderte er jedoch regelmäßig sein primäres Verhalten; er wurde zu einem ausgesprochenen gramnegativen und aerob wachsenden *Bacillus*. (Ein solches Verhalten der Kulturen des *Plotz-Bacillus* fanden, wie bekannt, beinahe alle Nachuntersucher.) Impfung mit Aufschwemmungen der Stammkultur riefen nur ausnahmsweise beim Meerschweinchen ein nach 8—12 Tagen einsetzendes, kurzdauerndes Fieber hervor. Die Organe der fiebernden Tiere erwiesen sich, auf ge-

ziehungen dieses Bacillus, auch seiner gramnegativen Variante, zu den X-Stämmen wurden damals nicht untersucht.

Untersuchungen, die die Frage lösen sollten, ob und in welchen Beziehungen die *Rickettsia Prowazeki* zu allen aus Fleckfiebermaterial gezüchteten Mikroorganismen, insbesondere dem *Plotz*schen Bacillus und der X-Stämme stehen, führten u. a. auch zur Wiederholung dieses Züchtungsverfahrens, und zwar an Material von Tieren, die mit *Rickettsia Prowazeki* infiziert waren, insbesondere an Kaninchen und Mäusen. Einige der daraus gewonnenen Kulturen zeigten nun außer den oben beschriebenen, nicht ganz typischen *Plotz*-Bacillen verschiedene andere Formen. Unter ihnen fanden sich auch gramnegative Bacillen, die, auf gewöhnliche Nährböden überimpft, sofort, auch unter aeroben Verhältnissen, ein äußerst üppiges Wachstum zeigten. Ihr biologisches und serologisches Verhalten zeigte dann, daß wir es da mit typischen X-Stämmen zu tun hatten. Alle gehörten dem Typus X₁₉, und zwar der O-Form an. In flüssigen Nährsubstraten weiter gezüchtet, spalteten dann einige auch die H-Form ab.

Weitere Untersuchungen zeigten, daß die Züchtung der reinen X-Stämme aus den mit *Rickettsia Prowazeki* geimpften Tieren nicht nur aus den Organen, sondern viel regelmäßiger sogar aus dem mit Bouillon oder Galle versetzten Blut gelingt; auch die von *Dienes* angegebene Methode gab gute Resultate. Da diese Kulturergebnisse, also die Züchtung von X-Stämmen aus den Organen und Blut von Tieren, die mit reiner *Rickettsia Prowazeki* geimpft wurden, einen etwas revolutionären Charakter trugen, so ist es selbstverständlich, daß sie auch bei mir vor allem den Verdacht einer zufälligen Verunreinigung der Kulturen, einer Infektion mit Laboratoriums-X-Stämmen, erwecken mußten. Auch die Möglichkeit einer zufälligen Infektion der Versuchstiere selbst mit den Laboratoriums-X-Stämmen wie auch anderen *Proteus*stämmen wurde in Betracht gezogen.

Die Versuche wurden also an einem zahlreichen Tiermaterial wiederholt, und zwar unter peinlichster Vermeidung jedweder Möglichkeit einer Verunreinigung mit X-Stämmen, so der Geräte wie Kulturen und insbesondere auch der Tiere selbst.

Die zu behandelnden Tiere wurden in separaten Räumen, wo nie mit X-Stämmen gearbeitet wurde, gehalten. Ihr Blut, Urin und Faeces wurden vor der Impfung wiederholt auf Anwesenheit von *Proteus* unter-

wöhnlichen Nährböden geprüft, als bakteriell steril. Nach überstandnem Fieber erwiesen sich die meisten Meerschweinchen gegen Infektion mit Meerschweinchen-Fleckfieberpassagevirus sowie mit Blut von fleckfieberkranken Menschen als immun. Ein ähnliches Verhalten zeigten auch viele der geimpften, aber nicht fiebernden Tiere. Die Übertragung dieser Infektion von Meerschweinchen auf Meerschweinchen gelang dagegen wieder nur ausnahmsweise.

sucht. Auch wurden zahlreiche Kontrollkulturen von anderweitig behandelten und geimpften Tieren untersucht. Die Kontrollen wurden öfters absichtlich gemeinsam in einem Kulturglas mit Kulturen der X-Stämme, sowohl der O- wie auch der H-Form aufbewahrt und bebrütet.

Auch andere Rickettsien, wie *Rickettsia Pediculi*, *Rickettsia Quintana*, *Rickettsia Rocha-Limae* und *Rickettsia W*, wurden zwecks Kontrolle herangezogen. Auch wurden gleichzeitig zahlreiche Blutproben von Fleckfieberkranken wie auch anderweitig erkrankten Menschen untersucht. Die letzte Serie der Experimente wurde sogar in einer anderen weit entlegenen Anstalt angestellt, wo nie mit X-Stämmen, weder vorher noch während der Dauer der Experimente, gearbeitet wurde.

Das Ergebnis aller Untersuchungsreihen war ein ganz eindeutiges.

Keine der Kontrollen zeigte X-Stämme, also weder die Kontrollblutproben, die den Tieren vor der Infektion entnommen wurden, als auch alle Blut- und Organkulturen von normalen wie auch anderweitig vorbehandelten Tieren. Auch wurde — dies sei besonders hervorgehoben — in keinem dieser Fälle ein anderer Proteusstamm gezüchtet. Ähnlich verhielten sich die Menschenblutkontrollproben¹⁾.

Aus dem Blut wie auch den Organen der mit *Rickettsia Prowazeki* geimpften Tiere²⁾ wurden dagegen in allen Serien, und zwar in einem verhältnismäßig hohen Prozentsatz X-Stämme gezüchtet. Alle, ohne Ausnahme, gehörten wieder dem Typus X₁₀ an und wurden durchwegs als reine O-Form erhalten. Nach längerem Aufenthalt in flüssigen Nährböden spalteten einige auch die H-Form ab³⁾.

Diese Ergebnisse ließen es schon als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß die X-Stämme tatsächlich zu der *Rickettsia Prowazeki* in genetischer Beziehung stehen, uns also gewisse von der *Rickettsia Prowazeki* abgespaltene Formen darstellen. Der Prozeß wäre entweder als atavisti-

¹⁾ Nur in einem Kontrollfall (Menschenblut), der als Dysenterie diagnostiziert wurde — konnte aus dem Blutkuchen in Bouillon ein X-Stamm vom Typus des X₁₀ gezüchtet werden. Das Eigenserum dieses Patienten (derselben Blutprobe, aus der der X-Stamm gezüchtet wurde) zeigte jedoch eine *Weil-Felix*-Reaktion 1 : 150 positiv — *Dys. Shiga* u. *Flexner* negativ. Der Fall konnte leider nicht wiederholt untersucht werden. Es ist also höchst fraglich, ob es sich da faktisch um eine reine Dysenterie handelte. Eine Mischinfektion mit Fleckfieber oder eine reine X-Infektion ist da jedenfalls nicht ausgeschlossen. Außerdem wurde dann noch aus einer anderen Blutprobe, die einer an Pemphigus erkrankten Patientin entstammte ein Proteusstamm gezüchtet, der der 3-Gruppe *Weils* angehörte.

²⁾ Zur Impfung wurden immer je 4 *Rickettsia*-Stämme verwandt, und zwar 3 ältere Lauspassage-Stämme in der 9. bis 27. Passage und stets auch ein frischer Stamm, also aus Läusen erhalten, die sich durch Saugen von Krankenblut infiziert haben. Im Versuch wurde jeder Stamm einzeln verarbeitet.

³⁾ Auch aus dem Blute von fleckfieberkranken Menschen wurden in 5 Fällen X-Stämme vom Typus des X₁₀ gezüchtet. Einer in reiner O-Form und 4 in gemischter O- und H-Form.

scher Rückschlag oder vielleicht als wahre Mutation aufzufassen. Die Abspaltung war nämlich in allen Serien der Blutkulturen immer eine vollkommene. Nie fanden sich in diesen Versuchsreihen Übergänge. Entweder zeigte die Probe X-Stämme oder sie blieb steril.

Es sei auch bereits da angedeutet, daß die frisch aus dem fleckfieberkranken Organismus gezüchteten X-Stämme, also ihre ersten Generationen, im Tierexperiment oft ein ganz anderes Verhalten zeigten, als die Kulturen derselben Stämme nach weiteren Nähragar-Überimpfungen. — Wie bekannt, ruft die Infektion mit Laboratorium-X-Stämmen beim Meerschweinchen kein Fleckfieber hervor. Die Infektion mit X-Stämmen der ersten Generationen ruft dagegen beim Meerschweinchen außer der typischen X-Infektion in einem gewissen Prozentsatz der Impfungen ein charakteristisches Fleckfieber hervor, das sich auch in Passagen von Meerschweinchen auf Meerschweinchen übertragen läßt. Aus dem Blut und den Organen dieser Meerschweinchen läßt sich der X-Bacillus nicht mehr züchten. Im Lausversuch kann dagegen aus dem Blute dieser Tiere konstant *Rickettsia Prowazeki* gezüchtet werden. — Dies beweist, daß unter den auf gewöhnlichen Nährböden bereits wachsenden X-Formen der ersten Generation sich faktisch auch Übergangsformen vorfinden können, deren Artcharakter — nämlich der X-Charakter — noch nicht unwiderruflich fixiert erscheint, die also unter günstigen Verhältnissen wieder in ihre Ausgangsform, in den Fleckfiebererreger, umschlagen können.

Anders verhielten sich dagegen in dieser Hinsicht die nach der oben beschriebenen Art hergestellten, unter anaeroben Bedingungen gehaltenen Kulturen. Hier fanden sich wieder nur selten reine X-Formen, öfters dagegen alle Übergänge von *Platz-Bacillus* und X-Stämmen zu gramnegativen Bakterien, die, meiner Ansicht nach, höchstwahrscheinlich den neuerdings von *Borykin* und von *Kuczynski* beschriebenen Mikroorganismen entsprechen. Nie fand sich dagegen *Rickettsia Prowazeki*, also ein mit den für diesen Lausparasiten charakteristischen biologischen Eigenschaften ausgestatteter Mikroorganismus.

Trotz der Ergebnisse dieser Untersuchungen war die Frage des Verhältnisses der X-Stämme zur *Rickettsia Prowazeki* doch noch immer nicht ganz geklärt. Diese Tierexperimente beweisen nämlich im Grunde genommen auch nur, daß es gelingt, aus den mit *Rickettsia Prowazeki* infizierten Tieren X-Bacillen zu züchten.

Es galt also nun noch die durch diese Ergebnisse sehr plausibel gemachte Annahme, daß die X-Stämme tatsächlich von der *Rickettsia Prowazeki* abspalten, wirklich zu begründen; vor allem also die X-Stämme aus der *Rickettsia*-infizierten Laus selbst zu züchten und schließlich sie außerhalb der Laus aus der reinen *Rickettsia*kultur zu erhalten.

Über Züchtung von X-Stämmen aus der Laus berichten zwar bereits *Dienes* und *Gergely*.

In diesen Fällen handelte es sich aber um Läuse, die an Fleckfieberkranken Blut gesaugt haben. Die X-Bacillen stammten da also höchstwahrscheinlich vom Kranken selbst und wurden bloß von der Laus

mitsamt dem Krankenblut aufgenommen. Es waren das also höchstwahrscheinlich keine von den Rickettsien in der Laus selbst abgespaltene Formen.

In zahlreichen, verschiedenartig modifizierten Zuchtversuchen gelang es mir vorerst nie, aus reinen Lauspassage-Rickettsien X-Bacillen zu züchten. Auf künstlichen Nährböden gingen alle Rickettsiakulturen bald früher, bald später, aber doch schließlich immer zugrunde, ohne sich selbst zusehends zu vermehren oder andere leicht kultivierbare Formen abzuspalten. Aus mir unbekanntem Gründen traten jedoch plötzlich, und zwar zu verschiedenen Zeiten, in einigen Läusen, die zwei verschiedenen Serien einer älteren Rickettsienkultur der 6- und 20-Lauspassage angehörten, Formen auf, die bereits in der Laus (Lausdarmaufschwemmung) die charakteristischen agglutinatorischen Eigenschaften der X-Stämme zeigten und, auf gewöhnliche Nährböden überimpft, sofort auch üppig wuchsen.

Eine an einer stark konzentrierten Rickettsienaufschwemmung erhobene Beobachtung verhalf dann zur endgültigen Lösung dieser Frage.

Die in Rede stehende Rickettsiaaufschwemmung, die zwecks Bereitung von Extrakten längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, erschien von Anfang an — auf Bouillon und Agar überimpft — als steril. Nach 4 Tagen geprüft, erwies sie sich ebenfalls im Laus- und Meerschweinchenversuch als nicht mehr entwicklungsfähig. Sie galt also, unserer gewohnten Vorstellung gemäß, als bereits abgestorben.

Die weitere Untersuchung zeigte jedoch, daß in dieser Aufschwemmung entgegen den Ergebnissen unserer gewöhnlichen Kulturproben nicht jedes Leben erloschen ist. Nach einiger Zeit erwachte in ihr neues Leben¹⁾. Jetzt ließ sich nämlich aus dieser Aufschwemmung auf Agar und Bouillon ein X-Stamm in der typischen Form des OX₁₉ züchten.

Zielbewußte Wiederholung dieser Experimente in verschiedenen Modifikationen ergaben dann in einem kleinen Prozentsatz dieselben Ergebnisse. Es sei nachdrücklichst betont, daß in diesen beiden Untersuchungsreihen, also sowohl der Zucht der X-Bacillen in der Laus selbst wie auch im Reagensglas, jedwede Verunreinigung der Kulturen mit Laboratoriums-X-Stämmen gänzlich ausgeschlossen war.

Gegen einen solchen Einwand spricht übrigens schon das Verhalten der infizierten Läuse selbst. Bei künstlicher X-Infektion des Lausdarms erliegen, wenn größere Mengen der Bacillen eingespritzt werden, die infizierten Läuse bald, längstens nach 2 Tagen, der Infektion, da gibt es keine Ausnahmen. Falls dagegen nur geringe Mengen des X-Bacillus verimpft werden, so haftet die X-Infektion bei der Laus überhaupt

¹⁾ Solche dichte Aufschwemmungen (100—500 Lausdärme in 1 ccm) enthalten selbstverständlich viel lebensfrisches Nährmaterial, das aus Zellen und Zelltrümmern des Lausdarms besteht.

nicht. Die Bacillen werden in kurzer Zeit gänzlich vernichtet und verschwinden spurlos. Die Laus bleibt normal, ihr Mitteldarm also steril. Bei den in Rede stehenden *Rickettsia*-infizierten Läusen traten dagegen die X-Bacillen erst 8—10 Tage nach der *Rickettsia*-Infektion auf¹⁾, und dann auch gewöhnlich nur in sehr spärlicher Anzahl! neben zahlreichen *Rickettsien*.

Auch Infektion der Läuse mit X-Bacillen durch das Blut des sie ernährenden Menschen war ausgeschlossen, da alle, und zwar Hunderte von normalen Läusen wie auch alle anderen *Rickettsiapassagen* (12 an der Zahl), die gleichzeitig von demselben Menschen gefüttert wurden, keine X-Bacillen zeigten.

Auf Grund all der vorgebrachten Tatsachen scheint es mir erwiesen, daß die X-Stämme zwar von der *Rickettsia Prowazeki* abstammen, daß sie uns aber nicht ein gewisses Entwicklungsstadium des Fleckfiebererregers darstellen in dem Sinne, daß sie ein Glied einer Entwicklungskette von Formen repräsentieren, die der Fleckfiebererreger regelmäßig bei seiner Wanderung von Laus zu Mensch, und zwar im Menschenorganismus durchläuft. Wahrscheinlicher erscheint es mir, daß die X-Stämme uns bloß Formen darstellen, die vielleicht regelmäßig oder nur spontan aus uns näher unbekanntem Gründen von Zeit zu Zeit von der *Rickettsia Prowazeki* abgespalten werden.

Das Sprungweise dieser Erscheinung selbst, also das Auftreten bloß bereits typisch ausgestalteter X-Stämme ohne Übergangsformen, kann, wie ja meine Untersuchungen zeigen, auch bloß auf Täuschung beruhen. Es ist nämlich nicht ausgeschlossen, daß der Prozeß der Abspaltung der X-Stämme von der *Rickettsia* keinen Sprung bedeutet, sondern uns vielmehr einen allmählichen, über verschiedene Übergangsstadien führenden Evolutionsprozeß darstellt²⁾.

Auf künstlichen Nährböden können wir ja bloß solche Mikroorganismen züchten, die sich eben auf diesen Nährböden vermehren. Die *Rickettsia Prowazeki* ist nun auf gewöhnlichen Nährböden in ihrer typischen Ausgangsform nicht züchtbar. Wenn also die Zwischenstadien des Umwandlungsprozesses der *Rickettsia* in die X-Form, ähnlich wie *Rickettsia Prowazeki* selbst, auf gewöhnlichen Nährböden noch nicht

¹⁾ Jede zur Lausinfektion bestimmte *Rickettsien*aufschwemmung wurde immer auf ihre Sterilität auf gewöhnlichen Nährböden (Agar und Bouillon) nachgeprüft.

²⁾ Für eine solche Auffassung sprechen nämlich die Ergebnisse der oben erwähnten anaeroben Kulturen aus Organen von mit *Rickettsia Prowazeki* infizierten Kaninchen und Mäusen, nämlich das Auftreten verschiedenartig gestalteter Übergangsformen. Dafür sprechen auch die Zuchtergebnisse *Kuczynskis*, also die Vielgestaltigkeit der aus Fleckfiebermaterial gezüchteten As-Stämme. Dafür spricht auch schließlich das abweichende Verhalten der ersten Generation frisch aus dem Fleckfieberorganismus gezüchteter X-Stämme im Tierversuch.

züchtbar sind, andererseits aber, ähnlich dem typischen X-Bacillus, ihre pathogenen Eigenschaften für die Laus wie auch das Meerschweinchen bereits eingeübt haben, so entziehen sie sich selbstverständlich vollkommen unserer Untersuchung. Die Kultur erscheint uns als steril. Faßbar bleibt eben für uns erst das Endstadium dieses Umwandlungsprozesses, das ist die auf gewöhnlichen Nährböden üppig wachsende X-Form.

Es bleibt also noch zu erforschen, ob wir es da mit einem mit jeder neuen Generation fortschreitenden Umwandlungsprozeß der Ausgangsformen in immer neue Formen zu tun haben, die sich immer mehr dem Typus der auf gewöhnlichen Nährböden wachsenden X-Form nähern; oder ob der ganze Umstimmungsprozeß sich schon im Plasma des Ausgangsindividuums vollzieht, wodurch dies *Rickettsia*-Individuum wie mit einem Schlag entweder direkt in die X-Form umschlägt oder den X-Charakter erst in den der ersten Teilung entstammenden Nachkommen, also in der ersten Filialgeneration des bereits umgestimmten *Rickettsia*-Individuums annimmt.

Die Untersuchungen *Kuczynskis* lassen es als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß die X-Stämme in nahen Beziehungen zu dem Fleckfiebererreger stehen. Die Ergebnisse meiner Untersuchungen beweisen nun, daß die X-Stämme tatsächlich von der *Rickettsia Prowazeki* abgespalten werden.

Durch diese Tatsachen wurde also das Auftreten der X-Stämme im fleckfieberkranken Organismus erst auf eine natürliche Basis gebracht, mit dem Fleckfieber in ursächliche Verbindung gestellt. Dadurch wurde nun das schwerste Hindernis für die Klärung des Problems, „das Zufällige“ aus dem Wege geräumt. So findet auch die von *Weil* von allem Anfang an konsequent verfochtene Annahme, daß die X-Stämme mit dem Fleckfiebertvirus verwandt sind, eine glänzende Bestätigung. Obwohl nun diese Ergebnisse auch die größte Schwierigkeit in der Beurteilung der so viel umstrittenen spezifischen Fleckfieberagglutination der X-Stämme beseitigen, sind sie doch nicht imstande, dies Problem ganz zu lösen. Noch immer bleibt es ja unentschieden, ob — wie *Weil* es so gern gesehen hätte — die X-Agglutination des Fleckfieberserums tatsächlich an die Anwesenheit der X-Stämme im fleckfieberkranken Organismus gebunden ist, also durch den X-Bacillus selbst erzeugt wird. In diesem Falle wäre die X-Agglutination eine typische, artspezifische Agglutination, die wir dann als Ausdruck einer beim Fleckfieber des Menschen und mancher Tiere konstant auftretenden Mischinfektion mit vom Fleckfiebererreger abgespaltenen X-Stämmen ansehen müßten; oder ob die X-Agglutinine durch den wahren, den X-Stämmen zwar verwandten, aber höchstwahrscheinlich von ihnen verschiedenen Fleckfiebererreger erzeugt werden, in welchem Falle

dann die X-Agglutination des Fleckfieberserums entweder als Gruppen- oder bloß als Mitagglutination aufzufassen wäre. Weitere Untersuchungen müssen also erst zeigen, ob die durch das abgetötete¹⁾ Fleckfiebervirus wie auch *Rickettsia Prowazeki* erzeugten Agglutinine denen der X-Sera vollständig, das ist in jeder Hinsicht, entsprechen oder nicht.

Auf Grund der Ergebnisse der Rickettsienforschung müssen wir die *Rickettsia Prowazeki* als die Form des Fleckfiebererregers in der Laus ansehen. Diese wohlbegründete Annahme scheint endlich durchgedrungen zu sein. Dies ist jedoch noch keineswegs gleichsinnig mit der Behauptung, daß der Fleckfiebererregers in eben dieser Form, also der Form der Laus-*Rickettsia*, auch im Organismus des fleckfieberkranken Menschen und Tieres auftritt. Die wahre Form des Fleckfiebererregers im fleckfieberkranken Organismus ist uns, meiner Ansicht nach, noch immer unbekannt.

Zwar spricht manches dafür, daß der Fleckfiebererregers bei Mensch und Tier eben in der Form der *Rickettsia Prowazeki* auftritt²⁾. Der direkte Beweis fehlt jedoch noch immer. Auf Grund meiner Untersuchungen können wir es bloß als erwiesen ansehen, daß es stets gelingt, bei jeder normalen Laus durch Injektion von frischem Blut oder Organ-aufschwemmung fleckfieberkranker Menschen und Tiere eine *Rickettsia*-Infektion hervorzurufen. Dieser Umstand beweist, daß im fleckfieberkranken Organismus konstant eine auf gewöhnlichen Nährböden nicht züchtbare Form des Fleckfiebererregers auftritt, die gleichzeitig auch die Eigenschaft besitzt, in der Laus so gut wie immer eine *Rickettsia*-Infektion hervorzurufen.

Alle aus Fleckfiebermaterial auf künstlichem Nährboden, auch in überlebenden Organen gezüchteten Mikroorganismen rufen dagegen in der Laus — meinen bisherigen Versuchen zufolge — keine *Rickettsia*-Infektion mit den für diese Infektion charakteristischen Merkmalen hervor. Das bezieht sich auch auf diejenigen Mikroorganismen, die sich für Meerschweinchen im gewissen Sinne als gegen Fleckfieber immunisierend erweisen. Dies Verhalten beweist ja zur Genüge, daß die aus Fleckfiebermaterial züchtbaren Mikroorganismen sich insgesamt in ihren biologischen Eigenschaften bereits weit von der eben besprochenen

¹⁾ Nur durch Verwendung von abgetötetem Virus oder *Rickettsia* können wir nämlich die Abspaltung der X-Stämme im Organismus des zu immunisierenden Tieres verhindern.

²⁾ Bloß morphologische Ähnlichkeit der in Schnittpräparaten von Organen fleckfieberkranker Menschen und Tiere gefundenen Gebilde mit *Rickettsia Prowazeki* gibt zwar gewisse Anhaltspunkte, kann aber selbstverständlich nicht als beweisend gelten. Auf Grund der im Schnittpräparat konstaterbaren Eigenschaften könnten diese Gebilde ja mit demselben Recht oder Unrecht ebenfalls als jedem anderen aus Fleckfiebermaterial gezüchteten Mikroorganismen entsprechend angesehen werden.

im fleckfieberkranken Organismus konstant auftretenden Form des Fleckfiebererregers entfernt haben. Auch die äußerst große Variabilität der besprochenen, aus Fleckfiebermaterial unter verschiedenen Bedingungen gezüchteten Mikroorganismen, die meines Erachtens alle tatsächlich zu dem Fleckfiebererregers in genetischer Beziehung stehen, mahnt an Vorsicht vor allzu voreiliger Identifizierung der Kulturbacillen mit dem wahren Fleckfiebererregers¹⁾.

Dies hat auch Bezug auf das Mikrobion *Borykin* und die As-Stämme *Kuczynskis*. Die mit diesen Stämmen ausgeführten positiven Tierversuche beweisen im besten Falle ja auch nur, daß diese Mikroorganismen faktisch nahe Beziehungen zum Fleckfieber des Meerschweinchens zeigen, vielleicht bloß die Fähigkeit besitzen, im Meerschweinchenorganismus wieder in ihre Ausgangsform, in den wahren Fleckfiebererregers, umzuschlagen. Ein Verhalten, das ich, wie bereits betont, auch bei der ersten Generation einiger X-Stämme fand. Auch eine andere Erklärungsmöglichkeit muß da aber in Betracht gezogen werden.

Durch am Menschen ausgeführte Versuche — Eigenversuche von *Sparrow* — wissen wir zwar bereits, daß das Fleckfieberpassage-Meerschweinchen tatsächlich den Fleckfiebererregers in seinem Blut und Organen beherbergt. Es ist aber dadurch auch keinesfalls ausgeschlossen, daß das Fleckfieber des Meerschweinchens, das ja den Ansichten einiger Autoren zufolge in einer vom Fleckfieber des Menschen etwas abweichenden Form verläuft, unter dem Einfluß einer in seiner Konstitution bereits tiefgreifend veränderten Variante des wahren Fleckfiebererregers steht, die eben den As-Kulturen *Kuczynskis* entspricht oder ihnen wenigstens näher steht als dem tatsächlichen Erregers des Fleckfiebers beim Menschen. Es sei auch darauf hingewiesen, daß wir noch nichts darüber wissen, in welcher Weise beim Fleckfieber die verschiedenen von der Rickettsia Prowazeki im Organismus des Menschen abgespaltenen Formen, unter ihnen auch die X-Stämme, das Fleckfieber des Menschen beherrschen oder beeinflussen.

Über das wahre Verhältnis des Mikrobions wie auch der As-Kulturen und gewisser X-Stämme zum eigentlichen Fleckfiebererregers des Menschen müssen also erst weitere umfassendere Untersuchungen Aufschluß geben.

Abgeschlossen Ende Dezember 1922.

¹⁾ Es ist ja klar, daß wir einen nicht nur in morphologischer Hinsicht, sondern auch in seinen biologischen Eigenschaften tiefgreifend veränderten Organismus, dessen neu erworbene Merkmale sich als gefestigt und konstant erblich erweisen, der uns also bereits einen neuen Biotypus repräsentiert, auch wenn es bloß ein Bacterium ist, nicht ohne weiteres mit seiner Ausgangsform identifizieren können.

Ergebnisse bakteriologischer Influenzaforschungen.

Von

Prof. B. Gosio,

Direktor des Kgl. Instituts für Bakteriologie und Mikrographie in Rom.

Im folgenden sollen einige Ergebnisse unserer in einer Reihe von italienischen Publikationen niedergelegten Forschungen wiedergegeben werden. Unsere Untersuchungen beziehen sich 1. auf die parasitären Eigenschaften des *Pfeifferschen* Bacillus; 2. auf seine saprophytischen Lebensbedingungen; 3. auf seine Rolle bei Mischinfektionen und 4. auf seine Rolle als Antigen bei der Bereitung antitoxischer Sera.

I.

Nach unseren Untersuchungen erwies sich der Influenzabacillus als kein eigentlicher Infektionserreger im gewöhnlichen Sinne des Wortes. Er ist nämlich nicht imstande, das tierische Gewebe zu schädigen, um sich dortselbst weiterzuentwickeln, sondern er beschränkt sich auf eine toxische Wirkung, die von der Größe der Impfdosis abhängig ist. Bei tödlicher Impfdosis erzeugt er die schweren von mir¹⁾ und *Santangelo* (der das histopathologische Bild der experimentellen Influenza studierte) beschriebenen²⁾ Veränderungen. Es entsteht dabei in allen Organen, mit Vorliebe aber in Lungen und Lymphdrüsen, das Bild einer mit starker Blutstauung einhergehenden Krankheit, nämlich zahlreiche Blutungen und fettige Degeneration mancher parenchymatöser Gewebe. Es handelt sich aber um kein septicämisches, sondern um ein rein toxisches Krankheitsbild, wenigstens gelang uns die Züchtung des Influenzaerregers weder aus dem Blut noch aus den inneren Organen.

Um die Bacillen nachweisen zu können, muß man entweder nach *Cantani*³⁾ direkt ins Gehirn oder nach *Carpano*⁴⁾ mit Mischkulturen impfen. Im ersten Falle aber folgt der *Pfeiffersche* Bacillus nicht der Lymph- oder Blutbahn, sondern beschränkt sich auf den primären Herd; höchstwahrscheinlich verhält sich das Gehirn eher wie ein Kulturmedium, in dem sich die Bacillen besonders im organischen und präorganischen Stadium stark entwickeln [*Caldarola*⁵⁾].

Im zweiten Falle sind die Befunde lebender Influenzabacillen (I.-B.) in den Organen recht unbeständig (vgl. unten).

Im Gegensatz dazu entwickeln sich die I.-B. im Rachen, Trachea, Bronchien und in der Nasenhöhle influenzabefallener Menschen oder auch mit besonderer Technik behandelter Tiere (besonders Affen) mit deutlich parasitärem Charakter. Auch in diesen Fällen aber handelt es sich um keine innere Infektion; die Bakterien befallen nur die Schleimhaut. Es handelt sich beim I.-B. um Endotoxine, die nur infolge der raschen und intensiven Phagocytose ins Innere des Körpers fortgeschleppt werden.

Es geschieht jedoch manchmal, daß Meerschweinchen infolge einer ganz minimalen Impfdosis rasch zu Tode kommen und bei der Sektion das oben beschriebene anatomische Bild zeigen. Es handelt sich in diesen Fällen um *hypertoxische Stämme*.

Wir haben solche, wie schon in einer früheren Mitteilung (1919) ausführlich dargetan, in der Periode, in der die Grippepandemie herrschte, öfters reingezüchtet, fanden sie jedoch in dem Wiederaufflackern der Epidemie in den Jahren 1920/21 nicht wieder. Alle in dieser letzten Periode gezüchteten Stämme zeigten stark verminderte Giftwirkung.

Als Beleg gebe ich folgende Protokolle:

Versuch vom 6. und 7. XI. 1918.

12 Meerschweinchen erhalten subcutan je $\frac{1}{2}$ mg 15—20stündiger Kultur von I.-B. (Stämme Napoli und N 8) auf Taubenblutagar.

Ergebnis: Alle Tiere sterben zwischen dem 5. und 12. Tage. Krankheitsbild: Ödem der Injektionsstelle, später Lähmungen, Dispnöe, Kollaps. Kulturen aus Blut und Organen bleiben steril.

Versuch vom 18. XI. 1918.

8 Meerschweinchen erhalten i.p. je 1 ccm abgetöteter, mit Carbol versetzter Aufschwemmung von I.-B. von Taubenblutagar, entsprechend etwa je 1 mg Kulturmasse (4 verschiedene Stämme, jeder an 2 Tieren geprüft).

Ergebnis: 1 Tier stirbt am 1., die andern 7 am 3. oder 4. Tage nach der Einspritzung.

Einer der Stämme wird gleichzeitig in der Dosis von 1 Normalöse lebend an 4 Meerschweinchen geprüft; die Tiere starben nach 3, 8 bzw. 24 Tagen.

Befund wie im ersten Versuch.

Versuch vom 23. XI. 1918.

4 Meerschweinchen erhalten ein ebenso hergestelltes, von 2 andern gewonnenes Influenzavaccin, teils subcutan, teils i.p., je 1 ccm.

Ergebnis: Tot nach 1—7 Tagen.

Versuch vom 8. II. 1919.

4 Meerschweinchen, geimpft mit Filtrat einer Aufschwemmung von I.-B. durch Berkefeld-N-Filter; je 1 ccm.

Ergebnis: 1 Tier stirbt am 1., 2 am 2., 1 am 3. Tage nach der Einspritzung.

Mehrere influenzaähnliche Bakterienstämme erwiesen sich, gleichzeitig in derselben Weise geprüft, als nichttoxisch.

Während diese Versuche mit Stämmen gemacht wurden, die während der ersten Zeit der Pandemie gewonnen waren, erwiesen sich mehrere später während einer „interpandemischen Periode“ aus Fällen mit klinisch abgeschwächtem Krankheitsverlauf isolierte Influenzastämme viel weniger giftig; erst 4–10 Ösen töteten sehr langsam, meist erst nach mehreren Wochen. Das zeigen die folgenden Protokolle. Die beiden dabei benutzten Stämme waren typische I.-B., die in den ersten 12 Stunden aus den betr. Fällen gezüchtet waren, und zwar durchaus in frischer Weise wie die früheren Kulturen.

Versuch vom 2. II. 1921.

2 Meerschweinchen erhalten subcutan 6 Ösen: Sie sterben am 28. II. bzw. 1. III.

2 andere Meerschweinchen erhalten 4 Ösen desselben Stammes i.p.: Tot am 12. bzw. 15. II.

Versuch vom 6. II. 1921.

Von einem andern Stamm erhalten 2 Meerschweinchen subcutan 8 bzw. 10 Normalösen: Tot am 27. II. bzw. 1. III.

2 Meerschweinchen erhalten vom gleichen Stamm i.p. 4 bzw. 5 Ösen: Das eine stirbt am 25. III., das andere überlebt.

Die gestorbenen Tiere zeigen ähnliche, jedoch schwächere Veränderungen wie bei den stark toxischen Stämmen.

Hiernach bestehen also große Unterschiede in der Toxizität der verschiedenen Stämme. Es handelt sich aber nur um die Dosis. Mit großer Impfdosis gelingt es in den meisten Fällen, das charakteristische Krankheitsbild zu reproduzieren.

Der I.-B. muß also immerhin, auch wenn es sich um minder toxische Stämme handelt, als ein pathogener Keim angesehen werden, denn auf der Nasenschleimhaut, im Rachen, Trachea und Bronchien kann er sich so stark entwickeln, daß auch ein minder toxischer Stamm genug Gift erzeugt, um das für den Menschen typische Krankheitsbild hervorzurufen.

Zusammenfassend können wir also in bezug auf die Biologie des I.-B. als Parasit folgendes sagen:

1. daß der I.-B. sich auf der Schleimhaut der Atmungsorgane als echter Parasit entwickelt;
2. daß die Gesamtwirkung auf den Organismus von der Wirkung der Bacillen selbst abhängt, die durch Phagocytose ins Innere des Körpers fortgeschleppt werden;
3. daß wir 2 Arten I.-B. unterscheiden müssen, und zwar:
 - a) hypertoxische, die nur während der Pandemien vorkommen, und
 - b) hypotoxische, die während der Zwischenzeiten auftreten.

II.

Was seine Biologie anlangt, so ist die Hämophilie als hervorragendes Merkmal des I.-B. anzusehen, und zwar wird sein Wachstum durch einige ganz bestimmte Blutarten gefördert. Nach unseren Erfahrungen sind dazu nur folgende Blutarten gleichgut geeignet:

1. Taubenblut,
2. Turteltaubenblut,
3. Kiebitzblut,
4. Froschblut,
5. Schlangenblut.

Das Blut des Menschen, das dem Gifte des I.-B. gegenüber so empfindlich ist, hat auf das Wachstum des Keimes in vitro keine fördernden Eigenschaften. Die Taube dagegen, deren Blut im höchsten Grade das Wachstum des Keimes fördert, ist für die pathogene Wirkung des I.-B. fast unempfindlich. Das Rind, das Schaf, das Meerschweinchen haben ein für das Wachstum des Keimes ungeeignetes Blut. Dagegen stellt ihr Gehirn ein vorzügliches Nährmedium dar.

Diese Befunde lassen sich schlecht mit der alten Hypothese, daß der Gehalt an Hb. das Wichtigste in den Nährmedien sei, erklären. Die Tatsache, daß auch Gehirnteile, Nieren-, Leber- und Milzextrakte das Wachstum fördern [*Caldarola*¹⁰⁾], läßt an die Wirkung einiger noch nicht bestimmter Substanzen denken. Diese Körper sind thermostabil, sind aber keine Mineralsubstanzen, denn der Zusatz auf Agar von den Salzen, die im Taubenblut vorkommen, fördert das Wachstum des Keimes gar nicht*).

Aus den Forschungen *Zannellis*⁷⁾ geht hervor, daß die besonders toxischen Stämme dem Medium gegenüber anspruchsvoller sind. Diese hypertoxischen Stämme müssen wir aber als die echten Typen der Art ansehen. Mit Rücksicht auf die Unbeständigkeit der einzelnen Bakterienstämme den Nährmedien und auch der Gärungsfähigkeit für Zucker und Glucoside gegenüber (*Caldarola*) muß man sich die Frage stellen, ob man nur jene Mikroorganismen, die alle für die Gruppe als typisch beschriebenen Charaktere aufweisen, als I.-B. bezeichnen soll oder ob es vielleicht passender wäre, mehrere Gruppen und Untergruppen, wie man es z. B. mit dem Pneumokokkus und Meningokokkus gemacht hat, zu unterscheiden. Wenn man der Einteilung in Klassen den Vorzug geben will, so wäre es vielleicht nützlich, die Klassifizierung schon mit dem sog. Pseudopfeifferschen Bacillus anzufangen, d. h. mit jenen Formen, die, außer durch gröbere biologische und mikroskopische Merkmale, besonders in ihren pathogenen Eigenschaften vom echten Typus abweichen.

*) Vgl. hierzu die inzwischen erschienen Arbeiten von *Davis*, *Thjøhta* und *Avery*, die bei *Levinthal* und *Fernbach*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **96**, 480, referiert sind.

Auch jene Formen aber, die in biologischer, mikroskopischer und pathogener Hinsicht dem als echt beschriebenen Typus ganz entsprechen, sind doch in einiger Hinsicht voneinander zu unterscheiden. Zwei Arten wurden schon von *Caldarola* aus serologischen Gründen differenziert⁹⁾. Andere Typen wird man wahrscheinlich infolge weiterer Forschungen unterscheiden können.

III.

Über den I.-B. als Element bakterieller Symbiosen ist eine sehr reiche Literatur vorhanden. So züchtete beispielsweise *Cantani* I.-B. auf blutfreiem Agar, in dem schon Gonokokkenkulturen entwickelt¹²⁾ waren. *Großberger*¹³⁾ sah sie in der Nähe von Staphylokokken gut gedeihen. *Kamen*¹⁴⁾, *Cantani*¹⁵⁾, *Carpano*¹⁶⁾, *Jangisawa*¹⁷⁾ u. a. erhielten bei mit Mischkulturen geimpften Tieren sogar septicämische Krankheitsbilder.

Impft man geeignete Tiere (z. B. junge Kaninchen) mit einer Mischkultur von I.-B. und Strepto- oder Diplokokken, oder impft man gleichzeitig, aber an verschiedenen Stellen I.-B. und Strepto- oder Diplokokken, so können die für die separat verimpften Keime nicht empfänglichen Tiere für die gleichzeitig injizierten Keime empfänglich werden; es entsteht eine örtliche Invasion, die sich später zu einer Septicämie entwickelt.

Die am meisten typische Invasion spielt sich im Atmungsapparat ab, wo ein pathologisch-anatomisches Bild entsteht, das einigen Komplikationen der Influenza sehr nahe steht. *Caldarola* hat in unserem Laboratorium an Kaninchen eine Lungenentzündung, wie sie bei Influenza vorkommt, hervorgerufen, wenn er in den Larynx und oft auch, wenn er einfach in die Nasenhöhlen Mischkulturen von I.-B. mit Strepto- oder Diplokokken einimpfte.

Es seien folgende Versuche aus der Arbeit von Prof. *Caldarola*¹⁸⁾ wiedergegeben:

1. 6 junge Kaninchen (500—700 g) erhalten subcutan $\frac{1}{2}$ Kulturplatte der Pfeifferschen Bacillen auf Taubenblutagar (ältere, bereits abgeschwächte Laboratoriumskulturen) plus $\frac{1}{2}$ Kultur eines avirulenten *Streptococcus haemolyticus*.

Ergebnis: 4 von den 6 Versuchstieren starben am 3. bzw. 4. Tage; ihr Blut enthält Reinkultur von Streptokokken, keine I.-B. Die Kontrollen, die je eine ganze Kultur von Streptokokken bzw. I.-B. allein erhalten, bleiben am Leben.

2. 3 Kaninchen erhalten $\frac{1}{2}$ Kultur I.-B. intrapleural plus $\frac{1}{2}$ Kultur Strept. subcutan. 3 andere umgekehrt $\frac{1}{2}$ Kultur I.-B. subcutan plus $\frac{1}{2}$ Kultur Strept. pleural.

Erfolg: Alle 6 Tiere nach 1 bzw. 2 Tagen gestorben. Im Blut und Pleura Strept., einmal auch I.-B. in der Pleura.

Kontrollen: 2 Kaninchen erhalten pleural eine ganze Kultur derselben I.-B., 2 andere eine ganze Kultur desselben Strept. intrapleural. Alle 4 überleben.

3. Im nachstehenden Versuch wurde die Infektion mittels einer Pravazspritze in die Luftröhre ausgeführt. Injiziert wurden Mischungen von je $\frac{1}{2}$ Kultur

I.-B. plus $\frac{1}{2}$ Kultur Streptokokken bzw. Pneumokokken. Die Kontrolltiere, die eine ganze Kultur I.-B. oder Strept. allein erhielten, zeigen keine Krankheit; die mit $\frac{1}{2}$ Kultur Pneumokokken allein tracheal infizierten sterben dagegen in 1—2 Tagen an Pneumokokkensepsis, jedoch ohne Lungenveränderungen.

Die Versuchstiere, die I.-B. plus Pneumokokken erhalten, sterben in 2 bis 3 Tagen; sie zeigen starke Kongestionen der Lungen und Infiltrationsherde. Das Blut enthält immer Pneumokokken, der Lungensaft bisweilen auch I.-B.

Die Versuchstiere, die I.-B. plus Strept. tracheal erhalten, zeigen sämtlich etwa am 3. Tage auffallende Dispnöe; sie sterben zum Teil in 8—10 Tagen, zum Teil werden sie um die gleiche Zeit getötet.

Befund: Starke Hyperämie, Tracheitis, Bronchitis desquam., bronchopneumonische und peribronchitische Herde.

Der I.-B. verhält sich somit anderen Bakterien gegenüber wie ein echter biologischer Katalysator. Er vergiftet den Organismus und vermindert die Verteidigungskräfte desselben, so daß auch nicht hochvirulente Bakterienstämme Blut und innere Organe leicht befallen können.

Wenn wir es auch nicht wagen, das Resultat der Laboratoriumsarbeit ohne weiteres praktisch zu verwerten, müssen wir uns doch gewiß Gedanken darüber machen, daß die große Sterblichkeit an Lungenentzündung während der Grippeepidemie ihre Ursache in einem ähnlich gearteten Prozeß haben könnte. Eine weitere Betrachtung, die Interesse verdient, wäre, daß wahrscheinlich im Zusammenhang mit der Symbiose auch auf der Schleimhaut des Respirationstraktes der I.-B., wie in vitro, für den Reiz der Bakterienflora empfindlich ist, und zwar im fördernden oder hemmenden Sinne. Wir haben schon darauf hingewiesen, daß zwischen saprophytischen Kulturen und Gedeihen des I.-B. auf Schleimhäuten eine Analogie bestehe.

Es ist höchst wahrscheinlich, daß Art, Masse und Variabilität der Bakterienflora im Respirationstrakte eine große Bedeutung für die Empfänglichkeit gegenüber der Influenza haben. Und so würde man hier auf ein neues, experimentell sehr wenig bearbeitetes Feld gelangen. Das wenige aber, was uns bekannt ist, läßt uns vermuten, daß eine auf der Beeinflussung der antagonistischen Flora fußende Prophylaxe möglich sein könnte.

IV.

Obwohl die medizinische Literatur auf dem Gebiete der gegen Grippe gerichteten Serumtherapie in bezug auf das Verhalten des I.-B. als Antigen viel Unsicheres darbietet, haben wir es doch als nützlich erachtet, die Forschungen auf diesem Gebiete wieder aufzunehmen; der Ansporn kam uns daher, daß wir im Besitz hypertoxischer Stämme waren, wie sie noch nie beschrieben wurden. Auch der gute Erfolg der neuesten Versuche von *Ferry* und *Hangton*¹⁹⁾ ermutigte uns — wenn sie sich auch auf ganz kleine Tiere bezogen —, jene Versuche zu wiederholen, die schon *Kolle* und *Delius* als aussichtslos erklärt hatten²⁰⁾ und

von denen sich *Caldani* in praktischer Anwendung nur wenig versprach²¹). Als Serumproduzenten wählten wir Pferde, und zu ihrer Vaccination bedienten wir uns ungefähr der Technik, die gewöhnlich eingehalten wird, wenn man infolge der Schwierigkeit, den wirksamen Stamm zu isolieren, sich mit einem polyvalenten Produkt begnügt. Da wir immer viele gut identifizierte Stämme besaßen, die von allen Gegenden Italiens stammten und die als Toxinerzeuger sehr wirksam waren, verwendeten wir sie alle als Impfmateriale. Man fängt mit kleinen Dosen abgetöteter Kulturen ins Unterhautzellgewebe zu impfen an, um später lebende Kulturen einzuspritzen, und zwar erst ins Unterhautzellgewebe, dann in die Jugularvene. Trotzdem wir nicht besonders vorsichtig voringen, erreichten wir sehr hohe Impfdosen (30 und mehr Platten), die von den Tieren sehr gut vertragen wurden oder höchstens zu vorübergehenden Kollapsen, nie zum Tode des Tieres führten. Auf die Impfungen ins Hinterhautzellgewebe reagiert der Organismus des Pferdes besonders in der ersten Zeit mit lokalen Infiltraten und mäßigem Fieber, welches 48 Stunden anhält; die endovenöse Applikation dagegen erzeugt viel lebhaftere und kürzere Reaktionen.

Die Immunität ist in genügendem Grade etwa im 3. Monat erreicht; dann bewirkt die Impfung mit großen Bakteriodosen keine oder nur geringe Temperatursteigerung — außer in dem Falle, wenn man kurz nach einem Aderlaß impft. Es ist notwendig, immer mit hyper-toxischen Antigenstämmen zu arbeiten; das ist bis heute aber nur während des Herrschens von Epidemien durchführbar, da es nicht möglich ist, durch Tierpassagen das Virus zu verstärken. Man muß sich bemühen, diese große technische Lücke auszufüllen; dann würden die ungünstigen praktischen Resultate wegfallen, die man bei Verwendung der Antisera des I.-B. bis jetzt hatte. Was die antitoxische Wirkung des Serums betrifft, so hat sie sich vor allem im Tierexperiment bewährt; die Meerschweinchen überstehen die tödliche Impfdosis, wenn sie mit dem Serum vorbehandelt worden sind. Die Prüfung des Serums unserer und mit I.-B. immunisierten Pferde wurde an Meerschweinchen vorgenommen, die zuerst I.-B., dann 24 Stunden danach das Serum erhielten. Dabei schützten 2 ccm Serum gegen die kleinste tödliche Dosis, 10 ccm (auf mehrere Injektionen verteilt) gegen die 5fache letale Dosis. Diese Resultate erzielten wir mit dem Serum, welches zur Zeit der pandemischen Stämme, die eine große toxische Wirkung hatten, erhalten wurde. Später, als die Stämme in ihrer toxischen Wirkung sich abschwächten, wurde es notwendig, viel größere Dosen zu gebrauchen.

Viel schwieriger ist es, die klinische Wirkung einer derartigen Serumtherapie zu beurteilen. Viele Ärzte sollen gute Resultate erzielt haben; aber es fehlte hierbei eine zuverlässige Kontrolle, und die wenigen Fälle, die zur Behandlung kamen, und die gute Wirkung des Normalserums

wegen seines hämolytischen Effektes lassen doch den Laboratoriumsversuch als das Empfehlenswerte erscheinen. Jedenfalls wäre es unberechtigter Skeptizismus, den 12 Fällen, die *Ghiron*²²⁾ mit mehrfachen verschwenderischen Dosen behandelte und bei denen er gute Resultate erzielte, keinen Wert beizumessen. Zehn dieser Fälle wurden publiziert, 2 nicht.

Das Allgemeinbefinden, die Fieberkurve und die Rekonvaleszenz erscheinen als durch das Serum stark beeinflußt. Infolge dieser Beobachtung fühlt man sich doch ermutigt, dem Serum einen gewissen Wert beizulegen, wenn auch ein abschließendes Urteil nicht am Platze ist. Nach den Beobachtungen an vergifteten Meerschweinchen zu schließen, würde der Effekt der Serotherapie, wie die Kontrolle bestätigt, darin bestehen, daß die Zahl der Leukocyten, vornehmlich der polynucleär neutrophilen, sich in den Normalgrenzen hält. Die übermäßige Produktion dieser Zellen ist von schlechter Prognose. Endlich muß ich nochmals betonen, daß man nur mit reichlichen, wiederholten Dosen gute Resultate erzielen kann.

Berücksichtigt man die oben mitgeteilten Ergebnisse, die in einer größeren, vor kurzem erschienenen Monographie niedergelegt sind²³⁾, und einige andere Tatsachen, die in einer reichen Literatur mitgeteilt sind und die wir zu systematisieren versuchten, so muß man dem I.-B. eine außergewöhnliche Stellung in der Mikrobiologie zusprechen. Er stellt eine Besonderheit dar, indem sich bei keinem anderen Mikroorganismus bezüglich der Variabilität seiner Stigmata Ähnliches finden läßt. Die Tatsache, daß wir ihn in der pandemischen Kasuistik mit allen seinen besonderen biologischen und pathogenen Eigentümlichkeiten noch mehr als in der Zeit seines ersten Auftretens beobachten konnten²⁴⁾, nötigt uns um so mehr, ihm eine spezifische Bedeutung zuzusprechen. 1919 waren wir wenige, die diese Ansicht teilten; heute sind wir viele. Die Arbeiten von *Frome*²⁵⁾, *Fränkel*²⁶⁾, *Sobernheim*²⁷⁾, *Carpano*²⁸⁾, *W. J. Wilson*²⁹⁾, *Ch. W. Duval*²⁹⁾, *W. H. Harris*³⁰⁾, *Francis G. Blake e Russel L. Cecil*³¹⁾, *Loewenhardt*³²⁾ und vielen anderen mehr stimmen der Auffassung der Spezifität bei, abgesehen von der Befürwortung der *Pfeifferschen* Schule.

Zum Schluß möchten wir der Hoffnung Ausdruck geben, daß wir immerhin etwas dazu beigetragen haben, einen Mikroorganismus in neues Licht zu rücken, welcher meiner Ansicht nach nur in seiner Individualität richtig erkannt zu werden braucht, um seine Sonderstellung wiederzuerlangen, die er infolge widerstreitender Arbeiten verloren hatte. Unsere Kenntnisse bezüglich der Arten und Unterarten des I.-B. bedürfen aber noch sehr der Vervollständigung, ein Thema, an dem etwas Ähnliches zu wiederholen wäre, was auf dem Gebiete des

Meningo- und Pneumokokkus geleastet wurde. Viel fehlt noch, um ein richtiges Bild der Toxizität der Stämme während der einzelnen Epidemien zu erlangen; vieles muß man noch dazulernen bezüglich der Erhöhung der Virulenz der Keime, um gute Antigene für die Serumtherapie zu erhalten.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Boll. d. R. accad. med. di Roma **1**, Nr. 4. 1918—1919. — ²⁾ Ann. d'ig. **32** (22), 45. — ³⁾ Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I., Orig. **32**, 692. — ⁴⁾ Ann. d'ig. **19**, Nr. 1. — ⁵⁾ Ann. d'ig. **32**, 48. — ⁶⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **13**. 1893; und Lehrbuch der Mikrobiologie 1919, S. 742. — ⁷⁾ Ann. d'ig. **32**, 38. — ⁸⁾ Ibid. S. 36. — ⁹⁾ Ibid. S. 36. — ¹⁰⁾ Ibid. S. 30. — ¹¹⁾ Atti della riunione per lo studio dell' influenza. Milano tipografia Stucchi 1919, S. 115. — ¹²⁾ Sulle infezioni miste. Nap. tip. Sangiovanni 1903. — ¹³⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **21**, 453. — ¹⁴⁾ Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I, Orig. **31**, 343. — ¹⁵⁾ Loc. cit. S. 123. — ¹⁶⁾ Ann. d'ig. 1919, Nr. 1. — ¹⁷⁾ Arch. of exp. med. Tokio **3**, Nr. 1. 1910. — ¹⁸⁾ Ann. d'ig. **32**, 74. — ¹⁹⁾ Journ. of immunol. **4**. — ²⁰⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **24**, 327. — ²¹⁾ Ibid. **42**, 505. — ²²⁾ Ann. d'ig. **32**, 65. — ²³⁾ Ann. d'ig. **32**, Nr. 1. — ²⁴⁾ Pfeiffer, R., Vorläufige Mitteilungen über den Erreger der Influenza. Dtsch. med. Wochenschr. 1892, Nr. 2. — ²⁵⁾ Ibid. 1918, Nr. 51, S. 1419. — ²⁶⁾ Ibid. S. 1442. — ²⁷⁾ Korresp.-Blatt f. Schweiz. Ärzte **21**, 1125. 1919. — ²⁸⁾ Ann. d'ig. **19**, Nr. 1. 1919. — ²⁹⁾ Lancet **197**. Oktober 1919. — ³⁰⁾ Journ. of infect. dis. **25**, Nr. 5, Nov. 1919. — ³¹⁾ Journ. of the Americ. med. assoc. **74**, Nr. 3; und Journ. of exp. med. **32**, Nr. 6. — ³²⁾ Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I. Abt., Orig. **85**. Heft 2. Oktober 1920.

(Aus dem Hygienischen Institut Düsseldorf.)

Das Scharlachproblem. Eine epidemiologische Studie.

Von
Prof. Dr. Th. J. Bürgers.

Bei dem intensiven Studium der Ätiologie aller Infektionskrankheiten, des Verhaltens der Krankheitserreger in- und außerhalb des Körpers ist die Bearbeitung der Epidemiologie leider etwas in den Hintergrund getreten. Daneben haben die zahlreichen wertvollen Untersuchungen über Konstitution und Disposition den ersten Rausch der reinen Bakteriologen rasch gedämpft und zur Vorsicht gemahnt. Aber noch immer birgt die Epidemiologie eine Reihe von Problemen, die des Studiums wert sind. Erinnerung sei an das vikariierende Auftreten der verschiedensten Krankheiten, die sich gewissermaßen ablösen, an die noch immer rätselhafte Wellenbewegung in der Intensität von Infektionskrankheiten, an das Virulenzproblem, an die noch nicht restlos erklärte Abhängigkeit von Jahreszeiten. Täglich ereignen sich Fälle von Infektionskrankheiten, deren Epidemiologie wir ganz genau zu kennen glauben, und die doch nicht epidemiologisch erklärt werden können. Bedauerlich ist hier die mangelhafte Mitarbeit der praktischen Ärzte, die wertvolles Material liefern könnten, es aber nicht bloß aus Zeitmangel unterlassen, sondern deswegen, weil ihnen die Universitätszeit in der Hauptsache Tatsachen und weniger Probleme oder Fragestellungen übermittelte.

Noch schwieriger erscheint das Problem der Epidemiologie bei einer Krankheit, die allgemein als infektiös gilt, deren Kontagiosität aber von einigen Autoren, besonders *F. v. Szontagh*, bezweifelt wird. Auf seine Auffassung soll am Ende dieser Studie eingegangen werden.

Nun tauchte in Ärztekreisen nach dem Kriege die Ansicht auf, der Scharlach habe in den letzten Jahren des Krieges und in der Nachkriegszeit abgenommen. So schien mir der Zeitpunkt gekommen, aus der Statistik des Scharlachs einige Beiträge zu seiner Epidemiologie zu liefern.

Nach Veröffentlichungen und persönlichen Angaben des preußischen statistischen Landesamtes, Reichsgesundheitsamtes und unter teil-

Tabelle I).*
Erkrankungen und Todesfälle an Scharlach in Preußen.

Jahr	Sanitätspolizeilich gemeldete Scharlacherkrankungen		Todesfälle an Scharlach		Letalität %
	Absolute Zahl	Relat. Zahl ‰	Absolute Zahl	Relat. Zahl ‰	
1902	62 504	17,64	11 134	3,14	17,8
1903	70 764	19,69	12 427	3,45	17,5
1904	73 262	20,07	10 202	2,79	13,9
1905	57 021	15,38	7 446	2,01	13,1
1906	64 357	17,10	7 770	2,06	12,1
1907	77 246	20,20	8 484	2,22	10,9
1908	83 877	21,63	8 482	2,18	10,1
1909	91 512	23,25	8 455	2,14	9,2
1910	70 613	17,68	5 498	1,37	7,7
1911	80 660	19,91	5 114	1,25	6,3
1912	66 057	16,08	4 290	1,04	6,5
1913	70 396	16,90	4 506	1,08	6,4
1914	77 963	18,46	6 067	1,20	7,7
1915	120 176 !	—	12 129	—	10,1
1916	71 355	—	6 016	—	8,4
1917	34 735	8,18	2 832	0,66	8,1
1918	26 412	—	1 860	0,42 **)	7,0
1919	35 614	9,05	2 213	0,56	6,2
1920	30 016	8,09	1 477	0,39	4,9

*) Der Kosten wegen sind alle Kurven weggelassen. Sie lassen sich nach den Tabellen aber leicht zeichnen und sind sehr instruktiv.

***) Veröffentlichung des Statistischen Amtes.

weiser Benutzung der Angaben *Neumanns* habe ich die Tabelle I und folgende verrechnet und zusammengestellt¹⁾.

Für die Jahre 1915/16 und teilweise 1918 konnten leider keine Relativziffern errechnet werden, da das Statistische Amt wegen des Geburtenrückganges keine sicheren Unterlagen liefern konnte. Aber schon die absoluten Zahlen zeigen mit aller Deutlichkeit, daß das Jahr 1915, das erste eigentliche Kriegsjahr, eine abnorm hohe Scharlachmorbidity und Mortalität in Preußen aufwies. In Wirklichkeit werden die Zahlen wohl viel höher gewesen sein. Die Ansicht, diese Erscheinung auf den Mangel an Ärzten zurückzuführen, halte ich für sehr wenig begründet, da andere Infektionskrankheiten — mit Ausnahme der Diphtherie — keine solche Steigerung im Kriege erkennen lassen. Ohne hier eine Erklärung zu versuchen, wollen wir nur die Tatsache festhalten. Kleine, wenn auch deutliche Schwankungen der Morbidity lassen schon die Jahre 1902—1914 mit einer gewissen Gesetzmäßigkeit erkennen. Scheinbar erfolgt nun ein starker Rückgang der Morbidity in dem Jahre 1917—1920 auf die Hälfte des früheren Durchschnittes

¹⁾ Die Zahlen für die relative Mortalität *Neumanns* wurden von mir korrigiert.

scheinbar deswegen, weil der Relativzahl die Gesamtbevölkerung zugrunde gelegt ist, während nur eine Relativzahl, errechnet auf die einzelnen Jahresklassen, ein richtigeres Bild geben würde.

Leider liegen die Erkrankungszählkarten nach Provinzen geordnet in Berlin und lassen sich aus äußeren Gründen nicht verwenden. Daß vielleicht an dem scheinbaren Rückgang des Scharlachs nur die Abnahme der Kinderzahl in Preußen die Schuld trägt, könnte durch folgende Zahlen verständlich erscheinen.

Tabelle II.
Lebende Bevölkerung Preußens (♂ und ♀) im Alter von

	0—2 Jahren	2—8 Jahren	8—5 Jahren	5—10 Jahren	10—15 Jahren
1913	2 026 840	1 039 722	2 003 216	4 776 604	4 481 743
1914	2 055 990	1 051 784	2 018 146	4 833 052	4 548 554
1917	1 103 786	719 684	1 838 633	4 752 523	4 905 840
1919	1 063 829	463 260	1 247 240	4 334 748	4 477 762
1920	994 531	481 909	1 167 397	4 061 773	4 202 492

Da gerade die Altersklassen 2—10 Jahre eine Abnahme bis zu 50% aufweisen, wäre schon damit — dieselbe Scharlachverbreitung, Virulenz und Empfänglichkeit wie früher vorausgesetzt — der scheinbare Rückgang des Scharlachs erklärt. Um einen besseren Einblick in den Gang der Morbidität zu erhalten, versuchte ich folgende Fragen zu beantworten: 1. Wie gestaltete sich die Morbidität während der letzten Jahre in den einzelnen Landesteilen? 2. Geben genauere Bearbeitungen der Scharlacherkrankungen in einem kleinen Bezirk besseren Aufschluß über die Epidemiologie? 3. Zeigte die Scharlachkurve in ausländischen Staaten Abweichungen von der Deutschlands, und welche? 4. Welche Schlüsse lassen sich aus der Morbidität größerer früherer Zeiträume ziehen?

Für die Beantwortung der ersten Frage habe ich aus den Wochenmeldungen der Veröffentlichung des Reichsgesundheitsamts die Erkrankungen 1914—1921 nach Jahren und Vierteljahren geordnet zusammengestellt, und zwar von Bezirken, die einmal eine genaue Statistik führen und z. T. hohe Morbidität aufweisen, die ferner im Klima, Zusammensetzung und Beschäftigung der Bevölkerung sowie Wohnweise verschieden sind (Tab. III). Ich wählte die Städte Berlin und Nürnberg, den Landespolizeibezirk Berlin (seit Ende 1920 in Berlin-Stadt einbezogen), die Regierungsbezirke Köln, Düsseldorf, Arnberg, Königsberg und Oppeln. Wegen der Unmöglichkeit, sichere Relativziffern zu errechnen, müssen wir uns mit absoluten Zahlen begnügen. Eines zeigt die Tabelle deutlich: der *Verlauf des Scharlachs ist örtlich durchaus verschieden*. Die hohe Erkrankungsziffer für 1915, die wir für Preußen schon feststellten, findet sich deutlich nur in Düsseldorf, Arnberg, Königsberg und Oppeln, weniger deutlich in Köln, Mecklenburg-Schwerin,

Tabelle III.
Scharlacherkrankungen 1914—1921 in

	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921
Berlin (Stadt) . . .	5380	4624	3896	2029	1735	1782	3151	3708
Landespolizeibezirk								
Berlin	8431	7041	6218	3331	2706	3065	1688 ¹⁾	—
Reg.-Bez. Köln . . .	2226	2843	2123	929	906	954	1251	1658
„ Düsseldorf .	6962	13369	7327	1946	1925	2911	2749	3005
„ Arnberg .	7517	12268	5538	1706	2071	3962	2372	2190
„ Königsberg .	3410	8464	3111	1276	927	1404	546	726
„ Oppeln . .	6453	9999	4603	2087	1295	1433	1551	656
Mecklenburg-Schwerin	769	887	906	524	280	863	1043	618
Stadt Nürnberg . . .	312	300	264	190	339	450	573	186 ²⁾

¹⁾ Nur $\frac{3}{4}$ Jahre.

²⁾ Nur $\frac{1}{2}$ Jahr.

Hessen und Braunschweig, gar nicht in Berlin-Stadt, Landespolizeibezirk Berlin und Stadt Nürnberg. Stellt man zu den Zahlen für Berlin-Stadt aus *Neumanns* Bericht die entsprechende Zahl für 1904—1913, (1846, 1322, 1998, 2144, 3514, 6563, 5366, 6733, 4821, 5808), so erhält man eine Kurve, die von 1904 fast gleichmäßig zum Jahre 1909 ansteigt, um sich vom Jahre 1911 mit kleinen Zacken zu senken. Irgendeine Abhängigkeit von der Anzahl der empfänglichen Jugendlichen, deren Abnahme seit 1916 wir oben erwähnten, ist *nicht* zu bemerken. Fast korrespondierend sinkt seit 1914 die Kurve für den Landespolizeibezirk Berlin. Eine Parallele zwischen Abnahme der Kinder im Alter von 0—15 und der Scharlachmorbidity findet sich in den Regierungsbezirken Köln und Düsseldorf. Daß diese Erscheinungen aber nicht in Abhängigkeit voneinander stehen, beweist das neue Ansteigen der Erkrankungsziffer 1920 und 1921, wo die Abnahme der Jugendlichen erst recht stark ist. Auch in Arnberg zeigt das Jahr 1919 doppelt so hohe Zahlen wie das Jahr 1917. In Königsberg und Oppeln fallen unter den schwankenden Zahlen die niedrigen Ziffern für 1921 besonders auf. Mecklenburg-Schwerin erreicht den Gipfel 1916, zeigt nach vorübergehendem Abfall aber wieder eine auffallende Erhebung 1920. Eine ähnliche Erhebung zeigt 1920 Nürnberg, wenn man auch kleinere Zahlen vorsichtiger bewerten muß. Zerlegen wir die Jahreszahlen in Vierteljahre, so wird das eben Gesagte noch deutlicher (Tab. IV). Irgendeine übereinstimmende Gesetzmäßigkeit, welche den Rückgang des Scharlachs durch die Abnahme der empfänglichen Individuen erklären könnte, *findet sich nicht*. Es liegt also, sofern nicht andere Beweise erbracht werden, nur eine Koinzidenz der Erscheinungen an manchen Orten vor. Legt man obiger Tabelle die Bevölkerungszahlen für die einzelnen Bezirke zugrunde — für die einzelnen Jahre ist das, wie schon

Tabelle IV.
Scharlacherkrankungen nach Vierteljahren 1914—1921 in

	Viertel- jahr	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921	Zu- sammen
Berlin (Stadt)	1.	1674	766	1332	614	486	265	571	920	6628
	2.	1570	849	894	424	511	246	882	664	6040
	3.	1031	1205	770	359	401	477	351	757	5351
	4.	1105	1804	900	632	337	794	1347	1367	8286
Landes- polizei- bezirk Berlin	1.	2725	1116	2119	1069	729	518	571	—	8276
	2.	2411	1375	1470	672	786	459	463	—	7173
	3.	1510	1853	1155	564	654	754	654	—	6490
	4.	1785	2697	1474	1026	537	1334	—	—	8853
Reg.-Bez. Köln	1.	575	574	905	252	187	198	336	323	3350
	2.	505	581	520	215	261	181	229	229	2721
	3.	541	545	311	213	259	184	233	344	2630
	4.	605	1143	387	249	253	391	453	762	4243
Reg.-Bez. Düsseldorf	1.	2096	1464	3187	665	454	413	714	617	7610
	2.	1730	1942	1767	402	455	466	444	414	7620
	3.	1395	4822	1221	299	521	751	647	684	10340
	4.	1741	5141	1152	580	495	1281	944	1290	12624
Reg.-Bez. Arnsberg	1.	2100	1626	2251	485	585	542	811	487	8887
	2.	1750	1798	1356	280	495	550	353	307	6889
	3.	1446	4318	967	323	571	1132	601	519	9877
	4.	2221	4526	964	618	420	1738	607	877	11971
Reg.-Bez. Königsberg	1.	267	1816	1168	381	202	340	154	139	4467
	2.	475	1870	786	254	213	343	94	156	4191
	3.	881	2651	726	317	337	434	148	195	5689
	4.	1787	2127	431	324	175	287	150	236	5517
Reg.-Bez. Oppeln	1.	1090	1310	1412	574	391	264	417	235	5693
	2.	1487	2397	1117	402	329	288	391	122	6533
	3.	2088	3671	1162	524	362	329	366	130	8632
	4.	1788	2621	912	587	213	552	377	169	7219
Mecklen- burg- Schwerin	1.	233	148	341	154	70	160	248	167	1521
	2.	248	158	189	95	57	96	164	102	1109
	3.	148	213	187	106	76	282	365	154	1531
	4.	140	368	189	169	77	325	266	195	1729
Stadt Nürnberg	1.	88	41 ¹⁾	84	38	67	119	116	97	650
	2.	92	39 ¹⁾	69	29	97	84	79	88	577
	3.	85	117	50	52	77	87	131	1 ¹⁾	602 ¹⁾
	4.	47	103	61	71	98	160	247	—	784 ¹⁾

bis
1919
inkl.

un-
voll-
ständ.

¹⁾ Angaben nicht vollständig.

gesagt, nicht durchführbar — so ergeben sich doch große Verschiedenheiten in der Verbreitung des Scharlachs, wie sie z. T. schon aus früheren Berichten (cf. *Hirsch*) bekannt sind. Man hat diese Unterschiede oft mit der Wohndichtigkeit erklärt. Daß dieses Urteil nicht zutrifft,

zeigt ein Vergleich von Berlin-Stadt mit Arnberg oder Königsberg. Leider existieren aus dem Jahre 1915 keine sicheren Bevölkerungszahlen. Legt man aber bloß einmal die sicheren Bevölkerungszahlen aus dem Jahre 1919 zugrunde, so ergibt sich folgende Morbidität ‰ für 1919: Groß-Berlin 13,8, Regierungsbezirk Köln 6,2, Düsseldorf 8,8, Arnberg 15,8, Königsberg 14,3, Oppeln 6,7, Mecklenburg-Schwerin 13,1, Nürnberg 12,7.

Das Jahr 1915 hätte sicher viel höhere Relativzahlen für Düsseldorf, Arnberg und Oppeln erbracht. Es ist aber nicht anzunehmen, daß in den Bezirken mit höherer Morbidität die Kinderzahl eine größere sei als in den anderen Bezirken. *Kisskalt* betont, daß der Scharlach auf dem Lande mehr verbreitet sei, als in der Stadt; dafür würde ein Teil der obigen Zahlen sprechen, aber schon der ländliche Bezirk Oppeln und der z. T. ländliche Bezirk Köln machen eine Ausnahme, wenigstens 1919. Früher war die Morbidität in Oppeln immer besonders hoch. Ich glaube auch nicht, daß *Kisskalt's* Behauptung auf ganz Deutschland zutrifft. Ganz allgemein gesprochen — und insofern hat *Kisskalt* recht — ist der Osten wohl stärker infiziert als der Westen (cf. Rußland). Wir müssen also vorab lediglich starke örtliche Differenzen als Tatsache hinnehmen, ohne hier eine Erklärung versuchen zu wollen.

Über die jahreszeitliche Verbreitung des Scharlachs herrschen große Verschiedenheiten in der Auffassung, je nachdem welche Zeiträume und welche Bezirke beobachtet wurden. *Hirsch* registriert von 265 Epidemien 77 als Winter-, 50 als Frühlings-, 66 als Sommer- und 72 als Herbstepidemien. Einen jahreszeitlichen Einfluß lehnt er ab. Abgesehen davon, daß Epidemien sich oft über längere Zeit als ein Vierteljahr erstrecken, — meist sind es sogar 2—3 Jahre (*Gottstein*, *Kisskalt*) — und die Ausläufer früherer Epidemien nicht immer sicher registriert sein dürften, zeigt die jahreszeitliche Verteilung in der letzten Zeit, beispielsweise 1912 für Preußen, folgendes Bild: I. Vierteljahr 19 811; II. Vierteljahr 14 560; III. Vierteljahr 14 466; IV. Vierteljahr 17 233 Fälle.

Vergleicht man damit die zusammengezogenen Vierteljahre aus Tab. IV, so ergibt sich folgendes: fast überall zeigt das letzte Vierteljahr die höchsten Ziffern, nur in den beiden weit östlich gelegenen Regierungsbezirken Königsberg und Oppeln überragt das III. Vierteljahr. Der Unterschied ist aber nicht groß, die Zahlen im letzten Vierteljahr auch hoch, und die Erscheinung vielleicht durch einen früheren Eintritt der kalten Jahreszeit zu erklären. Die niedrigsten Werte weisen auf das II. Vierteljahr, in Oppeln das I., in Köln und Berlin das III. Vierteljahr. Die Addition der entsprechenden Vierteljahre (mit Ausnahme Nürnbergs und Landespolizeibezirk Berlin 1920) ergibt folgendes:

I. Vierteljahr 18 432; II. Vierteljahr 42 276; III. Vierteljahr 50 540; IV. Vierteljahr 60 442 Fälle.

Zusammenhänge zwischen sozialer Lage und Morbidität sind aus den bisher besprochenen Zahlen wenig ersichtlich. Sie lassen sich besser in kleineren Bezirken studieren. Nach *Rosenfeld* war 1891—1900 in Wien die Morbidität in den reichen Bezirken bedeutend höher als in den ärmeren Stadtteilen. Bezüglich Mortalität und Letalität lagen die Verhältnisse aber umgekehrt. Ähnliches berichtet *Reiche* für 1901—1910 aus Hamburg.

Nach den Zahlen, die *Kons* für Lübeck gewonnen hat, sind die Unterschiede zwischen sog. besseren Vierteln und Arbeitervierteln gering; wo Arbeiterbevölkerung und sozial besser stehende Bevölkerung weiträumig wohnt, ist der Scharlach aber bei beiden seltener.

Tabelle V (nach *Kons*).
Morbidität in Lübeck 1908—1914.

Alter	Innere Stadt	St. Lorenz (Arbeiterviertel)	St. Jürgen (besseres Viertel)	St. Gertrud (gemischtes Viertel), weitere Wohnorte
0—10	9,08	8,06	6,68	6,53
0—15	8,54	7,85	6,41	6,51
0—20	6,9	7,06	5,4	5,95

Unter Berücksichtigung verschiedenster Momente habe ich als Beitrag zu der oben genannten 2. Frage den Verlauf des Scharlachs in Düsseldorf von 1912—1921 einer genaueren Bearbeitung unterzogen. Die sanitätspolizeilich gemeldeten Fälle wurden nach Datum der Erkrankung, Alter, Geschlecht und Wohnung nach den polizeilichen Listen registriert, wobei eine große Reihe Doppelmeldungen gestrichen werden mußten¹⁾.

Aus den Hauptdaten führe ich folgendes an:

Tabelle VI.
Morbidität an Scharlach in Düsseldorf.

	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921	Zu- sammen
Absol. Zahl { männl.	375	451	499	481	449	141	122	119	163	184	2984
weibl.	472	505	551	561	556	182	177	170	182	246	3602
Zusammen	847	956	1050	1042	1005	323	299	289	345	430	6586
‰ d. m. Bevölkerg.	21,9	23,7	26,6	28,8	27,7	8,1	7,5	7,1	8,3	10,1	
In d. städt. Kranken- anstalt. behand. ‰	22,4	22,4	25,7	36,1	42,2	33,4	42,1	36,0	39,1	40,7	

¹⁾ Ich glaube, daß dieser Fehler öfter vorkommt als man denkt, aber wohl an allen Orten zu finden ist.

Also auch hier erfolgte der starke Rückgang der Erkrankungen 1917, seit 1920 hebt sich die Zahl ganz allmählich wieder, 1922 wurden 363 Fälle gemeldet, davon 233 Kinder unter 15 Jahren (nur 2 Todesfälle). Auf die offensichtlich stärkere Beteiligung des weiblichen Geschlechtes 100 : 121 sei besonders hingewiesen.

Die Verteilung auf die Altersklassen zeigt Tab. VII.

Tabelle VII.

Verteilung der Scharlachfälle in Düsseldorf auf die einzelnen Altersklassen (in Prozenten).

	1912	1918	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921	Durchschnittlich
0—1	0,9	1,0	1,0	0,6	0,2	0,3	0,3	0	0,3	0,2	0,6
1—5	33,2	27,5	16,5	21,7	23,1	22,0	21,7	12,5	13,1	12,3	21,9
5—10	36,3	37,5	39,2	43,4	35,3	37,7	27,8	36,0	37,6	34,9	37,6
10—15	14,8	17,6	23,1	17,2	20,5	16,7	27,4	24,9	22,6	22,7	19,8
15—20	6,6	8,3	7,6	7,7	10,8	9,3	10,7	8,6	11,9	11,1	8,8
20 u. mehr	8,2	8,1	12,6	9,4	10,1	14,0	12,1	18,0	14,5	18,8	11,3

In Übereinstimmung mit früheren Zahlen ergab sich, daß die Altersklasse von 5—10 Jahre am stärksten befallen ist. Weiter wird aber eine stärkere Beteiligung der Altersklassen von 15—20 und der Erwachsenen (11,3%) aus obiger Tabelle ersichtlich. Die Ursache liegt offenbar in der Zunahme der Hauspflege während des Krieges. Als Seltenheit muß eine Erkrankung bei einem 76jährigen Manne berichtet werden. Die Verteilung der Fälle auf die einzelnen Vierteljahre geht aus Tab. VIII hervor.

Tabelle VIII.

Verteilung der Scharlachfälle in Düsseldorf auf die einzelnen Vierteljahre.

	1912	1918	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921	Zusammen
I.	224	216	416	135	383	86	83	56	62	74	1735
II.	170	212	276	177	202	57	53	30	60	64	1301
III.	239	206	163	252	221	60	82	60	99	84	1466
IV.	214	322	195	478	199	120	81	143	124	208	2084

Das letzte Vierteljahr zeigt durchweg die höchste Ziffer (Monatsziffern sind aus Raumersparnis fortgelassen). Im Durchschnitt der 10 Jahre bildet der Oktober den Höhepunkt. Vergleicht man unsere Monatskurve beispielsweise mit der Monatskurve Berlins, so zeigt sich ein breiteres Tal im Sommer von April bis August. Auch steigt die Kurve in Berlin von Januar nach kurzem Abfall im Februar im März stark, um dann abzufallen, während bei uns der Abfall von Januar an bis April fortläuft. Die Budapester Kurve aus dem Monatsdurchschnitt 1882 bis 1910 verläuft von Januar bis August mit leichter Erhebung im Mai

viel flacher, um dann erst zum Oktober anzusteigen. Während also übereinstimmend fast überall der Höhepunkt — Lübeck hatte ihn 1883 bis 1919 im Januar —, im Oktober erreicht wird — auch die Kurve Hamburgs 1872—1896 erreicht den Gipfel im Oktober —, ist der Verlauf in der übrigen Jahreszeit örtlich verschieden. Die von *Szontagh* veröffentlichten Monatskurven aus Budapest 1882—1910 zeigen zudem, daß die Monatskurve an keine Norm gebunden ist. Auch in Düsseldorf war der Verlauf in den einzelnen Jahren nicht gleichmäßig. So brachte z. B. das Jahr 1914 und 1916 Höchstziffern im Januar bis März. Mit der Ursache dieser Erscheinung wollen wir uns weiter unten beschäftigen. Nach 2 Richtungen hin ist die Düsseldorfer Statistik aber noch interessant. Auf 1027 Fälle in 1027 Häusern folgten 1971 Fälle in ein und demselben Hause, unter Nichtberücksichtigung dieser auf weitere 899 Fälle 2322 Erkrankungen in der nächsten Nachbarschaft. In Berlin ereigneten sich 1912 2 Fälle in 302, 3 Fälle in 56, 4 Fälle in 12 und 5 Fälle in 5 Haushaltungen. Trägt man die Fälle auf die Stadtkarte ein, so ergeben sich 3 Hauptzentren, 2 im Süden bzw. Südosten, eines weit davon im Norden, und zwar bildet fast immer eine lang durchgehende Straße den Kern, um den sich die Quer- und Parallelstraßen herumgruppieren. Daß die Bevölkerungsdichte keine wesentliche Bedeutung hat, ergibt sich aus folgendem: Die Wohnungsziffer schwankt in den einzelnen Stadtteilen Düsseldorfs — abgesehen von einem ganz kleinen Bezirke, der auch wenig von Scharlach befallen ist — in relativ engen Grenzen. Nach dem Stande von 1919 zwischen 3,3 und 5,0 Personen pro Wohnung. Inzwischen hat die Zusammendrängung durch Rationierung und Einquartierung fast überall gleichmäßig zugenommen. *Auf den Gang des Scharlachs bis zum Jahre 1922 inkl. war die Rationierung ohne Einfluß.* Weit wichtiger aber ist die Beobachtung, daß das enge schmutzige Altstadtviertel und ein fast nur aus Kleinwohnungen bestehendes Arbeiterviertel im Osten die wenigsten Scharlachfälle aufweisen, obwohl die Kinderzahl nicht geringer ist und z. B. Keuchhusten massenhaft dort verbreitet ist. In diesem Zusammenhang sei noch auf eine kleine Epidemie 1912 in Bottrop verwiesen, wo der neueste und hygienisch einwandfreieste Stadtteil am stärksten befallen war. In Berlin sind allerdings die Bezirke der minderbemittelten Bevölkerung am stärksten befallen. Von Endemien ist nur eine bemerkenswert, diejenige in der Anstalt D. vom Jahre 1920. Die genauen Daten sind : 12. I. 1920 1 Fall; 21. VI. 2 Fälle; 22. VI. 1 Fall; 24. VI. 1 Fall; 25. VI. 3 Fälle; 29. VI. 1 Fall; 31. VII. 1 Fall; 9. VIII. 1 Fall, 27. VIII. 2 Fälle; 28. VIII. 2 Fälle, 15. IX. 1 Fall; 16. IX. 2 Fälle. Nebenbei bemerkt wurden 1912 in 10 preußischen Regierungsbezirken von 13 258 Fällen 6332 Fälle als „epidemisch verbreitet“ gemeldet.

Tabelle IX.
Scharlacherkrankungen in

	1918	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921
Bosnien u. Herzegowina	5 503	3 514	1 201	833	976	—	—	—	—
Schweiz	4 405	4 044	4 983	4 662	5 649	—	—	—	3 733
Niederlande	6 444	4 954	7 372	8 479	10 808	16 913	—	—	4 004
Dänemark	4 885	6 781	7 997	6 217*)	7 075	—	—	—	11 078
Schweden	10 228	10 204	13 269	10 495	9 414	—	—	—	—
Norwegen (Reich)	5 927	6 516	4 862	—	—	—	—	—	—
Norwegen (Städte)	2 930	2 815	1 698	1 483	1 533	—	—	—	484

*) Nach anderen Angaben 6598.

	1921				1916					
	Schweiz	Niederlande	Dänemark	Norwegen (Städte)	Schweiz	Niederlande	Dänemark	Schweden	Norwegen (Städte)	Bosnien u. Herzegowina
Januar	306	408	1 351	59	450	798	773	1 208	164	139
Febr.	279	257	1 376	37	430	714	594	981	136	41
März	354	285	1 121	30	740	697	584	1 072	148	80
April	274	259	670	25	418	475	526	773	123	24
Mai	281	243	593	25	517	492	500	689	107	56
Juni	347	238	840	19	335	398	353	590	103	60
Juli	188	299	785	22	208	506	326	562	44	62
August	201	285	904	22	211	563	442	599	62	20
Sept.	213	382	900	62	284	794	457	839	125	41
Okt.	204	428	1 000	85	294	986	590	1 109	163	53
Nov.	244	493	880	53	392	1 080	619	1 083	162	159
Dez.	842	427	658	45	483	976	453	990	146	98
	3 733	4 004	11 078	484	4 662	8 479	6 217	10 495	1 483	833

Über das Ausland habe ich leider bei der geringen Literatur, die mir zur Verfügung steht, nicht allzuvieler Angaben. Einen starken Rückgang verzeichnen Bosnien und Herzegowina, dessen Angaben wohl nicht einwandfrei sind, einen ganz eklatanten Rückgang aber Norwegens Städte. Dagegen zeigen Dänemark und die Niederlande eine erhebliche Zunahme.

Über die Scharlachmorbidity in früheren Zeiten berichtet *Hirsch*, daß die Seuche nicht nur ihren Charakter oft gewechselt habe, sondern daß zwischen den Epidemien oft große epidemiefreie Zeiten gelegen hätten. Weniger klar dagegen ist aus den Berichten ersichtlich, ob nicht in den Zwischenzeiten doch vereinzelt Fälle sich ereigneten, wie wir das seit geraumer Zeit in den großen Städten sehen. Gerade die Gewöhnung an diese unvermeidbar erscheinende Krankheit in den Großstädten hat ja dazu geführt, der Epidemiologie so mangelhaftes Interesse zuzuwenden. Eine der ältesten Statistiken in Deutschland — außer Königs-

berg — ist die Hamburgs. Schon aus der Sterblichkeitsstatistik dieser Stadt können wir, wenn auch mit aller Vorsicht, entnehmen, daß die Anzahl der Erkrankungen sehr gering gewesen sein muß im Jahre 1824, 1829, 1836, 1837. Aus der Morbiditätskurve der Jahre 1872—1882 ragen dann aber die Jahre 1876 und 1877 durch genau dieselbe niedrige Morbidität ($5,5$ und $9,9\text{‰}$) hervor, wie sie die letzten Jahre für Preußen zeigen. Um einmal den Verlauf der Morbidität über einen größeren Zeitraum zu verfolgen, habe ich die Relativzahlen für Hamburg und Budapest errechnet und mit den von *Kons* gefundenen Zahlen für Lübeck in folgender Tabelle vereinigt. Der Vollständigkeit halber setze ich die Zahlen für Hamburg 1872—1882 voraus:

1872	105,4 ‰	1877	9,9 ‰
1873	69,2 ‰	1878	14,1 ‰
1874	34,6 ‰	1879	42,2 ‰
1875	19,6 ‰	1880	53,5 ‰
1876	5,2 ‰	1881	24,9 ‰

Tabelle X.

Scharlachmorbidity auf je 10 000 Einwohner in

	Staat Hamburg	Budapest	Lübeck		Staat Hamburg	Budapest	Lübeck
1882	44,3	36,4	—	1902	48,1	25,5	34,1
1883	63,7	19,0	16,7	1903	36,3	45,8	31,4
1884	53,6	11,7	11,8	1904	14,1	58,7	15,5
1885	63,5	12,2	34,2	1905	11,1	30,6	7,8
1886	59,1	60,5	35,2	1906	16,7	23,3	18,6
1887	33,5	17,0	33,9	1907	14,7	35,8	18,3
1888	23,4	12,4	59,9	1908	45,7	37,1	10,6
1889	25,9	17,9	74,0	1909	51,5	38,6	37,9
1890	33,7	43,6	36,7	1910	24,2	47,2	11,8
1891	45,8	51,8	34,1	1911	28,8	51,2	22,0
1892	30,3	40,1	25,3	1912	21,6	41,1	25,9
1893	30,9	20,4	25,5	1913	28,4	52,1	49,6
1894	29,7	17,6	27,4	1914	23,7	27,5	34,1
1895	22,9	18,8	21,2	1915	25,8	28,1	21,6
1896	12,4	23,7	19,2	1916	18,1	38,1	12,2
1897	12,0	17,5	11,7	1917	10,8	33,8	8,6
1898	18,5	30,1	33,2	1918	18,2	18,9	10,2
1899	24,5	36,1	42,7	1919	21,6	11,5	15,1
1900	39,6	29,2	36,6	1920	18,8	28,7	—
1901	42,4	28,3	17,1	1921	15,0	—	—

Aus der Tabelle ist klar ersichtlich, daß man eine ähnlich niedrige Morbidität wie die der Jahre 1917—1920 finden kann in Hamburg 1896—1898 und 1905, in Budapest 1884/85 und 1888, in Lübeck 1884, 1897, 1905, 1906, 1908 und 1910. Ich erblicke auch darin einen Beweis, daß der Rückgang der letzten Jahre von der Abnahme der Kinderzahl

unabhängig ist. Nun wird von einer Reihe von Autoren der Konstitution als disponierendes Moment für Scharlach eine große Bedeutung beigegeben. Besonders durch überreiche Milcheikost sollen die exsudativen Erscheinungen, das Hypotrophieren der Tonsillen, die Katarrhe des Nasenrachenraumes begünstigt werden. Der Rückgang des Scharlachs in den letzten Jahren soll seine Ursache in der knappen Ernährung haben. So schreiben *Schloßmann* und *S. Meyer*: „In der Tat hat nach Angaben einiger Autoren (*Czerny*, *Kobrak*) der Krieg durch ein Experiment im großen die Richtigkeit dieser Gedankengänge bestätigt. Die Unmöglichkeit einer Überernährung mit Milch und Eiern in bestimmten Gegenden Deutschlands hat den Scharlach hier während der knappen Jahre seltener, den malignen Scharlach fast verschwinden lassen.“

Dieselben Autoren (*Czerny*, *Kobrak*) würden aber in Verlegenheit geraten, wenn sie die oben gezeigten niedrigen Ziffern, wenn sie gar den Rückgang in Norwegens Städten mit demselben Argument begründen wollten. Es gilt also nicht nur Theorien aufzustellen, sondern auch sie zu beweisen¹⁾. Aus obigen Zahlen fällt besonders die hohe Erkrankungsziffer im Jahre 1889 in Lübeck auf²⁾. Verfolgt man die Kurve der 3 Städte, so ist ein gewisser Parallelismus unverkennbar, wenn auch die steilen Erhebungen nicht immer auf dasselbe Jahr zusammenfallen. Überall spiegelt sich eine rhythmische Wellenbewegung wieder, deren Typus bekanntlich bei den einzelnen Infektionskrankheiten verschieden ist.

Wir müssen nun bezüglich der Epidemiologie des Scharlachs eine Erscheinung näher untersuchen, worauf von verschiedenen Autoren (z. B. *Nesemann*) aufmerksam gemacht wird, das ist die Parallelität der Scharlach- und Diphtherieerkrankungen. *Nesemann* hat in seiner Arbeit eine aus absoluten Zahlen konstruierte Kurve veröffentlicht, welche fast Parallelen darstellt. Ich habe diese Erscheinung an dem Hamburger und Budapester Material unter Benutzung der Relativzahlen geprüft und kann diesen Parallelismus wenigstens in großen Zügen für die Jahre 1872–1900 in Hamburg, 1882–1920 für Budapest bestätigen (Tab. XI). In Hamburg entspricht dem Tiefstand des Jahres 1876 ein wenn auch nicht so starkes Sinken der Diphtheriezahlen, den Scharlachjahren 1883–1885 folgt die Di-Kurve, hat allerdings einen isolierten Gipfel 1887, sinkt dann aber nahezu parallel der Scharlachkurve.

In Budapest fällt die hohe Scharlacherkrankungszahl 1886 nur mit einer geringen Erhebung der Di-Kurve zusammen, dann gehen beide Kurven absolut parallel bis 1897. Von diesem Jahre an macht die

¹⁾ Ob beispielsweise die Milch- und Eierzufuhr im Jahre 1920 in Budapest besser gewesen ist als 1919, möchte ich bezweifeln.

²⁾ Falls nicht ein Schreibfehler in der Dissertation vorliegt, was ich nicht annehme.

Tabelle XI.
Erkrankungen an Diphtherie (‰) in Hamburg und Budapest.
(Vgl. Tabelle X.)

Jahr	Hamburg	Jahr	Hamburg	Budapest	Jahr	Hamburg	Budapest	Jahr	Hamburg	Budapest	Jahr	Hamburg	Budapest
1872	54	1882	65	23,1	1892	27	49,6	1902	27	18,6	1912	44	15,2
1873	54	1883	56	14,4	1893	43	34,0	1903	26	29,9	1913	45	18,3
1874	50	1884	60	13,4	1894	43	27,4	1904	19	26,6	1914	42	19,4
1875	49	1885	67	13,0	1895	26	22,6	1905	18	17,5	1915	58	20,7
1876	38	1886	71	22,1	1896	17	18,0	1906	18	16,6	1916	68	22,2
1877	37	1887	74	18,6	1897	20	14,0	1907	17	13,0	1917	59	17,5
1878	44	1888	54	17,1	1898	17	14,8	1908	16	13,9	1918	76	16,5
1879	52	1889	56	26,0	1899	17	13,9	1909	31	13,9	1919	38	9,3
1880	51	1890	39	47,7	1900	16	11,6	1910	47	14,4	1920	22	9,5
1881	54	1891	27	54,5	1901	19	11,5	1911	61	16,7	1921	17	—

Di-Kurve die steilen Erhebungen der Scharlachkurven allerdings nur in bescheidenem Maße mit. Sichere Entscheidung könnte nur der Vergleich von großem Zahlenmaterial großer Zeiträume bieten, wobei stets die Unsicherheit resp. die Fehlerquellen der Morbiditätsstatistik zu berücksichtigen sind. Einen Parallelismus mit der Keuchhustenkurve habe ich bisher nicht finden können, leider gibt es auch wenig brauchbares Vergleichsmaterial. Ob hier innere Zusammenhänge vorliegen, soll am Schlusse behandelt werden.

Von manchen Autoren wird die Mortalitätsstatistik als einwandfreier betrachtet. Sehen wir also, was sie uns zu unserm Thema besagen kann. Dabei sei aber von vornherein betont, daß die Letalität des Scharlachs weder der Morbidität, noch der Mortalität absolut parallel geht, so daß Schlußfolgerungen, welche lediglich aus den Mortalitätsziffern gezogen werden, mit Vorsicht zu bewerten sind. Immerhin verdient hervorgehoben zu werden, daß die Mortalitätskurve in Preußen (vgl. Tab. I) von 1902—1914 schon sich in absteigender Linie bewegt. Nach *Kisskalt* besteht ein Abfall seit 1885 in Preußen, Baden, Sachsen, Nürnberg; in Bayern soll er früher, in Österreich später eingetreten sein. Seit 1914 geht die Sterbeziffer auf die Hälfte, 1920 sogar auf ein Drittel herab. Über die Mortalität nach Geschlecht und Alter, die Verteilung der Todesfälle auf die einzelnen Altersklassen und die Beziehung der Scharlachmortalität zur allgemeinen Sterblichkeit orientieren folgende Tabellen.

Tabelle XII.

Auf 10000 Lebende des gleichen Geschlechts starben in Preußen an Scharlach

	1901	1902	1903	1904	1905	1906	1907	1908	1909	1910	1911	1912	1913	1914	1917	1918	1919	1920
Männl.	3,57	3,29	3,56	2,90	2,05	2,10	2,28	2,22	2,24	1,44	1,31	1,03	1,07	1,80	0,69	0,55	0,38	
Weibl.	3,29	3,07	3,43	2,75	2,00	2,06	2,20	2,19	2,09	1,34	1,22	1,06	1,09	1,42	0,64	0,56	0,41	

Tabelle XIII.
Scharlachtodestfälle in Preußen auf 10 000 Lebende der betreffenden Altersklasse.

Alter	1901	1902	1903	1904	1905	1906	1907	1908	1909	1910	1911	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920
	Durchschnitt 1901—19																			
0-1	11,40	10,85	13,18	9,35	7,20	6,46	7,31	6,42	6,77	4,21	3,41	2,93	7,46	3,11	3,69	3,03	1,59	1,90		
1-2	18,06	16,28	18,76	14,51	10,14	10,48	10,87	11,28	11,34	6,48	6,39	5,15	11,64	5,30	7,22	5,15	3,70	2,80		
2-3	19,18	17,56	18,26	14,60	10,20	10,70	12,02	12,48	12,37	7,69	6,79	5,81	12,31	5,76	8,00	5,38	3,97	2,57		
3-5	16,86	14,93	16,23	13,47	9,32	10,14	10,61	10,14	10,05	6,34	6,00	4,81	10,74	5,33	6,80	3,60	3,45	2,16		
5-10	8,29	8,03	8,64	7,00	4,98	5,31	5,69	5,68	5,25	3,42	3,13	2,65	5,67	2,75	3,65	1,62	1,65	1,10		
10-15	1,78	1,67	1,88	1,76	1,34	1,46	1,63	1,55	1,46	1,11	0,99	0,88	1,46	0,84	1,15	0,52	0,56	0,40		

Tabelle XIV.
Von 100 Scharlachtodestfällen in Preußen entfielen auf die einzelnen Altersklassen

Alter	1901	1902	1903	1904	1905	1906	1907	1908	1909	1910	1911	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920
	Durchschnitt 1901—19																			
0-1	9,8	10,0	11,0	9,6	10,3	8,7	9,1	8,0	8,6	8,3	7,0	7,2	6,4	7,0	6,3	5,8	4,5	4,3	7,2	
1-2	14,0	13,5	14,1	13,5	13,1	13,0	12,8	13,1	13,4	11,9	12,4	11,9	11,7	12,4	12,9	10,1	8,9	7,7	8,2	
2-3	14,9	14,7	13,9	13,8	13,4	13,1	13,8	14,0	14,2	13,7	13,5	13,9	13,3	13,8	13,3	10,1	9,4	9,8	7,5	
3-5	25,1	24,1	23,9	24,6	23,7	24,7	23,5	23,4	23,5	23,1	23,1	22,3	23,7	22,6	22,6	23,3	22,7	19,4	17,0	
5-10	28,1	29,3	28,7	28,7	28,6	29,7	29,6	30,1	28,3	28,7	28,5	29,3	29,1	29,0	27,3	27,1	29,6	32,3	30,3	
10-15	5,5	5,6	5,7	6,6	7,0	7,5	7,8	7,5	7,2	8,5	8,4	9,0	8,4	8,6	8,7	8,9	10,3	11,3	11,4	
Zusammen	97,4	97,2	97,3	96,8	96,1	96,7	96,6	96,1	95,2	94,2	92,9	93,6	93,4	92,3	92,9	85,3	85,4	84,8	81,6	

Tabelle XV.

Von 100 Todesfällen der betreffenden Altersklasse in Preußen wurden durch Scharlach bedingt:

	Im Alter von Jahren					
	0—1	1—2	2—3	3—5	5—10	10—15
1913	0,18	1,74	5,57	8,88	8,95	4,14
1914	0,20	2,40	7,46	10,98	11,18	5,26
1915	0,57	4,21	10,41	14,81	16,20	8,49
1916	0,38	2,52	5,77	8,64	8,54	4,28
1917	0,18	1,19	2,71	3,85	3,52	1,64
1918	0,08	0,56	1,11	1,84	1,92	0,85
1919	0,09	0,87	1,97	3,53	3,90	1,80
1900—1912	0,35	2,66	7,70	12,31	13,30	5,74

Während von 1901—1911 die Mortalität des weiblichen Geschlechtes um ein geringes kleiner ist als die des männlichen, dreht sich das Verhältnis abgesehen von 1914 und 1917 um. Das entspricht der bereits oben erwähnten häufigeren Erkrankung des weiblichen Geschlechtes in den letzten Jahren. Das Verhältnis der Todesfälle des männlichen Geschlechtes (dieses gleich 100) zu dem des weiblichen Geschlechtes stellt sich in den einzelnen Zeitabschnitten für Preußen 1901—1906 = 100 : 97,9; 1907—1912 = 100 : 98,3; 1913—1917 = 100 : 101,4; 1918 bis 1920 = 100 : 113; Düsseldorf 1912—1921¹⁾ = 100 : 121. Dabei ist zu berücksichtigen, daß das Verhältnis der Lebenden im Alter von 0—15 sich im Jahre 1920 männliche zu weibliche Personen wie 100 zu 97,8 stellt. Ob hier eine vorübergehende Erscheinung vorliegt, muß die Zukunft lehren.

Die Mortalität der einzelnen Altersklassen ist unter Benutzung von *Neumanns* Zahlen in Tab. 13 zusammengestellt. Die höchste Mortalität zeigt die Altersklasse von 2—3 Jahren, dann folgen die Altersklassen 1—2, 3—5, 0—1, 5—10 und in weitem Abstände von 10—15 Jahren. Nur im Jahre 1920 ist die Mortalität der Altersklasse 1—2 Jahre die höchste. Da sich in älteren Statistiken dieselbe Reihenfolge findet, hat sich hier in der Nachkriegszeit nichts geändert.

Trägt man die Zahlen kurvenmäßig auf, so sieht man einen staffelförmigen Abfall mit einer ersten Senkung 1902, Anstieg zu 1903, starker Abfall zu 1905, vorübergehende in den einzelnen Altersklassen nicht gleichmäßige Steigerung zu 1907—1909, Tiefpunkt 1912, geringe Erhebung 1914 und gleichmäßige Senkung nach 1920. Die prozentuale Höhe des Abfalles folgt der oben angegebenen Reihe der Altersklassen, ist also am stärksten in der Altersklasse von 2—3 Jahren. Man ist leicht geneigt, in diesem Rückgang der Mortalität einen tatsächlichen

¹⁾ Morbidität.

Rückgang des Scharlachs zu erblicken. Dazu bedarf es aber folgender Überlegung: Wie oben bereits gezeigt, ist die Letalität des Scharlachs von 17,8% im Jahre 1902 auf 4,9 im Jahre 1920 gesunken. Aber auch dieser Vergleich ergibt offenbar kein richtiges Bild, denn wir wissen, daß die Letalität in den einzelnen Altersklassen verschieden hoch ist, sie ist dem Alter umgekehrt proportional, sinkt also mit steigendem Alter. Da wir die Erkrankungszahlen in Preußen nach dem Alter nicht kennen, sind nur mangelhafte Vergleiche möglich. Aus dem Düsseldorfer Material, das allerdings zu klein ist, um *bindende* Schlüsse zu ziehen, kann man ersehen, daß die Letalität der Altersklassen von 1 Jahr aufwärts 1920/21 auf Bruchteile eines Prozentes gesunken ist. Daraus ersieht man, daß die Erkrankungsform in den letzten Jahren gutartiger geworden ist, was mit der klinischen Erfahrung gut übereinstimmt. *Infolgedessen können auch nicht die kleineren Mortalitätsziffern als ein absoluter Beweis dafür angesehen werden, daß der Scharlach seltener bzw. daß die Empfänglichkeit, der Kontagionsindex geringer geworden sei.* Die Beteiligung der einzelnen Altersklassen (Tab. XIV) an der Scharlachmortalität ist insofern interessant, als sie die bereits bei der Morbidität gestreifte Erscheinung der stärkeren Beteiligung älterer Individuen — allerdings schon von 5 Jahren aufwärts — bestätigt. Am erfreulichsten ist der Rückgang auf die Hälfte in den Altersklassen 2—3 und 1—2. Berücksichtigt man das Verhältnis der Scharlach Todesfälle zur allgemeinen Sterblichkeit, wie es in der Tab. XV geschehen ist, so ergibt ein Vergleich mit den Zahlen von 1901—1912 die sinkende Bedeutung des Scharlachs als Todesursache. Die Ursache des Rückganges von Mortalität und Letalität wird oft in oberflächlicher und etwas überheblicher Weise mit den Worten abgetan: bessere ärztliche Versorgung; frühere Aufnahme in Krankenhäuser, Wirkung von Isolierung und Desinfektion. Alle Hochachtung vor ärztlichem Können, aber offen gestanden, ich glaube an diese Ursachen nicht, zum mindesten sind sie nebensächlicher Natur.

Es erhebt sich nun die Frage, ob der Rückgang der Mortalität in allen Bezirken Preußens zu verzeichnen ist. Zu ihrer Beantwortung diene folgende Tab. XVI, wo für die einzelnen Regierungsbezirke die Mortalität von 1910—1912 derjenigen von 1919—1920 gegenübergestellt ist. Die Bezirke sind nach der Höhe der durchschnittlichen Mortalität 1910—1912 geordnet, in der letzten Kolumne ist die entsprechende Letalität verzeichnet, welche zur Beurteilung wichtig ist. Teilt man die Tabelle in 2 Hälften, so überwiegen in der oberen Hälfte mit höherer Mortalität die nordöstlichen Bezirke, während sich unten mehr westliche Bezirke finden. Doch ist diese Trennung nicht absolut (cf. oben Arnberg, Münster, unten Breslau, Liegnitz). Der Rückgang der Mortalität 1919/20 ist mit 2 Ausnahmen (Osnabrück.

Tabelle XVI.
Scharlachmortalität (‰) in den preußischen Regierungsbezirken.

	Mortalität ‰						Letalität %		
	1910	1911	1912	Durchschn. 1910/12	1919	1920	1910	1911	1912
Bromberg	5,48	3,37	3,94	4,26	0,27	—	22,3	20,0	21,0
Oppeln	4,53	3,71	3,40	3,88	1,13	1,10	23,1	21,1	15,7
Stralsund	0,54	3,72	1,76	2,01	0,33	0,20	3,7	10,2	12,9
Münster	1,58	1,85	2,15	1,89	1,56	0,41	7,9	9,4	9,4
Marienwerder	2,59	1,39	1,59	1,86	0,79	0,43	23,4	17,9	21,5
Arnsberg	1,84	2,02	1,57	1,81	0,67	0,46	7,1	6,1	6,3
Berlin (Stadtkreis)	1,83	1,95	1,46	1,75	0,38	0,32	6,0	5,4	5,9
Danzig	1,15	2,0	1,93	1,69	1,40	—	13,2	18,3	16,4
Allenstein	3,36	0,90	0,49	1,58	1,00	0,58	21,7	15,6	11,2
Landespolizeibezirk									
Berlin	1,63	1,67	1,25	1,52	0,34	0,29	4,7	5,2	5,0
Köslin	1,17	2,30	0,93	1,47	0,34	0,28	11,4	11,6	10,5
Stettin	1,38	1,78	1,12	1,43	1,09	0,43	5,9	8,9	4,9
Gumbinnen	2,34	1,37	0,56	1,42	1,33	1,69	18,2	12,8	10,1
Posen	2,08	1,20	0,70	1,33	0,44	—	11,7	12,0	12,1
Potsdam	1,45	1,45	1,03	1,31	0,43	0,31	8,2	4,7	4,7
Merseburg	0,94	1,06	0,97	0,99	0,50	0,49	2,6	5,1	6,3
Düsseldorf	0,93	1,00	0,97	0,97	0,24	0,21	4,9	3,9	4,2
Königsberg	1,90	0,72	0,21	0,94	1,24	0,32	12,3	7,7	4,1
Frankfurt	1,11	0,65	0,69	0,82	0,74	0,51	6,4	4,1	5,8
Magdeburg	0,76	0,82	0,89	0,82	0,40	0,37	5,0	4,3	6,0
Hildesheim	0,76	0,83	0,84	0,81	0,28	0,18	3,6	3,4	5,5
Kassel	0,96	0,85	0,42	0,74	0,20	0,44	5,3	4,9	3,6
Erfurt	0,86	0,67	0,59	0,71	0,22	0,11	4,1	4,0	3,6
Aachen	0,82	0,73	0,51	0,69	0,20	0,09	3,6	3,3	3,8
Stade	0,49	0,83	0,48	0,60	0,23	0,16	4,2	4,0	3,1
Hannover	0,68	0,52	0,56	0,59	0,23	0,21	4,4	3,1	4,3
Koblenz	0,82	0,67	0,28	0,59	0,14	0,08	6,1	5,3	3,5
Breslau	0,63	0,62	0,45	0,57	0,80	0,39	4,6	2,9	3,0
Minden	0,38	0,38	0,89	0,55	0,38	0,33	4,9	3,3	7,9
Köln	0,73	0,54	0,39	0,55	0,22	0,16	3,6	2,3	2,5
Schleswig	0,29	0,52	0,49	0,43	0,65	0,27	2,1	3,2	3,1
Trier	0,39	0,47	0,44	0,43	0,12	0,20	5,2	4,7	4,3
Sigmaringen	0,58	0,42	0,28	0,43	1,13	0,14	6,5	4,5	4,3
Liegnitz	0,38	0,56	0,17	0,37	0,21	0,42	3,0	4,0	1,4
Lüneburg	0,26	0,42	0,41	0,36	0,21	0,32	2,0	2,6	3,2
Osnabrück	0,16	0,50	0,39	0,35	0,54	1,10	1,2	4,0	3,9
Wiesbaden	0,35	0,51	0,27	0,34	0,17	0,27	2,2	2,8	2,1
Aurich	0,19	0,07	0,11	0,12	0,32	0,25	3,1	1,3	1,5

Aurich) überall vorhanden. Wenig ausgesprochen war er 1919 in Münster, Danzig, Gumbinnen, höhere Zahlen zeigen 1919 sogar noch Königsberg, Breslau, Schleswig, Sigmaringen. Interessant sind dazu die Letalitätsziffern. Hoher Mortalität entspricht nicht immer hohe Letalität und umgekehrt.

Man vergleiche z. B. Danzig und Berlin, Sigmaringen mit Schleswig. Es folgt also weder *Mortalität* noch *Letalität* in den einzelnen Landesteilen Preußens den *gleichen Gesetzmäßigkeiten*.

Tabelle XVII.
Scharlachmortalität in verschiedenen Ländern.

	1910	1911	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920
Deutsches Reich ohne											
Mecklenburg	1,1	1,1	0,9	0,9	1,1	2,1	1,1	0,5	0,4	0,4	0,3
Preußen	1,3	1,3	1,0	1,1	1,2	3,0	1,5	0,6	0,4	0,5	0,3
Bayern	0,7	0,6	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
Sachsen	0,6	0,7	0,4	0,7	0,6	1,4	0,8	0,2	0,1	0,2	0,2
Württemberg	0,8	0,6	0,5	0,9	1,0	1,3	0,8	0,2	0,2	0,2	0,1
Baden	0,4	0,5	0,4	0,5	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,1
Hessen	0,6	0,5	0,3	0,3	0,4	0,6	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
Elsaß-Lothringen	0,3	0,4	0,7	0,7	—	—	—	—	—	—	—
Österreich	—	3,5	2,3	3,5	—	—	—	—	—	0,4 ¹⁾	0,5 ¹⁾
Königreich Ungarn	—	6,5	4,8	5,8	—	—	—	—	—	—	—
Kroatien-Slavonien	—	3,8	4,6	—	—	—	—	—	—	—	—
Belgien	—	1,7	1,3	1,0	—	—	—	—	—	—	—
Rußland	—	7,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Amerika U. S.	—	0,9	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—
Schottland	—	0,9	0,9	1,2	1,7	2,0	—	—	—	—	—
Irland	—	0,7	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—
England und Wales	—	0,5	0,5	0,6	0,8	0,7	0,4	0,2	0,3	0,3	—
Italien	—	0,7	0,8	1,6	1,0	0,5	0,7	—	—	—	—
Spanien	—	0,4	0,3	0,2	0,6	0,4	—	—	0,4	—	—
Norwegen	—	0,3	0,4	0,3	0,6	0,3	0,3	0,3	—	—	—
Schweiz	—	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	—
Frankreich	—	0,2	0,3	0,3	—	—	—	—	—	—	—
Niederlande	—	0,2	0,3	0,2	0,1	0,4	0,4	0,4	0,6	0,5	—
Ägypten (20 Städte)	—	0,8	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	—
Japan	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Argentinien	—	0,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Chile	—	0,2	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—
Australien	—	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—
Finnland ²⁾	—	5,4	2,8	2,9	2,6	2,8	3,5	4,2	7,9	—	—
Schweden	—	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6	0,7	—	—	—	—
Schweiz (Städte mit mehr als 10 000 Ein- wohnern)	—	—	—	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	—
Dänemark (sämtliche Städte)	—	—	—	0,7	0,7	0,5	0,3	0,3	0,2	0,3	—

¹⁾ Neues Gebiet.

²⁾ Scharlach und Masern.

Dabei muß daran erinnert werden, daß die Scharlachmortalität schon früher in den einzelnen Landesteilen Deutschlands, noch mehr in ausländischen Staaten große Verschiedenheiten aufweist. Die Er-

klärung dafür kann nicht allein in verschiedener ärztlicher Versorgung, verschiedener Malignität der Erkrankung oder durch beide Faktoren bedingte höhere Letalität, ebensowenig in mangelhafter Statistik gegeben werden. Vielleicht ist neben obigen Momenten noch der Einfluß verschiedener Altersbesetzung der Erkrankungsfälle maßgebend. Vergleichende Untersuchungen darüber sind indes nicht bekannt (und das Material dafür vergilbt in den Berliner Archiven!).

Nun kann man den bisher mitgeteilten Daten mit Recht den Vorwurf machen, daß sie zu kleine Zeiträume erfassen. Es ist durchaus richtig, wenn *Gottstein* für die Beurteilung des Scharlachverlaufes größere Zahlenreihen fordert. Nur glaube ich über sein Maß (10—12 Jahre) noch hinausgehen zu müssen. Zu diesem Zwecke habe ich folgende 2 Tabellen zusammengestellt (Tab. XVIII und XIX).

Tabelle XVIII.

Scharlachmortalität in Hamburg (1820—1871), in Königsberg (1820—1863) und in Berlin (1861—1871) ‰/1000.

	Hamburg	Königsberg		Hamburg	Königsberg	Berlin
1820	14,3	4,4	1846	2,4	8,0	—
1821	17,5	0,6	1847	10,0	13,2	—
1822	3,4	1,2	1848	8,1	0,8	—
1823	0,4	—	1849	0,9	1,2	—
1824	0,1	—	1850	0,7	0,8	—
1825	0,5	—	1851	1,0	0,5	—
1826	3,3	—	1852	21,0	1,3	—
1827	0,9	—	1853	8,0	29,8	—
1828	0,8	—	1854	4,3	3,0	—
1829	0,2	—	1855	5,0	0,6	—
1830	1,8	—	1856	5,5	3,5	—
1831	14,7	—	1857	1,5	2,6	—
1832	10,9	—	1858	1,9	0,3	—
1833	3,9	0,7	1859	3,5	4,4	—
1834	1,4	0,6	1860	6,0	25,8	—
1835	0,7	0,9	1861	2,1	16,1	1,9
1836	0,3	13,8	1862	1,1	2,2	2,2
1837	0,3	7,3	1863	2,3	2,9	1,4
1838	1,1	0,9	1864	3,7	—	3,7
1839	0,4	7,3	1865	5,3	—	9,7
1840	0,8	12,8	1866	2,7	—	3,9
1841	0,8	3,2	1867	0,9	—	5,3
1842	4,0	0,8	1868	1,5	—	8,3
1843	6,3	0,1	1869	3,2	—	2,5
1844	2,4	2,0	1870	6,3	—	1,2
1845	3,1	37,4	1871	6,5	—	2,7

24*

Tabelle XIX.
Scharlachmortalität und -letalität in einzelnen Städten.

	Berlin		Hamburg		Lübeck		Königsberg
	Mortalität /1000	Letalität %	Mortalität /1000	Letalität %	Mortalität /1000	Letalität %	Mortalität /1000
1872	3,6	—	6,21	5,8	—	—	—
1873	3,2	—	4,60	6,6	—	—	—
1874	4,9	—	1,83	5,3	—	—	—
1875	7,3	—	0,93	4,7	—	—	4,7
1876	5,9	—	0,35	6,6	—	—	18,5
1877	9,1	—	1,22	12,3	—	—	5,5
1878	8,4	—	2,79	19,8	—	—	2,0
1879	4,3	—	10,17	24,1	—	—	1,4
1880	7,9	—	10,83	20,2	—	—	2,0
1881	7,9	—	2,92	11,7	—	—	0,3
1882	5,1	—	2,61	5,1	—	—	0,6
1883	7,1	—	5,72	9,0	0,9	5,6	13,3
1884	3,0	—	2,47	4,6	0,4	3,3	12,8
1885	3,1	—	4,74	7,4	0,8	2,3	2,3
1886	2,0	—	6,62	11,2	1,3	3,5	0,5
1887	1,9	—	1,63	4,8	1,4	4,1	0,8
1888	1,1	—	1,32	5,6	2,2	3,8	4,0
1889	1,8	—	1,50	5,6	4,1	5,5	14,6
1890	1,9	—	1,58	4,7	3,2	8,6	3,0
1891	0,93	—	2,13	4,5	1,6	4,6	0,8
1892	1,7	—	2,26	7,4	0,5	1,8	3,1
1893	3,0	—	2,10	6,8	0,4	1,8	7,2
1894	2,2	—	1,85	6,2	0,1	0,54	7,5
1895	4,2	—	1,69	7,3	0,4	2,0	5,8
1896	2,6	—	0,59	4,7	—	—	3,5
1897	1,1	—	0,32	2,8	0,4	3,2	0,8
1898	1,3	—	0,41	3,1	1,3	3,9	0,4
1899	2,7	—	0,61	2,5	2,4	5,7	5,0
1900	2,5	—	1,24	3,1	2,3	6,1	12,5
1901	2,6	26	2,74	6,4	0,5	2,8	—
1902	1,4	23	6,01	12,4	1,2	3,5	—
1903	1,8	25,2	4,85	13,3	1,2	4,0	—
1904	2,1	23	1,09	6,1	0,7	5,1	—
1905	2,0	33	0,39	3,5	0,3	4,2	—
1906	1,2	12,5	0,66	4,1	0,4	3,9	—
1907	0,88	8,4	0,53	3,6	0,2	1,2	—
1908	1,2	7	1,15	2,5	0,2	2,0	—
1909	2,7	8,5	2,14	4,1	0,5	1,4	—
1910	1,5	6	0,58	2,4	—	—	—
1911	1,7	5,4	1,47	5,1	0,3	1,4	—
1912	1,3	5,9	1,18	5,5	0,2	1,5	—
1913	1,2	4,5	1,32	4,6	1,7	3,5	—
1914	1,2	4,5	1,06	4,4	1,8	5,4	—
1915	—	5,8	1,31	5,1	1,1	5,6	—
1916	—	—	0,81	4,4	0,3	2,1	—
1917	—	—	0,35	3,3	0,1	1,0	—
1918	—	—	0,78	4,2	0,6	5,9	—
1919	—	—	0,50	2,3	0,4	2,9	—
1920	—	—	0,38	2,8	—	—	—
1921	—	—	0,28	1,9	—	—	—

Die Berliner Zahlen sind der Arbeit von *Nesemann* und *Kaiser* entnommen. Gewähr dafür kann ich nicht übernehmen, da ich öfters Fehler gefunden habe; die Lübecker Zahlen entstammen der sorgfältigen Arbeit von *Kons*, die Königsberger den Arbeiten *Kisskalt*; die Hamburger Zahlen ab 1872 habe ich nach dem Urmaterial selbst berechnet. Übersetzt man diese Zahlen in Kurven, wovon hier der Kosten halber abgesehen wird, so sieht man deutlich, daß die mehr oder weniger breiten Gipfel 8—10—16 Jahre auseinanderliegen. Ein Parallelismus der Kurve der 3 Städte besteht nicht, wenn auch das Typenbild sehr ähnlich ist. Wir besitzen damit eine Kurve, welche für Berlin einen Zeitraum von 53 (bzw. bei Ergänzung 61 Jahren), für Hamburg einen solchen von 100 Jahren, in Königsberg noch länger umfaßt. Nun könnte man gegen die alte Hamburger Statistik den Einwand der Unsicherheit machen. Ob er zu Recht besteht, weiß ich nicht, ich glaube aber nicht, daß der Fehler so groß sein kann. Man sieht nun aus diesen Zahlen nicht nur die einzelnen Epidemiezeiten (unter Anrechnung einer entsprechenden Letalität), sondern, was viel wichtiger ist: *den Rückgang der Mortalität auf Werte, wie wir sie in der Nachkriegszeit erlebt haben und erleben*. Das sind für Hamburg die Jahre 1823—1825, 1829, 1836/37, 1839, 1876, 1896—1899, 1905—1907, 1910. In Berlin ähnliche Erscheinungen 1867, 1891, 1907, für Lübeck, wo allerdings vielleicht die kleine Zahl eine Rolle spielt, liegen sogar in 18 von 37 Jahren die Werte genau so niedrig, wie 1918—1921 in Preußen. Es erteilt uns also die Mortalitätsstatistik dieselbe Lehre wie die Morbiditätsstatistik, *der Rückgang des Scharlachs in der Nachkriegszeit ist eine Erscheinung, wie sie die Geschichte des Scharlachs schon öfters zeigte*. Diese These wird weiter gestützt durch die Zahlen, die *Kisskalt* in Königsberg für einen Zeitraum von 140 Jahren veröffentlicht hat. Ein Teil von ihnen ist in beiden obigen Tabellen enthalten. Für den Zeitraum von 1779—1803 gibt *Kisskalt* folgende Zahlen (‰/1000):

1779	1780	1781	1782	1783	1784	1785	1786	1787	1788	1789	1790	1791
1,8	2,2	0	0	1,8	6,8	7,1	1,4	0	3,4	0,5	0	0
1792	1793	1794	1795	1796	1797	1798	1799	1800	1801	1802	1803	
20,5	9,0	0,5	0	0	0	16,1	5,2	5,8	0	0,6	0,5	

Ob wirklich scharlachfreie Zeiten gewesen, bezweifelt auch *Kisskalt* wegen der möglichen Verwechslung mit Friesel. Die in bestimmten Intervallen auftretenden Epidemien sprechen aber dafür, daß in der Zwischenzeit die Krankheit nicht als Seuche geherrscht hat. In den alten Königsberger Mortalitätsziffern zeigt sich noch eine besondere Erscheinung, auf die *Kisskalt* verweist, nämlich der schnelle Anstieg und Abfall der Kurve, während die Erhebungen der letzten Dezennien nach *Kisskalt*, *Reinicke* und *Gottstein* einen breiteren Gipfel der Mor-

talitätskurve zeigen. *Daß letztere Behauptung nicht immer zutrifft*, zeigen aber die steilen Zacken der Mortalitätskurve in Berlin 1883, Hamburg 1902, noch besser aber die Morbiditätskurve Budapest 1886, die Vierteljahreskurve von Berlin 1915 und Regierungsbezirk Düsseldorf 1915.

Betrachtet man in der Hamburger Kurve die besonders charakteristischen Erhebungen — es sind das die Jahre 1820/21, 1831/32, (1842/43), 1847, 1852, 1879/80, 1886, 1902/03 — so findet man einen gewissen regelmäßigen Rhythmus, für den uns Erklärungen noch fehlen. Auffallend ist ferner die schon seit den achtziger Jahre bemerkbare Absenkung der Kurve. Auch die Berliner Kurve läßt die periodischen Schwankungen nicht vermissen, in Lübeck verteilen sie sich sogar noch regelmäßiger (1899, 1899—1900, 1913/14).

Über die Bösartigkeit des Scharlachs geben die Letalitätssziffern Aufschluß (vgl. Tab. XIX). Wenn auch die Letalität in Epidemiejahren konform in die Höhe schnell, so finden wir doch noch Jahre, wo die Letalität unabhängig von Mortalität die Bösartigkeit der Erkrankung anzeigt. Es sind das meist die Jahre vor und nach dem Höhepunkt der Epidemien. (Die Berliner Zahlen 1901—1905 scheinen mir nicht ganz einwandfrei.) Die Düsseldorfer Mortalitäts- und Letalitätsziffer sind zu klein, um daraus Schlüsse zu ziehen.

Daß die Letalität von einer mehr oder weniger frühen Krankheitsaufnahme beeinflusst wird, ist anzunehmen. Meist werden wohl nur die schweren Fälle dem Krankenhaus überwiesen. Nach der preußischen Statistik wurden in Krankenanstalten (Erhebung natürlich nicht vollständig) Fälle behandelt (in % der Gesamterkrankungen):

1902	12,3	1907	14,2
1903	12,4	1908	17,5
1904	12,4	1909	19,0
1905	15,8	1910	21,0
1906	14,7	1911	22,0

Tabelle XX.

In den allgemeinen Heilanstalten Preußens an Scharlach behandelte und gestorbene Personen (♂ und ♀).

Jahr	Zahl der in Preußen überhaupt Erkrankten	In Heilanstalten behandelt	In %	In Heilanstalten gestorben	Letalität	
					in Heilanstalten %	in Preußen %
1915	120 176	33 808	28,1	3050	9,0	10,1
1916	71 355	38 128 ¹⁾	53,4	4303	11,2	8,4
1917	34 735	11 773	33,9	808	6,8	8,1
1918	26 412	9 214	34,9	637	6,9	7,0
1919	35 614	10 276	28,8	661	6,4	6,2
1920	30 016	9 006	30,0	479	5,3	4,9

¹⁾ 4429 ♂ 33 699 ♀ (?).

Es wurden also in den letzten Jahren doppelt soviel Fälle den Krankenhäusern überwiesen als früher. Ob dieser Umstand erheblich die Krankheitsverbreitung beschränkt hat, ist zu bezweifeln. In Berlin fanden Aufnahme im Krankenhaus 1907: 42%, 1909: 33%, 1912: 32%, 1913: 37% der Erkrankten. Betreffs der Düsseldorfer Zahlen vgl. Tab. VI.

Tabelle XX zeigt, daß die Letalität der in Krankenhäusern Behandelten manchmal höher, manchmal niedriger ist als die aller Fälle zusammen. Das wird wohl von dem allgemeinen Charakter der Erkrankung und von Zufällen abhängen.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die mitgeteilten statistischen Tatsachen etwa geeignet sind, Licht in das noch dunkle Scharlachproblem zu werfen. Die bisher gültige Lehre sah im Scharlach eine infektiöse, ja noch mehr eine kontagiöse Krankheit. Für die letztere Erklärung scheinen eine Reihe epidemiologischer Tatsachen zu sprechen, von denen einige bereits oben erwähnt wurden, das sind die Häufung von Erkrankungen in einem Hause, entweder als Rückkehrfälle zu deuten oder scheinbar unerklärlich. Da ist ferner die Konzentration auf bestimmte Stadtteile, wie ich es für Düsseldorf fand, da sind die merkwürdigen Erkrankungen nach Gebrauch eines Gegenstandes, den vor Jahren ein Scharlachkranker benutzte, da sind die ebenso rätselhaften Übertragungen durch Briefe. Ich selbst erlebte im Felde einen derartigen klassischen Fall in einer Gegend, wo seit 2 Jahren kein Scharlachfall sich ereignete, bei einer Person, welche vom Verkehr ziemlich abgeschlossen war und einen Brief des eigenen Kindes erhielt, das eben die Schuppung überstanden hatte und bereits zur Schule ging. Inkubation 4 Tage. Ich muß gestehen, daß letztere Fälle mich bisher noch am ehesten an einem unbekanntem Virus festhalten ließen. Mancher sieht vielleicht auch die Versuche von *Cantacuzene* und *Bernhardt* an Affen als beweisend an.

Es gibt aber auch ebenso viele und nicht minder gewichtige Gründe, welche gegen die Kontagiosität sprechen. Sie sind z. T. von *F. v. Szontagh* in scharfsinniger Weise präzisiert worden. Als solche Argumente führt *v. Szontagh* an die wechselnde Inkubation im Gegensatz zu der des chirurgischen Scharlachs (letzterer 2–4 Tage), die Entstehung des chirurgischen Scharlachs selber, die unerklärte geringere Disposition zu Scharlach im Vergleich zu Masern (100 : 39), die epidemiologische Tatsache, daß in Budapest¹⁾ die Schulferien ohne Einfluß auf die Scharlachmorbidity sind, die Unabhängigkeit der Scharlachkurve von der Durchführung von Absperrmaßnahmen und die relativ geringe Morbidity gegenüber einem Virus, das doch an Gegenständen oft Jahre haften soll, schließlich die engen verwandten Beziehungen zwischen Tonsillitis und Scharlach. *v. Szontagh* sieht im Scharlach eine Art Ana-

¹⁾ Wie überall.

phylaxie, wie sie durch die verschiedensten Ursachen, z. B. durch alimentäre Noxen, aber auch durch sensibilisierende Infekte verschiedenster Art verursacht werden können.

Eine Reihe anderer Autoren wie *Schiff*, *Schick*, *Moro*, *Glanzmann*, *Kretschmer*, *Meyer-Estorf* deuten den Scharlach als reine Anaphylaxie, so daß *Schloßmann* und *Meyer* in ihrer Monographie schreiben: „Danach können wiederholte Streptokokkeninfektionen, besonders Anginen, den Körper gegen das parenteral eingeführte Streptokokkeneiweiß sensibilisieren, und eine neue Streptokokkeninfektion könnte im überempfindlich gemachten Körper statt einer banalen Angina oder Pharyngitis schockartig einen anaphylaktischen Symptomenkomplex, eben den Scharlach, hervorrufen. Damit ist der Scharlach als eine Überempfindlichkeitsreaktion gedeutet und die Annahme eines spezifischen Erregers — neben den sensibilisierenden Streptokokken — wäre hin-fällig. Es bleibt zu untersuchen, wieweit diese Hypothese den verschiedenen klinischen und epidemiologischen Erscheinungen des Scharlachs gerecht wird.“

Schloßmann und *Meyer* glauben, daß sich alle klinischen Beobachtungen zwanglos durch obige Theorie erklären lassen. Wie stellt sich nun die epidemiologische Forschung zu der — das kann man wohl sagen — auf den ersten Blick bestechend erscheinenden Theorie. Eine Theorie, welche klinisch sich als brauchbar erweist, muß auch alle epidemiologischen Tatsachen erklären, sie bedeutet nebenbei auch nur eine Verschiebung des eigentlichen Problems, indem der infektiöse Charakter der Erkrankung gewahrt bleibt, mannigfache Infekte, voran durch Streptokokken eine Sensibilisierung machen müssen, wobei der Grad der Sensibilisierung von Alter und Reaktionsfähigkeit des Individuums abhängig ist. Es bleiben also im Scharlachproblem wie bisher die beiden Komponenten: Infekt (öfters wiederholt zwecks Sensibilisierung) und Disposition.

Für die Theorie würde epidemiologisch sprechen die geringe Morbidität der Säuglinge, die steigende Morbidität bis zum 15. Lebensjahr und die von da ab mit dem Alter abnehmende Empfänglichkeit, sei es durch frühere Immunisierung gegen Infekte, sei es durch Rückbildung des lymphatischen Ringes. Auch der Parallelismus mit der Diphtheriekurve in großen Zeiträumen und die jahreszeitliche Kurve der Morbidität könnte eine Stütze für die Theorie sein, denn erfahrungsgemäß nehmen die Erkrankungen der Nase und des Rachens mit Eintritt der kalten Jahreszeit (Oktober) zu. Schwieriger wird schon die Deutung von Morbiditätskurven, deren Gipfel auf verschiedene andere Monate fällt (Budapest). Hier müßte man schon annehmen, daß die erkrankungsauslösenden Infektionen, örtlich verschieden in einzelnen Monaten von Kind zu Kind besonders häufig übertragen werden. Es wäre also

zuerst notwendig, die Ausbreitung von allen in der Mundhöhle vorkommenden Bakterien nach Art, Menge, Virulenz, die Häufung von Anginen, Rhinitis usw. zeitlich und örtlich zu verfolgen, worüber heute noch nichts Sicheres ausgesagt werden kann. Ja, selbst wenn die Sensibilisierung und Auslösung der Erkrankung durch Eiweißabbaustufen, wie sie bei Zellzerfall und Resorption (vgl. chirurgischen Scharlach) vorkommen, verursacht würden, bliebe das Problem das gleiche. Denn immer sind es doch die Infektionen, welche den Eiweißzerfall bedingen.

Wie aber soll man die große Verschiedenheit der örtlichen Verbreitung des Scharlachs erklären? Sollen denn in den nordwestlichen Bezirken Deutschlands, im Regierungsbezirk Liegnitz, in Mecklenburg, Bayern usw., die Erkrankungen der oberen Luftwege so viel seltener sein als beispielsweise im Regierungsbezirk Arnberg, Oppeln oder Düsseldorf. Auch findet man den Scharlach nicht immer am häufigsten da, wo die Bevölkerung dicht gedrängt sitzt, wo also Infektionsverbreitung unter Kindern am leichtesten ist (man vergleiche Regierungsbezirk Königsberg und Berlin). Am schwierigsten dürfte aber wohl die Deutung des An- und Abschwellens der Scharlachkurve in *großen* Zeiträumen sein. Wir haben vorläufig keinen Anhalt dafür, daß der Anstieg der Kurve in einzelnen Orten bedingt sei durch eine erhöhte Empfänglichkeit der Kinder, durch eine vorherige Zunahme der Zahl der „überfütterten“ Kinder, durch eine Zunahme der lymphatischen, exsudativen Individuen. Und nun erst die Schwankungen in einzelnen Städten, in denen die Ernährung der Kinder sich nicht wesentlich geändert hat (New York, Kopenhagen). Kopenhagen hatte 1920 bis Frühjahr 1921 eine dreifach so hohe Morbidität als früher, in New York waren die Erkrankungsziffern 1915 und 1917 besonders niedrig, Frühjahr 1914 besonders hoch. Weiter muß folgender Umstand auffallen: Wir wissen, daß mannigfache Infektionen, vielfach durch Unreinlichkeit und Schmutz befördert, in den Kriegsjahren zugenommen haben, und auch in der Nachkriegszeit häufig sind. Mangelhafte Aufsicht der Kinder, wirtschaftliche Not, Mangel an Reinigungsmitteln sind die bekannten Ursachen. Die Diphtherie hat 1915/16 in verschiedensten Großstädten grassiert. Und *trotzdem* ist die Morbidität an Scharlach *nicht* gestiegen, vielleicht sogar etwas zurückgegangen. Die Erkrankung selbst hat an Bösartigkeit verloren. Vorläufig unerklärlich für diese Theorie ist ferner die Tatsache, daß der Scharlach in den Ländern der warmen Zone seltener und auch gutartiger ist als bei uns. In manchen tropischen Bezirken ist er ganz unbekannt¹⁾. Die Verbreitung der Schleimhautschmarotzer, die Möglichkeit von Schmutzinfektionen ist aber sicherlich in den südlichen Ländern größer als bei uns. Unserer Fragestellung

¹⁾ So berichtet *Castellani*, daß er in Ceylon keinen im Lande entstandenen Fall gesehen habe.

könnte man nun entgegenhalten, daß das Auftreten und Abklingen anderer Infektionskrankheiten, z. B. der Meningitis, der Diphtherie, ebenso noch der Erklärung harre. Das ist richtig. Abgesehen vom Virulenzproblem (*Laurent*) hat man bisher aber auch noch nicht versucht, der Infektionsart nach verwandte Krankheiten, z. B. ansteckende Anginen, Schnupfen, Keuchhusten, Diphtherie, Meningitis, Pneumonie und evtl. Scharlach, als Komplexe eines Organismus unter einem einheitlichen Gesichtswinkel zusammenzufassen. *Das wird die Aufgabe zukünftiger epidemiologischer Forschung sein müssen.*

Mag sich also die Theorie der Überempfindlichkeitsreaktion — ist sie nicht etwas zu viel Modemedizin? — für die Klinik ausgezeichnet bewähren, so bedarf die Theorie doch unbedingt besserer experimenteller Begründung.

Wie verträgt sich nun die epidemiologische Forschung mit der Ansicht *v. Szontaghs*, der dem Scharlach jede Kontagiosität abspricht? Erklärt er doch die Rückkehrfälle als reinen Zufall, die Sensibilisierung des Körpers durch mannigfache Infekte, auch alimentäre Noxen für möglich! Bestünde diese Ansicht zu Recht, so wären in logischer Konsequenz alle epidemiologischen Konstruktionen Kunstprodukte. Sie bedeuteten dasselbe, wie wenn man die örtliche und zeitliche Verteilung von Nervenerkrankungen oder Magengeschwüren verfolgen wollte. Nun haben wir aber oben gesehen, daß die Scharlachkurve beim Vergleich größerer Bezirke und Zeitabschnitte doch gewissen Gesetzmäßigkeiten in bezug auf die monatliche Verteilung folgt, daß auch die geographische Verbreitung in und außer Europa merkwürdige Verschiedenheiten aufweist, daß endlich der Charakter der Krankheit sich in Wellenlinien auf und ab bewegt. Wie will man all diese Erscheinungen mit der Theorie *v. Szontaghs* in Einklang bringen? Daß seine Ansicht in der Morbidität Budapests kein Gegenargument findet, hat der Autor selbst allerdings bewiesen. Dies dürfte vielleicht auf die Betrachtung eines relativ kleinen Bezirkes und die rein klinische Beobachtung zurückzuführen sein.

Die reinen Kontagionisten könnten heute eine schöne Probe aufs Exempel machen. Bei der z. Z. geringen Anzahl von Scharlachfällen wäre es wohl denkbar, durch umfassende organisierte ärztliche Zusammenarbeit *alle* Scharlachfälle eines Bezirkes so früh wie möglich in Krankenhausbehandlung zu nehmen und nach Genesung und längerem Aufenthalt in einem geschlossenen Rekonvaleszentenheim erst wieder zum Verkehr zuzulassen. Ob damit der Scharlach mit einem Schlag aufhören würde? Ich wage es zu bezweifeln. Auf der anderen Seite sollte man wirklich ernsthaft — *sine ira et studio* — die Frage prüfen, ob die Wohnungsdesinfektion die hohen Kosten und Arbeit lohnt. Ich halte sie, genau so wie bei Diphtherie, für zwecklos, weiß aber wohl, daß ich hier starkem amtlichen Widerspruch begegne.

Die Forschung der nächsten Zeit, die eine Zusammenarbeit von Kliniker, Bakteriologen und Epidemiologen erfordert, wird neben der oben angedeuteten Richtung — zusammenfassende Betrachtung von Krankheiten gleicher Infektionsart — zwei Erscheinungen klären müssen, einmal nicht nur das Problem der Disposition, sondern umgekehrt auch das Problem der Resistenz und zweitens das Wesen der hypothetischen Scharlachallergie, Bakterien- oder Körpereiweißanaphylaxie. Die Entwicklung des chirurgischen Scharlachs spricht eher für die letztere, der Zusammenhang mit Anginen und Ohrenerkrankungen für die erstere. Dabei dürfte das Studium der Scharlachstreptokokken wieder unter anderem Gesichtspunkt aufgenommen werden müssen. Die gegenwärtige bakteriologische Forschung befaßt sich viel mit der geographischen Verbreitung bestimmter Pneumokokkentypen. Sollte es nicht verlohnen, die Streptokokken, besonders die Scharlachstreptokokken in denselben Untersuchungskreis einzubeziehen? Problem über Problem. Zweck dieser Arbeit sollte nur der sein, zu zeigen, daß man auch von reiner epidemiologischer Deduktion zu interessanter Fragestellung kommen kann, um so interessanter, da es sich um eine Krankheit handelt, deren Ätiologie auch heute noch heiß umstritten ist. Die Sphinx Scharlach hat aber auch der epidemiologischen Forschung noch nicht alle Schleier gelüftet. Ich habe es bisher peinlichst vermieden, selbst ein Urteil in diesen strittigen Fragen auszusprechen; mit Absicht, denn ich möchte mich nicht eher dazu äußern, bis ich selbst wertvollere Beiträge zu dem Problem geliefert habe als diese bescheidene Studie. Diese Absicht hoffe ich in absehbarer Zeit verwirklichen zu können.

Literaturverzeichnis.

Neumann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **78**, 417. — *Kaiser*, Eulenburgs Vierteljahresschr. 1885. — *Nesemann*, Veröff. a. d. Geb. d. Medizinalverwalt. 1918, S. 1. — *Kisskalt*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93** und **98**. — *Kisskalt*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 4. — *Czerny*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 12. — *Rominger*, Münch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 16. — *Hirsch*, Historisch-geograph. Pathologie. — *Reineke*, Gesundheitsverhältnisse Hamburgs im 19. Jahrhundert. — *Rosenfeld*, Zentralbl. f. allg. Gesundheitspfl. **23**. 1904. — *Reiche*, 1. Krankheit und soziale Lage, von Mosse und Tugendreich. — *Kons*, Inaug.-Diss. Kiel. — *Medizinalstat. Nachr.*, Veröff. d. Reichsgesundheitsamtes. — *v. Szontagh*, Arch. f. Kinderheilk. **54**, Heft 1/3. — *v. Szontagh*, Jahrb. f. Kinderheilk. **76**. 1912. Ergänzungsheft. — *v. Szontagh*, Med. Klinik 1913, Nr. 40/41. — *v. Szontagh*, Monatschrift f. Kinderheilk. **22**, Heft 2. — *Schlossmann*, Handbuch der Kinderheilkunde.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Prof. Dr. *Hahn*,
Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. *Korff-Petersen*].)

Praktische Erfahrungen über das Verhalten von Kleinhäusern aus „Ersatzbaustoffen“.

Von
Dr. med. **Kurt Nuck**,
Volontärassistent am Institut.

Gründe des Wohnungsmangels in Deutschland.

Der Krieg hat die Bautätigkeit in Deutschland durch die Entziehung der Bauarbeiter, behördliche Zwangsverwaltung der Baustoffe, Stilllegung von Ziegeleien und schließlich durch ein Bauverbot zum völligen Daniederliegen gebracht. Auch nach dem Kriege ist die Bautätigkeit wegen der Wohnungszwangswirtschaft, die alles Privatkapital vom Baumarkt fernhielt, nicht wieder aufgelebt.

Ein Mangel an Wohnungen machte sich zu Anfang des Krieges trotzdem noch nicht bemerkbar, solange der Überfluß an Wohnungen, der in der Zeit vor dem Kriege bestand, nicht vollständig geschwunden war; zunächst zeigte sich sogar eine Zunahme der Leerwohnungen. Auch die im Anfang des Weltkrieges infolge von Kriegstraunungen rasch steigende Zahl der Familien wirkte noch nicht auf den Wohnungsmarkt, da weitaus die Mehrzahl der Jungverheirateten keine eigene Wohnung bezog, sondern die Frau im Elternhause verblieb, während der Mann ins Feld mußte. Noch für das Jahr 1916 gibt *Kuczynski*¹⁾ für die Stadt Berlin folgendes Bild über die Verhältnisse auf dem Wohnungsmarkte: Die Zahl der Wohnungen in Berlin mit seinen 45 Vororten war von 1910—1916 auf 1 132 327 angewachsen, von denen trotz Aufhören der Bautätigkeit immer noch 5,5% leer standen. Der erste Mangel in einzelnen Gattungen von Wohnungen trat ein, als die Industrie infolge der Heereslieferungen immer mehr Arbeitskräfte in ihre nähere Umgebung heranzog und sich so die Menschen an einzelnen Stellen außerordentlich häuften. Dem war noch zu steuern durch größere Belegung der Wohnungen und durch Wohnbarackenbau von seiten der Fabriken, solange sich noch ein größeres Maß von Bedürfnislosigkeit zeigte. Einzelne Unternehmen sind auch zum Bau von Dauersiedelungen geschritten,

¹⁾ *Kuczynski*, Wohnungsmarkt der Stadt Berlin. Techn. Gemeindeblatt 1916, Nr. 17.

z. B. wurden die Gartenstädte Staaken und Plaue durch den Staat als Arbeitgeber, von privater Seite z. B. die Industriesiedelung der Leuna-Werke in der Provinz Sachsen gebaut. Dann aber wurden die Ansprüche mit der Zeit infolge der verhältnismäßig hohen Entlohnung der Arbeiter besonders in dieser Klasse größere, und so dehnte sich die bisher nicht immer im Sinne der Hygiene lebende Familie in ihrer Wohnung aus, kündigte dem Untermieter, oder auch dieser beanspruchte seinerseits mehr als eine Schlafstelle. Teilweise kam es sogar dazu, daß zwei kleine Wohnungen zu einer größeren zusammengelegt wurden¹⁾. So läßt sich für einzelne Städte statistisch nachweisen, daß die Belegzahlen der Wohnungen im Jahre 1918 erheblich geringere waren als im Jahre 1910²⁾. Dieses Bedürfnis nach großem Wohnraum blieb auch nach dem Kriege bestehen, wurde vielfach sogar allgemeiner. Einen trefflichen Beweis hierfür gibt *Victor Noak* in dem Taschenbuch für Kommunalpolitiker, Vorwärts-Verlag, Berlin. Er schreibt: „Wiederholt wurde ich auf meiner Informationsreise für die Sozialisierungskommission darauf hingewiesen, daß die Arbeiterschaft jetzt infolge der allgemeinen Hebung ihrer sozialen Stellung und wirtschaftlichen Verhältnisse sich nicht mehr wie früher mit Stube und Küche begnügt, sondern in mehrräumigen Wohnungen zu wohnen wünscht. Dasselbe konstatiert auch die Denkschrift des Sächsischen Ministeriums über das Landeswohnungsamt vom 7. II. 21.“

Neben dem gesteigerten Bedürfnis nach Wohnraum kommt als weiterer Grund für den Wohnungsmangel die Zunahme der Familien Gründungen nach dem Kriege in Betracht, die noch begünstigt wurden durch das Aufhören der Militärdienstpflicht. Für die nicht durch Gebietsabtrennung berührten Provinzen und Länder gibt die „Denkschrift über Maßnahmen auf dem Gebiete des Wohnungs- und Siedlungswesens seit 1914“ des Reichsarbeitsministerium an: Haushaltungen (1910) 11 150 755, Personen (1910) 50 266 522, Haushaltungen (1919) 12 073 060, Personen (1919) 50 850 823. Durch den Gebietsraub des Friedensvertrages veranlaßt, erfolgte ein ungeheurer Rückstrom unserer Landsleute in das Rumpfreich und half die Wohnungsknappheit noch bedeutend vermehren. Die Denkschrift des Reichsarbeitsministeriums gibt die Zahl für Anfang Dezember 1920 mit 813 328 Personen an. Die Zahl der Haushalte wird dabei auf 150 000 geschätzt. Als dann im Osten Europas der Bolschewismus sich immer mehr ausbreitete, war wieder Deutschland das Ziel vieler, die diesem Vernichter allen selbständigen Lebens entgehen wollten. Zuletzt noch bedeuten die Unmenge von Aus-

¹⁾ „Denkschrift über Maßnahmen auf dem Gebiete des Wohnungs- und Siedlungswesens seit 1914“ des Reichsarbeitsministers. — Reichstagsdrucks. Nr. 3472, S. 192.

²⁾ *Korff-Petersen*, Öff. Gesundheitspfl. 1922, 7. Jahrg., S. 314.

ländern, die unser Land zu Valutagewinnen aufsuchen, eine schwere Belastung des Wohnungsmarktes, und in den Grenzgebieten des Rheinlandes nahm die Besatzungsbehörde ohne Rücksicht auf die wirtschaftlichen Notwendigkeiten unendlich viele Wohnungen für sich in Anspruch.

Hervorgehoben muß noch werden, daß im Gegensatz zu dem Arbeiter heute der kleine Mittelstand, der Beamte, Pensionär und kleine Rentner vielfach zur Einschränkung in seinem Wohnungsbedarf gezwungen ist. Sein Einkommen ist nicht in dem Maße wie beim Arbeiter mit der Teuerung gestiegen, ja es wird wie beim Rentner fortgesetzt kleiner. Dadurch werden diese Kreise, soweit sie aus der Vorkriegszeit noch eine größere Wohnung innehaben, ein oder mehrere Zimmer abzuvermieten gezwungen. Hier liegt sicher eine Verschlechterung der Wohnungsverhältnisse vor, während bei einem großen Teile des Arbeiterstandes eine Besserung oder wenigstens doch keine Verschlechterung zu bemerken ist.

Ebenso wie in den Städten ist auch auf dem Lande das Bedürfnis nach ausgedehnterer und besserer Wohnung gestiegen. Unzweifelhaft hat die Landbevölkerung meist schlechter in bezug auf Wohnungshygiene gelebt als der Städter, nur wog sich dieses dadurch auf, daß ihr Beruf sie zwang, während des größten Teils des Jahres den ganzen Tag über im Freien zu sein. Auch für die Kinder gab es nicht das Eingesperrtsein in den Zimmern oder schmalen Höfen und Asphaltstraßen. Die Belegzahl der Stuben war im Dorf oft höher als in der Stadt. Vielfach konnten die Zimmer nicht gelüftet werden, und die Einrichtung einer polnischen Schnitterkaserne steht nicht weit ab von der untersten Stufe der städtischen Verfallwohnung. Gegen diese Vernachlässigung der Wohnungen lehnt sich aber jetzt vielfach auch die Landbevölkerung auf. Polnische Schnitter werden wir nicht mehr in dem Maße wie früher als Saisonarbeiter über die Grenze herüberbekommen, und so muß wohl oder übel der Deutsche selbst die Arbeit übernehmen. Dazu gehören bei der höheren Kulturstufe, auf der wir Deutschen im Gegensatz zu den Ostländern stehen, menschenwürdige Unterkünfte und für eine Selbsthaftmachung, d. h. Rückkehr aufs Land, nicht nur ein Dach über dem Kopf, sondern auch eine Wohnung, in der eine Familie Ausbreitungsmöglichkeit und Zufriedenheit finden kann. So ist die Arbeiterfrage vielfach eine Siedelungsfrage geworden, und es würde sich auch eine Lösung der Landarbeiterfrage viel schneller finden lassen, wenn Deutschland nicht ein so armes Land geworden wäre.

So zeigt es sich, daß eine ganze Reihe von Ursachen zusammenwirken, um den Wohnungsmangel in Deutschland zu veranlassen.

Versuche zur Behebung der Wohnungsnot in Deutschland.

Um nicht durch die Unzufriedenheit der Bevölkerung mit den Wohnverhältnissen neue schwere Erschütterungen des Staatslebens

heraufzubeschwören, mußte der Staat alle Sorgfalt darauf verwenden, dem Wohnungsmangel so schnell und soweit wie möglich abzuwehren. Eine Fülle von Verordnungen und Gesetzen hat denn auch versucht, des Wohnungsmangels durch Erfassung und Beschlagnahme zum Zwecke besserer Ausnutzung von Überflußräumen usw. Herr zu werden. Mit unendlichen Mühen und Unbequemlichkeiten sind die geringen Erfolge dieser Maßnahmen behaftet und haben zu einer gegenseitigen Kampfstellung zwischen Mieter und Vermieter geführt, die keinen Gewinn bedeutet. Durch staatliche und Arbeitgeberzuschüsse ist versucht worden, eine Neubautätigkeit aufkommen zu lassen; aber auch dieses Bestreben scheint nach anfänglichen Erfolgen bei dem täglichen Steigen der Preise allen Baumaterials und der Löhne dazu verurteilt zu sein, allmählich zur Unmöglichkeit zu werden¹⁾.

Die an die Raumzumessung zu stellenden Forderungen.

Die großen Geldaufwendungen des Staates für Bauunterstützung sicherten diesem einen maßgebenden Einfluß auf die Ausgestaltung der Bauten. Vor allen Dingen wurde der Flachbau begünstigt. Hierfür war anfangs das Fehlen der zum Hochbau nötigen Baustoffe maßgebend, dann aber wollte der Staat das neu zu Schaffende mit den Forderungen der Zeit, die die großen Mietskasernen als schädlich erkannt hat, in Übereinstimmung bringen.

Im vorstehenden ist bereits darauf hingewiesen worden, daß das Streben der bisher in bezug auf die Wohnung schlechter gestellten Kreise dahin geht, von der Einraum- oder Stube- und Küche-Wohnung frei zu kommen und etwas ausgebreiteter sein Heim zu bilden. Die gesuchteste Wohnungsgröße schien bis in die letzte Zeit unserer Wohnungsknappheit die 3—4- auch 5 Zimmerwohnung zu sein, wie Statistiken zeigen, die mir zugänglich waren, die ich aber leider im einzelnen nicht mitteilen kann. Für den Arbeiter dürfte auch die 3—4 Zimmerwohnung schon aus dem Grunde das Gegebene sein, weil sie eine Trennung der Schlafräume der Eltern von denen der erwachsenen Kinder sowie dieser nach Geschlechtern gestattet. Für den geistig arbeitenden Mittelstand ist ein 5. Zimmer zu fordern.

Auch das Zusammendrängen vieler Menschen nach Art der alten Mietskasernenbauten, dessen hygienische Schäden allgemein anerkannt werden, ist überwunden. Schon vor dem Kriege war man bemüht, die Wohnungszahl eines Mietshauses möglichst auf 10—12 herabzusetzen. Der Drang nach Freiheit in der Bewegung, Licht und Luft und das Wohlgefallen am eigenen Besitz oder Selbsterarbeitetem aus dem Hausgarten war schon von jeher in dem deutschen Volke rege und der

¹⁾ Eine Zusammenstellung der hauptsächlichsten Gesetze und Verordnungen findet sich in Öff. Gesundheitspfl. 1922, Heft 9.

heimliche Wunsch vieler gewesen. So entstand gleich in den ersten Jahren der Nachkriegszeit das Reichssiedelungsgesetz (11. VIII. 1919), das neben dem Gedanken des Eigenheimes der Landwirtschaft die nötigen Arbeitskräfte sichern sollte. So kommt es, daß Neubauten auch für städtische Bevölkerung vorzugsweise im Flachbau ausgeführt werden, dem ein größeres oder kleineres Stück Gartenland beigegeben wird. Freilich wird man das mehrstöckige Mietshaus in Industriegegenden nie ganz entbehren können, und auch das frei stehende Einzelhaus für nur eine Familie ist als unzweckmäßig erkannt. Am empfehlenswertesten sind Klein- und Mittelhäuser in der Ausführung als Reihenhäuser, zumal die dafür erforderlichen Bausummen nicht derart hoch zu sein brauchen wie bei einem mehrstöckigen Mietshause und daher von Baulustigen leichter zu beschaffen sind.

Die Mehrzahl der älteren Arbeiten über Bauhygiene betraf vorwiegend das Wohnhaus des Arbeiters als des wirtschaftlich Schwächsten, und folglich legten sich alle Ideen und Pläne für das Kleinhaus auf den Bedarf und die Kulturgewohnheiten des Arbeiters fest. Heute haben die Forderungen dieses Standes, wie oben gesagt, ein anderes Aussehen, und es wäre außerdem nicht angängig, die Siedelungshäuser einzig und allein für diesen zuzuschneiden. So zeigen auch schon die meisten Häuser der Nachkriegssiedelung eine andere Wohneinteilung als die früheren Skizzen. Es sind in der Mehrzahl der Fälle im Erdgeschoß eine Küche bzw. Wohnküche und ein größeres Zimmer und im Obergeschoß 2 oder 3 Räume als Schlafzimmer vorgesehen.

Wenn in den alten Kleinwohnungen so oft die Küche als Schlafräum nicht zu entbehren war, weil in der einzigen Stube, die zur Wohnung gehörte, beim besten Willen nicht alle Familienmitglieder Platz fanden, oder weil eine Trennung der Geschlechter herbeigeführt werden sollte, so findet man in den Neuanlagen nur noch äußerst selten die Küche gleichzeitig als Schlafräum benutzt. In Deutschland, wo sich die Bewohner der Kleinhäuser erst einmal aus der Küche- und Kammerwohnung umgewöhnen müssen an die größere Zahl der Räume, scheint es vorerst von Vorteil zu sein, der Küche den Charakter einer Wohnküche zu geben und hierdurch den Aufenthaltsraum mit dem Haupttätigkeitsplatz der Hausfrau zu verbinden. *Flügge*¹⁾ hat bereits früher darauf hingewiesen, daß es eine glückliche Lösung schien, einen Pansch- und Abwaschräum von der Küche abzutrennen und den Küchenraum durch eine Sofanische wohnlicher zu gestalten. In dieser „Spülküche“ wäre dann ein Raum geschaffen, in dem alle grobe Schmutzarbeit erledigt werden könnte. Ein englischer Vorschlag (siehe *Stefan Prager*) will sogar dieser Spülküche, wenn sie in größeren Ausmessungen möglich ist, eine Kochgelegenheit für die schmutzige Wäsche geben, ja sogar u. a.

¹⁾ *Flügge*, Grundriß der Hygiene 1921.

hier eine Badewanne aufstellen, die von dem Waschherd aus versorgt werden sollte. Durch einen derartigen Nebenraum würden dann den nicht unmittelbar beteiligten Familienmitgliedern die unangenehmen Arbeiten und Gerüche, durch die in Kleinwohnungen die Küche leicht unwohnlich wird, ferngehalten. Auch die Hausfrau findet hierbei nach getaner Arbeit in der Sofanische ein Plätzchen, auf dem sie den lästig fallenden Einflüssen ihrer Tagesarbeit entzogen wird.

Von England, dem klassischen Lande des Kleinhauses, sagt der *Tudor Walters* Bericht¹⁾ des Housing Committee, der im Auftrage der englischen Regierung verfertigt wurde: Es hat sich gezeigt, daß die Neigung der Arbeiterklassen immer mehr zunimmt, aus dem Wohnraum die schmutzigsten Arbeiten und besonders das Kochen der Mahlzeiten zu beseitigen, so daß bei den Hausgrundrissen auf diesen Wunsch Rücksicht genommen werden muß. Vorgenannter Ausschuß gibt ferner als Mindestmaß, das an Bequemlichkeit geschaffen werden sollte, an: Einen Wohnraum mit Kochherd, drei Schlafräume, Spülküche, Bad, Abort, Speisekammer und Kohlenraum. In einem weiteren Vorschlage wird sogar das Kochen ganz aus dem Wohnraum in die Spülküche, jetzt Wirtschaftsküche genannt, verbannt. Der weitgehendste Vorschlag fügt diesen Räumen noch einen Empfangsraum hinzu. Von diesem Vorschlag sagt der Bericht, daß er zweifellos den Wünschen der Mehrzahl der *Handwerker* entspricht und an Raum und Bequemlichkeit so viel enthält, wie nach Ansicht der Kommission für ein geeignetes Zusammenleben in der Familie notwendig ist.

So lauten die Aufbaupläne in England, das auf Grund seiner Erfahrungen in Flachbausiedelungen dazu gekommen ist, „zu kleine Abmessung der Räume zu vermeiden“ und den Wohnungen die nötige Raumzahl zu geben. Deutschland als verarmtes Land muß natürlich mit seinen Mitteln mehr haushalten und lieber versuchen, mit weniger Mitteln mehr Wohnungen zu beschaffen.

Erfahrungen über Siedelungshäuser aus „Ersatzbaustoffen“.

Den neueren Forderungen nach größerer Raumzahl ist in den neu entstandenen Siedelungen meist entsprochen worden, jedoch war infolge der wirtschaftlichen Lage es oft nötig, an Stelle der altbewährten Ziegelbauten zu den billigen „Ersatzbauweisen“ zu greifen, die in mannigfachster Art zur Anwendung gelangten. Es dürfte nun von großem hygienischen Interesse sein, festzustellen, wie sich derartige Ersatzbauweisen in der Praxis bewährt haben. Für mich lag die Möglichkeit vor, an Siedelungsbauten in Steglitz, Röntgenthal und Lebus a. O. Beobachtungen hierüber anzustellen. Es handelt sich in Steglitz um Häu-

¹⁾ *Tudor Walter*, Bericht, zitiert nach *Prager*, Behebung der Wohnungsnot in England. Wilh. Ernst und Sohn. Berlin 1920.

ser, deren Bauweise von *Korff-Petersen* und *Liese* in der *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* **93**, S. 413 eingehend beschrieben sind. Bei diesen Bauten zeigten sich nun eine Reihe von Mißständen, die unter Umständen eine bedeutende Schädigung der Gesundheit der Bewohner hervorrufen können. Es sei vorausgeschickt, daß die Urteile, die hier wiedergegeben sind, die Erfahrungen der Bewohner selbst widerspiegeln, aber doch nicht kritiklos und ohne Nachprüfung hingenommen wurden. Die Herstellerin der Häuser hat alle von den Bewohnern vorgebrachten Mißstände unumwunden zugegeben und eingestanden, daß diese Resultate wenig ermutigend seien. Die Lebensdauer der Siedelung wird jetzt schon ganz bedeutend niedriger angegeben, als sie bei der Anlage geschätzt wurde. Es hat sich sogar nach kaum dreijährigem Bestehen als notwendig erwiesen, in zwei Häusern eine neue Decke zwischen Keller und Küche herzustellen, da die erste bereits verfault war. Überhaupt sind die Handwerker so gut wie noch nie aus der Siedelung herausgekommen. Irgend etwas war stets auszubessern oder zu erneuern. Die Dächer haben fast alle mehrfach nachgesehen werden müssen, der Mauerputz ist an den meisten Wänden in großen Flächen erneuert worden, die Öfen haben sich für die Verhältnisse in manchen Räumen als unzureichend und vollständig ungenügend erwiesen, um die betreffenden Zimmer zu erwärmen. Die Haustüren, die aus einer einfachen Bretterlage bestanden, erwiesen sich nach Quellung bzw. nach Austrocknung des Holzes so undicht, daß die Bewohner in Selbsthilfe sich des größeren Wind- und Wärmeschutzes wegen vielfach verandaförmige Vorbauten angebracht haben, und vieles andere mehr.

Im folgenden sollen die Angaben der Bewohner der verschiedenen Bauweisen besprochen werden.

Das *Thermoshaus* (22 cm Thermossteine, außen und innen verputzt) wurde bei weitem als am besten heizbar angegeben ohne zu großen Kohlenverbrauch bei kurzer Anheizzeit. Die Wände werden nur nach schweren Schlagwetterregen als feucht bezeichnet, trockneten jedoch bald wieder aus. Allerdings hat sich der Keller in dem untersuchten Hause (57e) den Bewohnern als etwas feucht erwiesen, und in der Tat konnte im Frühjahr die Mörtelfeuchtigkeit des Kellers mit etwa 4,6% von mir festgestellt werden.

Das *Holzhaus* (54) (22 mm Bretter mit Deckleisten, 1 Lage Dachpappe, 10 cm Fachwerk mit Koksaschefüllung, 5 cm starke Helmsche Hohlsteinplatten, darauf Putz) entsprach in Heizbarkeit im allgemeinen den Anforderungen seiner Bewohner, nur wurde geklagt, daß bei starkem Regen an der Wetterseite die Mauer in der Küche feucht wurde, während in den oberen Räumen davon nichts zu merken war. Wahrscheinlich handelt es sich um aufsteigende Feuchtigkeit, da die Holzverkleidung vor Schlagregen schützt.

Über *Holzhaus* (57c) (22 mm Bretter mit Deckleisten, 1 Lage Dachpappe, 10 cm starkes Fachwerk mit Koksaschenfüllung, 1 Lage Dachpappe, 2 cm Verschalung, darauf Rohrgewebe und Putz) sagt zwar der Bewohner aus, daß die Erwärmbarkeit zu wünschen übrigließe, aber die Wände stets trocken gewesen seien. Auch habe diese Bauart im Verhältnis zu den anderen bisher wenig Instandsetzungen gekostet.

Das *Zementhaus* (15 cm Zementsteine mit Hohlschicht, 2 cm Luftschicht, 2 cm Schalbretter, darauf Rohrgewebe und Putz) erwies sich als sehr feucht mit großen nassen Flecken, die schwer oder überhaupt nicht wegtrockneten und bald starken Pilzwuchs aufwiesen. Im Keller „faule alles“. Eine Untersuchung der Mörtelfeuchtigkeit ergab im Winter 1920/21 für den Gesamtmörtel 10,7%. Dabei standen große Wassertropfen an den Wänden und der Decke zur Küche. Der Fußboden in der Küche sei fußkalt und sie selbst und das Zimmer im Erdgeschoß, das einen Kachelofen aufweist, überhaupt nicht zu erheizen. Die eisernen Öfen in dem oberen Stockwerk dagegen heizen gut.

Bei weitem am schlechtesten ist die Auskunft in den *Ziegelsteinhäusern*, deren Wandstärke auch nur kaum derjenigen einer einen Stein dicken Vollziegelmauer entspricht. (Äußerer Putz, 15 cm Deckensteine mit doppelten Hohlräumen, 2 cm Luftschicht, 2–3 cm Gipsplatten mit Koksfasereinlage, darauf Putz.) Zwar wird die Heizbarkeit im allgemeinen als zufriedenstellend bezeichnet, aber die Feuchtigkeit in den unteren Räumen ist an allen Außenwänden so stark, daß keine Tapete an der Wand sich hält und an den meisten Stellen sogar noch im Sommer die Nässe zu fühlen ist. Im Winter war in den Giebelstuben trotz eisernen Ofens und dauernden Wohnens eine Eisschicht an den Wänden, die nicht abtaute und erst im Frühjahr mit dickem Schimmelbelag wechselte.

So lauten die Klagen in den einzelnen Häusern der verschiedenen Systeme in Steglitz. Allgemein wird noch angegeben, daß in den Giebelzimmern der Teil der Wandschrägung, der unmittelbar vom Dach selbst gebildet wird, ganz besonders kalt sei.

Die Angaben der Bewohner decken sich insofern einigermaßen mit den experimentellen Feststellungen von *Korff-Petersen* und *Liese*, als auch diese das thermische Verhalten des Thermohauses als sehr günstig und das des Zementhauses als wenig günstig feststellten. Eine volle Übereinstimmung der Versuche und der praktischen Erfahrung war schon deswegen nicht zu erwarten, weil die Heizeinrichtungen in den einzelnen Häusern ganz verschiedene sind.

Im Gegensatz zu diesen vielfachen Klagen der Steglitzer Kleinsiedler lauteten die Angaben der Bewohner von Lehmstein- und Lehmstampfbauten in Röntgenthal bei Berlin durchweg günstiger. Sie berichteten übereinstimmend von sehr guter Heizbarkeit und hatten nie über

Wandfeuchtigkeit infolge Schlagregens oder Kondensation zu klagen. In einem Falle wurde freilich angegeben, daß in einem nicht unterkellerten Zimmer, dessen Fußboden vom Erdreich nur durch eine kleine Luftschicht isoliert war, sich von den in der Scheuerleiste liegenden Luftlöchern der Isolierluft im Frühjahr kleine senkrecht aufsteigende Feuchtigkeitstreifen gezeigt und die Luft moderig gerochen hätte. Eine Kommunikation der Isolierluft mit dem Inneren des Zimmers ist also zu vermeiden. Bei den Lehmbauten haben sich allerdings stellenweise bautechnische Mängel wie große senkrechte Risse gezeigt, die nach dem ersten Austrocknen durch Senkung auftraten. Außerdem stellte sich eine Holzverkleidung der Schlagwetterseiten als notwendig heraus, weil teilweise die Außenwände vom Regen ausgewaschen worden waren.

In Lebus bei Frankfurt an der Oder habe ich einige „Ambi“-Bauten mit dortigen *Friedensstein*häusern verglichen und festgestellt, daß sie sich heizungstechnisch als ungünstiger erwiesen. Auch in bezug auf Wandfeuchtigkeit waren verschiedentlich rechte Mängel festzustellen. Nach einem starken Schlagregen z. B. waren die Wetterseiten vollständig durchnäßt. Besonders unangenehm fiel die große Schalldurchlässigkeit der Wände der Ambibauten auf. Bei dieser Bauweise bestehen die Wände aus hakenförmigen Betonsteinen, die in der Weise aneinander gereiht werden, daß zwischen ihnen ein Hohlraum entsteht. Dieser Hohlraum wird mit irgendwelchem Füllmaterial ausgefüllt, und es ist wohl möglich, daß in Lebus dies Füllmaterial unzweckmäßig gewählt war, so daß die beobachteten Mängel nicht unbedingt der Bauweise als solcher anzuhaften brauchen.

Alle diese Erfahrungen der Ersatzbauweisen zeigen nun, daß das Grundleiden in den Mauern liegt. Meist beruht es wohl auf der zu geringen Stärke der Wände, die nicht den klimatischen Einflüssen entsprechen. Darum ergaben auch die so wesentlich dickeren Wände der Lehmbauten ein Fehlen dieser Mängel und zeigten, daß nicht die Ersatzbauweise als solche zu verwerfen sein wird, sondern daß es heute noch ein Konstruktionsfehler ist, der diese hygienisch so abnormen Zustände schafft. Es wird also in Zukunft der Hauptwert darauf zu legen sein, daß entweder die Außenmauern in größerer Stärke oder mit einer *Isolierung* zu versehen sind, die dem Temperatureinfluß erfolgreicher begegnet, und daß sie gegen das Eindringen des Schlagregens besser geschützt werden.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Prof. Dr. *Hahn*,
Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. *Korff-Petersen*].)

Untersuchungen über Wandisolationen unter sommerlichen Verhältnissen.

Von

Dr. med. **Kurt Nuck**,
Volontärassistent am Institut.

Mit 2 Textabbildungen.

Das Haus mit seiner Heizeinrichtung soll die Bewohner nicht nur im Winter gegen die Unbilden der Witterung schützen, um sie vor Unbehagen bei Kälte und den damit verbundenen Erkältungskrankheiten zu bewahren, es soll in gleicher Weise die große Hitze des Sommers abhalten, die ebenfalls unangenehm und gefährlich werden kann. *Flügge* zeichnete diese Unannehmlichkeiten allzu großer Hitze in seinem Vortrage über „Wohnungshygiene im Hochsommer“ mit den Worten: Noch stehen wir alle unter dem Eindruck der mannigfachen Gesundheitsschäden, welche die exzessiven Temperaturen des vorigen Sommers (1910) uns gebracht haben. Selbst gesunde Erwachsene hatten zu leiden; geistige und körperliche Arbeit gedieh nicht in gleichem Maße wie in kühlerer Jahreszeit; Schlaf und Appetit wurde beeinträchtigt. . . . Noch mehr als die Erwachsenen leiden die Säuglinge unter den Einflüssen abnormer Hitze, besonders wenn Sitte und Unverstand ihrer Hüter ihnen nicht die möglichen Erleichterungen schaffen. Die Hitzeschädigungen der Säuglinge zeigen sich in einer starken Zunahme der Sterblichkeit im Hochsommer und äußern sich klinisch meist in schweren Magen- und Darmstörungen.

Für die vorliegenden Betrachtungen spielt es keine Rolle, welche der Anschauungen über die Ursache der Cholera infantum richtig ist. In jedem Falle ist die auslösende Ursache die Überhitzung, die entweder die Milch für die Säuglingsernährung verdirbt oder diesen direkt schädigt.

Es ergibt sich also für die Wohnung an sich, daß sowohl zu große Kälte als auch zu starke Überhitzung in den Zimmern für die Gesundheit des Menschen gefährlich werden kann. Daher müssen die Mauern so konstruiert werden, daß sie im Winter den Abfluß der Heizungswärme möglichst hemmen und sich besonders an ihrer Innenoberfläche nicht

zu stark abkühlen, im Sommer dagegen das Eindringen und die Speicherung der Hitze besonders der durch die Besonnung zugeführten möglichst verhindern.

Versuche über Isolation an Wänden an einem Laboratoriumsmodell.

Bei der Begutachtung ausgeführter Kleinhäuser hatte es sich gezeigt, daß oftmals die verwendeten Ersatzbaustoffe im Winter keinen genügenden Wärmeschutz boten. Der Wärmeverlust durch Fenster und Türen kann bei den Ersatzbauten und Friedenshäusern nicht sehr verschieden sein. Auch die Notbauten erhielten nämlich meist Doppelfenster, und vielfach wurden bei ihnen der Kostenersparnis halber die Fenster und Türen auf das Mindestmaß zugeschnitten. Eine besondere Wärmeisolation der Wände ist bei derartigen Bauten also sehr angezeigt. Es fragt sich nun, ob es hygienisch vorteilhaft ist, die isolierende Schicht an der Außen- oder Innenseite anzubringen. Für die kalte Jahreszeit haben *Korff-Petersen* und *Liese*¹⁾ diese Frage eingehend untersucht. Sie stellten fest, daß im Falle der Außenisolation ein bedeutender Wärmespeicher für das Zimmer entsteht, im Falle der Innenisolation dagegen die Speicherungsmöglichkeit außerordentlich klein wird. Die Verfasser haben ferner die verschiedenen Heizungssysteme in Beziehung zu den Wandkonstruktionen gebracht und unterschieden dabei 1. intermittierende Heizung ohne Speicher, 2. intermittierende Heizung mit Speicher und 3. Dauerheizung. Auf Grund ihrer Untersuchungen schließen sie, daß sich besonders bei Kleinhäusern als am empfehlenswertesten gezeigt hätte: „Innenisolation der Wände bei Dauerheizung mit nicht speicherndem Heizkörper.“ Ökonomisch hat sich zwar eine intermittierende Heizung mit Innenisolation und ohne wärmespeichernden Heizkörper als sehr vorteilhaft erwiesen, aber hygienisch ist diese Methode bei dauernd benützten Räumen unbedingt zu verwerfen, weil die Innentemperatur bald nach Aufhören der Heizung so stark absinkt, daß sie sich dem Menschen unangenehm bemerkbar macht. Außenisolation dagegen hat den Vorteil, daß die einmal erreichte Temperatur sich lange Zeit auch nach Abstellen der Heizung hält, jedoch verbraucht die Anheizung soviel Brennstoff, daß auf ihre Vorzüge zugunsten der größeren Sparsamkeit verzichtet werden muß.

Nachdem durch die Arbeiten *Korff-Petersens* und *Lieses* Erfahrungen über das Verhalten der Isolierschichten im Winter festgelegt waren, lag es nahe, worauf auch schon die Verfasser hinwiesen, dieselben Isolierverfahren auf ihre Wirkung unter sommerlicher Erwärmung zu prüfen. Hierüber habe ich auf Anregung von Herrn Professor *Korff-Petersen* und mit seiner Unterstützung einige Versuche angestellt, wobei ich mich desselben Laboratoriumsmodells bediente, das von ihm

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93**, 408 und **96**, 405.

und *Liese* zu ihren Untersuchungen benutzt worden war. Es wurde für meine Versuche besonders hergerichtet. Eine eingehende Beschreibung des Apparates findet sich in *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* 93, S. 427.

Für meine Versuche setzte ich das Versuchsmodell in einen Glaskasten mit den Abmessungen von 2 mal 2 mal 2 m, um nicht nur vor der untersuchten Wand, die durch einen davor gesetzten großen Gasofen bestrahlt wurde, eine hohe Temperatur zu erreichen, sondern auch die übrigen Wände mehr einer sommerlichen Lufttemperatur auszusetzen und doch über Nacht durch Öffnen des Glaskastens eine genügend niedrige Außentemperatur erreichen zu können. Ich wollte beobachten, wie hoch unter diesen Verhältnissen die Differenz zwischen Innen- und Außenlufttemperatur zu den verschiedenen Beobachtungszeiten war, und wie hoch sich die Innenschichten der Versuchswand erwärmten, wenn die Versuchswand einmal an ihrer Innenseite und ein anderes Mal an ihrer Außenseite isoliert war. Die Temperatur im Inneren des Versuchskastens, in den verschiedenen Wandschichten und im Glaskasten wurde durch eine Gruppe von 8 Thermoelementen, die durch einen Umschalter der Reihe nach mit einem d'Arsonval-Galvanometer verbunden werden konnten, bestimmt. Bei Innenisolation waren die Lötstellen der Thermoelemente wie folgt verteilt: 1 Außenluft, 2 Außenoberfläche der Wand, 3, 4 und 5 lagen hintereinander in der Sandschicht in gleicher Höhe, 6 zeigte die Wandtemperatur unter der Isolierdecke, 7 die der äußeren Schicht der Isolierdecke, 8 die der Luft im Kasten an.

Bei Außenisolation gab 1 die Temperatur der Außenluft, 2 die der Außenoberfläche der Isolierschicht, 3 die der Außenseite der Eisenplatte unter der Isolierschicht an, 4, 5, 6 lagen in der Sandschicht, 7 auf der Innenseite der Wand, während 8 die Temperatur der Innenluft anzeigte. Zur Kontrolle waren innen und außen noch je ein Thermograph aufgestellt. Bei den beiden vorgenommenen Versuchsgruppen wurde das Wärmeleitvermögen der Versuchswand nicht geändert. Geheizt wurde jedesmal 3 Stunden lang, allerdings ließ sich bei dem ungünstigen Wetter bei mehrmaligen Heizversuchen nicht die gleiche Temperatur in dem Glaskasten erzielen. Doch war bei allen Versuchen der Unterschied zwischen Anfangstemperatur und der erreichten Höchsttemperatur immer nur um wenige Zehntel Grade von 16° verschieden.

Bei Versuch 1 war die Versuchswand *innen* mit einer der schon erwähnten Isolierdecken versehen. Die Temperatur der Außenluft stieg nach Ausweis des Thermographen in 3 Stunden von 13,8° auf 30° C. Thermoelektrisch ließen sich leider diese Temperaturen nicht feststellen, da die thermoelektrische Einrichtung für diese Temperatur nicht ausreichte. Die Temperatur der Außen- und Innenluft sowie

der verschiedenen Wandstellen wurde stündlich abgelesen und die gefundenen Zahlen so in die nachstehende Abb. 1 eingezeichnet, daß die verschiedenen Kurven die Temperatur jedes Punktes der Wand zu der gleichen Zeit veranschaulichen. In den Abb. 1 und 2 gibt die

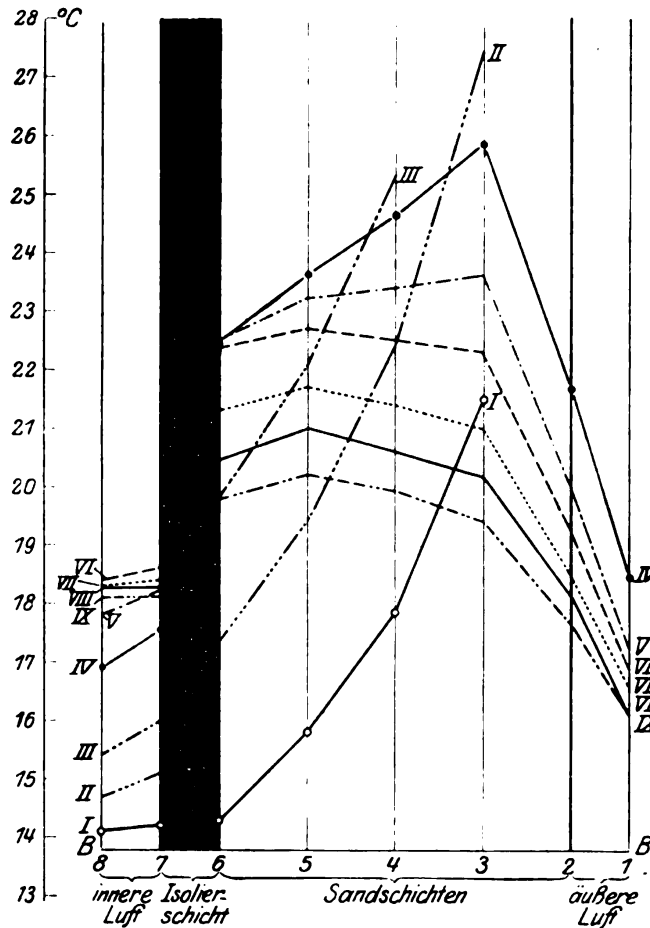


Abb. 1. Temperatur der verschiedenen Schichten im Wandquerschnitt bei Innenisolation.

1 = Außenluft, 2 = Wandaußenoberfläche, 3 = Sandschicht in $1\frac{1}{2}$ cm, 4 = Sandschicht in 8 cm, 5 = Sandschicht in $4\frac{1}{2}$ cm Abstand von der Außenoberfläche, 6 = innere Begrenzung der Wand (zwischen Wand und Isolation, 7 = Oberfläche der Isolierschicht, 8 = Innenluft. B = Temperaturverlauf bei Beginn des Versuchs. I—IX = Temperaturverlauf am Ende der 1.—9. Stunde nach Beginn des Versuchs.

hohe Temperaturen an. So steigt die Temperatur der Wandoberfläche unter der Isolierschicht nach 5 Stunden, d. h. also 2 Stunden nach Beendigung der Erwärmung um $8,7^\circ$ über die Ausgangstemperatur. Die Isolierschicht setzt freilich dem Übergang der Wärme auf die Luft im Inneren des Kastens einen großen Widerstand entgegen, was sich durch den steilen Temperaturabfall zwischen der Eisenplatte

Linie B—B die Temperatur bei Beginn des Versuches, die Kurven I—IX diejenige 1—9 Stunden nach Beginn an. Leider fielen in der Anheizperiode verschiedene der erreichten Temperaturen außerhalb des Meßbereiches der benutzten Einrichtung, wodurch das Bild der Zeichnung unvollständig wurde. Trotzdem erkennt man deutlich, daß bei Innenisolation die der Außenwand zugeführte Wärme schnell in die äußeren Wand-schichten eindringt. In den Erwärmungsstunden steigt zunächst die Temperatur der nach dem Kasteninneren zu gelegenen Schichten verhältnismäßig wenig, später nehmen sie aber durch Wärmeausgleich in der Wand auch verhältnismäßig

und der Innenoberfläche der Isolierdecke bemerkbar macht. Dieser beträgt nach 5 Beobachtungsstunden $4,3^\circ$. Die Temperatur der Innenluft zeigt im Laufe von 6 Stunden einen Unterschied von $4,6^\circ$. Dann beginnt sie sehr langsam zu sinken. Die im Inneren der Wand gespeicherte Wärmemenge sinkt von der 4. Stunde an beträchtlich infolge starken Abflusses nach außen. Am Ende der Beobachtung, in der 9. Stunde hat sich die Temperatur in den verschiedenen Schichten der Wand beträchtlich ausgeglichen. Die mittlere planimetrisch gefundene Temperaturdifferenz beträgt dann $5,7^\circ$. Es hat sich also in der Wand ein beträchtlicher Wärmespeicher gebildet.

Bei Versuch 2 (s Abb. 2) war die *äußere* Wandoberfläche mit derselben Decke isoliert, und in gleicher Weise fand wieder 3 Stunden lang die Erwärmung der Außenwand statt. Dank der Isolierung vermag die gleiche wie in Versuch 1 zugeführte Wärmemenge die Temperatur der ersten Wandschicht, die die Isolierdecke berührt, im Laufe der ersten Heizstunde nur um $4,2^\circ$ zu erhöhen. In der 3. Heizstunde weist die erste

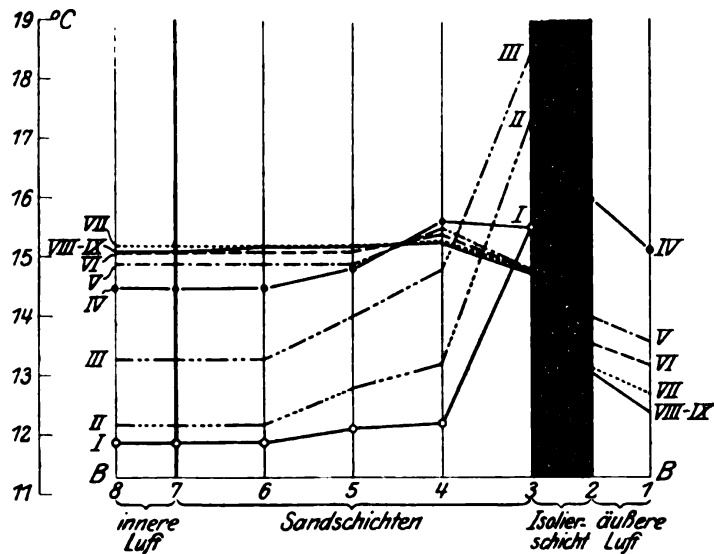


Abb. 2. Temperatur der verschiedenen Schichten im Wandquerschnitt bei Außenisolation. I = Außenluft, 2 = Oberfläche der Isolierschicht, 3 = äußere Begrenzung der Wand zwischen Isolation und Wand, 4 = Sandschicht in $1\frac{1}{2}$ cm, 5 = Sandschicht in 8 cm, 6 = Sandschicht in $4\frac{1}{2}$ cm Abstand von der Wandaußenoberfläche, 7 = innere Begrenzung der Wand, 8 = Innenluft. Übrige Bezeichnungen wie bei Abb. 1.

Wandschicht an genannter Stelle eine Differenz von $7,2^\circ$ auf, und schon in der Mitte der Wand zeigt die Temperatur in dieser Stunde nicht mehr als $2,7^\circ$ Differenz. In der 4.—6. Stunde, d. h. 1.—3. Stunde nach Abstellen der Wärmequelle hat sich die Temperatur in der Wand ausgeglichen, und es hat sich fast in der ganzen Wand eine Temperatur hergestellt, die $3,9^\circ$ über der ursprünglichen lag. Nach Ablauf von 7 Stunden ergab sich eine Differenz der Innenluft von $4,0^\circ$ gegenüber ihrer Ausgangstemperatur, dann begann auch bei diesem Versuch die Temperatur abzufallen.

Die Differenzen von Innenlufttemperatur und Ausgangstemperatur am Ende der einzelnen Beobachtungsstunden bei den beiden Versuchsgruppen sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Nach Stunden	Bei Außenisolation	Bei Innenisolation
1	0,6°	0,3°
2	0,9°	0,9°
3	2,0°	1,6°
4	3,2°	3,1°
5	3,6°	4,0°
6	3,8°	4,6°
7	4,0°	4,5°
8	3,8°	4,5°
9	3,8°	4,3°

Wenn nun diese beiden Ergebnisse zueinander in Beziehung gebracht werden, so ergibt sich, daß die außen isolierte Wand die Wärme weniger rasch auf die Innenluft überträgt als die innen isolierte. Auch die im Sommer unerwünschte Wärmespeicherung macht sich in ihr weniger bemerkbar. Bei ihren Heizversuchen hatten *Korff-Petersen* und *Liese* gefunden, daß während der Anheizperiode bei der innen isolierten Wand mehr Wärme an die Außenluft abgegeben wird als bei der außen isolierten. Und *Liese*¹⁾ hat diese Tatsache noch eingehender studiert. Meine Versuche sind gewissermaßen die Umkehrung der ihrigen. Es zeigt sich denn auch anfangs insofern Übereinstimmung zwischen meinen Versuchen und jenen, als die Innentemperatur bei der innen isolierten Wand zunächst langsamer ansteigt als bei der außen isolierten. Später aber kehrt sich das Verhalten um, und bei der innen isolierten Wand nimmt die Innentemperatur rascher zu. Diese scheinbare Divergenz erklärt sich dadurch, daß bei den Heizversuchen *Korff-Petersens* und *Lieses* die Temperatur der Außenluft durch die abströmende Wärme nicht verändert wird, während bei meinen die Innenlufttemperatur rasch der Temperatur auf der Innenoberfläche der erwärmten Wand folgt. Es zeigt dies Verhalten aber, daß es nicht zulässig ist, aus der Tatsache, daß eine Wandkonstruktion sich thermisch im Winter bewährt, ohne weiteres zu folgern, daß sie auch für sommerliche Verhältnisse besonders günstig sein muß.

Hat es sich nun gezeigt, daß für den Winter die Innenisolation der Wände bei entsprechender Heizeinrichtung der Außenisolation vorzuziehen ist, dagegen im Sommer das Umgekehrte der Fall ist, so ist schließlich zu entscheiden, welche von diesen beiden Anordnungen für Kleinhäuser vorzuziehen sei.

Hier ist zunächst darauf hinzuweisen, daß bei meinen Versuchen die Unterschiede bei Innen- und Außenisolation keine besonders großen waren. Ferner muß berücksichtigt werden, daß die billige Heizbarkeit für das Kleinhaus von ausschlaggebender Bedeutung ist. An sich sind Kleinhäuser wegen ihrer verhältnismäßig großen Außenoberfläche

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. 98.

schon schwerer heizbar als Großhäuser, besonders wenn die Anordnung nicht so getroffen wird, daß die Nebenräume die Wohnräume umgeben und dadurch vor zu großem Wärmeverlust schützen. Wird dann nicht alle Sorgfalt auf einen möglichst großen Wärmeschutz der Wände verwandt, so verschlingt die Heizung alle beim Bau etwa erzielten Ersparnisse, und das Kleinhaus wird unrentabel. Demgegenüber spielt der schädigende Einfluß der Sommerhitze auf die Säuglinge in Kleinhäusern keine so große Rolle wie in den Mietskasernen. Im Kleinhaus haben wir nicht die große Anhäufung von inneren Wärmequellen wie in der Mietskaserne. Die Räume sind dem abkühlenden Einflusse des Erdbodens im Kleinhause weniger entzogen als in den oberen Stockwerken des Großhauses, und schließlich ist im Kleinhause leicht die Möglichkeit gegeben, bei allzu großer Hitze die Kleinkinder ins Freie zu bringen und sie dort im Schatten leicht bekleidet der abkühlenden Wirkung der freien Luft auszusetzen. Gegen die unerwünschte Bestrahlung der Wände durch die Sonne kann man sie zweckmäßigerweise durch Berankung mit Schlingpflanzen schützen, wobei allerdings die Außenseite zum Schutze gegen Nässe gut verputzt sein muß, während die Fenster mit Läden oder Jalousien zu versehen sind.

Demnach muß für die Wandkonstruktion des Kleinhauses das thermische Verhalten im Winter maßgebend sein. *Man wird daher theoretisch Innenisolation der Wände mit Dauerheizung und Berankung der Kleinhäuser mit Kletterpflanzen empfehlen müssen.* In der Praxis sind freilich noch verschiedene Momente zu berücksichtigen. Die Untersuchungen *Korff-Petersens* und *Lieses* haben zur Voraussetzung, daß gleichwertige Heizeinrichtungen und Brennstoffe verwandt werden. Das kann in der Praxis nicht immer durchgeführt werden. Es ist daher wohl möglich, daß hier ein Kachelofen, der minderwertige Brennstoffe gut ausnutzen kann, billiger arbeitet als ein Dauerbrandofen, der auf den teuren und hochwertigen Anthrazit angewiesen ist. Es wird dann Aufgabe des Heizungstechnikers bzw. des praktischen Kaufmannes sein, von Fall zu Fall das ökonomisch Günstigere herauszufinden.

Auch wird man sich bei Dauerheizung vor Überhitzung zu hüten haben, da es sonst leicht zu einer Verzärtelung der Bewohner, die diese zu Erkältungskrankheiten disponiert, kommen kann.

Werden aber die im vorhergehenden geschilderten Momente beachtet, so ist es möglich, das Kleinhaus auch in thermischer Hinsicht allen Anforderungen der Hygiene anzupassen.

(Aus der Abteilung für Chemotherapie des Instituts für Infektionskrankheiten
„Robert Koch“.)

Über Zustandsänderungen der Streptokokken im Tierkörper.

III. Mitteilung.

Von

R. Schnitzer und F. Munter.

In den ersten beiden Mitteilungen¹⁾ haben wir ausführlich über Versuche berichtet, hämolytische Streptokokken verschiedenen Virulenzgrades durch kurzdauernde Mäusepassagen in einen mehr oder weniger avirulenten Zustand überzuführen, wobei wir als Indicator den Verlust der Hämolyse und das Wachstum mit grüner Verfärbung des Blutagars benutzen konnten. Zu diesem Zwecke wurden Mäuse intraperitoneal mit kleinen Mengen geeigneter Kulturverdünnungen hämolytischer Streptokokken infiziert; bei Abimpfung aus der Bauchhöhle und den Organen fanden wir innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Infektion regelmäßig das Auftreten grünwachsender Kolonien.

Derartige im Tierkörper „vergrünte“ Streptokokken boten als auffallendstes Merkmal eine bei den hochvirulenten Stämmen besonders deutlich in die Erscheinung tretende weitgehende Verminderung ihrer Pathogenität für Mäuse, die oft, aber nicht in allen Fällen zu völliger Avirulenz geführt hatte; mehrere Stämme riefen in großer Dosis, besonders bei subcutaner Injektion, schwache Infektionen der Mäuse hervor. Eine Abschwächung der Virulenz war auch gelegentlich bei hämolytischen Stämmen zu beobachten, die in den ersten Stunden nach der Infektion aus Bauchhöhle oder Organen von Mäusen gezüchtet waren. Es kam jedoch bei diesen nach unseren bisherigen Erfahrungen nie zu einem so ausgesprochenen Niederbruch der Virulenz wie bei den vergrünten Stämmen. Hierbei darf aber vom methodischen Standpunkte nicht vergessen werden, daß man bei der Untersuchung der hämolytischen Kolonien, wo eben die Führung durch das Merkmal des veränderten Wachstums fehlt, in einem ganz anderen Maße als bei den vergrünten Kolonien auf den Zufall angewiesen ist. Unsere Versuche

¹⁾ *Schnitzer und Munter, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* **93**, 96 und **94**, 107. 1921. Siehe auch die erste kurze Mitteilung *Morgenroths, Berl. klin. Wochenschr.* 1919, S. 1172.

sprechen dafür, daß auch der hämolytische Anteil der Streptokokkenpopulation in den ersten Stunden nach der Infektion die verschiedensten Virulenzgrade aufweist und eine entsprechende Ausdehnung der Versuche würde wohl auch völlig avirulente Modifikationen zur Anschauung bringen.

Es konnte ferner gezeigt werden, daß frisch im Körper der Maus vergrünte Streptokokken die Fähigkeit besaßen, die ursprüngliche Eigenschaft der Hämolyse und damit auch die Virulenz des hämolytischen Ausgangsstammes wiederzugewinnen, wenn man sie in großer Dosis Mäusen intraperitoneal oder subcutan injizierte.

Die theoretischen Anschauungen, die sich uns aus diesen Beobachtungen ergaben, gingen dahin, daß *hämolytische Streptokokken in den ersten Stunden nach der Infektion von Mäusen ein Stadium hochgradig abgeschwächter Virulenz durchmachen, in welchem sie durch das Wachstum mit grüner Verfärbung des Blutagars gekennzeichnet sein können. In einem gewissen Maße aber wohnt den vergrünten Keimen die Fähigkeit inne, im Tierkörper in den ursprünglichen Zustand der ihnen eigenen Virulenz zurückzuschlagen und dabei auch die Fähigkeit der Hämolyse wiederzugewinnen. Dieser Rückschlag tritt wahrscheinlich auch im spontanen Infektionsablaufe, der in unseren Versuchen zu bestimmten Zeitpunkten unterbrochen wird, auf, und so kamen wir zu dem Schluß, daß „die temporäre Virulenzverminderung und die damit unter Umständen verbundene, potentiell bleibende Vergrünung als eine bisher nicht bekannte wesentliche Phase des tödlichen Infektionsablaufes anzusehen sei“.*

Neuere Untersuchungen *Morgenroths* und *Schnitzers*¹⁾ über die Empfindlichkeit derartiger vergrünter Streptokokkenstämme gegenüber spezifisch wirkenden chemotherapeutischen Antiseptics haben gezeigt, daß den grünwachsenden Streptokokken, verglichen mit ihren hämolytischen Ausgangskulturen, auch in dieser Hinsicht eine Sonderstellung zukommt. Die Beeinflussbarkeit vergrünter Streptokokken durch Rivanol und Vuzin in vitro ist quantitativ verändert, beim Rivanol ist sie stets geringer als die der zugehörigen hämolytischen Stämme, während Vuzin auf die grünwachsenden Stämme gleich gut, schlechter oder besser wirken kann, als auf die entsprechenden Stämme im hämolytischen Zustande.

Versuche über die Umwandlung hämolytischer Streptokokken in den grünen Zustand im Tierversuch, die *Kuczynski* und *Wolff*²⁾ angestellt haben, hatten nach den ersten Mitteilungen der Autoren offenbar im wesentlichen das gleiche Ergebnis wie die unsrigen. Dies war zu erwarten, da den Autoren von *Morgen-*

¹⁾ *Morgenroth* und *Schnitzer*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 77. 1922.

²⁾ *Kuczynski* und *Wolff*, Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 33 und 34; ebenda 1921, S. 794; Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **92**, 119. 1921. — *Kuczynski*. Klin. Wochenschr. 1922, S. 1413.

roth der Stamm „23“ überlassen war, der auch in unserer Hand das Phänomen der Vergrünung zeigte¹⁾.

Weiterhin erwachsen diesen Untersuchern Schwierigkeiten, die wir bei der Ausbildung unserer Methodik und bei immer mehr vergrößertem Umfange der Versuche nicht kennengelernt haben. Sie fanden „nach anfänglich sehr günstigen Erfahrungen mit verschiedenen Stämmen einige Streptokokkenstämme, die sich einem Umwandlungsversuch gegenüber ganz negativ verhielten“. Zur Vergrünung derartiger Streptokokken empfehlen die Untersucher, die Mäuse vor dem Vergrünungsversuch mit dem hämolytischen Stamm zu „immunisieren“ und geben protokollarisch einen Versuch wieder, in welchem bei einer von 7 Mäusen die Vergrünung gelungen ist. Hierzu ist zu bemerken, daß man bei geeigneter Dosierung ohne jede langwierige Vorbehandlung weit bessere Resultate erhält. Übrigens geben die Autoren keinen Beweis für ihre Behauptung, daß die mehrfache Impfung an der Schwanzwurzel überhaupt zu einer Immunität führt. Dazu kommt noch, daß uns die neue Versuchsanordnung um so bedenklicher erscheint, als *Kuczynski* und *Wolff* selbst angeben, daß „auch im Laufe der geschilderten Immunisierung, zuweilen auch längere Zeit nach ihrem Abschluß Mäuse sterben, die dann in irgendeinem Organ, vorzüglich Herz und Nieren Viridanskokken in großer Menge aufweisen“.

Zur Anstellung von Vergrünungsversuchen ist danach diese Methode mit ihren zahlreichen unvermeidbaren und durch noch so viel Kontrollen nicht auszuschaltenden Fehlerquellen ungeeignet, und sie wäre selbst dann nicht zu billigen, wenn ihre Ergebnisse besser wären, als die mit der einfachen von uns geübten Technik erzielten.

Auf die Haltlosigkeit der zuerst von *Kuczynski* und *Wolff* aufgestellten Behauptung, daß die Vergrünung hämolytischer Streptokokken hauptsächlich in der Lunge der Versuchstiere sich abspiele, sind wir bereits in unserer ersten Mitteilung eingegangen.

Was nun die vergrünten Keime selbst betrifft, so werden sie, wie schon erwähnt, von *Kuczynski* und *Wolff* als grünwachsende Streptokokken vom Typ des *Str. viridans* aufgefaßt und sollen die zum Untergang bestimmten Standortsvarietäten des hämolytischen Streptokokkus im „hochresistenten“ Organismus darstellen. Im Sinne dieser Anschauung lehnten die Autoren die Möglichkeit eines Rückschlages in den hämolytischen Zustand ab und waren daher gezwungen, auf Grund ihrer experimentellen Befunde eine neue Gruppe von Streptokokken einzuführen, bei denen ein solcher Rückschlag möglich ist und die sie als „Pseudoviridans“ bezeichnen. Die Unhaltbarkeit dieser Einteilung haben wir gleichfalls in unserer ersten Mitteilung eingehend begründet.

Neuerdings jedoch schließt sich *Kuczynski* mehr unseren Anschauungen an, da er annimmt, daß die grünwachsenden Streptokokken des Rachens „im Anschluß an einen akuten Infektionsvorgang“ in den hämolytischen Zustand übergehen können. Er stützt sich dabei auf Versuche in vitro, bei denen er das Auftreten reversibler Vergrünungen gefunden hat, Tatsachen, die von *Morgenroth* bei seinen chemotherapeutischen Streptokokkenstudien schon vor Jahren beobachtet und mitgeteilt wurden²⁾.

¹⁾ Wir möchten hier nochmals betonen, daß *Morgenroth*, *Schnitzer* und *Munter*, gegenüber *Kuczynski* und *Wolff* die Priorität dieser, wie wir glauben, wichtigen Versuche zukommt. Deshalb müssen wir auch mit aller Entschiedenheit dagegen Stellung nehmen, daß *Kuczynski* uns als Bestätiger seiner „Zeitregel“ hinstellt.

²⁾ *Morgenroth*, Berl. klin. Wochenschr. 1919, S. 1172; siehe auch *K. Koch*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. 227, 39. 1919.

Ferner haben *Hintze* und *Kühne*¹⁾ an einer Reihe frisch von menschlichen Erkrankungen gezüchteter Streptokokkenstämme Versuche in der von uns angebahnten Richtung angestellt. Dabei gelang ihnen in einem Falle der Nachweis der Vergrünung im Tierversuch mehrmals 2 und 4 Stunden nach der Infektion. Bei einem anderen Stamme wurden in einer 7 Tage nach der Infektion mit hämolytischen Streptokokken verendeten Maus grüne Keime gefunden, während in einem weiteren Versuche geschildert ist, daß die aus einer 3 Stunden nach der Infektion getöteten Maus gewonnenen hämolytischen Streptokokken bei weiterer Fortzucht vergrüneten, während der gleichartig behandelte Ausgangsstamm sich nicht veränderte. Die Autoren beschreiben ferner gelegentliche Vergrünung hämolytischer Stämme bei längerer Fortzucht, doch gelang es ihnen nicht, diese Umwandlung willkürlich durch dauernden Aufenthalt der Kulturen bei 37° C hervorzurufen. Auf Grund ihrer Beobachtungen bestätigen *Hintze* und *Kühne* die von uns beschriebenen Tatsachen und lehnen mit uns die Ansicht *Kuczynskis* und *Wolffs* ab, daß die Lunge der hauptsächlichste Ort der Vergrünung sei. Virulenzprüfungen der von ihnen gewonnenen vergrüneten Stämme ergaben Virulenzabschwächung der Keime, aber keine völlige Apathogenität; Rückschlag in den hämolytischen Zustand fanden sie nicht²⁾.

Wir müssen gegenüber den Angaben von *Kuczynski* und *Wolff* an unserer Ansicht festhalten, daß es bei geeigneter Gestaltung der Versuche immer gelingt, hämolytische Streptokokken in den avirulenten grünen Zustand überzuführen, da bisher noch bei jedem Stamme, bei welchem wir die Umwandlung versuchten, diese bei Anwendung einer geeigneten, genau einzustellenden Infektionsdosis auch gelungen ist.

Im folgenden berichten wir über eine Reihe von neuen Versuchen, in denen wir systematisch den Einfluß der angewandten Infektionsmengen auf den Erfolg der Vergrünung festgestellt haben. Die bei einer größeren Anzahl der Versuche vorgenommenen Untersuchungen über das weitere Verhalten der vergrüneten Stämme werden gleichzeitig die Kenntnis von dem Wesen und der biologischen Bedeutung dieser Keime zu ergänzen suchen.

¹⁾ *Hintze* und *Kühne*, Zentralbl. f. Bakt.- u. Parasitenk. 88, 352. 1922.

²⁾ *Nachtrag bei der Korrektur*: In einer soeben erschienenen Mitteilung bestätigt *E. F. Müller* (Verhandlungen d. 34. Kongresses der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, Wiesbaden, 1922 S. 530) unsere Versuche über Vergrünung der Streptokokken. Da ihm jedoch die experimentelle Vergrünung hämolytischer Streptokokken, die bei puerperaler Sepsis aus dem Blute der Kranken gezüchtet wurden, nicht gelungen ist, und da er auch bei der klinisch-bakteriologischen Untersuchung derartiger Fälle keine Zustandsänderungen der Streptokokken beobachten konnte, so nimmt er an, daß in der Pathologie der menschlichen Streptokokkeninfektionen Zustandsänderungen der Streptokokken keine Rolle spielen. Nach seinen Untersuchungen sind ferner die „vergrüneten“ Streptokokken nicht mit dem *Str. viridans* (*Schottmüller*) identisch. Unsere Stellungnahme zu diesen Fragen ist aus der vorliegenden Mitteilung zu ersehen; die Übertragung unserer experimentellen Beobachtungen auf den kranken Menschen ist noch nicht spruchreif und bedarf weiterer experimenteller Klärung.

Die Streptokokkenstämme, welche uns zu den Versuchen dienten, sind zum größten Teil frisch aus menschlichen Erkrankungen gezüchtet worden¹⁾. Nur in einem Falle untersuchten wir einen älteren, seit ca. $\frac{3}{4}$ Jahren in Pferdeserum nach *Ungermann* konservierten Stamm, in einem weiteren Versuche einen älteren hochvirulenten Laboratoriumsstamm, der Mäusepassagen durchgemacht hatte. Die meisten frischen Stämme hatten nur schwache bis mittlere Virulenz für Mäuse, doch konnten wir auch einen frischen, für Mäuse hochvirulenten Streptokokkenstamm untersuchen.

Durch fraktionierte Aussaat auf Blutagar wurde in jedem Falle festgestellt, ob der Stamm spontan grüne Kolonien abspaltete. Die zu den Versuchen dienenden Kulturen wurden von hämolytischen Einzelkolonien abgeimpft, waren rein hämolytisch und wurden in regelmäßig wechselndem Turnus auf Blutagarplatten und in Serumbouillon bei täglicher Überimpfung gezüchtet. Zum Blutagar wurde schwach alkalischer 2proz. Agar mit einem Zusatz von 8proz. Pferde- oder Ziegenblut verwandt, die Serumbouillon enthielt 10proz. inaktives Pferdeserum. Jedem Versuch ging eine Einstellung der Virulenz bei intraperitonealer und subcutaner Infektion voraus.

Die Versuchsanordnung entsprach im einzelnen durchaus den von uns in der ersten und zweiten Mitteilung gemachten Angaben.

Mäuse wurden intraperitoneal mit bestimmten Verdünnungen ca. 18stündiger Serumbouillonkulturen hämolytischer Streptokokken infiziert und nach 1, 2, 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut, Niere und gelegentlich auch von der Lunge auf Blutagar abgeimpft. Um Keimverschleppungen zu vermeiden, wurde in allen Fällen der Thorax vor der Bauchhöhle eröffnet und vom Herzblut abgeimpft, die Organe der Bauchhöhle wurden in steriler Kochsalzlösung gründlich abgespült und dann von einer frisch angelegten Schnittfläche abgeimpft. In einigen Versuchen wurden die Mäuse nach Ablauf der beiden ersten Stunden nicht getötet, sondern die Bauchhöhle mit sterilen Glascapillaren punktiert und die so gewonnene, meist spärliche Flüssigkeit auf Blutagar ausgestrichen.

Die Ablesung der Blutagarplatten erfolgte nach ca. 20stündiger Bebrütung. Grüne Einzelkolonien wurden auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und in dem üblichen regelmäßigen Turnus auf festem und flüssigem Nährboden mindestens 2 Wochen lang bei täglicher Überimpfung fortgezüchtet.

Zur Bezeichnung der Stärke des Streptokokkenwachstums bedienen wir uns der folgenden Zeichen:

- 0 kein Wachstum,
 - (+) bis 50 Kolonien,
 - + bis 200 Kolonien,
 - ++ zahlreiche gut trennbare Kolonien,
 - +++ dichter Rasen konfluierter Kolonien,
 - nicht untersucht.
- „h.“ bedeutet hämolytische, „gr.“ grüne Kolonien.

Wir berichten zunächst über einige Versuche, bei welchen bereits beim ersten Male die Vergrünung des betreffenden hämolytischen Stammes gelang.

¹⁾ Die Mehrzahl der hier untersuchten Streptokokkenstämme verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. K. Meyer, Leiter der bakteriologischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses.

Versuch 1 mit Str. Rö.

Str. Rö., am 3. XII. aus Eiter gezüchtet, wächst in Serumbouillon klar mit starkem Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Eine fraktionierte Aussaat 18stündiger Serumbouillonkultur am 5. XII. ergab spontane Abspaltung einiger grüner Kolonien. Es wird von einer hämolytischen Einzelkolonie auf Blutagar und Serumbouillon abgeimpft. Dieser Stamm zeigt bei fraktionierter Aussaat keine Abspaltung grüner Kolonien mehr.

Eine Einstellung der Virulenz bei intraperitonealer Infektion ergibt, daß 0,3 ccm einer 1 : 10, bzw. 1 : 100 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur binnen 1—3 Tagen Mäuse töten; 0,3 ccm 1 : 1000-Kultur töten nach 3 Tagen. Im Subcutangewebe der Maus ließen sich noch mit 0,2 ccm einer 1 : 10 000 verdünnten Serumbouillonkultur Phlegmonen erzeugen, aus denen dichtester Rasen hämolytischer Streptokokken wuchs.

Versuch : Am 7. I. werden 2 Mäuse mit je 0,3 ccm einer 1 : 1000 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur intraperitoneal infiziert, nach einer Stunde, bei einem Tier auch nach 2 Stunden, wird durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und auf Blutagar ausgestrichen, nach 2 Stunden wird ein Tier, das zweite nach 3 Stunden getötet und vom Peritoneum, aus Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Bei Punktion der Bauchhöhle nach 1 Stunde wurden von beiden Mäusen nur spärlich hämolytische Streptokokken gezüchtet. Die nach 2 Stunden getötete Maus zeigt bei Abimpfung auf Blutagar vom Peritoneum 15 hämolytische Kolonien, aus der Niere wuchsen 4 hämolytische Kolonien, daneben reichlich grüne Kolonien, während die Aussaat des Herzblutes kein Wachstum von Streptokokken ergab. Die nach 3 Stunden getötete Maus hatte keine Streptokokken in Bauchhöhle und Herzblut, aus der Niere wuchsen 2 hämolytische, 1 grüne Kolonie.

Der Versuch zeigt, daß es gelang, den hämolytischen Str. Rö. durch intraperitoneale Verimpfung in kleiner Dosis 2 und 3 Stunden nach der Infektion in den grünen Zustand überzuführen. Die grünen Kolonien wurden in beiden Fällen aus der Niere gewonnen. Der von diesen Kolonien gezüchtete Stamm behielt bei weiterer regelmäßiger Fortführung auf Nährböden den grünen Zustand bei. Eine Prüfung im Tierversuch wurde nicht vorgenommen.

Versuch 2 mit Str. Re.

Str. Re. wurde Ende Januar aus einer Phlegmone gezüchtet; der Stamm wuchs in Serumbouillon leicht trübe mit geringem Bodensatz, auf Blutagar bildete er zarte Kolonien mit starken hämolytischen Höfen.

Bei einer Virulenzeinstellung an Mäusen mit intraperitonealer Infektion töteten 0,3 ccm einer 1 : 100 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur. Schwächere Verdünnungen wurden nicht geprüft.

Der Stamm wurde am 10. II. auf Pferdeserum nach *Ungermann* verimpft¹⁾ und nach 24stündiger Bebrütung bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt.

¹⁾ Vgl. dazu *Fr. Pulvermacher*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 89. 1922.

Am 5. X. wurde der Stamm nach Zwischenschaltung einer Blutagarpassage von dem ersten Ungermann-Serumröhrchen auf ein zweites übertragen, das gleichartig aufbewahrt wurde. In derselben Weise wurde von der zweiten Serumkultur eine dritte am 29. XII. angelegt.

Anfang Januar des folgenden Jahres wurde von diesem dritten Röhrchen auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft. Dabei *war keine Abspaltung grüner Kolonien zu beobachten*. Hinsichtlich seines Verhaltens im Tierkörper hatte sich der Stamm anscheinend nicht verändert, da bei einer Prüfung der Pathogenität bei subcutaner Infektion von Mäusen sich zeigte, daß noch durch 0,2 ccm einer 1 : 10 000 verdünnten Serumbouillonkultur Phlegmonen hervorgerufen wurden, von denen dichter Rasen hämolytischer Kolonien wuchs.

Versuch vom 7. I.

2 Mäuse werden intraperitoneal mit je 0,3 ccm einer Verdünnung 1 : 1000 18stündiger Serumbouillonkultur infiziert. Beiden Tieren wird nach einer Stunde durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und dieses auf Blutagar ausgestrichen. Nach 2 Stunden wird ein Tier getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft. Gleichzeitig wird das zweite Tier nochmals punktiert. Dieses wird schließlich 3 Stunden nach der Infektion getötet, sezirt und in der üblichen Weise bakteriologisch untersucht.

Nach 1 und 2 Stunden wurden sowohl bei Punktion der Bauchhöhle, wie bei Abimpfung der einen nach 2 Stunden getöteten Maus nur zahlreiche, aber gut getrennte hämolytische Kolonien gezüchtet. Bei der nach 3 Stunden getöteten Maus fanden wir reichlich hämolytische Kolonien in der Aussaat der Bauchhöhle, vom Herzblut wuchsen 5 hämolytische, *aus der Niere je 10 hämolytische und grüne Kolonien*.

Bei dem hämolytischen Str. Re., der bei nur 3 maliger Verimpfung fast 1 Jahr lang auf Serum nach *Ungermann* gehalten wurde und welcher keine spontane Abspaltung grüner Kolonien zeigte, gelang es, 3 Stunden nach der intraperitonealen Infektion von Mäusen mit kleinen Mengen Serumbouillonkultur den Stamm in den grünen Zustand überzuführen. Die grünen Kolonien traten in der Niere auf. Bei weiterer ungefähr 14 Tage fortgeführter Züchtung auf Blutagar und in Serumbouillon behielt der von diesen Kolonien gezüchtete Stamm den grünen Zustand bei.

Versuch 8 mit Str. Wen.

Str. Wen., am 4. XI. aus dem Blute eines Sepsiskranken gezüchtet, wächst in Serumbouillon klar mit Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Bei fraktionierter Aussaat einer 18stündigen Serumbouillonkultur des Stammes findet keine Abspaltung grüner Kolonien statt.

Eine Virulenzinstellung bei intraperitonealer Infektion ergab, daß 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten Serumbouillonkultur des Stammes — stärkere Dosis wurde nicht angewandt — Mäuse nicht töten. Doch ruft diese Dosis, sowie die 10fach schwächere 0,3 ccm 1 : 100-Kultur eine Infektion der Bauchhöhle und der Organe hervor, die nach 3 Tagen noch nachweisbar ist; 0,3 ccm 1 : 1000-Kultur gehen im Tiere nicht mehr an.

Im Subcutangewebe der Maus erzeugt Str. Wen. in der Dosis von 0,2 ccm 1 : 10- und 1 : 100-Kultur Phlegmonen, während 0,2 ccm 1 : 1000 und 1 : 10 000 nicht mehr angingen.

Versuch vom 8. XI.

3 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit 0,3 ccm einer 1 : 1000 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur des Str. Wen. 2 Mäuse werden nach 1 Stunde, die dritte nach 2 Stunden getötet, sofort sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut, Lunge und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Aus der Bauchhöhle der einen nach 1 Stunde getöteten Maus wuchsen zahlreiche hämolytische Kolonien, einzelne hämolytische Kolonien waren aus der Niere zu züchten. Bei der zweiten, zum selben Zeitpunkt getöteten Maus fanden wir nur in der Aussaat der Niere 5 hämolytische Kolonien. *Aus der nach 2 Stunden getöteten Maus wurden spärlich hämolytische und grüne Kolonien aus der Bauchhöhle gewonnen, aus der Niere wuchsen 10 schwach hämolytische Kolonien neben 1 stark hämolytischen*, während Herzblut und Lungen steril waren.

Der von einem Sepsiskranken stammende, für Mäuse sehr wenig virulente hämolytische Str. Wen. wurde durch intraperitoneale Infektion mit sehr kleiner Dosis in den grünen Zustand übergeführt. Grüne Kolonien wurden neben hämolytischen aus der Bauchhöhle einer 2 Stunden nach der Infektion getöteten Maus gezüchtet. Aus der Niere desselben Tieres wurden einzelne schwach hämolytische Kolonien gewonnen.

Versuch 4 mit Str. 57¹⁾.

Str. 57, am 23. IV. aus dem Eiter eines Douglasabscesses gezüchtet, wächst in Serumbouillon trübe mit geballtem, zähem Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte Kolonien mit breiten hämolytischen Höfen.

Bei fraktionierter Aussaat 18stündiger Serumbouillonkultur des Stammes auf Blutagar traten keine grünen Kolonien auf.

Bei intraperitonealer Infektion töteten 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur Mäuse in 24 Stunden. Eine mit 0,3 ccm 1 : 100-Kultur infizierte Maus wurde nach 8 Tagen getötet und zeigte bei Abimpfung auf Blutagar noch reichlich hämolytische Streptokokken in der Bauchhöhle. Zu diesem Zeitpunkte erwies sich eine mit 0,3 ccm 1 : 1000-Kultur infizierte Maus als steril.

Bei subcutaner Infektion am Bauche der Maus wird noch durch 0,2 ccm einer 1 : 10 000 verdünnten Kultur eine Phlegmone hervorgerufen, von der dichtester Rasen hämolytischer Kolonien wächst.

Versuch vom 2. V.

4 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit 0,3 ccm einer 1 : 1000 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur des Str. 57. 1 Stunde nach der Infektion wird eine Maus getötet, sezirt und abgeimpft, den anderen Tieren wird durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und auf Blutagar verimpft. Eine zweite Maus wird nach 2 Stunden getötet, sezirt und abgeimpft und gleichzeitig bei den beiden letzten Tieren eine Punktion der Bauchhöhle vorgenommen, das Exsudat auf Blutagarplatten ausgestrichen. Die beiden letzten Mäuse werden nach 3 Stunden getötet, sezirt und wie bei den vorigen aus der Bauchhöhle, aus Herzblut, Lunge und Niere auf Blutagar abgeimpft.

¹⁾ Bei diesem und dem folgenden Versuche unterstützte uns Herr Dr. O. Nakamura.

Das Ergebnis des Versuches zeigt die folgende Tabelle:

Maus Nr.	Zeitpunkt der Abimpfung	Auf Blutagar			
		Peritoneum	Herzblut	Lunge	Niere
1	Getötet nach 1 Std.	++ h. Kol. 1 gr. Kol.	0	25 h. Kol.	+ h. Kol. 1 gr. Kol.
2	Punktion „ 1 „	+ h. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 2 „	+(+) h. Kol.	0	0	(+) h. Kol. 1 gr. Kol.
3	Punktion „ 1 „	+ h. Kol.	—	—	—
	„ „ 2 „	6 h. Kol. 2 gr. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 3 „	(+) h. Kol.	0	0	10 h. Kol.
4	Punktion „ 1 „	+++ h., 1 anh. Kol.	—	—	—
	„ „ 2 „	(+) h. Kol. 2 gr. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 3 „	12 h. Kol.	1 gr. Kol.	1 gr. Kol.	0

Der frisch vom Menschen gezüchtete, hämolytische Streptokokkus 57, der für Mäuse nur wenig virulent war, wird bei Infektion mit kleiner, nicht tödlicher Dosis in der Bauchhöhle der Mäuse in den grünen Zustand übergeführt. Es gelingt, bei allen 3 Versuchstieren sowohl in Bauchhöhlenflüssigkeit, wie in den Organen der getöteten Tiere innerhalb der ersten 3 Stunden grüne Kolonien nachzuweisen.

Es wurde von den grünen Einzelkolonien auf Blutagar abgeimpft. Dabei erhielt man von der oben angeführten grünen Kolonie aus Stämme, die üppig, mit intensiv grüner Verfärbung des Blutagars wuchsen. Der von der grünen Kolonie von Maus 1 (Peritoneum) gezüchtete Stamm wuchs in der zweiten Generation schwach hämolytisch, der von der anhämolysierenden Kolonie des Punktats von Maus 4 gewonnene Stamm zeigte auf Blutagar leichtgrüne Verfärbung; von den nach 2 Stunden von der Aussaat des Punktats derselben Maus abgeimpften grünen Kolonien wuchs in der Folgezeit ein ganz anhämolysierender Stamm, die zweite ließ sich nicht fortzüchten. Auch der bei der Abimpfung der Niere von Maus 1 erhaltene grünwachsende Streptokokkus ließ sich auf Blutagar und in Serumbouillon nicht weiterzüchten. In Serumbouillon wuchsen die grünen Stämme wie der hämolytische Ausgangsstamm trübe mit zähem Bodensatz, mit Ausnahme des aus dem Herzblut von Maus 4 gewonnenen Stammes, der mit flockigem Bodensatz ohne jede Trübung der überstehenden Bouillon wuchs.

Bei weiterer Fortzüchtung ca. 2 Wochen behielten die grünwachsenden Stämme bei täglicher Überimpfung im wechselnden Turnus Serum-

bouillon-Blutagar-Serumbouillon das grüne Wachstum unverändert bei. Ein Rückschlag erfolgte nicht; ein Tierversuch wurde nicht vorgenommen.

Versuch 5 mit Str. 58.

Str. 58, am 23. IV. aus dem Eiter eines Pleuraempyems gezüchtet, wächst in Serumbouillon klar mit krümeligem Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Bei fraktionierter Aussaat einer Öse 18 stündiger Serumbouillonkultur auf Blutagar trat keine Abspaltung grüner Kolonien auf.

Eine Virulenzeinstellung an Mäusen bei intraperitonealer Infektion ergab als kleinste, binnen 24 Stunden tödliche Dosis 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur. Mäuse, die mit 0,3 ccm 1 : 100- bzw. 1 : 1000-Kultur infiziert waren, erwiesen sich nach 7 Tagen bei bakteriologischer Untersuchung als steril.

Im Subcutangewebe der Maus erzeugten 0,2 ccm einer 1 : 10 verdünnten Kultur geringe Phlegmonen, aus welchen dichter Rasen hämolytischer Streptokokken wuchs. Kleinere Infektionsmengen gingen nicht mehr an.

Versuch vom 2. V.

4 Mäuse werden mit je 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten, 18stündigen Serumbouillonkultur des Str. 58 intraperitoneal infiziert.

Nach 1 Stunde wird eine Maus getötet, sezirt und vom Peritoneum, von Herzblut, Lunge und Niere auf Blutagar abgeimpft. Gleichzeitig wird den übrigen Tieren durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und auf Blutagar ausgestrichen. Nach 2 Stunden wird ein zweites Tier getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht, während an den beiden letzten nochmals eine Bauchhöhlenpunktion vorgenommen wird. Diese beiden Tiere werden nach 3 Stunden getötet, sezirt und wie oben durch Abimpfung auf Blutagar bakteriologisch untersucht.

Das Ergebnis des Versuches zeigt die folgende Tabelle:

Maus Nr.	Zeitpunkt der Abimpfung	Auf Blutagar			
		Peritoneum	Herzblut	Lunge	Niere
1	Getötet nach 1 Std.	+++ h., + anh. Kol.	9 h. Kol.	(+) h. Kol.	+++ h. Kol. 1 gr. Kol.
2	Punktion „ 1 „	+(+) h. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 2 „	+++ h. Kol.	(+) h. Kol.	++ h. Kol. 1 gr. Kol.	+ h. Kol. 1 gr. Kol.
3	Punktion „ 1 „	+(+) h. Kol.	—	—	—
	„ „ 2 „	+++ h. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 3 „	+(+) h. Kol.	0	0	12 h. Kol.
4	Punktion „ 1 „	++(+) h., + anh. Kol.	—	—	—
	„ „ 2 „	+++ h. Kol.	—	—	—
	Getötet „ 3 „	(+) h. Kol. 3 gr. Kol.	0	10 h. Kol.	(+) h. Kol.

Der hämolytische, für Mäuse nur schwach virulente Str. 58 spaltet, in einfach tödlicher Dosis Mäusen intraperitoneal eingespritzt, innerhalb

der ersten 3 Stunden grüne Kolonien ab. Diese waren nach 1 und 2 Stunden in den Organen, nach 3 Stunden im Bauchhöhlenexsudat zu finden. Bei einer Maus (Nr. 3) wurden während der ganzen Untersuchung keine grünen Keime gefunden.

Die weitere Untersuchung der aus den Mäusen 1, 2 und 4 gezüchteten grünwachsenden Streptokokken ergab nun einen auffallenden, von uns bisher in solchem Umfange noch nicht beobachteten Befund. Es wurde von den einzelnen grünen Kolonien auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft. Nach ca. 20stündiger Bebrütung der Blutagarplatten zeigte es sich, daß nur 2 von den neugewonnenen grünwachsenden Streptokokken den grünen Zustand beibehalten hatten. Der aus der Niere von Maus 1 gezüchtete Stamm wuchs auf Blutagar als üppiger Rasen zarter Kolonien mit intensiv grüner Verfärbung des Nährbodens. Der aus der Lunge von Maus 2 gewonnene Stamm bildet auf Blutagar sehr zarte Kolonien mit schwach hellgrüner Verfärbung des Nährbodens. In Serumbouillon wuchsen beide Stämme klar mit flockigem Bodensatz. Bei weiterer Fortzucht behielten beide Stämme ihren grünen Zustand unverändert bei. Die anhämolysierenden Kolonien von Maus 1 (Peritoneum) ließen sich nicht weiterzüchten.

Alle übrigen, bei den Mäusen 2 und 4 aufgefundenen und abgeimpften grünen und anhämolysierenden Kolonien schlagen aber schon in der zweiten Generation in den hämolysierenden Zustand zurück. Dabei zeigte die Subkultur der grünen Kolonie aus der Niere von Maus 2 die Besonderheit, daß neben sehr stark hämolysierenden Kolonien auch sehr zarte, vollkommen anhämolysierende Kolonien ohne Grünfärbung wuchsen. Dasselbe konnten wir an der Subkultur einer aus der Bauchhöhle von Maus 4 gezüchteten grünen Kolonie feststellen. Ein analoges Verhalten eines von einem Falle von Thromboendokarditis gezüchteten, anfänglich grünwachsenden Streptokokkus erwähnen Kuczynski und Wolff (l. c. diese Zeitschr. 92, 119. 1921).

Die 5 eben geschilderten Versuche zeigen, daß es gelingt, bei den mittelvirulenten, frisch vom Menschen gezüchteten Streptokokken — auch den auf Serum nach *Ungermann* gehaltenen Stamm können wir nach unseren Erfahrungen mit dieser Konservierungsmethode¹⁾ praktisch als frischen Stamm ansehen — regelmäßig innerhalb der ersten 4 Stunden nach intraperitonealer Infektion von Mäusen Streptokokken in grünem Zustande aus der Bauchhöhle und den Organen zu züchten. Gesetzmäßigkeiten über einen innerhalb dieser Frist enger zu umgrenzenden, etwa hinsichtlich der Ausbeute an vergrünenden Keimen optimalen Zeitpunkt der Abimpfung lassen sich nicht auffinden, noch weniger sind wir geneigt, irgendwelchen bestimmten Organen eine besondere Fähigkeit zur Vergrünung der Streptokokken zuzusprechen.

¹⁾ *Pulvermacher*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 97, 89. 1922.

Was die Infektionsdosis betrifft, so kam in diesen ersten Versuchen ausschließlich die Kulturverdünnung 1 : 1000 ca. 18stündiger Serumbouillonkultur zur Anwendung; nur in Versuch 5 mit Str. 58 bedienten wir uns der stärkeren Infektion mit 1 : 10 verdünnter Kultur.

Die in den ersten 4 Versuchen gewonnenen grünwachsenden Stämme, die im Tierversuche nicht geprüft wurden, behielten bei weiterer Fortzucht auf Blutagar und in Serumbouillon den grünen Zustand unverändert bei.

Besonders bemerkenswert sind dabei die im Versuch 4 mit Str. 57 aus der Niere von Maus 1 nach 1 Stunde und aus der Bauchhöhle von Maus 4 nach 2 Stunden gewonnenen grünen Kolonien. *Von diesen gelang nämlich eine Weiterzucht nicht und sie zeigten daher — in unseren Versuchen zum ersten Male — die Labilität des Str. viridans, wie er bei Endocarditis lenta gefunden wird.*

Eine Sonderstellung hinsichtlich des Verhaltens der grünen Kolonien nimmt ferner der Versuch 5 mit Str. 58 ein. Hier war die Infektion besonders stark, die Ausbeute an grünen und vollkommen anhämolysischen Kolonien besonders groß und das weitere Verhalten dieser Keime wich von unseren bisherigen Beobachtungen ab. Neben 2 Stämmen, von denen der eine aus der Niere von Maus 1 (1 Stunde), der andere aus der Lunge von Maus 2 (2 Stunden) gezüchtet waren und die das übliche Verhalten hinsichtlich der Konstanz des grünen Zustandes auf Nährböden zeigten, *schlugen ein aus der Niere von Maus 2 gewonnener Stamm und die von 3 Einzelkolonien aus der Bauchhöhle von Maus 4 (3 Stunden) gezüchteten 3 Stämme in der nächsten Blutagarpassage in den hämolysischen Zustand zurück, wobei 2 Stämme daneben noch Kolonien mit völlig anhämolysischem Wachstum, auch ohne Grünfärbung des Blutagars aufwiesen.*

Daraus ergibt sich zunächst, daß in ein und demselben Versuche, ja aus ein und demselben Tiere (Versuch 4, Maus 1 und Versuch 5, Maus 2) grünwachsende Streptokokken gezüchtet werden können, die verschiedene Stadien der Zustandsänderung darbieten, eine Beobachtung, die auch Kuczynski und Wolff erwähnen. Konnten in Versuch 4 aus der Niere der nach 1 Stunde getöteten und der Bauchhöhle der nach 2 Stunden punktierten Maus nicht fortzuchtbare Stämme gewonnen werden, während aus der Bauchhöhle desselben Tieres gut angehende Keime wuchsen, so gewannen wir in Versuch 5 in ihrem Verhalten typische grünwachsende Stämme neben solchen, die in der nächsten Generation wieder hämolysisch wurden, zum Teil sich in hämolysische und ganz anhämolysische Formen aufspalteten.

In methodischer Hinsicht war gerade dieser letzte Versuch für uns von Bedeutung, da wir aus ihm schlossen, daß die ungewöhnlich große Infektionsdosis für das Zustandekommen dieser eigenartigen — bisher

von uns noch nicht in diesem Umfange beobachteten — sehr rasch zurückschlagenden grünwachsenden Stämme verantwortlich zu machen sei.

Daß ganz allgemein der Wahl der Infektionsdosis Bedeutung für den Ausfall derartiger Versuche zukommt¹⁾, haben wir bereits früher beobachtet und in den Versuchsprotokollen der ersten Mitteilung (Versuch 5, 7, 8) sind bereits Hinweise enthalten, daß die Vergrünung hämolytischer Streptokokken im Tierkörper erst nach tastendem Ausprobieren geeigneter Infektionsmengen gelang. Systematische Versuche in dieser Richtung sollen im folgenden mitgeteilt werden.

Versuch 6 mit Str. 81.

Str. 81, am 28. VII. aus Eiter eines Pleuraempyems gezüchtet, wuchs in Serumbouillon trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildete er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Bei *fraktionierter Aussaat* einer Öse 18stündiger Serumbouillonkultur trat *keine Abspaltung grüner Kolonien* ein.

Eine VirulenzEinstellung bei intraperitonealer Infektion von Mäusen ergab als binnen 24 Stunden tödliche Dosis 0,3 ccm 1 : 10-Kultur. 0,3 ccm 1 : 100-Kultur töteten nach 48 Stunden, eine mit 0,3 ccm 1 : 1000-Kultur infizierte Maus überlebte und zeigte, nach 12 Tagen getötet und bakteriologisch untersucht, kein Wachstum von Streptokokken.

Bei subcutaner Infektion am Bauche ließen sich bei Mäusen noch mit 0,2 ccm 1 : 1000-Kultur nach 24 Stunden Phlegmonen erzeugen; kleinere Infektionsmengen (0,2 ccm 1 : 10 000-Kultur) gingen nicht mehr an.

Versuch vom 2. VIII.

1. 2 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit 0,3 ccm 1 : 100 verdünnter 18stündiger Serumbouillonkultur. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde, sowie nach 1 Stunde wird den Mäusen durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und auf Blutagar ausgestrichen. Eine Maus wird nach 2, die andere nach 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Die Punktion nach $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde ergab nur Wachstum hämolytischer Kolonien aus der Bauchhöhle. Auch bei den nach 2 und 3 Stunden getöteten Mäusen wurden aus Bauchhöhle, Herzblut und Niere reichlich gut trennbare hämolytische Kolonien gezüchtet.

Bei 2 Mäusen, die intraperitoneal mit 0,3 ccm 1 : 100-Kultur infiziert waren, konnten also innerhalb der ersten 3 Stunden nach der Infektion grüne Kolonien nicht festgestellt werden.

2. In einem gleichzeitigen und durchaus gleichartig angeordneten Versuche wurden 2 weitere Mäuse untersucht, die mit je 0,3 ccm 1 : 1000-Kultur intraperitoneal infiziert waren. Punktion, Tötung und bakteriologische Untersuchung wurden genau wie in dem eben geschilderten Versuche vorgenommen.

Die Punktionen der Bauchhöhle ergaben bei beiden Mäusen Wachstum hämolytischer Kolonien. Auch aus der nach 2 Stunden getöteten Maus wuchsen auf

¹⁾ Vgl. auch *Fr. Munter*, Zur Kenntnis der Hämolyse der Streptokokken, Inaug.-Diss. Berlin 1921.

Blutagar nur aus Bauchhöhle und Niere spärlich hämolytische Kolonien. Nach 3 Stunden fanden wir zahlreiche hämolytische Kolonien in der Kultur von Peritoneum und Niere, *aus dem Herzblut wuchs neben 15 hämolytischen Kolonien 1 grüne Kolonie.*

Bei Anwendung einer 10 fach geringeren Infektionsdosis gelang demnach der Nachweis der Vergrünung 3 Stunden nach der intraperitonealen Infektion. Eine grüne Kolonie wurde aus dem Herzblut gezüchtet.

Diese Kolonie wurde auf Blutagar und in Serumbouillon verimpft. Der so gewonnene *grünwachsende Str. 81* bildete auf Blutagar mittelgroße zarte Kolonien mit intensiv grüner Verfärbung des Nährbodens, in Serumbouillon wuchs er klar mit flockigem Bodensatz.

Tierversuch mit dem grünwachsenden Str. 81.

4. VIII. Eine Maus wird subcutan am Bauche mit 0,5 ccm Serumbouillonkultur des Stammes infiziert, am nächsten Tage getötet, sezirt und vom Subcutangewebe und aus der Bauchhöhle auf Blutagar abgeimpft. Eine Phlegmone war nicht vorhanden. *Auf Blutagar wuchsen von der Infektionsstelle 2 grüne Kolonien, aus der Bauchhöhle 10 grüne Kolonien.*

Gleichzeitig wurde eine Maus mit 0,5 ccm *Serumbouillonkultur des grünwachsenden Str. 81* intraperitoneal infiziert. Sie wurde am nächsten Tage getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle aus Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft. *Es wuchsen aus Bauchhöhle und Herzblut reichlich, aus der Niere spärlich hämolytische Kolonien!*

Der frisch aus dem Eiter eines Pleuraempyems gezüchtete, für Mäuse mittelvirulente *Str. 81*, der spontan keine grünen Kolonien abspaltete, *wurde bei Anwendung kleiner Infektionsdosis (1 : 1000 - Kultur) nach 3 Stunden in den grünen Zustand übergeführt. Bei höherer Infektionsdosis gelang der Nachweis der Vergrünung nicht.* Der frisch gewonnene grünwachsende Stamm schlug bei intraperitonealer Infektion einer Maus wieder *in den hämolytischen Zustand um, während bei Fortzüchtung auf Nährböden der Stamm bei ca. 2 Wochen langer Beobachtung im grünen Zustand verharrte.*

Versuch 7 mit Str. 71.

Str. 71 war aus einem Tonsillarabsceß gezüchtet worden und wurde uns am 26. VI. von Herrn Prof. *U. Friedemann* freundlichst überlassen. Der Stamm wuchs in Serumbouillon trübe mit starkem Bodensatz und bildete auf Blutagar zarte, stark hämolytische Kolonien.

Bei *fraktionierter Aussaat* einer Öse 18stündiger Serumbouillonkultur *fand keine Abspaltung grüner Kolonien* statt. Der Stamm wurde von hämolytischen Einzelkolonien weitergezüchtet.

Eine VirulenzEinstellung bei intraperitonealer Infektion von Mäusen ergab, daß 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur nach 3 Tagen töten. Mäuse, die mit 0,3 ccm 1 : 100- bzw. 1 : 1000-Kultur infiziert waren und nach 5 Tagen in munterem Zustande getötet und bakteriologisch untersucht wurden, waren frei von Streptokokken.

Bei subcutaner Infektion am Bauche von Mäusen rief nur die Dosis von 0,2 ccm 1 : 10 - Kultur nach 24 Stunden eine Phlegmone hervor. Bei einer mit

0,2 ccm 1 : 100 infizierten Maus wuchsen bei Abimpfung des Subcutangewebes auf Blutagar nur 58 Streptokokkenkolonien.

Mit diesem Stamme wurden *Versuche mit verschiedener Infektionsdosis* angesetzt.

1. Versuch vom 1. VII.

3 Mäuse werden intraperitoneal mit 0,3 ccm einer 1 : 100 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur infiziert. Eine dieser Mäuse wurde nach 1 Stunde, die andere nach 2 Stunden, die dritte nach 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Alle Tiere zeigten aus den genannten Organen *Wachstum zahlreicher, aber gut getrennter hämolytischer Kolonien; grüne Kolonien waren nicht vorhanden.*

2. Versuch vom 3. VII.

2 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 1 : 1000 verdünnter Serumbouillonkultur.

2 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 1 : 10 000 - Kultur.

Die 4 Mäuse werden nach $\frac{1}{2}$ und nach 1 Stunde peritonealpunktiert, die gewonnene Flüssigkeit auf Blutagar ausgestrichen.

Von jeder Reihe wird je eine Maus nach 2 Stunden, die beiden anderen nach 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Nach 18stündiger Bebrütung der von den getöteten Mäusen angelegten Blutagarplatten waren nur hämolytische Kolonien aufzufinden; *lediglich von der Aussaat des Exsudates einer mit 1 : 10 000 - Kultur infizierten, nach 1 Stunde punktierten Maus wächst neben einzelnen hämolytischen Kolonien 1 grüne Kolonie.*

Diese Kolonie wird auf Blutagar und Serumbouillon abgeimpft. Nach 18stündiger Bebrütung wächst der Stamm als dichter Rasen zarter Kolonien mit kräftiger Grünfärbung der Umgebung, in Serumbouillon klar mit flockigem Bodensatz. *Bei weiterer Fortzucht, ca. 8 Tage, behält der Stamm den grünen Zustand unverändert bei und spaltet bei fraktionierter Aussaat keine hämolytischen Kolonien ab.* Er wird auf Pferdeserum nach *Ungermann* verimpft, wo er, wie die Mehrzahl der grünwachsenden Streptokokken, nach etwa 3 Wochen eingegangen ist.

Tierversuche, die mit dem frisch gewonnenen grünwachsenden Str. 71 angestellt wurden, ergaben, daß man mit 0,5 ccm Serumbouillonkultur, subcutan am Bauche der Maus eingespritzt, nach 24 Stunden eine Phlegmone erzeugen kann, aus der zahlreiche grüne Kolonien wachsen. Bei Abimpfung nach 2 Tagen wuchsen nur mehr 6 Kolonien. Eine mit 0,5 ccm Serumbouillonkultur intraperitoneal infizierte Maus starb — wohl interkurrent — nach 24 Stunden, ohne daß grüne Kolonien bei Abimpfung des Herzbluts gefunden wurden.

Der schwach virulente hämolytische Str. 71, der frisch aus einem Tonsillarabsceß gezüchtet war, *kann nur bei Anwendung sehr kleiner Infektionsdosis (1 : 10 000 - Kultur) in der Bauchhöhle der Maus vergrünt werden.* Bei Infektion von Mäusen mit größeren Keimmengen (1 : 100, 1 : 1000) traten keine grünen Kolonien auf. Der hier gewonnene grünwachsende Stamm hat die Fähigkeit, rasch abklingende Infektionen im Subcutangewebe von Mäusen hervorzurufen, wie wir es schon in den früheren Mitteilungen beschrieben haben.

Versuch 8 mit Str. 45.

Str. 45, am 1. IV. aus Eiter einer Kniegelenksentzündung gezüchtet, wächst in Serumbouillon leicht trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte, stark hämolytische Kolonien.

Fraktionierte Aussaat einer Öse 18stündiger Serumbouillonkultur auf Blutagar ergab *keine spontane Abspaltung grüner Kolonien*.

Eine Virulenzeinstellung bei intraperitonealer Infektion von Mäusen ergab als binnen 24 Stunden tödliche Dosis 0,3 ccm 1 : 10 000 - Kultur; nach 2 Tagen töteten noch 0,3 ccm 1 : 10 000 000 - Kultur, während 0,3 ccm 1 : 100 000 000 - Kultur nach 3, 0,3 ccm 1 : 1 000 000 000 - Kultur nach 5 Tagen töteten.

Es handelt sich demnach um einen *frischen, für Mäuse hochvirulenten Streptokokkenstamm*.

1. Versuch vom 30. VI.

3 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 1 : 100 000 verdünnter 18stündiger Serumbouillonkultur. Nach 1, 2 und 3 Stunden wird je 1 Maus getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere aus Blutagar abgeimpft.

Die bakteriologische Untersuchung ergab bei allen Tieren *zahlreiche, aber gut getrennte hämolytische Kolonien; grüne Kolonien traten nicht auf!*

2. Versuch vom 1. VII.

2 Mäuse wurden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 1 : 1 000 000 verdünnter Serumbouillonkultur des Str. 45; 2 weitere Mäuse erhielten 0,3 ccm 1 : 10 000 000 verdünnter Serumbouillonkultur.

Den Mäusen wurde $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde nach der Infektion durch Punktion der Bauchhöhle Exsudat entnommen und dieses auf Blutagar ausgestrichen. Von jeder Reihe wurde eine Maus nach 2, die andere nach 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Die bakteriologische Untersuchung ergab das Auftreten grünwachsender Streptokokken in den folgenden Fällen:

1. Im Peritonealpunktat einer mit 1 : 1 000 000 infizierten Maus nach $\frac{1}{2}$ Stunde (I).

2. Im Peritonealpunktat einer mit 1 : 10 000 000 infizierten Maus nach $\frac{1}{2}$ Stunde (II).

3. Aus dem Peritonealpunktat einer mit 1 : 10 000 000 infizierten Maus nach 1 Stunde (III).

4. Aus der Niere einer mit 1 : 1 000 000 infizierten Maus nach 3 Stunden (IV).

In allen andern Fällen wuchsen auf den Blutagarplatten zahlreiche, aber noch gut trennbare hämolytische Kolonien.

Von den grünen Einzelkolonien wurde auf Blutagar und in Serumbouillon abgeimpft und die Stämme in der eben geschilderten Reihenfolge ihrer Gewinnung als: Grünwachsender Str. 45 I, 45 II, 45 III, 45 IV bezeichnet.

Mit diesen Stämmen haben wir folgende Tierversuche unternommen.

Versuch mit Str. 45 I.

4. VII. Je 1 Maus wird mit 0,5 ccm Serumbouillonkultur intraperitoneal bzw. subcutan am Bauche infiziert.

Das intraperitoneal infizierte Tier wird am nächsten Tage in völlig munterem Zustande getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht.

Aus der Bauchhöhle wie aus dem Herzblut wächst dichtester Rasen grüner Kolonien.

Die subcutan infizierte Maus wird 2 Tage nach der Infektion getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht. *Vom Subcutangewebe und aus dem Herzblut sind reichlich grüne Kolonien zu züchten.*

Versuch mit Str. 45 II.

4. VII. Je 1 Maus wird intraperitoneal bzw. subcutan am Bauche infiziert mit 0,5 ccm Serumbouillonkultur Str. 45 II.

Die intraperitoneal infizierte Maus ist am nächsten Tage tot. Auf Blutagar wächst aus *Bauchhöhle, Herzblut und Niere dichtester Rasen grüner Kolonien.*

Die subcutan infizierte, nach 2 Tagen getötete Maus erweist sich als steril.

Versuch mit Str. 45 III.

4. VII. Je 1 Maus wird subcutan am Bauche bzw. intraperitoneal infiziert mit je 0,5 ccm Serumbouillonkultur Str. 45 III.

Die intraperitoneal infizierte Maus ist am nächsten Tage tot. Aus der Bauchhöhle, aus Herzblut und Niere *wächst dichtester Rasen grüner Kolonien.*

Die subcutan infizierte, 2 Tage darauf getötete und sezirte Maus zeigt bei Abimpfung auf Blutagar *nur aus dem Subcutangewebe Wachstum grüner Kolonien.*

Versuch mit Str. 45 IV.

4. VII. Je 1 Maus wird intraperitoneal bzw. subcutan am Bauche infiziert mit je 0,5 ccm Serumbouillonkultur des Str. 45 IV.

Die intraperitoneal infizierte Maus wird am nächsten Tage getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht. *Auf Blutagar wachsen aus Bauchhöhle und Niere reichlich, aus dem Herzblut 8 grüne Kolonien.*

Die subcutan infizierte Maus wird 2 Tage nach der Infektion getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht.

Vom Subcutangewebe wächst auf Blutagar dichter Rasen grüner Kolonien, aus dem Herzblut wachsen spärlich grüne Kolonien.

Der frisch von einer Eiterung des Menschen gezüchtete, für Mäuse hochvirulente Str. 45 wird bei Anwendung *kleinster* Infektionsmengen (1 : 1 000 000- bzw. 1 : 10 000 000-Kultur) innerhalb der ersten 3 Stunden in der Maus in die grünwachsende Form übergeführt. *In einem Versuche mit höherer Dosis (1:100 000 - Kultur) gelang der Nachweis der Vergrünung nicht.*

Die hier gewonnenen grünwachsenden Streptokokken zeigen das für sie charakteristische, von uns bereits ausführlich beschriebene Verhalten. Sie haben, besonders Str. 45 I und Str. 45 IV, die ursprüngliche Virulenz für Mäuse verloren, sind aber imstande, in sehr großer Dosis Mäusen subcutan oder intraperitoneal injiziert, Infektionen hervorzurufen. Bei weiterer Fortzüchtung und bei Konservierung in Pferdeserum nach *Ungermann* haben die Stämme den grünen Zustand beibehalten.

Versuch 9 mit Str. SH II.

Str. SH II, den uns die Höchster Farbwerke freundlichst überließen, ist ein hochvirulenter älterer Laboratoriumsstamm, der Mäusepassagen durchgemacht hat.

Der Stamm wächst bei uns in Serumbouillon trübe mit Bodensatz, auf Blutagar bildet er zarte Kolonien mit hämolytischen Höfen. Der Stamm wird in Serum nach *Ungermann* gehalten.

Die Virulenz bei intraperitonealer Infektion von Mäusen ist sehr hoch; 0,3 ccm einer 1 : 10 000 000 verdünnten Serumbouillonkultur töten Mäuse binnen 48 Stunden.

Bei wiederholt vorgenommener fraktionierter Aussaat 18 stündiger Serumbouillonkultur des Stammes traten keine grünen Kolonien auf.

Versuch vom 2. III.

4 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 1 : 10 000 000 verdünnter Serumbouillonkultur des Str. SH II. Eine Maus wird nach 1 Stunde, eine weitere nach 2 Stunden, die beiden letzten Mäuse nach 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut, Lunge und Niere auf Blutagar abgeimpft.

Nach ca. 20 stündiger Bebrütung zeigen die beimpften Blutagarplatten kein Wachstum von Streptokokken.

Es wird daher am folgenden Tage ein gleichartiger Versuch mit höherer Infektionsdosis angestellt.

Versuch vom 3. III.

6 Mäuse werden intraperitoneal mit je 0,3 ccm einer 1 : 1 000 000 verdünnten, 18stündigen Serumbouillonkultur infiziert. Je 2 Mäuse werden nach 1 Stunde, nach 2 und 3 Stunden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, von Herzblut, Lunge, Niere, Milz auf Blutagar abgeimpft.

Das Ergebnis des Versuches zeigt die folgende Tabelle:

Maus Nr.	Getötet nach	Auf Blutagar				
		Peritoneum	Herzblut	Lunge	Niere	Milz
1	1 Stunde	1 h. Kol.	0	0	0	1 h. Kol.
2	1 „	2 h. Kol.	0	+++ gr. Kol.	1 gr. Kol.	1 gr. Kol.
3	2 Stunden	0	0	0	0	0
4	2 „	0	0	0	0	0
5	3 „	4 h. Kol.	2 h. Kol.	0	0	1 h. Kol.
6	3 „	6 h. Kol.	0	0	0	0

Während die noch sicher tödliche Dosis von 0,3 ccm 1 : 10 000 000-Serumbouillonkultur zu gering ist, um das Angehen der Infektion innerhalb der ersten 3 Stunden nachzuweisen, gelingt bei 10 fach stärkerer, aber auch noch sehr geringer Infektionsmenge der Nachweis der Vergrünung innerhalb der ersten Stunde nach der Infektion in Lunge, Milz und Niere einer Maus.

Es wird eine grüne Einzelkolonie aus der Lunge, sowie die grünen Kolonien aus Milz und Niere auf Blutagar und in Serumbouillon verimpft. Im Gegensatz zum hämolytischen Ausgangsstamm wachsen die 3 grünwachsenden Stämme in Serumbouillon klar mit starkem flockigen Bodensatz. Bei längerer Fortzucht behielten die Stämme den grünen Zustand unverändert bei.

Tierversuche, die 2 Tage nach der Gewinnung der grünwachsenden Stämme, am 6. III. angestellt wurden, hatten das folgende Ergebnis.

Bei intraperitonealer Infektion von Mäusen mit je 0,3 ccm 18stündiger Serumbouillonkultur der 3 grünwachsenden Stämme starb keine der infizierten Mäuse. Sie wurden am nächsten Tage getötet, sezirt und bakteriologisch untersucht. Dabei erwiesen sich die Tiere als steril.

Bei subcutaner Infektion am Bauche mit je 0,2 ccm 18stündiger Serumbouillonkultur der 3 grünen Stämme war bei bakteriologischer Untersuchung der am folgenden Tage getöteten Mäuse der aus der *Niere gewonnene Stamm gar nicht angegangen*.

Der aus der *Milz* gezüchtete Stamm erzeugte am Mäusebauche eine Phlegmone, aus welcher auf Blutagar aber nur *spärlich grüne Kolonien* wuchsen.

Der aus der *Lunge gezüchtete Stamm* führte bei Injektion von 0,2 ccm Vollkultur, 1 : 10-Kultur und 1 : 100-Kultur zur Bildung kleiner Phlegmonen. Bei der mit Vollkultur infizierten Maus wuchsen von der Phlegmone spärlich grüne Kolonien, Bauchhöhle und Herzblut zeigte kein Wachstum von Streptokokken. Von der mit 1 : 10-Kultur erzeugten Phlegmone wuchsen nur 20 grüne Kolonien, Bauchhöhle und Herzblut blieben steril. Von der mit 1 : 100-Kultur infizierten Maus wuchsen nur bei Abimpfung der Bauchhöhle spärlich grüne Kolonien.

Die Vergrünung des *Str. SH II* hatte also zu einem *völligen Niederbruch der Virulenz geführt*. Die Pathogenität war jedoch nicht vollkommen erloschen, sondern bei subcutaner Infektion von Mäusen noch bei 2 der 3 vergrüneten Stämme nachzuweisen.

Diese eben geschilderten Versuche haben wir unter weiterer Variierung der Infektionsmenge nach 2 Monaten wiederholt, wobei Herr Dr. O. Nakamura uns unterstützte.

Versuche vom 4. V.

3 Mäuse werden intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm einer 1 : 1 000 000 verdünnten 18stündigen Serumbouillonkultur des *Str. SH II*. 3 weitere Mäuse erhalten intraperitoneal je 0,3 ccm einer 1 : 100 000 verdünnten Serumbouillonkultur.

Von jeder Reihe wird nach 1, nach 2 und 3 Stunden je 1 Maus getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle, aus Herzblut, Lunge und Niere auf Blutagar abgeimpft. Punktionen der Bauchhöhle, die bei Maus 2 und 3 1 bzw. 1 und 2 Stunden nach der Infektion vorgenommen wurden, ergaben Wachstum sehr spärlicher hämolytischer Kolonien. Auch bei Maus 5 und 6 wurden, wenn auch reichlicher, zu diesen Zeitpunkten nur hämolytische Kolonien gefunden, bei Maus 5 nach einer Stunde auch 1 anhämolysische Kolonie. Das Ergebnis des Versuches zeigen die folgenden Tabellen.

1. Infektion : 0,3 ccm 1 : 1 000 000 - Kultur.

Maus Nr.	Getötet nach	Auf Blutagar			
		Peritoneum	Herzblut	Lunge	Niere
1	1 Stunde	3 h. Kol.	0	0	3 h. Kol.
2	2 Stunden	1 h. Kol. 1 gr. Kol.	5 h. Kol. + gr. Kol.	0	0
3	3 „	1 h. Kol.	0	0	0

2. Infektion : 0,3 ccm 1 : 100 000 - Kultur.

Maus Nr.	Getötet nach	Auf Blutagar			
		Peritoneum	Herzblut	Lunge	Niere
4	1 Stunde	(+) h., 1 anh. Kol.	1 gr. Kol.	0	(+) h. Kol.
5	2 Stunden	(+) h. Kol.	10 h. Kol. 1 gr. Kol.	2 h. Kol.	(+) h. Kol. 1 gr. Kol.
6	3 „	+ h. Kol. + gr. Kol.	7 h. Kol.	4 h. Kol.	(+) h. Kol. 3 gr. Kol.

Von der Blutagarplatte der Herzblut- bzw. Peritonealaussaat der Mäuse Nr. 2 und Nr. 6 werden grüne Einzelkolonien auf Blutagar und Serumbouillon verimpft. In letzterer wachsen beide Stämme klar mit zum Teil sehr reichlichem flockigen Bodensatz. Auf Blutagar bilden sie zarte Kolonien mit heller grüner Verfärbung des Nährbodens.

Die beiden als *grünwachsender Str. SH II a* (von Maus 2) und *Str. SH II b* (von Maus 6) bezeichnet, behielten bei ca. 3 Wochen langer Beobachtung unter regelmäßiger Fortzucht den grünen Zustand unverändert bei.

2 Tage nach ihrer Gewinnung wurden die folgenden Tierversuche mit den Stämmen vorgenommen.

Gr. Str. SH II a. Versuch vom 6. V.

Eine Maus wird intraperitoneal infiziert mit 0,3 ccm 18stündiger Serumbouillonkultur, eine weitere Maus erhält 0,3 ccm einer 1 : 10 verdünnten Kultur, ferner je eine Maus 0,3 ccm 1 : 100 und 1 : 1000 verdünnter Kultur.

Am 9. VI. wird die mit 1 : 100 infizierte Maus tot und stark angefressen gefunden. Sektion und Abimpfung ist bei der vorgeschrittenen Fäulnis unmöglich. Die 3 anderen Mäuse werden getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle und vom Herzblut auf Blutagar abgeimpft.

Maus 1. 6. V. 0,3 ccm Vollkultur. Getötet 9. V. Aus dem Peritoneum wachsen keine Streptokokken, aus dem Herzblut *zahlreiche grüne Kolonien*.

Maus 2. 6. V. 0,3 ccm 1 : 10 - Kultur. Getötet 9. V. Aus der Bauchhöhle wachsen, wie aus dem Herzblute, *zahlreiche grüne Kolonien*.

Maus 4. 6. V. 0,3 ccm 1 : 1000 - Kultur. Getötet 9. V. Aus Bauchhöhle und Herzblut *kein Wachstum von Streptokokken*.

Bei 3 Mäusen, die am 9. V. mit je 0,3 ccm Serumbouillonkultur desselben Stammes infiziert wurden, ging die Infektion nicht mehr an. Die am nächsten Tage getöteten Tiere zeigten kein Wachstum von Streptokokken auf Blutagar.

Dagegen gelang es, zur gleichen Zeit, am 9. V., durch *subcutane Infektion am Bauche mit 0,2 ccm Vollkultur und 1 : 10 - Kultur bei Mäusen Phlegmonen zu erzeugen, aus welchen, wie aus dem Herzblute reichlich grüne Kolonien wuchsen.*

Gr. Str. SH II b. Versuch vom 6. V.

6. V. Je 1 Maus wird intraperitoneal infiziert mit je 0,3 ccm 18 stündiger Serumbouillonkultur, und zwar erhält 1 Maus 0,3 ccm Vollkultur, 1 Maus 0,3 ccm 1 : 10 - Kultur, 1 Maus 1 : 100 - Kultur und 1 Maus 1 : 1000 - Kultur.

Nach 3 Tagen, am 9. V., werden die Mäuse in völlig munterem Zustande getötet, sezirt und aus der Bauchhöhle und vom Herzblut auf Blutagar abgeimpft.

Nach ca. 20 stündiger Bebrütung kein Wachstum von Streptokokken.

Die ausführlich wiedergegebenen Versuche zur „Vergrünung“ des hochvirulenten Str. SH II zeigen, daß bei sehr kleiner, aber noch sicher tödlicher Infektionsdosis (1 : 10 000 000) innerhalb der ersten Stunden nach der Infektion noch kein Wachstum von Streptokokken zu erzielen ist. Bei steigender Dosis gelingt in den beiden Versuchen mit der Dosis 1 : 1 000 000 leicht der Nachweis grüner Streptokokkenkolonien in Bauchhöhle und Organen je eines Tieres, 1 bzw. 2 Stunden nach der intraperitonealen Infektion. Die größte Ausbeute an vergrünenden Streptokokken, d. h. Vergrünung nach 1, 2 und 3 Stunden bei allen Versuchstieren wird bei der höchsten hier angewandten Infektionsmenge (1 : 100 000) erzielt.

Die weitere Untersuchung der neugewonnenen grünwachsenden Streptokokkenstämme besonders hinsichtlich ihres Verhaltens bei Infektion von Mäusen zeigt, daß derartige Stämme, die morphologisch und genetisch übereinstimmen, sich bei experimenteller Infektion von Mäusen mit ihnen verschieden verhalten können. So erwies sich der als *grünwachsender Str. SH IIIa* bezeichnete Stamm wenigstens vorübergehend als pathogen für Mäuse bei intraperitonealer Infektion und erzeugte auch vom Subcutangewebe aus Infektionen, während der *Str. SH IIIb* benannte Stamm in der Bauchhöhle von Mäusen überhaupt nicht anging. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei den 3 aus Lunge, Niere und Milz der Maus 2 gezüchteten Stämmen des Versuchs vom 3. III. Diese 3 Stämme gingen in der Bauchhöhle von Mäusen nicht an, bei subcutaner Infektion am Bauche zeigten nur die aus der Milz und der Lunge gezüchteten Stämme eine gewisse Pathogenität.

Von den 4 zuletzt geschilderten Versuchen waren 2 mit frisch vom Menschen gezüchteten, mittelvirulenten Streptokokken angestellt (Versuch 6 und 7). In einem Versuche (8) wurde ein für Mäuse hochvirulenter, aus dem Menschen gewonnener Streptokokkus vergrünt, der noch keine Mäusepassagen durchgemacht hatte, während die letzten Reihen von Versuchen mit einem älteren Laboratoriums Stamm vorgenommen wurden, der zahlreiche Mäusepassagen durchgemacht hatte und für Mäuse hochpathogen war.

In den beiden ersten Versuchen zeigte sich, daß mittlere und selbst kleine Infektionsdosen (1:100-Kultur, in Versuch 7 auch 1:1000-Kultur) keine Vergrünung der zur Infektion benutzten hämolysischen Keime erkennen lassen. Diese trat erst bei Anwendung noch kleinerer Infektionsmengen (1:1000- bzw. 1:10 000-Kultur) ein.

Noch deutlicher zeigte sich die Abhängigkeit des Vergrünungserfolges von oft recht geringen Unterschieden in den benutzten Kulturverdünnungen bei den Versuchen mit hochvirulenten Stämmen. Im Versuch mit Str. 45 gelang bei Infektion mit 1:100 000-Kultur die Vergrünung nicht, sondern war erst bei Infektion mit 1:1 000 000- bis 1:10 000 000-Kultur nachzuweisen. Dabei war das Wachstum der hämolysischen Kolonien auch in den negativen Fällen nie so reichlich, daß evtl. vorhandene grüne Kolonien hätten übersehen werden können.

Bei Str. SH II ist die — noch sicher tödliche — Dosis von 0,3 ccm 1:10 000 000-Kultur nach 1—3 Stunden noch nicht angegangen. Der Nachweis vergrünter Kolonien gelingt erst bei steigender Dosis. Sie treten einmal 1 Stunde, einmal 2 Stunden nach intraperitonealer Infektion mit 0,3 ccm 1:1 000 000-Kultur auf und bei noch höherer Dosis von 1:100 000-Kultur waren nach 1, 2 und 3 Stunden grüne Kolonien in Bauchhöhle und Organen zu finden.

Es scheint nach allen von uns geschilderten Versuchen erwiesen zu sein, daß die Infektionsdosis für den Erfolg des Vergrünungsversuches nicht ohne Bedeutung ist. Sowohl bei zu schwacher wie bei zu starker Infektion gelingt der Nachweis vergrünter Kolonien nicht. Ein derartiges Verhalten haben wir schon in Versuch 5, 7 und 8 unserer I. Mitteilung geschildert.

Auf Grund unserer bisherigen Beobachtungen läßt sich aber sagen, daß die für die Vergrünung günstigste Infektionsdosis stets klein ist; sie liegt bei den schwach- und mittelvirulenten Stämmen oft weit unter der tödlichen Dosis, bei den für Mäuse hochvirulenten Streptokokken, bei denen kleinste Mengen schon zum akuten Tode des Tieres führen, liegt sie innerhalb dieser tödlichen Dosis, oft oberhalb der Dosis letalis minima. Die Versuche mit Str. 58 (Versuch 5) zeigen weiterhin, daß auch der Charakter der im Versuch gewonnenen vergrünter Stämme mit der angewandten Infektionsmenge in gewissem Zusammenhange stehen kann.

Die vergrünter Stämme, die wir in den zuletzt beschriebenen 4 Versuchen gewonnen haben, bieten noch eine Reihe von Besonderheiten, die kurz besprochen seien.

In Versuch 6 mit dem mittelvirulenten Str. 81 wurde ein grünwachsender Stamm gewonnen, der bei weiterer Fortzucht den grünen Zustand konstant beibehielt, im Subcutangewebe bei Anwendung sehr hoher Dosis nur schwach anging, aber bei intraperitonealer Infektion in den hämolytischen Zustand zurückschlug.

Der im folgenden Versuch aus einer mit Str. 71 infizierten Maus nach 1 Stunde gezüchtete grünwachsende Stamm, der gleichfalls auf Nährböden seinen Zustand nicht veränderte, erzeugte, in großer Dosis Mäusen subcutan eingespritzt, Phlegmonen, von denen nach 24 Stunden reichlich, nach 48 Stunden spärlich grüne Kolonien zu züchten waren.

In den Versuchen mit Str. 45 wurden 4 grünwachsende Stämme gewonnen, von welchen 2 bei intraperitonealer Infektion mit großen Dosen die Mäuse töteten, während die 2 anderen zwar in der Maus reichlich angingen und nach 24 Stunden nachzuweisen waren, jedoch die Tiere nicht töteten. Ebenso ist das Angehen dieser Stämme im Subcutangewebe verschieden. Während 3 Stämme im Subcutangewebe des Bauches der Mäuse nach 24 Stunden Phlegmonen bilden, aus denen, wie aus dem Herzblut, reichlich grüne Kolonien wachsen, geht ein Stamm (III), der bei intraperitonealer Infektion getötet hatte, subcutan überhaupt nicht an.

Auch diese Versuche zeigen, daß — wie schon im ersten Abschnitt dieser Mitteilung betont wurde — die aus derselben Versuchsreihe hergeleiteten vergrünter Streptokokken verschiedenen Charakter, auch hinsichtlich ihrer Mäusepathogenität, aufweisen können. Dies ergibt sich noch deutlicher aus den vergrünter Stämmen, die von Str. SH II (Versuch 9) abgeleitet wurden. Im Versuch vom 3. III. werden aus Lunge, Milz

und Niere einer 1 Stunde nach der Infektion getöteten Maus je 1 grünwachsender Stamm gewonnen. Diese 3 Stämme gingen in der Bauchhöhle von Mäusen nicht an. Bei subcutaner Infektion ging der aus der Niere gezüchtete Stamm gleichfalls nicht an, dagegen führten die aus Milz und Lunge gezüchteten grünwachsenden Streptokokken zu schwachen Infektionen.

Von den beiden aus der Bauchhöhle von Maus 2 und Maus 6 des Versuchs vom 6. IX. gezüchteten Stämmen war der erste wesentlich stärker pathogen. Er ging bei intraperitonealer Infektion bis mindestens 1:10-Kultur an; die Infektion war nach 3 Tagen noch nachweisbar. Nach 3 Nährbodenpassagen geht der Stamm intraperitoneal nicht mehr an, erzeugt aber bei subcutaner Infektion mit 1:10-Kultur Phlegmonen, aus denen reichliches Wachstum grüner Kolonien erfolgt. Der Stamm aus Maus 6 war schwächer pathogen; die mit ihm intraperitoneal infizierten Mäuse waren nach 3 Tagen frei von Streptokokken.

Danach kann es keinem Zweifel unterliegen, daß in den ersten Stunden nach intraperitonealer Infektion von Mäusen mit hämolytischen Streptokokken Keime im grünen Zustande gewonnen werden, welche die verschiedensten Stadien der Tierpathogenität besitzen. Innerhalb der ihnen allen eigenen geringen Virulenz, die gegenüber derjenigen der hämolytischen Ausgangskultur oft um das Millionenfache verringert ist, weisen sie noch verschiedene Grade erhaltener Mäusepathogenität auf, wobei einzelne Stämme besser im Subcutangewebe, andere besser in der Bauchhöhle von Mäusen angehen.

In dieser Hinsicht ergibt sich aus der Gesamtheit unserer Versuche die Tatsache, daß die Vergrünung hämolytischer Streptokokken im Tierkörper nicht zu einheitlich charakterisierten Stämmen führt; vielmehr müssen die einzelnen Stämme durch ihr weiteres Verhalten, insbesondere bei Tierpassage, näher definiert werden.

Es können bisher unter dem gemeinsamen Merkmal des Virulenz- und Hämolyseverlustes und des Wachstums mit grüner Verfärbung des Blutagars bei frisch vergrünenden Streptokokken 4 Stadien der Zustandsänderungen getrennt werden, zwischen denen wohl Übergänge noch möglich sind:

1. Grünwachsende Streptokokken, die in den ersten Nährbodenpassagen wieder hämolytisch werden.
2. Grünwachsende Streptokokken, die bei Fortzüchtung sich nicht verändern, aber im Tierkörper wieder hämolytisch werden.
3. Grünwachsende Streptokokken, die sowohl bei Fortzüchtung wie im Tierkörper längere Zeit ihren Zustand konstant bewahren¹⁾.

¹⁾ Zu dieser Gruppe müssen wir auch den in der 1. Mitteilung (Versuch 2) beschriebenen *Str. Schmidt grün* rechnen, der erst sehr spät, nach 156 Tagen, die Fähigkeit der Hämolyse wiedergewann. Daher sind wir weit davon entfernt, die hier aufgeführten Formen der Zustandsänderungen als konstante Typen anzusehen, da sie sich nur für einen gewissen Zeitraum fixieren lassen.

Sie sind teils völlig avirulent, teils haben sie noch einen geringen Grad von Pathogenität, der sich zuweilen nur bei intraperitonealer, bald nur bei subcutaner Infektion nachweisen läßt, öfter aber auch bei beiden Infektionsarten zum Ausdruck kommt.

4. Grünwachsende Streptokokken, die bei weiterer Fortzucht sehr rasch eingehen. Diese (vgl. Versuch 4) entsprechen wohl dem *Str. viridans*, den *Schottmüller* als besondere Art aufgestellt hat.

Es bedarf keiner weiteren Erörterung mehr, daß danach die Sonderstellung des *Str. viridans* vom bakteriologischen Standpunkte nicht mehr aufrechtzuerhalten ist. Der *Str. viridans* ist nur eine durch ihre besondere Labilität ausgezeichnete Form des grünwachsenden Streptokokkus, nur ein Glied in der großen Reihe der Zustandsänderungen, welche die Streptokokken erleiden können.

In einer weiteren Mitteilung soll gezeigt werden, daß reversible Zustandsänderungen der Streptokokken, Rückschläge aus dem grünen in den hämolytischen Zustand, teils auf Nährböden, teils im Tierversuch auch bei frisch aus menschlichen Erkrankungen gezüchteten grünwachsenden Streptokokken zu beobachten sind, insbesondere zeigten auch aus Fällen von Endocarditis lenta gewonnene Stämme ein gleiches Verhalten.

Es lassen jedoch vorläufig weder derartige Beobachtungen noch die Vergrünungsversuche an der Maus bindende Schlüsse hinsichtlich der Pathogenese der menschlichen Viridanssepsis zu.

Zusammenfassung.

1. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der beiden ersten Mitteilungen wird an einer Reihe weiterer hämolytischer Streptokokken, und zwar sowohl für Mäuse schwach- bis mittelvirulenter wie auch hochvirulenter Stämme, gezeigt, daß regelmäßig in den ersten 3 Stunden nach intraperitonealer Infektion Streptokokken im avirulenten, grünen Zustande aus Bauchhöhle und Organen der Mäuse zu züchten sind.

2. Besonders darauf gerichtete Versuchsreihen ergeben, daß das Gelingen der Vergrünung hämolytischer Streptokokken im Tierversuch in hohem Maße von der Wahl einer geeigneten Infektionsdosis abhängig ist. Diese war stets klein; bei den schwach- und mittelvirulenten Streptokokken liegt sie meist unter der tödlichen Dosis, bei hochvirulenten Stämmen liegt sie oft oberhalb der Dosis letalis minima.

3. Allen vergrünenden Streptokokken gemeinsam ist die gegenüber dem hämolytischen Ausgangsstamm hochgradig verminderte Virulenz für Mäuse; ein gewisser Grad von Pathogenität ist jedoch den meisten Stämmen erhalten.

4. Aus derselben Versuchsreihe, sogar aus ein und demselben Tier können grüne Streptokokken von verschiedenem Typus gezüchtet werden. Bisher wurden 4 Gruppen frisch vergrünter Streptokokken beobachtet, die nur verschiedene Grade der Zustandsänderung darstellen:

a) Grünwachsende Streptokokken, die in den ersten Nährbodenpassagen wieder hämolytisch werden.

b) Grünwachsende Streptokokken, die sich bei Fortzucht nicht verändern, aber im Tierkörper wieder hämolytisch werden.

c) Grünwachsende Streptokokken, die sowohl bei Fortzucht wie im Tierkörper längere Zeit den grünen Zustand konstant halten. Die in dieser Gruppe zusammengefaßten Stämme können noch weiter durch den verschiedenen Grad erhaltener Mäusepathogenität charakterisiert werden.

d) Grünwachsende Streptokokken, die bei weiterer Fortzucht sehr rasch eingehen. Diese entsprechen wohl dem von *Schottmüller* als besondere Art aufgefaßten *Str. viridans*, der nur ein Glied in der großen Reihe der mannigfachen Zustandsänderungen ist, welche hämolytische Streptokokken erleiden können.

(Aus dem Pathologischen Institut und dem Institut für experimentelle Therapie
der Hamburgischen Universität.)
(Allgemeines Krankenhaus Eppendorf.)

Weitere Untersuchungen über Lymphogranulomatose.

Von
Eugen Fraenkel und Hans Much.

I. Allgemeines.

Unsere im Jahre 1910 in Bd. 67 der Zeitschr. f. Hygiene veröffentlichten Untersuchungen über die Ätiologie der Lymphomatosis granulomatosa, die wir bis ins Jahr 1913 hinein fortgesetzt haben, wurden durch den Krieg jäh unterbrochen. Es dürfte zweckmäßig erscheinen, den damaligen Stand der Lehre kurz darzulegen. Wir hatten an der Hand eines größeren Untersuchungsmaterials gezeigt, daß in den lymphogranulomatösen Krankheitserzeugnissen antiforminfeste, nach der verschärften Grammethode (*Much*) darstellbare, nicht säurebeständige, teils im Stäbchenverband zusammenliegende, teils nur als gröbere und feinere Granula erscheinende Mikroorganismen zu finden sind, die sich im Aussehen von der granulären Form des Tuberkelbacillus nicht unterscheiden lassen. Unsere Befunde wurden von einer größeren Zahl Autoren bestätigt, ja, die fraglichen Stäbchen wurden von verschiedenen Untersuchern, so namentlich von *Beumelburg* und *Kusunoky*, Schülern *E. Kaufmanns*, an einem umfangreichen Material ausnahmslos, sogar in Schnittpräparaten, festgestellt. Anderen Untersuchern war dieser Nachweis nicht geglückt, und insbesondere erkennen *Ceelen* und *Rabinowitsch*, ebenso wie *Lubarsch*, dem von uns erhobenen, von anderen bestätigten Befund im Stäbchenverband liegender Granula keine Bedeutung für die Ätiologie der Lymphogranulomatose zu. Freilich sprechen *Ceelen* und *Rabinowitsch*, ebenso wie *Lubarsch*, nur von Körnchen beim Lymphogranulom, während wir *ausdrücklich betont haben*, daß wir nur *auf Granula Wert legen, die im Stäbchenverband liegen*. An dem Vorkommen dieser Gebilde in den lymphogranulomatösen Veränderungen ist aber nach dem durch zahlreiche Untersucher erbrachten Nachweis solcher granulierter, von uns besonders photographisch wiedergegebener Stäbchen nicht zu zweifeln¹⁾. Sie lassen sich durch in dieser Beziehung

¹⁾ Erschöpfende Literaturangaben hierüber finden sich bei *A. Lichtenstein*. Untersuchungen über die Ätiologie der Lymphogranulomatose. Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. 24, 529ff.

negative Ergebnisse anderer Forscher nicht aus der Welt schaffen. Dahin gehören u. a. die Untersuchungen von *Ceelen* und *Rabinowitsch* sowie die von *Conradi*, der, obwohl er nur 2 (!) eigene Fälle zu beobachten Gelegenheit hatte, bei denen ihm der Nachweis der granulären Stäbchen nicht gelang, unbekümmert um die positiven Angaben *zahlreicher* anderer Autoren diesen Stäbchen die von uns zugeschriebene Bedeutung als Erreger der Lymphogranulomatose abspricht, „solange nicht ihr konstantes Vorkommen in allen Fällen bewiesen werden kann, die klinisch und pathologisch-anatomisch frei sind von Tuberkulose“.

Man ersieht aus dieser kurzen Skizzierung der Frage nach der Ätiologie der Lymphogranulomatose, daß eine völlige Klärung noch nicht herbeigeführt worden war und auch jetzt noch nicht ist. Wir haben deshalb in den letzten Jahren wiederum an einem größeren Material unsere Untersuchungen über diese, theoretisch wie praktisch gleich wichtige Angelegenheit erneut aufgenommen, wobei uns, abweichend von den bei unserer früheren Forschung fast ausschließlich verwandten Sektionsfällen, diesmal neben solchen auch während des Lebens ausgeschnittenes frisches Lymphdrüsenmaterial zur Verfügung stand. Freilich mußten wir uns bei den allmählich immer unerschwinglicher gewordenen Preisen für Versuchstiere in der Zahl der für unsere Versuche verwandten Tiere eine gewisse Beschränkung auferlegen.

Es kam darauf an, zu erhärten, ob der ursprünglich von *Sternberg* vertretene, durch unsere ersten Untersuchungen in gewissem Sinne unterstützte Standpunkt, daß es sich bei der Lymphogranulomatose doch nur um eine besondere Form der Tuberkulose handle, zu Recht bestände, oder ob wir es mit einer von dieser ganz verschiedenen Erkrankung zu tun hätten.

In dieser Beziehung wollen wir nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß *Ceelen* und *Rabinowitsch*, trotz ihrer von der unseren grundsätzlich abweichenden Auffassung der Rolle der „granulierten Stäbchen“, doch darin merkwürdigerweise mit *uns übereinstimmen*, daß auch sie den vermeintlichen Erreger *als dem Tuberkelbacillus nahestehend* erachten, während *Lubarsch* die Frage nach den etwaigen Beziehungen der Lymphogranulomatose zur Tuberkulose für keineswegs spruchreif hält, ja es „nicht einmal für überwiegend wahrscheinlich erklärt, daß die typische Granulomatose durch eine besondere Form der Tuberkelbacillen hervorgerufen ist“.

Wir selbst hatten noch bei 2 im Jahre 1913 obduzierten Fällen von *reiner, d. h. nicht mit Tuberkulose vergesellschafteter Lymphogranulomatose* Gelegenheit, durch Einverleibung großer Mengen mit Antiformin aufgelösten lymphogranulomatösen Materials in die Bauchhöhle von Affen, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden *nur bei Meerschweinchen* eine innerhalb dreier Monate *zum Tode führende* Erkrankung zu

erzeugen. Die Sektion der Tiere ergab, neben ausgesprochen tuberkulösen, schon makroskopisch als solchen erkennbaren Herden in der Milz, den substernalen Lymphdrüsen und Lungen, die Anwesenheit *auffallend derber, marmorweißer bis kirsch kerngroßer, auf der Serosa des Magens und des Mesenteriums angesiedelter Geschwülste*. In den Lymphdrüsen wurden, außer echt tuberkulösen, einzelnen Knötchen, an den Randpartien ein durch den Reichtum an Riesenzellen von nicht *Langhansschem* Typus, sowie durch ein faserreiches Stroma ausgezeichnetes Gewebe nachgewiesen, wie es auch in den lymphogranulomatösen Produkten vorkommt. Die auf der visceralen Bauchserosa belegenen kleinen Geschwülste zeigten eine dem Schrumpfungsstadium lymphogranulomatöser Herde entsprechende Zusammensetzung aus derbfaserigen, zellarmen Massen.

Bei unseren neuerdings vorgenommenen Untersuchungen standen uns folgende Fälle zur Verfügung:

Fall 1. Lymphogranulomatöses Material eines im Jahre 1921 seziierten 73jährigen Mannes, bei dem die histologische Untersuchung einer im Dezember 1920 vom Lebenden ausgeschnittenen Leistendrüse das klassische Bild der Lymphogranulomatose ergeben hatte. Die Sektion im Frühjahr 1921 bestätigte die Diagnose. Der Krankheitsprozeß erstreckte sich, ein im ganzen seltenes Vorkommnis, auf die Leisten-, Becken- und Lendenlymphdrüsen. Daneben ausgesprochene Bauernwurstmilz. *Jegliche tuberkulöse Veränderungen fehlten*.

Fall 2. Patientin Dankert, 30 Jahre. Ausgeschnittene Drüse im April 1921, die deutliche und kennzeichnende lymphogranulomatöse Veränderungen zeigt. Die Kranke wurde auch später biologisch geprüft (siehe später). Während der Niederschrift dieser Arbeit starb sie (24. I. 1923). Wir hatten (siehe später) mit Leichtigkeit einen Tuberkelbacillenstamm aus der ausgeschnittenen Drüse gewonnen. Daß dieser nicht von einer Begleittuberkulose herrührte, bewies die Leichenöffnung, die folgendes ergab: Lymphogranulomatose fast *aller* Lymphdrüsen, vor allem der mediastinalen, sowie solche des VII. Hals- und I. Brustwirbels. *Nichts* von Tuberkulose.

Fall 3 betrifft einen 11jährigen Knaben mit schwerer Lymphogranulomatose der Milz, des Thymus, der Halslymphdrüsen, der peritrachealen, mediastinalen, bronchialen, retroperitonealen und portalen Lymphknoten mit Kompression des Duct. hepat. und choledoch., mit Umwachsung der Bauchorta und ihrer Äste, sowie der unteren Hohlvene mit Thrombose der Beckenvenen. *Nichts von Tuberkulose*.

Fall 4. Ausgeschnittene Drüse (Prof. Ringel), typischer Befund.

Fall 5. Ausgeschnittene Drüse (Prof. Ringel). Pat. Katzler. Ebenfalls typischer Befund.

Von Fall 6 wurde zunächst eine vom Lebenden ausgeschnittene Drüse, die typisch granulomatöse Veränderungen zeigte, dann später bei der Sektion gewonnenes Material verwertet. Es handelte sich um einen 50jährigen, im Marien-Krankenhaus behandelten Potator, bei dem schon der klinische Befund: Blut-Eosinophilie bis 10%, lange Fieberperioden mit kurzen Remissionen, starke Lymphdrüsenanschwellungen am Hals, in der rechten Achselhöhle und linken Leistenbeuge die Annahme einer Lymphogranulomatose rechtfertigte. Diese wurde zunächst durch den histologischen Befund an der ausgeschnittenen Lymphdrüse und späterhin durch das Ergebnis der Sektion in jeder Beziehung gestützt. Dabei

ergab sich, außer den bereits klinisch festgestellten Lymphdrüsengeschwülsten, eine, wenn auch nicht hochgradige, Granulomatose der Milz, ein größerer granulomatöser Herd im XI. Brustwirbel, sowie schwere granulomatöse Veränderungen der mediastinalen Lymphknoten. *Keine Tuberkulose.*

Das Material zu Fall 7 lieferte eine am 21. IV. 1922 ausgeschnittene, als lymphogranulomatös umgewandelt erkannte Lymphdrüse, die uns von der chirurgischen Abteilung des Barmbecker Krankenhauses (Pat. Ketzler) freundlichst zur Verfügung gestellt war.

Ebenso im Fall 8 eine am 4. V. 1922 ausgeschnittene, echt granulomatös erkrankte Lymphdrüse eines seit $\frac{1}{2}$ Jahr bestrahlten Pat. (Janssen) aus dem Barmbecker allgemeinen Krankenhaus.

Fall 9 bezieht sich auf eine am 20. V. 1922 ausgeschnittene Lymphdrüse, deren histologische Untersuchung ausgesprochene Schrumpfungsvorgänge an dem übrigens durchaus typischen lymphogranulomatösen Gewebe erkennen ließ (Privatpraxis Prof. *Sudeck*).

Bei Fall 10 endlich handelt es sich um eine am 21. VI. 1922 von Herrn Kollegen *Oehlecker* einer 24jährigen Pat. exstirpierte, histologisch das klassische Bild der reinen Lymphogranulomatose darbietende Lymphdrüse.

Von allen diesen Fällen wurde nach der durch das Mikroskop erbrachten Sicherung der Diagnose, daß tatsächlich echte Lymphogranulomatose vorliegt, Material zur Anstellung von Tierversuchen und zum Zweck der etwaigen Gewinnung von Kulturen verwandt. Über die dabei gewonnenen Ergebnisse unterrichten die nachstehenden Protokolle.

2. Tierversuche.

Fall 1. 4 Meerschweinchen erhalten Drüsenbrei, 4 andere eine Antiforminaufschließung des Breies. Die 2. Reihe bleibt gesund; von der ersten starben 2 Tiere nach 4 und 5 Monaten an ausgedehnter Tuberkulose. Gewinnung einer Reinkultur.

Fall 2. Es wurden 4 Meerschweinchen mit einer Drüsenaufschwemmung allein geimpft. Wir waren gerade seinerzeit darauf aufmerksam geworden, daß unter bestimmten Umständen Milchsäure die Virulenz von Erregern erhöhen kann. So fanden französische Forscher schon vor Jahren, daß avirulent gewordene Dysenteriestämme durch Milchsäurezusatz wieder virulent werden können. Von welchen Umständen solche Steigerungsfähigkeit abhängig ist, und ob sie nur für solche Keime gilt, die überhaupt die Möglichkeit einer Angriffstätigkeit besitzen, bleibe dahingestellt. Jedenfalls bekamen die Tiere, die mit Drüsenbrei und Milchsäure geimpft wurden, eine sehr starke Tuberkulose. Sie wurden am 23. IV. 1921 infiziert und Anfang Oktober 1921 getötet, teils durch Tuberkulin, teils mechanisch. Es ist dabei zu bemerken, daß 2 Tiere auf Tuberkulin starben, die 2 anderen aber nicht, trotzdem sie eine ebenso starke, ausgedehnte Tuberkulose hatten wie die anderen.

Die Tiere bekamen den Ansteckungsstoff in die Bauchhöhle, zeigten aber die stärksten Veränderungen in der Brusthöhle, vor allem unge-

wöhnlich starke, harte, kirschgroße Drüsen an der Luftröhrengabelung und eine ebensolche unter dem Brustbein. Netz-, Leber- und Milztuberkulose.

Von einem dieser Tiere wurden Organe und Drüsen, teils zu Züchtungsversuchen, teils zu weiteren Tierversuchen, benutzt. Es wurden je 6 Tiere mit Brei allein, mit Brei und Milchsäure, endlich mit anti-forminbehandeltem Brei gespritzt. Die mit Antiformin behandelten, breigespritzten Tiere wurden nicht tuberkulös; die mit Brei allein behandelten wurden tuberkulös; ebenfalls die mit Brei und Milchsäure behandelten, nur daß hier die Tuberkulose noch früher und heftiger auftrat.

Die Gewinnung einer Reinkultur war leicht. Dieser Stamm war nur für Meerschweinchen, nicht für Kaninchen (in der üblichen Prüfungs-menge verwendet) virulent.

Fall 3. Bei der Untersuchung wurden alte und frische Drüsen geschieden. Beide wurden teils als solche, teils nach Antiforminbehandlung eingespritzt. Die so erhaltenen Impfstoffe wurden teils wieder allein, teils mit Milchsäure gegeben. Es handelt sich also um einen Reihenversuch: da je 4 Tiere benutzt wurden, also um 32 Tiere. Bei der Hälfte der Tiere verlief der Versuch fast ergebnislos. Es waren die mit Antiformin behandelten drüsenbreieingespritzten. Die Antiforminbehandlung schwächt also die Ansteckungsfähigkeit des Erregers ab, auch eine Steigerung durch Milchsäure ist dann nicht mehr möglich. Der Erreger ist also offenbar an sich nur schwach angriffsfähig für Meerschweinchen, oder überhaupt in seiner Lebensfähigkeit abgeschwächt, so daß er schon durch das Antiforminverfahren seine Angriffsfähigkeit stark einbüßt. Daß er an sich durch irgendwelche Einflüsse verändert ist, zeigt ja sein Auftreten lediglich in der granulären Form.

Es bleiben demnach folgende Tiere:

1. angesteckt mit Brei von alter Drüse (Bauchhöhle);
2. angesteckt mit Brei von alter Drüse (Bauchhöhle) plus Milchsäure;
3. angesteckt mit Brei von neuer Drüse;
4. angesteckt mit Brei von neuer Drüse plus Milchsäure.

Es verlohnt sich, auf die einzelnen Reihen, sowie auf den Gesamtversuch kurz einzugehen. Von der ersten Reihe starben 2 kurz nach der Ansteckung, die am 4. XII. 1921 erfolgte. Eines zeigte am 15. IV. 1922 stark vergrößerte, mit Herden durchsetzte Milz (ohne Tuberkulose), sonst nichts. Ein anderes Tier, Ende August getötet, war gesund. — Von Reihe 2 starb ein Tier nach einem Monat ohne Befund. Ein anderes bekommt am 14. III. 1922 0,5 ccm Tuberkulin, bleibt am Leben, wird am 22. III. getötet, Befund: gesund. Ein 3. Tier bekommt am 3. IV. 1922 0,5 ccm Tuberkulin, tags darauf tot. Befund: In der linken Leistenbeuge 3, je $\frac{1}{2}$ linsengroße, weiche Lymphknoten. In der eröffneten Bauchhöhle

präsentiert sich sofort die gewaltig vergrößerte Milz, die 6 : 2,7 : 0,8 mißt. Sie ist aufs dichteste besetzt von kleinen, nicht über stecknadelkopfgroßen, durch die Kapsel schimmernden, im oberen Teil konfluierenden Knötchen. Solche finden sich, freilich sehr viel spärlicher, nirgends dicht stehend, auch in der nicht vergrößerten Leber. Peritoneum, besonders großes Netz, frei. Ebenso die Lungen und die mediastinalen Lymphdrüsen. Auch an den nicht besonders erwähnten Bauchorganen nichts pathologisch.

Die histologische Untersuchung der Leber ergibt, meist zwischen den Acini gelagert, den makroskopisch sichtbaren Herden entsprechend, durchgehends Kugelform darbietende Knötchen, die unvermittelt in das angrenzende Lebergewebe übergehen. Keins davon bietet typische Tuberkelstruktur, man erkennt vielmehr in einem retikulären Stroma, gegen die Peripherie hin allmählich an Dichte abnehmende, Zellen mit kleinem rundlichen, zuweilen auch spindeligen Kern und kaum sichtbarem Protoplasma neben Chromatinbröckeln; im Zentrum dichter liegende chromatinreiche Kerne, die durch ihre stärkere Färbung schon bei schwacher Vergrößerung deutlich hervortreten. Ganz vereinzelt trifft man auch Zellen mit mehreren etwas weniger pyknotischen Kernen, nirgends *Langhanssche* Riesenzellen.

In der Milz ist normale Struktur so gut wie vollständig aufgehoben. Die Knötchen liegen hier so dicht, daß man nur einzelne Pulpastränge erkennt, während deutliche Follikel kaum gefunden werden. Die Struktur der Knötchen ist die gleiche wie die in der Leber, nur die dunklen Zentra treten noch viel deutlicher hervor. An einzelnen Stellen ist das Gewebe in der Umgebung der Knötchen herdweise nekrotisch. Tuberkelbacillen nach *Ziehl* werden weder in der Leber, noch in der Milz vorgefunden.

Das 4. Tier bleibt, nach 8 Monaten mit Tuberkulin gespritzt, am Leben. Getötet für Komplementbindungszwecke erweist es sich als gesund. Also von 3 Tieren (eines scheidet aus) erweist sich nur eines erkrankt, und dieses stark. Offenbar hat die Milchsäure diese stärkere Erkrankung, im Gegensatz zu den Tieren ohne Milchsäure, verursacht. Wahrscheinlich ist der Erreger aber auch in einer derartig geringen Menge oder derartig tierschwachen Form in der alten Drüse vorhanden, oder beides, daß eine Übertragung aufs Tier nur unter günstigsten Ansteckungsbedingungen möglich ist.

Von der Reihe 3 scheiden 2 Tiere aus (aufgefressen). Von den beiden andern wird eines nach 8 Monaten erfolglos mit Tuberkulin gespritzt, bei Leichenöffnung (für Komplement) gesund. Das andere dagegen zeigt folgenden am 8. IV. erhobenen Befund (von selbst gestorben):

Brustorgane: Die 5 : 2,5 : 0,7 cm messende, weit in den Bauchraum ragende Milz ähnelt makroskopisch weitgehend der Bauernwurstmilz. Die Oberfläche ist durch gelbe, das Gewebe durchsetzende, bis über hanfkorngroße Knoten vorgebuckelt; zwischen den Knoten nur wenig intaktes Pulpagewebe. Bei stärkerem Druck auf die Knoten entleert sich aus dem Zentrum käsige eingedicktes Material. (Todesursache: Blutung in die Bauchhöhle.) In der Leber etwas kleinere, aber derbere, weißliche, aus dem Gewebe fast ausschälbare Knötchen in mäßiger Zahl.

Histologischer Befund: In Leber und Milz im wesentlichen übereinstimmend. In der Leber bestehen die Veränderungen aus dichtesten Anhäufungen von einkernigen Zellen, die zum Teil erhalten, zum Teil in ein mehr körniges Material zerfallen sind und unmittelbar in die an sie angrenzenden, hier stark abgeplatteten, vielfach nekrotischen Leberzellen übergehen, zum Teil durch ein lockeres, dem interacinösen Gewebe angehörendes, von den gleichen Zellen aber nur spärlich durchsetztes Gewebe von ihnen getrennt sind. Typische Tuberkelstruktur ist nirgends nachzuweisen.

Den gleichen Bau weisen die Knötchen in der Milz auf, in denen man aber vielfach noch ein retikuläres Stroma mit eingesprengten zelligen Elementen oder mit Kerntrümmern erkennen kann. Auch hier nichts von einem, auch nur entfernt an eine Tuberkelstruktur erinnernden Bau.

In der neuen Drüse ist also der Erreger in einer Form, die auch ohne Milchsäure bei günstigen Bedingungen ein Meerschweinchen anstecken kann. Diese Bedingungen werden sich richten entweder nach der zufällig größeren Menge der eingespritzten Keime, oder nach einem wechselnden Grade der Ansteckungsfähigkeit, wobei es ebenfalls vom Zufall abhängt, ob sich ein stark ansteckungsfähiger Keim in dem an sich sehr keimarmen Brei befindet!

Von Reihe 4 scheidet ein Tier wegen zu frühen Todes aus. Eines erweist sich nach 8 Monaten gegen Tuberkulin unempfindlich und gesund. 2 dagegen zeigen nach 4 und 5 Monaten knötchenförmige Lebertuberkulose.

Man sieht, wie wichtig Reihenversuche unter Umständen sind. Wie leicht konnte eine Ansteckung ausbleiben, wenn nur wenige Tiere benutzt wären.

Von dem Tier aus Reihe 3 wurde ein Tuberkelbacillenstamm gewonnen, der für Meerschweinchen, aber nicht für Kaninchen gefährlich ist.

Beachtenswert ist der Unterschied der Veränderungen im Vergleich zu den Erregern des ersten Stammes.

Fall 6. Zuerst wurde die bei Lebzeiten ausgeschnittene Drüse untersucht. 3 Tiere erhielten Drüsenbrei allein, 3 solchen mit Milchsäure, 2 Antiforminaufschliebung allein, 2 solche mit Milchsäure. Keines dieser Tiere zeigte selbst nach 7 Monaten irgendwelche tuberkulösen Veränderungen!

Die Drüse war am 18. III. herausgenommen. Am 10. VII. wurde die Leichenöffnung des am 8. VII. gestorbenen Mannes vorgenommen. Es wurden nur 3 Tiere gespritzt, weil damals die Ergebnislosigkeit des ersten Versuches noch nicht bekannt war, eines mit Drüsenbrei allein, 2 mit Brei plus Milchsäure. Das Ergebnis war eine Überraschung. Denn bei den Tieren, die gleichzeitig mit Milchsäure gespritzt waren, war schon nach 1 $\frac{1}{2}$ Monaten eine beginnende, aber deutliche Tuberkulose nachweisbar, aus der auch ein Erregerstamm gewonnen wurde. Ein Befund sei wiedergegeben: Stecknadelkopfgroße Knötchen im Peritoneum, Leistendrüsen erbsengroß. Viele kleine Leberherde, Milz ums Doppelte vergrößert, mit grauen Herden. Vergrößerte Drüsen an der Luftröhrengabelung und unter dem Brustbein. — Auch das 3. Tier erwies sich später als tuberkulös.

Hier stehen wir also vor der bemerkenswerten Tatsache, daß sich die bei Lebzeiten des Pat. ausgeschnittenen Drüsen selbst bei ziemlich reichlicher Verimpfung als nicht ansteckungsfähig erwiesen, während nach dem Tode eben solche Drüsengruppen mit Leichtigkeit Tuberkulose hervorriefen.

Fall 9. Wegen Tiermangels wurden nur 4 Tiere gespritzt, und zwar 2 mit Drüsenbrei ohne, 2 mit Milchsäurezusatz. Der Versuch hatte dennoch ein sehr einheitliches Ergebnis: 2 Tiere mit Drüsenbrei ohne

Milchsäure nach 5 Monaten frei von Erkrankung; 2 Tiere mit Drüsenbrei mit Milchsäure schwere Tuberkulose.

Die Befunde der beiden Tiere mögen hier mitgeteilt werden. Tier 1: Bauernwurstmilz, ums Vielfache vergrößert. In der Leber viele harte Herde. Stark verdicktes Netz, ein Knoten verkäst. Gelbe Lungenherde. Bohnengroße harte Drüsen an der Luftröhrengabelung und unter dem Brustbein. Tier 2: Einzelne bis kleinerbsengroße, knorpelharte Netzknoten, Durchsetzung der Leber, nicht aller Lappen, gleichmäßig mit kleinen und größeren Knötchen, desgleichen der Milz. Enorme geschwulstartige Vergrößerung der Lymphknoten im hinteren Mediastinum bis zum Lungenhilus. Knötchendurchsetzung der Lungen.

Also auch hier wieder, wie bei Fall 1, die starke Beteiligung und Bevorzugung der Drüsen im Brustraum.

Fall 10. Leider konnte der Drüsenbrei nur auf 4 Tiere übertragen werden. Dennoch bieten die danach erhobenen Befunde Anhaltspunkte. Ansteckung wie immer in die Bauchhöhle. Am 21. VI. 1922:

Tier 1. Drüsenbrei allein, getötet 16. X. 1922. Kein Befund.

Tier 2. Drüsenbrei und Milchsäure, getötet 24. XI. 1922. Kein Befund.

Tier 3. Drüsenbrei und Milchsäure, getötet 22. VIII. 1922. Einzelne Leber- und Lungenherde.

Tier 4. Drüsenbrei und Milchsäure, getötet 22. VIII. 1922. Starke Lungentuberkulose.

Also auch hier gelingt die Ansteckung nur zum Teil und selbst bei Milchsäurezusatz nicht mit Regelmäßigkeit. Aber sie gelingt.

Bei den *Fällen 5 und 7* wurden je 2 Tiere mit Drüsenbrei allein und je 4 gleichzeitig mit Milchsäure gespritzt. Von Fall 4 bekam nur 1 Tier Tuberkulose, und zwar eines, das Brei mit Milchsäure bekommen hatte. Von Fall 6 bekamen 2 Tiere Tuberkulose, das eine war mit Brei allein, das andere mit Brei und Milchsäure gespritzt.

Fall 8 verlief ergebnislos. Wir führen das auf die bei dem Patienten vorgenommene lange Röntgenbestrahlung, die der Ausschneidung der Drüse voraufging, zurück.

Bei *Fall 4* waren die Tierversuche ergebnislos, weil die Drüse, anstatt in 0,5proz. Carbolsäure, in 5proz. gelegt war. Doch kam uns dieser Umstand in anderem Sinne zugute. Nämlich für die Färbung.

Soweit die Tierversuche! Es sei besonders darauf hingewiesen, daß viermal durch Leichenöffnung völlige Tuberkulosefreiheit der Kranken festgestellt wurde. Diese Fälle sind also unbedingt beweisend. Die anderen Fälle werden wir im Auge behalten und später den Ausgang mitteilen. Wir schließen hieran zunächst ein paar Bemerkungen über den Nachweis der Erreger in den Krankheitsprodukten durch Färbung.

3. Färbung.

Es gelang zwar bei den ersten 3 Fällen die bekannten granulierten Stäbchen zu entdecken, aber nur in der oft beschriebenen Weise (Antiforminbehandlung) und nur in spärlicher Zahl. Bei Fall 4 dagegen glückte uns der Nachweis entschieden leichter. Zwar waren auch hier die Bacillen nicht zahlreich, aber doch leichter zu finden. Wir fragten uns, ob die starke Carbolbehandlung daran schuld sein könne. Unser Laborant *Lanken* hat dann die weiteren Fälle regelmäßig sowohl nach dem alten Verfahren, wie nach einer längeren Carbolsäurebehandlung untersucht. Zu dem Zwecke werden die Drüsenstücke mehrere Tage in 5proz. Carbolkochsalzlösung gelegt und erst dann mit Antiformin behandelt. Es gelang alsdann nicht nur ein leichteres Auffinden, sondern, wie in Fall 8, war *einzig auf diese Art* ein Bacillennachweis möglich. Fall 8 war ja $\frac{1}{2}$ Jahr bestrahlt gewesen, die Drüsen waren demnach stark zurückgegangen, offenbar auch die Bacillen.

Auch in Fall 9 führte das gewöhnliche Verfahren nicht zum Ziel. Diese Drüse zeigte ja starke Schrumpfungsvorgänge. Nach vorheriger Carbolbehandlung waren deutlich granuliert Stäbchen nachweisbar, und zwar in diesem Falle nicht nur nach *Gram*, sondern auch nach *Ziehl*.

Wir konnten also unsere früheren Untersuchungen bestätigen und erweitern.

Auffallend waren übrigens die Färbeversuche bei den Tieren. Trotzdem die Tiere ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen haben, gelang es uns in vielen Fällen nicht, ziehlfärbbare Tuberkelbacillen festzustellen, weder im gewöhnlichen Ausstrich, noch mit dem Antiforminverfahren. Ja, selbst gramfärbbare Granula waren nur in spärlicher Menge zu finden. So bei den Tieren des Falles 1. Wohl gemerkt aber nur bei den Tieren, die *unmittelbar* mit dem Drüsenbrei beimpft waren und nun die langsam sich entwickelnde Tuberkulose bekommen hatten. Wenn man von diesen Tieren wieder überimpft, so ist bei den Tieren zweiter Impfung der Nachweis säurefester Bacillen leicht. Obwohl die Tiere erster Impfung säurefeste Stäbchen vermissen ließen, war die Gewinnung eines Stammes ohne Schwierigkeit möglich.

4. Biologische Prüfungen.

Um dem Zusammenhang mit Tuberkulose weiter auf die Spur zu kommen, schien es uns ratsam, am lebenden Menschen biologische Prüfungen vorzunehmen. Es lag nahe, dazu sowohl Brei von lymphogranulomatösen Drüsen wie die Reizstoffe des Tuberkelbacillus zu benutzen. Die Prüfung erfolgte im Quaddelversuch bei Hodgkinkranken, und zwar teils mit den Tuberkulosepartigenen, teils mit Partigenen, die aus einer frischen Hodgkindrüse nach dem Partigenverfahren hergestellt waren.

Fall W. Vor 2 Jahren an ausgeschnittener Drüse als Lymphogranulomatose erkannt. Nach Röntgenbestrahlung Rückgang der Drüsen. Nach einem Jahre Rückfall. Wieder Röntgenbestrahlung, abermals Rückgang. April 1922 Verschlechterung. Die Quaddelprobe ergibt nur gegen Tb.N. (also das Tuberkelbacillenfett) starken Ausschlag und mäßig starke Ausschläge gegen Drüseneiweiß und Lipoid (A und F). Nach 3 Monaten Wiederholung. Kein Ausschlag gegen die Tuberkulosepartigene, dagegen Ausschlag gegen 2 Drüsenpartigene (F und N).

Fall K. Es ist das der als Fall 5 beschriebene Kranke, der später starb und seziiert wurde. Die Quaddelprüfung wurde einen Monat vor dem Tode vorgenommen. Er reagierte am stärksten auf Alttuberkulin (keine Tuberkulose bei der Leichenöffnung!) und auf Tb.N. Von den Drüsenpartigenen antwortete er nur auf den wasserlöslichen Bestandteil (L), der beim Tuberkelbacillus dem Reintuberkulin entspricht.

Fall D. Schwere Erkrankung mit gewaltiger Drüsenschwellung. Die Prüfung ist gegen alle Bestandteile völlig ergebnislos. Darauf wird eine Röntgenbestrahlung eingeleitet. Eine erneute Prüfung ergibt keinen Ausschlag gegen die Drüsenbestandteile, wohl aber einen beträchtlichen Ausschlag gegen *alle* Bestandteile des Tuberkelbacillus. Am stärksten gegen das Eiweiß (A). Die Sektion ergab später völlige Tuberkulosefreiheit. Fall 2.

Fall W. Erste Prüfung im Dezember 1921. Hat eine Röntgenbestrahlung durchgemacht. Fühlt sich einigermaßen frisch. Vorher geschwollene Drüsen stark zurückgegangen. Starker Ausschlag gegen Tuberkelbacillenfett N. Ausschlag auch gegen die Drüsenbestandteile. Nach 2 Monaten wird die Prüfung wiederholt. Die Ausschläge sind noch stärker. Befinden gut (den Verhältnissen entsprechend). Zeigt starke Ausschläge sowohl gegen *alle* Drüsenbestandteile wie gegen die Tuberkulosepartigene mit Ausnahme von Reintuberkulin (L). Der stärkste Ausschlag gegen das Tuberkelbacillenfett (N), der selbst noch nach 3 Wochen deutlich zu sehen ist. Auch der Ausschlag gegen das Tuberkelbacilleneiweiß (A) bleibt lange bestehen.

Bestimmte Schlüsse lassen sich aus den 4 Fällen natürlich nicht ziehen. Jedenfalls sehen wir aber deutliche Reaktionsbewegungen, die wir als Ausdruck irgendwelcher Abwehrvorgänge ansprechen müssen, und die mit Tuberkelbacillenstoffen in Zusammenhang stehen.

Diese Untersuchungen bedürfen einer planmäßigen Weiterführung.

5. Ergebnisse.

Wir folgern aus diesen neuen Untersuchungen:

Der Erregernachweis gelingt so gut wie in jedem Falle sowohl durch Färbung wie durch Züchtung. Nur dürfen dabei besondere Vorsichtsmaßregeln nicht außer acht gelassen werden.

Die Lymphogranulomatose ist eine seltene Form der Tuberkulose, aber schließlich nicht seltener als andere Tuberkuloseformen (z. B. Lupus erythematosus).

Für ihre Entstehung sind besondere Konstitutionsveränderungen notwendig. Welcher Art diese Umstimmungen sind, vermögen wir noch nicht anzugeben, ebensowenig wie wir die Bedingungen für die Entstehung des Lupus vulgaris, des Lupus erythematosus, des Erythema induratum und anderer Hauttuberkuloseformen anzugeben in der Lage sind. Jedenfalls ist aber eine Konstitutionsumstimmung die Voraussetzung für die Entstehung dieser wie anderer seltener Tuberkuloseformen. Sollte sie der Forschung zugänglich sein, so hat hier weitere Arbeit anzusetzen.

Zu dieser Konstitutionsumstimmung steht der spärliche Bacillenbefund nicht im Gegensatz. Im Gegenteil. Auch bei den anderen seltenen Formen der Tuberkulose findet man nur wenig Tuberkelbacillen, so wenig, daß sie früher dem Nachweis entgingen. Und zwar findet man die Erreger ebenfalls nur in Form der *Muchschen Granula*!

Ist für das Erythema nodosum usw. eine besondere Umstimmung der *Haut* nötig, so für die Lymphogranulomatose eine solche der *Lymphdrüsen*. Daher auch gewiß die große Gefährlichkeit.

Den Beweis für den Zusammenhang der Lymphogranulomatose mit Tuberkulose erachten wir durch unsere Untersuchungen für erbracht. Wollte man ihn erst dann gelten lassen (*Ziegler*), wenn es gelingt, mit Reinkulturen beim Tier dieselbe Krankheit zu erzeugen, so ist diese Forderung unberechtigt. Nicht einmal mit so einfachen Erregern wie Typhusbacillen gelingt es beim Tier einen „Typhus“ hervorzurufen; eine Endocarditis lenta oder ein Erysipel hat noch niemand beim Meer-schweinchen erzeugt, und doch zweifelt niemand an der Erregerrolle von Typhusbacillen oder Streptokokken bei diesen Krankheiten. Auch in der Tuberkulose haben wir Vergleiche die Fülle. Ein Lupus erythematosus, ja sogar ein Lupus vulgaris ist beim Tier gar nicht zu erzeugen, und doch ist ihre tuberkulöse Natur mit Sicherheit erwiesen. Im übrigen haben wir ja aber sogar von lymphogranulomatösen nicht zu unterscheidende Veränderungen beim Tier erzeugt. Doch legen wir diesem Befunde keinen ausschlaggebenden Wert bei. Denn wir sind der Meinung — und die Versuche von *Baumgartens* und *Lichtensteins* haben es inzwischen bewiesen —, daß man derartige Veränderungen auch mit gewöhnlichen Tuberkelbacillensämen unter bestimmten Umständen, vor allem bei langsamem Verlauf der Ansteckung (kleine Mengen), hervorzurufen kann.

Durch diese Untersuchungen erscheint uns die Auffassung der Krankheit als ein Wechselspiel weiterhin gestützt. So allein ist eine Erklärung möglich. Nicht der Erreger allein macht die Krankheit, sondern die

Krankheit setzt sich aus einem Wechselspiel zusammen, wobei der Spieler ersten Grades die besondere Körperverfassung, der zweiten Grades der Erreger ist.

Die Umstimmung bei Lymphogranulomatose muß derart sein, daß das umgestimmte lymphatische Gewebe *gesteigert* abwehrend gegen den Erreger antwortet, derart übermäßig, daß die Erreger zum größten Teil vernichtet werden. Die *Überreizbarkeit* aber gereicht dem Körper zum *Verderben*.

Für eine gewöhnliche Konstitution ist der Erreger offenbar sogar abgeschwächt durch die übermäßig starke Reaktion der Drüsen. Dafür spricht: 1. der von uns erbrachte Nachweis, daß er durch Antiformin geschädigt wird, was bei Tuberkelbacillen des Schwindsüchtigen und anderen Tuberkuloseformen nicht der Fall ist; 2. daß er durch virulenzsteigernde Mittel wie Milchsäure, erhöhte Pathogenität erlangen kann; 3. daß bei Reihenimpfungen immer nur einige Tiere an Tuberkulose erkranken.

Unter allen Umständen gelingt es aber durch *Reihenimpfungen* und bei Verwendung von Milchsäure aus *jedem* Fall Tuberkelbacillen zu züchten. Die Ausnahme unseres Falles 7 ist nur eine scheinbare. Hier hat offenbar die Bestrahlung und die Rückbildung der Drüsen auch den Erreger dezimiert. Auf die Dauer aber ist die Konstitutionsumstimmung durch Röntgenstrahlenbehandlung nicht zu beheben.

Eine Beantwortung der letzten Fragen ist natürlich erst dann möglich, wenn man Tuberkelbacillen in eine Drüse des lebenden Lymphogranulomatosekranken bringen könnte.

Daß die *Heilbestrebungen* nach der *Tuberkuloseseite* hin einsetzen müssen, ist selbstverständlich. Doch wird man von den bisherigen Verfahren kaum eine Heilung erwarten können, *es sei denn, daß der Konstitutionsänderung der Drüsen irgendwie Rechnung getragen wird*.

Versuche, wie ausgeschnittene Hodgkindrüsen auf die Virulenz der Tuberkelbacillen wirken, haben wir im Gange. Doch kann den Ausschlag selbstverständlich nur die *lebende* Drüse geben.

Alle weiteren Fragen in dieser furchtbaren Krankheit sind nur am Menschen, also in Verbindung mit der Klinik zu lösen.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel [Vorsteher: Prof. *Doerr*].)

Studien zum Bakteriophagenproblem.

IV. Mitteilung.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das lytische Agens und den Ablauf der übertragbaren Bakteriolyse.

Von
Edwin Scheidegger.

Die Mehrzahl der Autoren steht wohl heute auf dem Standpunkte, daß die übertragbare Lyse der Bakterien durch einen kolloidal-dispersen, vermutlich fermentartigen Stoff verursacht oder doch angeregt wird. Die Hypothese *d'Hérelles*, welche dem lytischen Prinzip belebte Natur zuschreibt und im „Bakteriophagum intestinale“ einen infravisiblen, obligaten Parasiten bestimmter Mikroben erblickt, erscheint jedoch noch immer nicht definitiv erledigt; nicht nur *d'Hérelle* selbst hält an dieser Konzeption fest, sondern auch andere Forscher wenden sich ihr zu wie z. B. *Prausnitz*, der in den Ergebnissen seiner Filtrationsversuche und in seinen Züchtungen „serumfester“ Bakteriophagen¹⁾ neue, für die Richtigkeit der *d'Hérelles*chen Theorie sprechende Argumente gefunden zu haben glaubt. Manche Experimentatoren nehmen ferner eine vermittelnde Stellung ein, indem sie sich die Bakteriophagen zwar nicht als *organisierte*, wohl aber als *corpusculäre*, im flüssigen Medium *suspendierte* Elemente vorstellen (*Bail*) oder das lytische Prinzip als einen an solchen Partikeln haftenden Stoff auffassen (*Otto* und seine Mitarbeiter), Ideen, welche bekanntlich stets durch das Phänomen der taches vierges begründet werden, dessen Erklärung als unmöglich hingestellt wird, falls man von der Voraussetzung der homogenen Wasserlöslichkeit des lytischen Agens ausgeht.

In diesem Widerstreit der Meinungen spielen natürlich die Untersuchungen über die Wirkung physikalischer und chemischer Faktoren auf das lytische Prinzip eine bedeutsame Rolle, indem sie sich für die Entscheidung über den belebten oder unbelebten Charakter des fraglichen Stoffes mit Vorteil verwenden lassen. Diese Untersuchungen

¹⁾ *Otto* und *Munter* teilten vor kurzem mit, daß ihnen die Gewinnung serumfester Bakteriophagen trotz mehrfach wiederholter Versuche nicht gelungen sei. Gleiche Mißerfolge hatten *Doerr* und *Zdansky* bei Nachprüfungen im Basler hygienischen Institut zu verzeichnen.

haben in der Tat ergeben, daß die Bakteriophagen mit Eigenschaften ausgestattet sind, welche in dieser Kombination bei keinem mikroskopischen Elementarorganismus und bei keinem invisiblen Virus angetroffen werden. Konnte schon die ursprüngliche Angabe *d'Hérelles*, daß die Bakteriophagen erst bei 65° C allmählich abgetötet werden, Befremden erregen, so wies *Kabéshima* später nach, daß damit die wahre Toleranzgrenze noch nicht erreicht ist, sondern daß die Aktivität des lytischen Prinzips selbst durch mehrmalige Einwirkung von 70° C nicht erheblich leidet. *Gratia, de Necker, Otto* und *Winkler* u. a. machen ähnliche Angaben; im allgemeinen wurde festgestellt, daß die Zerstörung im Intervall zwischen 65 und 75° C stattfindet und daß sich Bakteriophagen verschiedener Herkunft durch ihre Hitzeresistenz nicht unerheblich voneinander unterscheiden können. Sollten sich die jüngsten Mitteilungen von *Hauduroy* bestätigen, so würden die Bakteriophagen bei den genannten Temperaturgraden sogar nur gehemmt (inaktiviert) werden und die völlige Vernichtung würde im flüssigen Milieu erst bei 100–102°, im trockenen Zustande sogar erst bei 135° C erfolgen.

Jahrelange Lagerung, Austrocknung und diffuses Tageslicht scheinen das lytische Prinzip kaum zu schädigen. Es erwies sich widerstandsfähig gegen 1% Phenol, 0,5% Sublimat, 1–2,5% Fluornatrium, 50% Glycerin, gegen Kupfersulfat, bis zu einem gewissen Grade auch gegen Alkohol, Äther, Aceton, Chloroform usw. (*d'Hérelle, Watanabe, Kabéshima, Otto* und *Winkler, Eliava* und *Pozerski, Poorter* und *Maisin, A. G. Kuttner* u. a. m.). Nur Chininsalze machen das lytische Prinzip unwirksam, und zwar schon in relativ niederen Konzentrationen (1:100), eine Tatsache, welche *d'Hérelle* als Beweis für seine Ansicht heranzuziehen versuchte; *Wolff* und *Janzen* zeigten aber, daß der Stoff durch Chininverbindungen ebensowenig wie durch Yatren, Trypflavin, Rivanol oder Malachitgrün endgültig zerstört, sondern nur in eine Art „latenten“ Zustandes versetzt wird, aus welchem die aktive Modifikation durch eine einfache Passage mit den löslichen Bakterien leicht regeneriert werden kann. Auch die Beobachtungen von *Werthemann* über das Verhalten der Bakteriophagen im Kalt- oder Warmblüterorganismus lassen sich mit der Hypothese, welche sie zu Ultramikroben stempeln will, schwer vereinen; die Elimination dieser Substanzen aus der Zirkulation erfolgt vielmehr nach den für hochmolekulare Eiweißkolloide (Serumglobuline) ermittelten Gesetzen.

So konvergieren die Resultate der zahlreichen und mannigfaltigen Versuchsanordnungen dieser Kategorie gegen die Schlußfolgerung hin, daß die Ursache der übertragbaren Auflösung der Bakterien kein Lebewesen sein kann, sondern daß es sich um einen von den Bakterien selbst herrührenden, nach der von *Doerr* vertretenen Auffassung von ihnen sezernierten Stoff handelt. Wie man sich jedoch den Wirkungsmechanis-

mus dieses Stoffes zu denken hat und zu welchen anderen bereits bekannten Produkten des Anabolismus oder Katabolismus der Zellen er in Beziehung gesetzt werden darf, bleibt trotz der Fülle der in kurzer Frist geleisteten experimentellen Arbeit unentschieden, so daß weitere Untersuchungen über die physikalisch-chemische Beeinflußbarkeit als Beiträge zur Klärung des Problems ihre Rechtfertigung finden.

Die vorliegende Mitteilung befaßt sich mit der *Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für den Ablauf der übertragbaren Bakteriolyse*.

Fast alle Vorgänge in der belebten und unbelebten Welt sind dem Einflusse der H⁺-Konzentration unterworfen, oft in hohem Grade; bei der allgemeinen Anerkennung dieser Relation und den gerade in letzter Zeit sehr vervollkommenen Meßmethoden der H-Ionen erscheint es selbstverständlich, daß man bald daran ging zu ermitteln, in welcher Weise die übertragbare Lyse von dem genannten Faktor abhängig ist. Doch sind die in der Bakteriophagenliteratur enthaltenen Angaben über diesen Gegenstand spärlich und nicht widerspruchlos. Sie beschäftigen sich zum Teil mit den extrem hohen und extrem niedrigen H⁺-Konzentrationen, welche für das lytische Prinzip bei entsprechender Einwirkungsdauer deletär werden. *Eliava* und *Pozerski* verlegen das Intervall, in welchem die lytischen Stoffe ihre charakteristische Aktivität unvermindert beibehalten, zwischen die Wasserstoffexponenten 2,5 und 8,4; niedere oder höhere Werte sollen die Bakteriophagen vernichten. *Watanabe* aber berichtet, daß 10 proz. Sodalösung seinen Flexnerbakteriophagen nur lähme, aber nicht zerstöre, und daß erst 20 proz. Sodalösung denselben sicher „abtöte“; ein Colibakteriophage blieb aber selbst in einer so stark alkalischen Flüssigkeit insofern intakt, als sein Lösungsvermögen beim Kontakt mit dem zugehörigen Colistamm und bei entsprechend geänderter Reaktion erneut hervortrat. Andere Autoren stellten sich die Frage, ob und wie der lytische Prozeß abläuft, wenn man die H⁺-Konzentration des Milieus (der Bouillon) variiert. So *Gratia*, der zu dem Schlusse kommt, daß leicht saure ($p_H = 7$), ja sogar leicht alkalische Bouillons ($p_H = 7,4$) für den lytischen Vorgang bzw. für die durch das lytische Agens bewirkte Behinderung („inhibition“) des Bakterienwachstums nicht besonders günstig seien, sondern daß erst stärker alkalische Reaktionen ($p_H = 8,0$ bis $8,5$) ein Optimum repräsentieren. *Otto* und *Winkler* fanden, daß eine Reaktion vom $p_H = 6,5$ zur Gewinnung eines bestimmten Colilysins notwendig war.

Fassen wir alle bisher bekanntgewordenen Einzelheiten zusammen, so können wir sagen: der Stoff, den wir nach Ablauf der Lyse im flüssigen Nährmedium finden und welcher imstande ist, den gleichen Vorgang einzuleiten, wenn er mit lebenden Bakterien desselben Stammes in Kontakt gebracht wird, *besitzt eine beträchtliche Widerstandsfähigkeit*

gegen Säure und Alkali, kann aber seine charakteristische Wirkung nur in einem enge begrenzten Gebiet der Wasserstoffionenkonzentrationen entfalten.

Daraus ergibt sich unmittelbar die Folgerung, daß das Ausbleiben des lytischen Prozesses bei einer bestimmten H⁺-Konzentration des Milieus verschiedene Ursachen haben kann und daß keineswegs immer eine endgültige Zerstörung des lytischen Agens vorliegt; eine Inaktivierung dieser Substanz z. B. durch Verwandlung in eine reversible, unwirksame Modifikation müßte den gleichen Effekt nach sich ziehen. Damit sind aber noch nicht alle Möglichkeiten erschöpft. Am *d'Hérelle*-schen Phänomen beteiligt sich außer dem lytischen Prinzip noch eine zweite Reaktionskomponente, die *Bakterienzelle*, und zwar nur unter ganz bestimmten Bedingungen. Eine „antilytische“ H⁺-Konzentration braucht daher gar nicht auf das lytische Prinzip einzuwirken, sondern kann ebensogut die Bakterien in einem Sinne beeinflussen, welcher den Reaktionsablauf unmöglich macht.

So z. B. ist die Tatsache, daß *tote* Bakterien vom lytischen Prinzip nicht angegriffen werden, heute ausnahmslos anerkannt. *Doerr* und *Grüninger* vermochten sogar zu zeigen, daß abgetötete Mikroben nicht einmal passiv in intensive Lösungsprozesse miteinbezogen werden, die sich im gleichen Reaktionsvolum an lebenden Exemplaren derselben Art abspielen. Das abgestorbene Bacterium ist somit reaktionsunfähig; es löst sich nicht, selbst wenn es von maximalen Lysin-konzentrationen (*H. Meuli*) umspült wird, und daß es an der Lysinproduktion keinen Anteil nimmt, auch nicht durch „autolytischen“ Zerfall, darf nach den von *Doerr* und seinen Mitarbeitern erzielten Ergebnissen als gesichert gelten. Bactericide H⁺-Konzentrationen werden sich also stets als antilytisch erweisen.

Die Bakterien müssen aber nicht nur leben, um in die Reaktion eintreten zu können, sie müssen überdies wachsen und sich vermehren. Die Befunde von *Bordet*, *Doerr*, *Doerr* und *Grüninger*, *Bail*, *Gildemeister* u. a. lassen über die Unerläßlichkeit dieser Bedingung keinen Zweifel aufkommen. Da sich eine demnächst erscheinende Publikation von *Doerr* und *Zdansky* ohnehin mit dieser Frage genauer befassen wird, kann an dieser Stelle auf eine eingehende Erörterung des bisher beigebrachten Beweismaterials verzichtet werden. Ist aber Stoffwechsel und Vermehrung der Bakterien eine *conditio sine qua non*, dann wird jede entwicklungshemmende H⁺-Konzentration die Lyse und die Lysinproduktion verhindern oder bremsen.

Schließlich ist es zur Erzielung antilytischer Wirkungen nicht einmal nötig, daß Stoffwechsel und Vermehrung der Bakterien sistiert oder verlangsamt werden. Es liegt durchaus im Bereiche der Wahrscheinlichkeit, daß die Lebensvorgänge der Mikroben ihre Intensität beibehalten, aber qualitative Veränderungen erfahren. Das geht schon

aus einer analogen Beobachtung von *Doerr* und *Grüniger* über Temperatureinflüsse hervor. Die übertragbare Lyse eines Colistammes nahm von 10—37° C an Geschwindigkeit zu, blieb aber ebenso wie die Lysinvermehrung bei 43° C aus, obwohl sich die Colibakterien bei dieser Temperatur sehr lebhaft und rapide vermehrten, den Traubenzucker fermentativ unter Gasbildung abbauten, also keine Einbuße ihrer „Vitalität“ erkennen ließen. Daß Ähnliches auch bei gewissen H-Konzentrationen einzutreten vermag, wird man zugeben.

Wenn auch dieser Überblick über die a priori konstruierbaren Eventualitäten nicht vollständig genannt werden kann, läßt er doch die *Vieldeutigkeit des antilytischen Einflusses bestimmter H-Konzentrationen* erkennen. Nicht immer liefert die experimentelle Analyse mit Hilfe der bekannten Methoden die Entscheidung, welche Interpretation als die dem tatsächlichen Geschehen am meisten angenäherte gelten darf. Nur zwei Gruppen von Fällen lassen sich ohne besondere Schwierigkeiten auseinanderhalten. Wenn eine der beiden Reaktionskomponenten zerstört ist, dann wird die Lyse auch nach Wiederherstellung einer optimalen H-Konzentration nicht in Gang kommen; sind dagegen die Veränderungen, welche Lysin oder Bakterien erlitten haben, reversibel, und gleichen sie sich nach Behebung der abnormen Reaktion spontan aus, so muß die Lyse wieder in Erscheinung treten, sobald das Hindernis beseitigt wird. Dieser Überlegung wurde stets Rechnung getragen.

Alle Versuche wurden mit dem Stamme „Coli sensibel“ (*Bordet*) und dem zugehörigen Bakteriophagen ausgeführt. Soweit daher die nachstehenden Angaben quantitativ sind, beziehen sie sich nur auf diese eine Kombination; die abgeleiteten, allgemein formulierten Gesetzmäßigkeiten besitzen aber sicher generelle Gültigkeit. Die Titration der Lysinkonzentrationen erfolgte ausnahmslos nach dem Verfahren von *Appelmans* resp. nach der von *Werthemann* (*Arch. f. Hyg.* 91, H. 6, 1922) ausgearbeiteten Modifikation; die erhaltenen Werte wurden durch den Lysinexponenten (e_L) ausgedrückt.

Zunächst konnte festgestellt werden, daß das bezeichnete Coli-lysin innerhalb der durch die Wasserstoffexponenten 4,5 und 5,0 bezeichneten Reaktionsbreite seine Wirksamkeit nicht einbüßt und seine ursprüngliche Konzentration nicht ändert.

1. Versuch.

Fünf Röhren enthielten je 9 ccm Bouillon, in welcher eine Lyse von Colibacillen abgelaufen war. Der Inhalt der Eprouvetten war völlig klar, enthielt keine lebenden Colikeime, hatte einen p_H von 7,0 und einen Lysinexponenten von $e_L = 6$; d. h. bei der Auswertung nach *Werthemann* genügten $0,9 \times 10^{-6}$ ccm der Flüssigkeit (in 9 ccm Bouillon) gerade noch, um nach Einsaat einer Öse einer 16stündigen Bouillonkultur von „Coli sensibel“ komplette Lyse herbeizuführen. Zu vier von den Röhren wurde je 0,1 ccm n-HCl zugesetzt, wodurch sich der p_H auf 4,5 erniedrigte; das 5. Röhren diente als Kontrolle. Die Eprouvetten

mit dem angesäuerten Inhalt blieben verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur stehen, wurden dann durch Zusatz von 0,1 ccm n-NaOH auf die ursprüngliche H-Konzentration gebracht und ihr Inhalt auf seinen Lysingehalt geprüft. Die Lysintitration der Kontrolle erfolgte zugleich mit dem 120 Min. lang angesäuerten Röhrechen.

Dauer der Säureeinwirkung	Lysintiter nach erfolgter Neutralisation
15 Min.	6
30 „	6
60 „	6
120 „	6
Kontrolle (nicht angesäuert!)	6

Bei Zimmertemperatur hatte also die Konzentration des Lysins selbst nach zweistündiger Einwirkung höherer Säuregrade ($p_H = 4,5$) nicht abgenommen.

Bei einem zweiten Versuch wurde ein Kölbchen, welches 50 ccm hochkonzentrierten Colilysins ($e_L = 6$) enthielt, an drei aufeinanderfolgenden Tagen jedesmal durch Säurezusatz auf den p_H 4,5 gebracht und durch eine äquivalente Menge Lauge wieder auf die ursprüngliche Reaktion ($p_H = 7,0$) zurückgeführt. Das Lysin war der Säureeinwirkung dreimal, im ganzen 17 Stunden exponiert; der Lysinexponent betrug aber schließlich noch immer 5, hatte sich somit nur sehr wenig vermindert.

Anders gestalteten sich die Verhältnisse, wenn die angesäuerten Lysinproben in ein Wasserbad von $56^\circ C$ eingestellt wurden.

2. Versuch.

Die gleiche Anordnung wie im 1. Versuch. Das verwendete Colilysin hatte den Titer $e_L = 7$, den p_H von 7,01. Durch Säurezusatz erfolgte die Reduktion des p_H auf 4,5; dann kamen die sauren Röhrechen mit einer nicht angesäuerten Kontrolle in ein Wasserbad von $56^\circ C$, wurden nach verschiedenen Zeiten herausgenommen, abgekühlt, auf den p_H von 7,01 gebracht und auf ihren Lysingehalt geprüft. Bei der Kontrolle geschah die Bestimmung des Lysintiters erst nach Ablauf der gesamten Versuchsdauer, d. h. nach 2 Stunden.

Dauer der Säureeinwirkung bei $56^\circ C$	Lysintiter
15 Min.	—
30 „	1
60 „	—
120 „	0

Es war somit nach 2 Stunden noch etwas Lysin vorhanden, aber nur gerade so viel, daß die konzentrierte Flüssigkeit bei Einsaat 1 Öse Colikultur und nachfolgender Bebrütung klar blieb bzw. klar wurde. Die zehnfache Verdünnung lieferte schon ein negatives Resultat, die Colibakterien konnten sich ungestört entwickeln so wie in einer lysinfreien Bouillon von gleicher Beschaffenheit.

Eine Wiederholung des Versuches ergab sogar im selben Zeitraume die völlige Zerstörung des Lysins, insofern als die angesäuerte, 2 Stunden

auf 56° C erwärmte und neutralisierte Probe auch im konzentrierten (unverdünnten) Zustande die eingesäten Colibakterien nicht mehr zur Lysinproduktion anzuregen vermochte; die Colikeime wuchsen im gleichen Tempo und in derselben Üppigkeit wie im lysinfreien Milieu und die durch Lyse bedingte (oft nachträglich noch eintretende) Aufhellung blieb ganz aus.

Die Titration der angesäuerten und wieder neutralisierten Lysinproben nach der Methode von *Werthemann* bot natürlich nur einen direkten Aufschluß über die *quantitative Reduktion des Lysins* (ausgedrückt durch die Abnahme seiner Verdünnbarkeit bis zur Wirksamkeitsgrenze). Über *qualitative*, durch die Säureeinwirkung zustande gekommene Veränderungen gestattet sie an sich keine Aussage. Wir sind dieser letzterwähnten Frage nicht weiter nachgegangen und begnügen uns mit einer anscheinend sehr wichtigen Feststellung. *Das durch Säure reduzierte resp. nach Säureeinwirkung noch nachweisbare Lysin verhält sich genau so wie die ursprüngliche Substanz in der entsprechenden Verdünnung.* Es folgt dem von *H. Meuli* aufgestellten Gesetz, demzufolge die terminale Lysinkonzentration eine von der initialen Lysinkonzentration unabhängige Konstante repräsentiert.

3. Versuch.

Ein Colilysin vom Titer $e_L = 7$ wird bis zum $p_H = 4,5$ angesäuert, 30 Min. auf 56° C im Wasserbade erwärmt und schließlich wieder neutralisiert, so daß der Wasserstoffexponent den Ausgangswert (7,0) annimmt. Nun wird die *Werthemannsche* Verdünnungsreihe mit Bouillon hergestellt, derart, daß in je 9 ccm Bouillon fallende Mengen des angesäuerten und neutralisierten Lysins enthalten sind; alle Röhren werden mit je 1 Öse 16stündiger Bouillonkultur des Stammes „Coli sensibel“ beimpft und bei 37° C gehalten, bis sich die Grenze zwischen den klaren und den trüb gewordenen Röhren nicht mehr verschiebt. Das Ergebnis wird sodann abgelesen und verzeichnet, wobei θ Lyse, + ungestörtes Bakterienwachstum bedeutet.

Nr. des Röhrens	Gehalt an angesäuertem Lysin	Resultat
1.	$0,9 \times 10^{+1}$	θ
2.	$0,9 \times 10^0$	θ
3.	$0,9 \times 10^{-1}$	θ
4.	$0,9 \times 10^{-2}$	+
5.	$0,9 \times 10^{-3}$	+

Der Titer des angesäuerten Lysins beläuft sich somit nur mehr auf $e_L = -1$ gegen $e_L = -6$ des intakt gebliebenen.

Nun wird der Inhalt der Röhren 1, 2 und 3 nach *Werthemann* auf Lysin geprüft und überall der Lysinexponent -6 erhalten, d. h. es tritt Lyse noch in den Röhren ein, welche nur $0,9 \times 10^{-6}$ ccm des Inhaltes der Röhren 1, 2 oder 3 enthalten. Das angesäuert gewesene und quantitativ reduzierte Lysin war somit imstande, ein ganz ebenso starke Neubildung von Lysin auszulösen, wie irgendeine Verdünnung der ursprünglichen Lysinlösung.

Nachdem in dieser Weise konstatiert worden war, daß die angegebene H-Konzentration ($p_H = 4,5$) das lytische Prinzip bei 37° C überhaupt

nicht angreift, und daß erst bei 57° C eine Veränderung, und zwar eine anscheinend rein quantitative Reduktion stattfindet, sollten die Beziehungen zwischen H⁺-Konzentration und Reaktionsablauf untersucht werden. Zu diesem Behufe wurde folgender Versuch angesetzt:

4. Versuch.

Ein Colilysin wurde in 2 Parallelreihen nach *Werthemann* in Potenzen von 10 fortschreitend verdünnt. Als Verdünnungsflüssigkeit diente in der 1. Reihe eine Bouillon vom $p_H = 7,2$, in der 2. eine solche vom $p_H = 4,84$. Hierauf wurden sämtliche Röhrchen beider Reihen mit je 1 Öse einer 16stündigen Bouillonkultur von „Coli sensibel“ beimpft und bei 37° C bis zur Stabilisierung der Grenze der klaren gegen die trüben Röhrchen gehalten.

In der „alkalischen“ Reihe waren nach 10stündiger Bebrütung die ersten 9 Röhrchen klar, während die folgenden den gleichen Trübungsgrad wie ein Kontrollröhrchen ohne Lysin zeigten. Der Lysinexponent betrug daher — 8 ($e_L = 8$).

In der „sauren“ Reihe dagegen war in allen Röhrchen ein mäßiges, agglutiniertes Wachstum (Säureagglutination) eingetreten, genau so wie in dem zugehörigen Kontrollröhrchen.

Nr. des Röhrchens	Menge des Ausgangslysin	Ergebnis der Bebrütung bei	
		$p_H = 7,2$	$p_H = 4,84$
1.	$0,9 \times 10^0$ ccm	0	+ a
2.	$0,9 \times 10^{-1}$ „	0	+ a
3.	$0,9 \times 10^{-2}$ „	0	+ a
4.	$0,9 \times 10^{-3}$ „	0	+ a
5.	$0,9 \times 10^{-4}$ „	0	+ a
6.	$0,9 \times 10^{-5}$ „	0	+ a
7.	$0,9 \times 10^{-6}$ „	0	+ a
8.	$0,9 \times 10^{-7}$ „	0	+ a
9.	$0,9 \times 10^{-8}$ „	0	+ a
10.	$0,9 \times 10^{-9}$ „	+	+ a
11.	$0,9 \times 10^{-10}$ „	+	+ a
12.	$0,9 \times 10^{-11}$ „	+	+ a
Kontrolle	0	+	+ a

Das Wachstum in der sauren Reihe erfolgte demnach so, als ob überhaupt kein Lysin vorhanden gewesen wäre.

Aus den Arbeiten von *Doerr*, *Doerr* und *Grüniger* sowie *H. Meuli* geht hervor, daß es erst dann zum Absterben der Bakterien und zur Lyse kommt, wenn das lytische Prinzip einen ganz bestimmten, für jede Spezialkombination von Bakterien und Bakteriophagen charakteristischen Konzentrationswert erreicht hat. Es muß also jeder Lyse, wenn sie nicht gerade durch Bakterieneinsaat in ein bereits maximal konzentriertes Lysin eingeleitet wird, eine Lysinneubildung vorausgehen, deren Ausmaß vorausberechnet werden kann, wenn man die initiale LysinKonzentration kennt.

Wendet man dieses Gesetz auf den geschilderten Versuch an, so kann man mit Sicherheit behaupten, daß die ersten 9 Röhrchen der alkalischen Reihe ($p_H = 7,2$) den eben präzisierten Bedingungen entsprechen und daß jedes von ihnen nach Ablauf der Lyse so viel lytisches Prinzip

enthielt, daß die Wirkungsgrenze durch eine milliardenfache Verdünnung gerade erreicht wurde.

Wenn aber in *keinem* Röhrchen der sauren Reihe ($p_H = 4,84$) Lyse eintrat, so konnte das daran liegen, daß die hohe H-Konzentration die Neubildung von Lysin verhinderte. Die Richtigkeit dieser Vermutung war aber jedenfalls erst zu erweisen. Nach *Doerr* und *Berger* kommt es auch in Agar oder in (flüssiger) Gelatine nicht zur Lyse; aber die Lysinproduktion ist dabei keineswegs gehemmt, sie vollzieht sich im gleichen Ausmaße wie in leicht alkalischer Nährbouillon. Die Lysinvermehrung ist also — mathematisch gesprochen — eine notwendige, aber keineswegs hinreichende Bedingung der Bakterienauflösung.

Um zu erfahren, wie die Verhältnisse in unserem Falle liegen, war es also nötig, die Lysinkonzentration in den einzelnen Röhrchen der sauren Reihe zu bestimmen, natürlich erst nach vorausgegangener Abstumpfung der Säure, was durch Zusatz von je 0,1 ccm n-NaOH geschah; der p_H belief sich sodann auf 7,3. Hierauf wurden die Röhrchen zwecks Abtötung der in ihnen enthaltenen Colikeime 45 Minuten auf 56° C erhitzt und schließlich die Lysintitration des Inhalts nach *Werthemann* (mit gewöhnlicher Nährbouillon als Verdünnungsflüssigkeit, $p_H = 7,3$) in der üblichen Art vorgenommen. Zwecks Materialersparnis beschränkten sich diese Titrationsen auf die Röhrchen 1, 3, 5, 7, 9 und 11 der sauren Reihe.

Das Ergebnis der Auswertungen kann der nachstehenden Tabelle leicht entnommen werden. In den zwei ersten horizontalen Zeilen wurden die „alkalische“ und die „saure“ Verdünnungsreihe nochmals angeschrieben; die Vertikalkolumnen stellen die Resultate der Titration der einzelnen Röhrchen der „sauren“ Reihe dar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
$p_H = 7,2$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
$p_H = 4,84$	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a	+ a
	↓		↓		↓		↓		↓		↓
1.	0		0		0		0		+		+
2.	0		0		0		0		+		+
3.	0		0		0		+		+		+
4.	0		0		+		+		+		+
5.	0		0		+		+		+		+
6.	0		0		+		+		+		+
7.	0		+		+		+		+		+
8.	0		+		+		+		+		+
9.	+		+		+		+		+		+
10.	+		+		+		+		+		+
11.	+		+		+		+		+		+

In keinem der Röhren der sauren Reihe war es sonach zu einer Lysinvermehrung gekommen; vielmehr fand sich — wenn man von der unbedeutenden, innerhalb der Fehlergrenzen des Titrationsverfahrens liegenden Abweichung bei Röhren Nr. 5 absieht — in jeder Eprouvette geradesoviel Lysin vor, als man rechnungsgemäß nach dem Verdünnungsgrade erwarten durfte. Eine Gegenüberstellung der berechneten und gefundenen Werte für die Lysinexponenten illustriert das sehr deutlich:

	e_L berechnet	e_L gefunden
Röhren 1	7	7
„ 3	5	5
„ 5	3	2
„ 7	1	1

Lytisches Prinzip und sensible Bakterien koexistieren somit bei einer H⁺-Konzentration, welche dem p_H 4,5 entspricht, anscheinend ohne sich gegenseitig zu beeinflussen. Wenigstens konstatiert man, daß die Mikroben auch bei sehr hohen Lysinkonzentrationen ein ungestörtes, nur durch die saure Reaktion modifiziertes (agglutiniertes) Wachstum zeigen.

Man muß aber berücksichtigen, daß die Genauigkeit der Lysintitration nach *Appelmans-Werthemann* immerhin begrenzt ist schon durch den Umstand, daß die Verdünnungen fortschreitend in Potenzen von 10 angelegt werden. Die Zwischenwerte bestimmt man bei dieser Methode überhaupt nicht, und es liegt daher im Bereiche der Möglichkeit, daß Lysinabnahmen, welche nur einige Prozente einer vorhandenen Konzentration betragen, de facto vor sich gehen, ohne in den ermittelten Endziffern zum Ausdruck zu kommen. Tritt jedoch eine solche Abnahme beim Wachstum der Bakterien im sauren Milieu ein, dann dürfen wir offenbar nicht mehr behaupten, daß wachsende Bakterien und lytisches Prinzip reaktionslos nebeneinander verharren. Diese Aussage wäre aber auch dann gewagt, wenn wir jeden auch noch so kleinen Lysinverbrauch ausschließen könnten. Wir wissen zur Zeit nicht, auf welche Art das die Bakterien umspülende gelöste Lysin die Mikrobenzellen beeinflußt und sind daher gar nicht in der Lage, aus dem fehlenden Lysinverbrauch zu folgern, daß eine solche Beeinflussung nicht stattgefunden haben kann. Die Vorstellung, daß das extracelluläre Lysin in die Bakterien eindringen muß, um die bekannten, mit der Auflösung endigenden Vorgänge auszulösen, stammt bekanntlich von *d'Hérelle*, zu dessen Theorie vom obligaten Zellparasiten sie vortrefflich paßte. Die anderen Autoren haben sie von *d'Hérelle* übernommen, zum Teile ohne zu bedenken, daß das lytische Agens nachgewiesenermaßen hochmolekular ist und die Bakterienmembran nicht ohne weiteres passieren kann.

Doch erscheint es gar nicht notwendig, das Fehlen oder Vorhandensein eines Reaktionsgeschehens gerade aus den quantitativen Lysin-

schwankungen abzuleiten. Vielmehr ist es zweckmäßiger, die Bakterien als Indicator heranzuziehen, welche durch die Lysineinwirkung verschiedene, leicht konstaterbare und auf ihre Nachkommen vererbte Eigenschaften annehmen: die Lysoresistenz und die Lysogenität.

Um darüber Klarheit zu bekommen, wie sich die Bakterien nach längerem Wachstum in saurem lysinhaltigen Milieu verhalten, wurde in folgender Weise vorgegangen:

5. Versuch.

Ein Colilysin vom Titer $e_L = 9$ wurde in Potenzen von 10 mit saurer Bouillon ($p_H = 4,5$) fortschreitend verdünnt; die Eprövetten wurden mit je 1 Öse 16stündiger Colibouillonkultur beimpft und 48 Stunden bei $37^\circ C$ bebrütet. Nach Ablauf dieser Zeit war in allen Röhren reichliches agglutiniertes Wachstum eingetreten.

Nun wurde das 7. Röhren der Reihe, welches rechnungsgemäß den Lysinexponenten (e_L) 1 haben mußte, also nur sehr geringe Mengen des lytischen Prinzips enthielt, herausgenommen, scharf auszentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgehebert und durch saure Bouillon von derselben H-Konzentration ersetzt. Das Bakteriensediment wurde aufgewirbelt und neuerlich zentrifugiert usw. Nach dreimaliger Wiederholung dieser Waschprozedur in saurer Bouillon (mit beständigem Wechsel der Zentrifugengläser und Pipetten!) wurde von den gewaschenen Bakterien soviel in alkalische Bouillon eingetragen, daß eine deutliche Trübung entstand, eine Öse konzentriertes Colilysin hinzugefügt und bebrütet.

Je nach der Menge der ausgesäten Bakterien war das Resultat verschieden. War die Aussaat gering genug, so trat überhaupt keine Trübung der Bouillon ein. War dagegen die eingetragene Bakterienmenge relativ groß, so erfolgten Lyse und Aufhellung erst nach vorausgegangener, durch Bakterienwachstum bedingter Trübung. *Die in saurem Lysin gewachsenen Colikeime resp. ihre Nachkommen erwiesen sich also jedenfalls nicht als lysoresistent.*

Wurden aber die gewachsenen Bakterien in Bouillon ohne Lysin-zusatz übertragen, so erfolgte auch hier eine Lysinproduktion in maximalem Ausmaße, an die sich eine Lyse anschloß. Es hatte somit zunächst den Anschein, als ob die Keime aus sich heraus Lysin gebildet hätten, als ob sie unter dem Einfluß des Lysins im sauren Milieu lysinogen geworden wären.

Eine andere Versuchsanordnung belehrte uns jedoch, daß dem nicht so sei und daß die vorgetäuschte Lysogenität auf der schon von *Bordet* betonten praktischen Unmöglichkeit beruhen müsse, Lysin von lysablen Bakterien „wegzuwaschen“. Selbst die angewendeten Kautelen (ständiger Wechsel der Gefäße und Pipetten) hatten nicht ausgereicht, um die letzten, noch wirksamen Lysin Spuren zu entfernen.

Erst die Methode der fortschreitenden Verdünnung führte auch hier zu einwandfreien Ergebnissen.

6. Versuch.

Ein Colylisin ($e_L = 9$) wurde mit saurer Bouillon in Potenzen von 10 fortschreitend verdünnt, die Röhrechen mit „Coli sensibel“ beimpft und bei 37° C 48 Stunden bebrütet, bis ziemlich üppiges agglutiniertes Wachstum zu sehen war.

Hierauf wurde vom 7. Röhrechen der Reihe ausgehend in Potenzen von 10 abermals mit saurer Bouillon verdünnt, bis die Lysin-konzentration dem 10. bzw. 11. bzw. 12. der 1. Reihe entsprach, also so gering geworden war, daß sie auch bei optimaler H⁺-Konzentration nicht ausgereicht hätte, um die Lyse in Gang zu bringen. Gleichzeitig mit dem Lysin des 7. Röhrechens erfuhren aber natürlich auch die in demselben suspendierten Colikeime eine 1000, 10 000 und 100 000fache Verdünnung resp. Abnahme ihrer Zahl. Hätten nun diese Keime durch das vorherige Wachstum im sauren Lysin die hereditäre Lysogenität erworben, so mußte die letztere bei der Aussaat auf Agar (Flutterform der Kolonien) oder in Bouillon (nachweisbare Lysinproduktion) zum Vorschein kommen. Das Verfahren lief also darauf hinaus, das extracelluläre Lysin durch Verdünnungsgrade zu eliminieren, welche den Gehalt der betreffenden Probe an in saurem Lysin gewachsenen Colikeimen nicht auf Null reduzierten.

Unter diesen Bedingungen wuchsen nun die aus dem sauren Lysin stammenden Colibakterien auf Agar nur in völlig typischen regelmäßigen Kolonien, und die abgeimpften Stämme erwiesen sich als mit dem Ausgangsstamm in jeder Hinsicht identisch; sie waren also sensibel, nicht resistent und nicht lysogen.

Überimpft man aus den Röhrechen einer mit saurer Bouillon angelegten Verdünnungsreihe eines Colilysins, in denen sich Colibakterien entwickelt haben, auf alkalische Bouillon, so kann man Ähnliches feststellen. Lyse erfolgt nur, wenn mit den Bakterien so viel extracelluläres Lysin mit übertragen wird als zur Einleitung des Reaktionsablaufes an sich genügt; andernfalls tritt die Lyse erst dann ein, wenn man frisches Colilysin in ausreichender Menge zusetzt.

Damit ist nunmehr festgestellt, daß Lysin und sensible Bakterien bei saurer Reaktion nebeneinander bestehen können, ohne miteinander in irgendeine Beziehung zu treten; das Lysin bleibt quantitativ und qualitativ unverändert, die Bakterien wachsen ungestört und nehmen keine neuen Eigenschaften an.

Die hier wiedergegebenen Versuche lassen erkennen, in welcher mannigfaltiger Weise ein und derselbe Faktor einen komplexen Vorgang, wie ihn das Phänomen von *d'Hérelle* repräsentiert, beeinflussen kann. Abgesehen davon, daß jede der beiden Reaktionskomponenten für sich gegen hohe H⁺-Konzentrationen empfindlich ist, wird auch der Reaktionsablauf durch ein Übergewicht der H⁺-Ionen über die OH⁻-Ionen weitgehend bestimmt. Die Bakteriophagenreaktion kann durch eine entsprechende Änderung der H⁺-Konzentration sofort sistiert werden, auch wenn diese Änderung dem Grade nach zu gering ist, um das lytische Prinzip zu schädigen oder die Bakterien ihrer Lebens- und Vermehrungsfähigkeit zu berauben. Derartige Erhöhungen der H⁺-Konzentration

müssen nicht gerade willkürlich durch Zusatz von Säure herbeigeführt werden, sondern können sich auch automatisch aus dem Stoffwechsel der Bakterien (Acidifikation durch fermentative Spaltung von Kohlenhydraten) ergeben. In Übereinstimmung mit *Otto* und *Winkler* fanden wir, daß der Grenzwert des Wasserstoffexponenten, unterhalb dessen es nicht mehr zur Lysinproduktion und daher auch nicht mehr zur Lyse kommt, bei 6,5 liegt, eine H⁺-Konzentration, welche noch ein üppiges Wachstum der Colikeime gestattet und das lytische Prinzip selbst bei protrahierter Einwirkung nicht angreift.

Auch andere Fragestellungen und Experimente, welche das *d'Hérelle*-sche Phänomen betreffen, werden in Hinkunft auf diese Verhältnisse Bedacht nehmen und jede der beiden Reaktionskomponenten sowie auch den Reaktionsablauf gesondert ins Auge fassen müssen; viele der in der Literatur vorliegenden Angaben über die Resistenz, über gelungene Anpassungen und Spezifitätsänderungen des lytischen Prinzips verlieren ihre Bedeutung, weil sie diese Forderung nicht befriedigen.

Um jedoch derartige analytische Untersuchungen komplexer biologischer Prozesse durchführen zu können, benötigt man in erster Linie zuverlässige quantitative Methoden. Für die Bakteriophagenreaktion stehen sie uns zur Verfügung. Die von *Doerr* und *Berger* nachgewiesene Tatsache, daß die Einsaat in Gelatine oder Nähragar die Bakteriophagenreaktion storniert, gestattet es uns, die Zahl der in jedem Momente des Reaktionsablaufes vorhandenen, noch vermehrungsfähigen Mikroben zu ermitteln. Für die Messung des lytischen Prinzips andererseits eignet sich das von *Appelmans-Werthemann* angegebene Verfahren der fortschreitenden Verdünnung, welches uns mit großer Genauigkeit über die geringste Menge (Konzentration) dieses Stoffes unterrichtet, die eben noch imstande ist, die Bakteriophagenreaktion unter bestimmten reproduzierbaren Bedingungen in Gang zu bringen. Zahlreiche Prüfungen haben uns überzeugt, daß das genannte Verfahren den diversen Plattenmethoden überlegen ist; in der Bouillon gelangen noch Lysinkonzentrationen zu voller, ohne weiteres feststellbarer Auswirkung, welche auf der Platte keinen wahrnehmbaren Effekt hervorrufen oder so geringgradige Wirkungen erzeugen, daß sie leicht übersehen werden können.

Zusammenfassung.

1. Eine H⁺-Konzentration, welche dem p_H von 4,5 entspricht, schädigt das lytische Agens selbst bei mehrstündiger Einwirkung nicht, wenn die Temperatur 20—37° C beträgt.

2. Die gleiche H⁺-Konzentration zerstört das lytische Agens bei 56° C in 2 Stunden vollständig oder fast vollständig; eine kürzere Einwirkungsdauer hat eine rein quantitative Abnahme des Lysins zur Folge, welche sich bei den angewendeten Untersuchungsmethoden als

gleichwertig mit einer entsprechenden Verdünnung erwies. Anhaltspunkte für qualitative Veränderungen konnten nicht gewonnen werden.

3. Bei 37° C entwickelt sich *Bacterium coli* in saurer und lysinhaltiger Bouillon ($p_H = 4,5$, $e_L = 7$) ungestört. Das lytische Prinzip erfährt dabei weder eine Vermehrung noch eine Verminderung, und die Bakterien nehmen keine neuen, erblich fixierten Eigenschaften (Lysinresistenz oder Lysogenität) an. Unter den angegebenen Bedingungen sind somit die Komponenten der Bakteriophagenreaktion (lytisches Prinzip und wachsende Bakterien) vorhanden, aber die Reaktion (Lysinvermehrung und Bakteriolyse) findet nicht statt.

4. Die Herstellung einer neutralen bis schwach alkalischen Reaktion bringt das Bakteriophagenphänomen, welches in saurer und lysinhaltiger Bouillon gehemmt war, sofort in Gang. Es bleibt derzeit unentschieden, ob das lytische Prinzip durch höhere Säuregrade in unwirksame, salzartige, reversible Verbindungen übergeführt wird (wie manche Bakterientoxine nach *Doerr*) oder ob die extremen H⁺-Ionenkonzentrationen die Bakterienoberflächen so verändern, daß das lytische Agens nicht einwirken kann.

5. Die Beeinflussbarkeit des *d'Hérelle*'schen Phänomens durch höhere H⁺-Konzentrationen in dem die Bakterien umspülenden Milieu, insbesondere aber die Möglichkeit, diesen Einfluß durch Beseitigung des H⁺-Übergewichtes wieder zu annullieren, sprechen für die unbelebte Natur des lytischen Prinzips.

Literaturverzeichnis.

- Appelmann*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **85**, 722. 1921. — *Bail*, Wien. klin. Wochenschr. **24**, 237. 1921. — *Borlet* und *Cinca*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **83**, 1293. 1920. — *Doerr*, Klin. Wochenschr. 1922, Heft 30 und 31. — *Doerr* und *Berger*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, Heft 1 und 2. — *Doerr* und *Grüniger*, Schweiz. med. Wochenschr. **31**, 761. 1922. — *Eliava* und *Pozerski*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **84**, 708. 1921; **85**, 139. 1921. — *Gratia*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **84**, 275. 1921. — *Gratia*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **18**, 192. 1921. — *Gratia*, Journ. of exp. med. **34**, 115. 1921. — *Hauduroy*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **87**, 1089. 1922. — *d'Hérelle*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **83**, 1320. 1920. — *d'Hérelle*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **85**, 767. 1921. — *d'Hérelle* und *Pozerski*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **85**, 1011. 1921. — *Kuttner*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **18**, 158. 1921. — *Kuttner*, Journ. of bacteriol. **8**, Heft 1. 1923. — *Kabéshima*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **83**, 219. 1920. — *McLead* und *Govenlock*, Lancet **1**, 900. 1921. — *Meuli*, Arch. f. Hyg. **99**, 1923. — *de Necker*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **86**, 736. 1922. — *Otto* und *Munter*, Dtsch. med. Wochenschr. **52**, 1579. 1921. — *Otto* und *Winkler*, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, S. 383. — *Poorter* und *Maisin*, Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérapie **25**, 473. 1921. — *Prausnitz*, Klin. Wochenschr. **33**, 1639. 1922. — *Watanabe*, Wien. klin. Wochenschr. **43**, 522. 1921. — *Werthemann*, Arch. f. Hyg. **91**, Heft 6. 1922.

(Aus dem Georg Speyer-Haus [Dir.: Geheimrat Prof. Dr. *Kolle*] zu Frankfurt a. M.,
Biol. Abt. [Med.-Rat Dr. *Kudicke*].)

Untersuchungen über die Wirkungsweise des Neosalvarsans.

Von
Dr. T. V. Simić, Belgrad.

Die nachstehenden Untersuchungen haben ihren Ausgang von Beobachtungen genommen, die, wie es scheint, zuerst von *K. Ullmann*³²⁾ gemacht sind. Es handelt sich um Verschiedenheiten in der Wirkung der Arsenverbindungen, die von der Art ihrer Einverleibung abhängig sind. *Ullmann* hat auf diese Tatsache kürzlich erneut aufmerksam gemacht. Hinsichtlich des Neosalvarsans, dessen Wirkungsweise allein den Gegenstand meiner Untersuchungen bildete, hat *Castelli*²⁷⁾ aus dem hiesigen Institut gleichlautende Angaben veröffentlicht. Danach ist Neosalvarsan bei intravenöser Einverleibung weniger giftig, gleichzeitig aber auch weniger wirksam als bei Einspritzung unter die Haut. *Feldt* (ined.) konnte gelegentlich von Arbeiten über den experimentellen *Recurrens* die Beobachtungen dahin erweitern, daß die intraperitoneale Injektion in ihrer Wirkung der subcutanen nahesteht. Bei einem solchen Versuch hatte sich der von der Art der Einverleibung abhängige Unterschied in der Wirkung in ganz besonders auffälliger Weise gezeigt, und da hierbei Mäuse zur Verwendung gekommen waren, die einige Zeit vorher zur Toxizitätsprüfung von Salvarsanpräparaten benutzt worden waren, hatte *Feldt* auf Veranlassung von *Kudicke* festzustellen gesucht, inwieweit der erwähnte Befund von der Vorbehandlung abhängig war. Zu diesem Zwecke hatte er Mäuse, die etwa 14 Tage vorher die Dosis tolerata von Neosalvarsan (1 ccm $\frac{1}{120}$ pro 20 g) intravenös erhalten hatten, mit *Recurrens* (russischer Herkunft) intraperitoneal infiziert und am nächsten Tag mit einer schwachen Neosalvarsandosis (1 ccm $\frac{1}{750}$ pro 20 g) teils subcutan, teils intraperitoneal oder intravenös behandelt. Es hatte sich dabei ergeben, daß die Parasiten bei intravenöser Einverleibung des Neosalvarsans gewöhnlich längere Zeit nach der Injektion nachweisbar blieben, in vorbehandelten Tieren sich sogar vielfach zunächst in gleicher Weise ver-

mehrten wie bei den Kontrollen, während sie bei subcutaner und intraperitonealer Injektion in vorbehandelten Mäusen ebenso wie in normalen in der Regel binnen 24 Stunden aus dem Blute verschwanden. Es zeigte sich also nicht nur eine *schwächere Wirkung des intravenös gegebenen Medikamentes* gegenüber dem subcutan und intraperitoneal einverleibten, sondern auch eine *weitere Abschwächung der Wirkung unter dem Einfluß der Vorbehandlung*, eine Abschwächung, die sich aber nur auf das intravenös injizierte Neosalvarsan, nicht auf das subcutan oder intraperitoneal gegebene erstreckte.

Im folgenden berichte ich über eigene Versuche, die ich auf Veranlassung von Herrn Geheimrat *Kolle* angestellt habe, um über die oben kurz geschilderten Erscheinungen der Neosalvarsanwirkung weitere Aufschlüsse zu erhalten.

Ich konnte zunächst die Befunde von *Feldt* bestätigen. Aus den Tabellen I, Ia, II und IIa geht klar hervor, daß in der Tat, und zwar bei allen zur Verwendung gelangten, überhaupt wirksamen Dosen Unterschiede in der Neosalvarsanwirkung bestehen, die davon abhängig sind, ob die Tiere schon einmal mit Neosalvarsan behandelt worden waren oder nicht, und weiter davon, ob zur Behandlung das Medikament direkt in die Blutbahn gespritzt oder ein anderer Weg der Einverleibung gewählt wurde. Nach intravenöser Injektion verschwinden die Spirochäten in vorbehandelten Tieren frühestens am zweiten Tage, während sie in normalen fast stets schon nach 24 Stunden nicht mehr nachweisbar sind: Im ersteren Falle ist ein nahezu unbeeinflusster Ablauf der Infektion die Regel, im anderen ist die Wirkung des Medikaments schon nach 24 Stunden fast immer deutlich zu erkennen. Diese Unterschiede in der Wirkung waren auch bei anderen Versuchen stets festzustellen, wenn auch nicht immer in gleichem Grade. Wie Tabelle II und IIa zeigen, wirkt die intraperitoneale Injektion ganz anders. Am zweiten Tage nach der Injektion verhalten sich alle Mäuse gleich, nur am ersten Tage ist ein Unterschied festzustellen, hier aber zugunsten der vorbehandelten Tiere. Das prägt sich auch weiterhin darin aus, daß bei den letzteren Frührezidive seltener sind. Ob dieses Verhalten die Regel darstellt oder nur auf Zufälligkeiten beruht, muß dahingestellt bleiben. Mit Sicherheit zeigt sich jedoch, daß eine *Minderung der Wirkung des extravasal einverleibten Präparats unter dem Einfluß der Vorbehandlung nicht stattfindet*.

Übrigens ist, wie aus anderen hier nicht wiedergegebenen Versuchen geschlossen werden kann, die Art der Vorbehandlung gleichgültig. Die Ergebnisse ändern sich nicht, wenn wir statt der in obigen Versuchen vorgenommenen intravenösen Vorbehandlung eine subcutane oder intraperitoneale wählen.

Tabelle I*
Normale Mäuse. Intravenöse Behandlung.

Laufende Nr.	Inf. Blut der Rec.-Maus + 15 cem NaCl-Lösung, davon 0,50 cem inj.	Tag nach der Infektion	Dosis pro 20 g Körpergewicht	Spirochätenbefund nach der Behandlung								
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag
1 : 400												
1.	29. VI.	+	Neosalv. ¹ / ₄₀₀	+W.	θ	θ	θ	+W.
2.		+		+S.W.	+	θ	θ	+S.W.
3.		+		θ	θ	θ	θ	θ	+	.	.	.
4.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.
1 : 600												
5.	29. VI.	+	Neosalv. ¹ / ₆₀₀	+W.	θ	θ	θ	θ	θ	+W.	.	.
6.		+		+S.W.	θ	θ	θ	θ	+	.	.	.
7.		+		+	θ	θ	θ	+S.W.
8.		+		+	θ	θ	θ	+S.W.
1 : 800												
9.	29. VI.	+	Neosalv. ¹ / ₈₀₀	†
10.		+		θ	θ	θ	θ	+S.W.
11.		+		θ	θ	θ	θ	+S.W.
12.		+		θ	θ	θ	θ	θ	+S.W.	.	.	.
1 : 1000												
13.	29. VI.	+	Neosalv. ¹ / ₁₀₀₀	+	++++	++++	†
14.		+		θ?	+W.	θ	θ	θ	θ	+	.	.
15.		+		++	+++	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+W.
Kontrollmäuse												
16.	29. VI.	+	.	++	++++	++++	†
17.		+	.	++	++++	++++	†

*) Erklärung der Abkürzungen:

- + S.W. = 1—5 Parasiten im Präparat.
- + W. = mehr als 5 Parasiten im Präparat.
- + = 1—5 Parasiten in jedem Gesichtsfeld.
- ++ = 6—10 Parasiten in jedem Gesichtsfeld.
- +++ = 10—30 Parasiten in jedem Gesichtsfeld.
- ++++ = unzählige Parasiten in jedem Gesichtsfeld.

Tabelle Ia.
Vorbehandelte Mäuse. (12. V. Neosalv. $\frac{1}{120}$.) Intravenöse Behandlung.

Laufende Nr.	Inf. Blut der Rec.-Maus + 16 ccm NaCl-Lösung, davon 0,50 cm inj.	Tag nach der Infektion	Dosis pro 20 g Körpergewicht	Spirochätenbefund nach der Behandlung								
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	
1 : 400												
1.	29. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{400}$	+	0	0	0	0	0	0	0	+W.
2.		+		+	++	0	0	+S.W.
3.		+		+	0	0	0	0	+S.W.	.	.	.
4.		+		++	++++	++++	0	0	0	0	0	+W.
1 : 600												
5.	29. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{600}$	++	0	0	0	0	+S.W.	.	.	.
6.		+		+++	++++	++	+
7.		+		+++	++++	+++	0	0	0	0	0	+W.
8.		+		++	+	0	0	0	0	0	+S.W.	.
1 : 800												
9.	29. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{800}$	++	+++	+++	+
10.		+W		++	++	0	0	0	0	0	+S.W.	.
11.		+		++	+++	0	0	0	0	0	+S.W.	.
12.		+		++	++	0	0	0	0	+S.W.	.	.
1 : 1000												
13.	29. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{1000}$	+++	++++	+++	++++	0	0	0	0	+S.W.
14.		+		+++	++++	++++	++	0	0	0	0	+S.W.
15.		+		+++	++++	++++	+
16.		+		++	++++	0	0	0	0	+	.	.
Kontrollmäuse												
17.	29. VI.	+	.	+	+++	+
18.		+	.	+	+++	++++	+++	++++	+	.	.	.

Bekanntlich hat schon *Ehrlich*²²⁾ die Anschauung vertreten, daß gewisse Oxydationsstufen der Salvarsane die eigentlich wirksamen Substanzen seien, und *Castelli* hat im Verfolg dieser Anschauungen auch die bei intravenöser und subcutaner Injektion beobachteten Wirkungsunterschiede darauf zurückgeführt, daß das Mittel im subcutanen Zellgewebe stärker oxydiert werde.

Tabelle II.
Normale Mäuse. Intraperitoneale Behandlung.

Laufende Nr.	Inf. Blut der Rec.-Maus + 15 ccm NaCl-Lösung, davon 0,50 ccm inj.	Tag nach der Infektion	Dosis pro 20 g Körpergewicht	Spirochätenbefund nach der Behandlung							
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
1 : 400											
1.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{400}$	†
2.		+		†
3.		+W.		†
4.		+		†
1 : 600											
5.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{600}$	θ	θ	θ	θ	θ	†	.	.
6.		+		θ	θ	θ	θ	+	.	.	.
7.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	†
8.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
1 : 800											
9.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{800}$	+	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
10.		+		+	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
11.		+		+	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
12.		+		θ	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
1 : 1000											
13.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{1000}$	+S.W.	θ	θ	θ	θ	+W.	.	.
14.		+		++	θ	θ	θ	.	+W.	.	.
15.		+		+	θ	θ	θ	θ	+S.W.	.	.
16.		+		+	θ	θ	θ	.	+S.W.	.	.
Kontrollmäuse											
17.	22. VI.	+	.	+	++	+++	†
18.		θ	.	θ	+++	+++	+W.	θ	θ	+SW.	.

Es lag deswegen nahe, zu prüfen, wie sich das Neosalvarsan verhielt, wenn es von vornherein in oxydiertem Zustand dem infizierten Organismus einverleibt wurde.

Die durch Luft- oder O₂-Zutritt erfolgende Erhöhung der Toxizität führte Ehrlich beim Salvarsan auf die Bildung von 3 Amino-4-oxy-phenyl-arsenoxyd (Arsenoxyd) zurück. Auch Voegtlin und Smith sind dieser Ansicht. Nach ihnen müssen entsprechend der Anschauung Ehrlichs²¹⁾ alle Arsenpräparate, um auf die Parasiten und die Körperzellen eine toxische Wirkung ausüben zu können, auf einen bestimmten Typ zurückgeführt werden, und zwar auf die dreiwertigen Oxyde R · As O.

Tabelle IIa.
Vorbehandelte Mäuse (etwa 11. V. Neosalv. $\frac{1}{120}$). Intraperitoneale Behandlung.

Laufende Nr.	Inf. Blut der Rec.-Maus + 16 ccm NaCl-Lösung, davon 0,50 ccm inj.	Tag nach der Infektion	Dosis pro 20 g Körpergewicht	Spirochätenbefund nach der Behandlung							
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
<i>1 : 400</i>											
1.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{400}$	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
2.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
3.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
4.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
<i>1 : 600</i>											
5.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{600}$	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
6.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
7.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
8.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	.
<i>1 : 800</i>											
9.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{800}$	+	-?	+W.	θ	θ	+W.	.	.
10.		+		+S.W.	θ	θ	+W.
11.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
12.		+		θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
<i>1 : 1000</i>											
13.	22. VI.	+	Neosalv. $\frac{1}{1000}$	+W.	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
14.		+		+W.	θ	θ	θ	+W.	.	.	.
15.		+		+W.	θ	θ	.	+W.	.	.	.
16.		+		+	θ	θ	θ	+	.	.	.
Kontrollmaus											
17.	22. VI.	θ	.	+++	++++	+

Bei der Oxydation des Neosalvarsans entstehen wohl zuerst Arsenoxyde, später (wenn die Reaktion der Lösung sauer geworden ist) bilden sich wahrscheinlich Arsinsäuren, wobei es nach *Raiziss* und *Falkow*³¹⁾, *Binz*, *Bauer*, *Kircher* und *Ruppert*³²⁾ auch zur Entstehung der Nebenprodukte Formaldehydsulfoxylat und formaldehydschweflige Säure kommt.

Bei dieser Oxydation des Neosalvarsans scheidet sich ein dunkelbrauner, für Mäuse ungiftiger Niederschlag ab, der nur in Alkalien löslich ist.

Es zeigte sich zunächst, daß nach Durchleiten von Sauerstoff durch eine Neosalvarsanlösung die größte toxische und heilende Wirkung ungefähr nach 3 Stunden erreicht wird. Dabei bleibt die Reaktion der Lösung während der ersten 48 Stunden gegenüber Lackmuspapier neutral, erst nach einigen Tagen wird sie sauer. Die toxische Wirkung

Tabelle III.

Normale Mäuse. Prüfung der Wirkung bei i.v. Behandlung mit Neosalv., Neosalv. oxyd. (1 1/2 Std. O₂.) Neosalv. oxyd. (1 Monat) auf Rec.-Spir.

Laufende Nr.	Inf. Blut der Rec.-Maus + 10 cem NaCl-Lösung, davon 0,20 cem.	Tag nach der Infektion.	Dosis pro 20g Körpergewicht	Spirochätenbefund nach der Behandlung									
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
<i>Neosalvarsan frisch</i>													
1.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	+	+++	θ	θ	θ
2.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	++	++++	θ	θ	θ
3.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	++	++++	++++	++++	θ
							aggl.						
<i>Neosalvarsan oxyd. i.v. (1 1/2 Std. O₂.)</i>													
4.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	θ	θ	θ	θ	+
5.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
6.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	θ	θ	θ	θ	θ	+W.	+	.	.	.
<i>Neosalvarsan oxyd. (1 Monat alt) i.v.</i>													
7.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	θ	θ	θ	θ	+S.W.
8.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	θ	θ	+W.
9.	5. XI.	+W.	Neosalv. 1/1500	+S.W.	+S.W.	+	θ	θ
<i>Kontrollen</i>													
10.	5. XI.	+W.	.	+W.	++	++++	+
11.	5. XI.	+W.	.	+W.	+++	θ	θ

bleibt wochenlang unverändert, während die Heilwirkung zwar etwas nachläßt, aber immer noch stärker ist als die des frischen Neosalvarsans (Tabelle III und IIIa). Die Erhöhung der Toxizität und der Wirksamkeit ging fast bei allen Operationsnummern parallel (Tab. IV, VIab, VIIab). Nebenbei bemerkt sei, daß Zusatz von Lauge diese durch Oxydation bedingten Eigenschaften der Lösungen nicht beeinflußte (Tab.V). Diese Befunde entsprechen denjenigen der amerikanischen Autoren Voegtlin und Smith²⁹), sowie Schamberg, Frank, Kolmer und Raiziss³⁰).

Tabelle IIIa.
Vergleich der Wirkung des Neosalvarsans, Neosalv. oxyd. (24 Std. alt), Neosalv. oxyd. (1 Monat alt) auf Recurrensspirochäten.

	Neosalvarsan i. v.					Neosalvarsan oxyd. (1 Monat) i. v.										
	Norm. Maus 75a	Norm. Maus 75b	Norm. Maus 75c	Norm. Maus 75d	Norm. Maus 75e	Norm. M. 74a	Norm. M. 74c	Norm. M. 73a	Norm. Maus 73b	Norm. M. 73c	Norm. M. 73d					
	Rec.-Mäuse (+W.) mit Neos. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt, nach 4 Stunden entbl., Aufschw. zentr., gewaschen und den Mäusen i. p. inj. (Bei Entbl. Sp. + W., beuc.)					Rec.-Mäuse (+W.) mit Neos. oxyd. (1 M.) $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt, nach 4 Stunden entbl., Aufschw. zentr., gewaschen und den Mäusen i. p. inj. (Bei Entbl. Sp. + W., beuc.)					Rec.-Mäuse (+W.) mit Neos. ox. (1 M.) $\frac{1}{100}$ i. v. beh., nach 5 Stunden entbl., Aufschw. zentr., gewaschen und den Mäusen i. p. inj. (Bei Entbl. Sp. + S. W., beuc.)					
Tag nach der Infektion	85a	85b	86a	86b	89a	89b	90a	90b	88a	88b	84a	84b	87a	87b	88a	88b
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle IV.
Normalmäuse. Toxizitätsprüfung.

	Neosalvarsan i. v.										Neosalvarsan oxyd. i. v.					
	178a	178b	178c	179a	179b	179c	180a	180b	180c	180d	88a	88b	84a	84b	85a	85b
Maus:	16 g	18 g	17 g	14 g	19 g	17 g	15 g	16 g	16 g	16 g	14 g	13 g	18 g	15 g	15 g	16 g
Gewicht:	Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. 0,80										Neosalv. oxyd. (2 Std. O ₂) $\frac{1}{100}$ i. v. 0,80					
Dosis:	Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. 0,90										Neosalv. oxyd. (2 Std. O ₂) $\frac{1}{100}$ i. v. 0,80					
1. Tag nach Injektion	+	krank	+	munter	munter	munter	munter	munter	munter	munter	+	+	munter	munter	munter	munter
2.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
6.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
7.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

Tabelle V.
Vergleich der Neosalv.-oxyd.- mit Neosalv.-oxyd.-neutr.(NaOH)-Wirkung
auf Trypanosomen in vivo.

Tag nach der Infektion	Neosalv. oxyd.				Neos. oxyd. neutr.					
	Norm.Maus 66a		Norm.Maus 66 b		Norm. Maus 67a		Norm.Maus 67 b		Norm. Maus 67c	
	76 a	76 b	77 a	77 b	78 a	78 b	79 a	79 b	80 a	80 b
	Maus (Tryp. brucei + W.) mit Neosalv.-oxyd. $\frac{1}{1000}$ i.v. behandelt, nach 15 Minuten entbl., Aufschw. zentr., gewaschen den Mäusen i.p. inj. (Bei Entbl. Tryp. verschw.)				Maus (Tryp. brucei + W.) mit Neos. ox. $\frac{1}{1000}$ i.v. behandelt nach 15 Minuten entbl., Aufschw. zentr., gewaschen d. Mäusen i.p. inj. (Bei Entbl. Tryp. verschw.)		Maus (Tryp. brucei + W.) mit Neosalv. oxyd. $\frac{1}{1000}$ i.v. behandelt, nach 45 Minuten entbl., Aufschw. zentr., gewaschen den Mäusen i.p. inj. (Bei Entbl. Tryp. verschw.)			
1.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
7.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0
8.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0
9.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0
10.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0

Aus den Tabellen VIab und VIIab ergibt sich nun, daß bei Behandlung der Recurrensinfektion die Unterschiede in den intravenösen Injektionen einerseits und intraperitonealen Injektionen andererseits als auch zwischen normalen und vorbehandelten Tieren verschwinden, wenn an Stelle von frischer Neosalvarsanlösung eine mit Luft oder O₂ längere Zeit gesättigte Lösung verwandt wurde. Nur in der Endwirkung zeigte sich einmal ein Unterschied insofern, als bei einer Dosis $\frac{1}{1600}$ Rezidive bei vorbehandelten Tieren früher und öfter vorkamen als bei nichtvorbehandelten (Tab. VI b).

War somit so gut wie erwiesen, daß die Unterschiede in der Wirkung des subcutan und intravenös einverleibten Neosalvarsans in der Tat auf der Verschiedenheit in der Oxydation beruhe, so schien es doch notwendig, weiter zu prüfen, ob sich nicht experimentell eingehendere Aufschlüsse über den Wirkungsvorgang erhalten ließen.

Ich suchte demgemäß in Anlehnung an ältere Versuche von *Castelli* und *Gonder* mir zunächst ein Bild davon zu machen, wie Neosalvarsan sich im Reagensglase gegenüber Spirochäten verhält. Wie die genannten Autoren mischte ich Neosalvarsanlösungen mit Spirochätenblutaufschwemmungen, beobachtete die Wirkung auf die Parasiten im Reagensglase und prüfte die Lebensfähigkeit der mit Neosalvarsan in

Fortsetzung auf S. 481.

Tabelle VIII. a) Prüfung der Neosalvarsanwirkung bei Recurrensprophäten in vitro.

Tag nach der Infektion	Neosalv. $\frac{1}{5000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{10000}$) Blut der Rec.-Maus + Neosalv. $\frac{1}{1000}$ inj. nach				Neosalv. $\frac{1}{10000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{50000}$) Blut der Rec.-Maus + Neosalv. $\frac{1}{10000}$ inj. nach			
	80 Minuten den Mäusen		1 1/2 Stunden den Mäusen		80 Minuten den Mäusen		1 1/2 Stunden den Mäusen	
	87 a	87 b	91 a	91 b	96 a	96 b	92 a	92 b
1.	θ	+S.W.	θ	θ	θ	+S.W.	θ	θ
2.	+	+	θ	θ	θ	++	θ	θ
3.	++	++	θ	θ	θ	+++	+	θ
4.	+++	+++	θ	θ	θ	+++	+	θ
5.	+	+	θ	θ	θ	+	θ	θ
6.	.	.	θ	θ	θ	.	θ	θ
7.	.	.	θ	θ	θ	.	θ	θ
8.	.	.	θ	θ	θ	.	θ	θ

Kontrollen.

Laufende Nummer	Nach 1 1/2 Stunden							Nach 8 Stunden						
	Maus Nr.	Tag der Inf. mit Aufschwemmung k	Tag nach der Infektion					Maus Nr.	Tag der Inf. mit Aufschwemmung k	Tag nach der Infektion				
			1.	2.	3.	4.	5.			6.	7.	1.	2.	3.
1	95 a	25. VIII.	+	+++	++++	++++	+	100 a	25. VIII.	θ	++	+++	+	.
2	95 b	25. VIII.	++	++++	++++	++++	θ	100 b	25. VIII.	+W.	+++	++++	++++	+

b) Prüfung der Wirkung von Neosalvarsan (3 Stunden oxyd.) Recurrensprophäten in vitro.

Tag nach der Infektion	Neosalv. oxyd. (3 Stunden) $\frac{1}{5000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{10000}$) Blut der Rec.-Maus + Neosalv. oxyd. $\frac{1}{1000}$ inj. nach				Neosalv. oxyd. (3 Stunden) $\frac{1}{10000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{50000}$) Blut der Rec.-Maus + Neosalv. oxyd. $\frac{1}{10000}$ inj. nach			
	80 Minuten den Mäusen		1 1/2 Stunden den Mäusen		80 Minuten den Mäusen		1 1/2 Stunden den Mäusen	
	89 a	89 b	93 a	93 b	90 a	90 b	94 a	94 b
1.	θ	θ	θ	θ	+S.W. (1)	+S.W.	θ	θ
2.	+S.W.	θ	θ	θ	+	++	θ	θ
3.	+W.	θ	θ	θ	.	+++	θ	θ
4.	+	θ?	θ	θ	.	+	θ	θ
5.	+S.W.	θ	θ	θ	.	θ	θ	θ
6.	+	+W.	θ	θ	.	θ	θ	θ
7.	θ	θ	θ	θ	.	+W.	θ	θ
8.	θ	θ	θ	θ	.	θ	θ	θ

^{*)} Bereitung der Aufschwemmung für alle oben angeführten Versuche: Blut der Rec.-Maus (+) + NaCl Lsg. + Na-Citr. 1 Proz., davon 1 cem + 1 cem Neosalv. $\frac{1}{10000}$ oder $\frac{1}{50000}$ oder Neosalv. oxyd. in denselben Verdünnungen, bestimmte Zeit (80 Min., 1 1/2 Std., 8 Std.) stehen gelassen unter Luftabschluss im Brutschrank, zentr. (auch unter Luftabschluss), zweimal mit NaCl-Lsg. gewaschen, gewonnenes Sediment mit 2 cem NaCl-Lsg. aufgeschwemmt und dann 0,5 cem der Mäusen injiziert. Kontroll-Aufschwemmung, ebenso bereitet, nur nicht mit Neosalv. vermischt.

Berührung gewesenen Spirochäten, indem ich sie abzentrifugierte, mit Kochsalzlösung wusch, in Kochsalzlösung aufschwemmte und gleiche Quanten der Aufschwemmung Mäusen in die Bauchhöhle spritzte. Zum Unterschied von den genannten Autoren überschichtete ich jedoch bei allen meinen Reagensglasversuchen die Gemische mit Paraffin, um die Einwirkung des Luftsauerstoffes während des Versuches auszuschalten (Tab. VIII).

Es ergab sich zunächst, daß die Wirkung des unveränderten Neosalvarsans auf die Spirochäten proportional der Konzentration und der Zeit ist. Weiter zeigte sich, daß bei entsprechender Wahl der Dosis und der Einwirkungszeit eine Beeinflussung der Spirochäten zunächst in einer Depression der Virulenz sich äußert, indem aus hochvirulenten Stämmen solche mit geringer Vermehrungstendenz entstehen.

Mit oxydiertem Neosalvarsan waren die Ergebnisse im Prinzip die gleichen. Auch hier ist die Wirkung proportional der Zeit und Konzentration, sie ist aber erheblich stärker als beim gewöhnlichen Neosalvarsan. Oxydiertes Neosalvarsan wirkt in der Konzentration $\frac{1}{10000}$ ebenso stark wie Neosalvarsan $\frac{1}{5000}$.

Schien somit erwiesen, daß Unterschiede in der Wirkung des frischgelösten und des durch Luftzutritt oder O_2 -Durchleitung veränderten Neosalvarsans lediglich im zeitlichen Ablauf bestehen, so blieb doch unklar, ob das unveränderte Neosalvarsan als solches an die Spirochäten herantritt und dann auf sie einwirkt oder ob es erst nach Umwandlung in das Oxydationsprodukt zur Parasitenzelle in Beziehung tritt. Eine solche Umwandlung hätte bei den Reagensglasversuchen etwa durch die mit Sauerstoff beladenen Erythrocyten erfolgen können.

Eine Lösung dieser Frage schien möglich, wenn es gelang, die Parasiten von den Erythrocyten zu trennen. Bei Spirochäten hatte das seine Schwierigkeiten. Es ließ sich aber bei Trypanosomen verhältnismäßig leicht ausführen, und ich habe deswegen diesbezügliche Versuche mit diesen angestellt, wobei ich zunächst voraussetzte, daß prinzipielle Unterschiede in der Wirkungsweise des Neosalvarsans gegenüber ihnen und den Spirochäten nicht beständen.

Diese Versuche sind in Tab. IX zusammengestellt. Es wurden Trypanosomen, die durch Ausschleudern und Waschen mit Kochsalzlösung von Blutzellen möglichst befreit waren, eine Zeitlang mit gewöhnlichen oder oxydierten Salvarsanlösungen digeriert, im übrigen in gleicher Weise weiterbehandelt wie in den vorstehenden Reagensglasversuchen die Spirochäten. Es zeigte sich, daß schon ein verhältnismäßig kurzdauernder Kontakt mit dem Mittel genügt, um die Trypanosomen lebensunfähig zu machen, und daß dieses auch eintritt, wenn frische Neosalvarsanlösung verwendet worden war. Es zeigte

Tabelle IX. Prüfung der Wirkung von Neosalvarsan auf blutfrei gewaschene Trypanosomen (in vitro).

Tag nach der Einspr.	Neosalv. $\frac{1}{5000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{10000}$) Trypanos.-Aufschw.*) + Neosalv. $\frac{1}{1000}$ injiziert nach								Neosalv. $\frac{1}{15000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{30000}$) Trypanos.-Aufschw. (Tr. br.) + Neosalv. $\frac{1}{15000}$ injiziert nach							
	5 Minuten den Mäusen				30 Minuten den Mäusen				5 Minuten den Mäusen				30 Minuten den Mäusen			
	122 a	122 b	122 c	122 d	127 a	127 b	127 c	127 d	128 a	128 b	128 c	128 d	128 a	128 b	128 c	128 d
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	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
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kontrollen.

Laufd. Nr.	Nach 5 Minuten				Nach 80 Minuten						
	Maus Nr.	Tag der Infekt. mit Aufschw. k	Tag nach der Infektion		Maus Nr.	Tag der Infekt. mit Aufschw. k ₁	Tag nach der Infektion				
			1.	2.			1.	2.	3.	4.	
1	126 a	7. IX.	+	++	131 a	7. IX.	+ W.	++	++	++	+
2	126 b	7. IX.	+ W.	++	131 b	7. IX.	+ W.	+	++	++	+
3	126 d	7. IX.	+	+++	131 c	7. IX.	+	+++	+++	+++	+

Prüfung der Neosalvarsan-oxyd.-Wirkung auf Trypanosomen (in vitro).

Tag nach der Infekt.	Neosalv. oxyd. $\frac{1}{5000}$ (auf Gesamtmenge $\frac{1}{10000}$) (3 Std.) Trypanos.-Aufschw.*) (Tr. br.) + Neosalv. oxyd. $\frac{1}{5000}$ injiziert nach				Neosalv. oxyd. (3 Std.) $\frac{1}{15000}$ auf Gesamtmenge $\frac{1}{30000}$ Trypanos.-Aufschw. (Tr. br.) + Neosalv. oxyd. $\frac{1}{15000}$ injiziert nach			
	5 Minuten den Mäusen		30 Minuten den Mäusen		5 Minuten den Mäusen		30 Minuten den Mäusen	
	124 a	124 b	124 c	124 d	129 a	129 b	129 c	129 d
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0

*) *Bereitung der Aufschwemmung:* Aufschw. der gewaschenen Tryp. 1,5 cem + 1,50 cem Neosalv. $\frac{1}{5000}$ oder Neosalv. oxyd. (3 Std. L.) in gleichen Verdünnungen 5 Min. bzw. 30 Min. stehen gelassen unter Luftabschl. zentrif. 5 mal mit physiol. NaCl-Lösung gewaschen. Das gewonnene Sediment in phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und davon je 0,50 cem den Mäusen i.p. inj. (Diel inj. Tryp. + + + unbewegt).

sich weiter in Bestätigung der therapeutischen Erfahrungen, daß Trypanosomen durch sehr viel geringere Konzentrationen abgetötet werden als Spirochäten.

Das Ergebnis läßt zweifellos — in Übereinstimmung mit den Anschauungen von *P. Ehrlich* und den Versuchen von *Gonder* und *Castelli* — den Schluß zu, daß das Arsenikale als solches von der Trypanosomenzelle aufgenommen wird. Ob es auch als unverändertes Molekül die Parasitenzelle schädigt oder ob diese Schädigung erst auf dem Umwege über eine Oxydationsstufe erreicht wird, läßt sich nicht entscheiden.

Einen Beweis dafür, daß Salvarsan in die Trypanosomenzelle eindringt, habe ich auch auf chemischem Wege, d. h. mit der *Abelinschen* Reaktion, zu erbringen versucht.

Der Versuch wurde so angestellt:

Gewaschene Trypanosomen wurden mit Salvarsan 20 Minuten digeriert, dann zentrifugiert, mehrmals (5 mal) mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit Aq. dest. 2 Stunden geschüttelt. Die mit der so behandelten Aufschwemmung angestellte *Abelinsche* Reaktion war deutlich positiv. Nach der Behandlung mit Salvarsan nahmen die Trypanosomen die Farbe der Salvarsanlösung an.

Allerdings ist zu diesem Versuch zu sagen, daß die *Abelinsche* Reaktion nicht anzeigt, ob das Salvarsanmolekül noch unverändert ist. Immerhin darf das Ergebnis wohl dahin aufgefaßt werden, daß überhaupt Arsenobenzolderivate in die Parasitenzelle hineingelangen. Es entspricht dies durchaus den älteren Versuchen von *Levaditi* und von *Knafl-Lenz*, die nach Arsenophenylglycinbehandlung Arsen in den abzentrifugierten Trypanosomen nachweisen konnten, und ähnlichen, wenn auch weniger klaren Befunden, die *K. Ullmann* bei Salvarsanbehandlung erheben konnte.

War es somit gelungen, weitere Stützen für die Anschauung beizubringen, daß das Neosalvarsan schon als solches von der Trypanosomenzelle aufgenommen wird, so blieb doch zweifelhaft, ob das auch für die Spirochäten gilt. Sicher war nur, daß bei Trypanosomen und Spirochäten das Oxydationsprodukt eine erheblich stärkere und schnellere Wirkung entfaltet. Der Nachweis des Eindringens von unverändertem Salvarsan in die Trypanosomenzelle ließ an die Möglichkeit denken, daß die größere Empfindlichkeit der letzteren gegenüber dem Arsenikale auf dieser Eigenschaft beruhe, die größere Resistenz der Recurrens-spirochäten also darauf zurückzuführen sei, daß in diese nur das Oxydationsprodukt einzudringen vermöge.

Weiter war noch die Frage zu prüfen, wie die Dinge sich nun im lebenden Organismus gestalteten. Bei diesen Versuchen wurde folgendermaßen verfahren. Infizierte Mäuse wurden behandelt und

Tabelle IX a.
Prüfung der Neosalvarsanwirkung auf Recurrensprochäten in vivo.

Tag nach der Infektion	I - 158 a				II - 158 b				I - 158 c				II - 158 d				Kontrollen								
	R.-Rec.-Maus (+) behandelt mit Neos. 1/100 i. v. nach 2 1/2 Stunden entbl., Aufschw. zentrifugiert, gewaschen und den Mäusen i. p. inj.								R.-Rec.-Maus (+W) mit Neos. 1/100 i. v. behandelt nach 5 Stunden entbl., Aufschw. zentrifug., gewaschen, aufgeschw. und den Mäusen i. p. inj.								R.-Rec.-Maus (+W) mit Neos. 1/100 i. v. behandelt nach 6 Stunden entbl., Aufschw. zentrifugiert, gewaschen, aufgeschw. und den Mäusen i. p. inj.								R.-Rec.-Maus (+S.W.) entbl., Aufschw. zentrifugiert, gewaschen und den Mäusen i. p. injiziert
	114a	114b	114c	114d	115a	115b	115c	115d	168a	168b	168c	169a	169b	169c	170a	170b	170c	171a	171b	171c	178a	178b	178c		
1.	+ S.W.	θ	+ S.W.	+	+ S.W.	θ	+ S.W.	+ S.W.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ		
2.	+ W.	+ W.	+ S.W.	+ S.W.	+ S.W.	+	+	+ W.	θ	+ W.	+ W.	+ W.	+ W.	+ S.W.	+ S.W.	+ S.W.	+ S.W.	+	+	+ S.W.	+ W.	+ S.W.	+ S.W.		
3.	++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++		
4.	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	
5.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
6.	+ S.W.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.			

Bereitung der Aufschwemmung (von 114 a-115 d): Rec.-Maus (+) behandelt mit Neosalv. 1/100 i. v., nach 1 Stunde bzw. 2 1/2 Stunden entblutet in phys. NaCl-Lös. + Na-Citr., zentrifugiert, Sediment einmal gewaschen, mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt (2 1/3 ccm) und davon je 0,50 ccm den Mäusen i. p. inj. (Bei Inj. Spirochäten +++ beweglich).

Bereitung der Aufschwemmung (von 168 a-171 c): Rec.-Maus (+W) behandelt mit Neosalv. 1/100 i. v., nach 5 Stunden bzw. 6 Stunden entblutet in phys. NaCl + Na-Citr., Aufschw. zentr., einmal mit phys. Kochsalzlösung gewaschen, Sediment in phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon je 0,50 ccm den Mäusen i. p. inj. (Nach 5 Stunden Spirochäten bewegl., obenstehende Flüssigkeit sehr wenig Spirochäten schwach beweglich, obenstehende Flüssigkeit schwach scharlachrot.)

T. V. Simić:

nach verschiedenen Zeitintervallen in physiologische NaCl-Lösung entblutet. Die parasitenhaltige Blutaufschwemmung wurde zentrifugiert, einmal mit Kochsalzlösung gewaschen und das gewonnene Sediment so aufgeschwemmt, daß Mengen von je 0,50 ccm i. p. einer Anzahl von normalen Mäusen injiziert werden konnten.

Aus den Tab. IX a und IX b geht deutlich hervor, daß in vivo die Wirkung des frischen Neosalvarsans gegenüber Spirochäten viel langsamer vor sich geht als in vitro. In den ersten 5 Stunden werden die Spirochäten in der frisch bereiteten Neosalvarsanlösung durch kleine Dosen überhaupt nicht beeinflusst (latente Periode von C. Voegtlin und H. Smith²⁰). Erst in der fünften Stunde kommt eine Wirkung zum Ausdruck: späteres Auftreten der Parasiten, abnorme und schlechte Vermehrung und auch Abschwächung der

Virulenz. Dieser Befund entspricht vollkommen den Resultaten, die durch frühere Versuche von *Levaditi* und *Twost*¹⁵⁾ gewonnen sind.

Bei Verwendung von oxydiertem Neosalvarsan finden wir dagegen fast dieselben Verhältnisse wie *in vitro*. Eine Beeinflussung der Parasiten kann man schon deutlich in der ersten Stunde nach Einspritzung des Mittels feststellen. *Eine latente Periode scheint beim oxydierten Neosalvarsan zu fehlen oder ist sehr verkürzt.*

Tabelle IX b.
Prüfung der Neosalv.-oxyd.-Wirkung auf Recurrensspirochäten in vivo.
Neosalv. oxyd. 1/300 i.v.

Tag nach Einspritz.	R.-Rec.-Maus (+) behandelt mit <i>Neosalv. oxyd. 1/300 i. v.</i>							
	nach 1 Stunde				nach 2 1/2 Stunden			
	entblutet, Aufschw. zentrifugiert, gewaschen und i.p. den Mäusen injiziert							
	116 a	116 b	116 c	116 d	117 a	117 b	117 c	117 d
1.	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	+S.W.	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	+S.W.	0	0	0	0	0	0
6.	+S.W.	+W.	0	+S.W.	0	0	0	0
7.	+	+	+W.	+	0	0	0	+S.W.
8.	0	0	0	+
9.	0	0	0	++
10.	0	0	0	0
11.	0	0	0	+W.

Bereitung der Aufschwemmung: R.-Rec.-Maus (+) behandelt mit *Neosalv. oxyd. 1/300 i.v.*, nach 1 Stunde bzw. nach 2 1/2 Stunden in phys. NaCl-Lösung + Na-Citrat (2%) entbl., Aufschw. zentr., Sediment mit phys. Kochsalzlösung einmal gewaschen, aufgeschwemmt und den Mäusen je 0,50 ccm i.p. inj. (Bei Inj. Spirochäten [+++] teilweise unbeweglich, teilweise schwer beweglich.)

Betrachten wir jetzt die Wirkung *in vivo* bei Trypanosomen (Tab. Xa und Xb). Auch hier finden wir beim unveränderten Neosalvarsan die „latente Periode“. Die Wirkung wird auch hier erst nach der fünften Stunde entfaltet, jedoch viel stärker als gegenüber Recurrensspirochäten. Oxydiertes Neosalvarsan wirkt dagegen so schnell und stark, daß bei einem Versuch die Trypanosomen schon nach 3/4 Stunden im Blute vollkommen vernichtet waren und in einem anderen, später ausgeführten Versuch schon nach 15 Minuten (Tab. V). Dabei zeigt sich hier ein weiterer Unterschied im Verhalten der beiden Parasiten. Während die Recurrensspirochäten lange Zeit geschwächt erscheinen, vermehren sich die Trypanosomen, einmal erholt, mit unveränderter Schnelligkeit und Virulenz.

Tabelle Xa. *Neosalv.* $\frac{1}{500}$.
Prüfung der Neosalvarsäurewirkung auf Trypanosomen in vivo.

Tag nach der Infektion	I			II			I			II			Kontrollen		
	164 a	164 b	164 c	165 a	165 b	165 c	166 a	166 b	166 c	167 a	167 b	167 c	172 a	172 b	172 c
	Maus 157 a mit Tr. br. inf. (+), mit <i>Neos.</i> $\frac{1}{500}$ i. r. behandelt						Maus 157 b mit Tr. br. inf. (+), mit <i>Neos.</i> $\frac{1}{500}$ i. v. behandelt						Maus 159 b mit Tr. br. inf. (+ S.W.)		
	nach 5 Stunden						nach 6 Stunden						entblutet, Aufschw. zentrif., gewaschen und den Mäusen i.p. injiziert		
	entblutet, Aufschw. zentrifugiert, gewaschen, aufgeschwemmt und den Mäusen i.p. injiziert						entblutet, Aufschw. zentrifugiert, gewaschen, aufgeschwemmt und den Mäusen i.p. injiziert						entblutet, Aufschw. zentrif., gewaschen und den Mäusen i.p. injiziert		
1.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+ S.W.	θ	θ
2.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
3.	†	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
4.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
5.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.
6.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	.	.
7.	.	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	.	.
8.	.	†
9.
10.

Bereitung der Aufschwemmung: Infizierte Maus (+) behandelt mit *Neosalv.* $\frac{1}{500}$ i. v.; nach 5 bzw. 6 Stunden entblutet in phys. NaCl-Lösung + Na-Citrat (1%), zentrifugiert, einmal mit phys. Kochsalzlösung gewaschen, Sediment in Kochsalzlösung aufgeschwemmt (2 ccm) und dann je 0.60 ccm den Mäusen injiziert (Tr. verschwunden, obenstehende Flüssigkeit nach Zentrifugation gelblich-rötlich; nach 6 Stunden schwach scharlachrot).

Prüfung der *Neosalv.-oxyd.*-Wirkung auf Trypanosomen in vivo. *Neosalv. oxyd.* $\frac{1}{500}$.

Tag nach der Infektion	I — 156 a			II — 156 b			I — 156 c			II — 156 d			Kontrollen		
	160 a	160 b	160 c	161 a	161 b	161 c	162 a	162 b	162 c	163 a	163 b	163 c	172 a	172 b	172 c
	Tr.-br.-Maus (+) mit <i>Neo. ox.</i> $\frac{1}{500}$ i. r. behandelt						Tr.-br.-Maus (+) mit <i>Neo. ox.</i> $\frac{1}{500}$ i. v. behandelt						Tr.-br.-Maus + S.W.		
	nach $\frac{1}{2}$ Stunden						nach $\frac{1}{2}$ Stunden						entblutet, Aufschw. zentrif., gewaschen und den Mäusen i.p. injiziert		
	entblutet, Aufschw. zentrifugiert, gewaschen, aufgeschwemmt und den Mäusen i.p. injiziert						entblutet, Aufschw. zentrifugiert, gewaschen, aufgeschwemmt und den Mäusen i.p. injiziert						entblutet, Aufschw. zentrif., gewaschen und den Mäusen i.p. injiziert		
1.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+ S.W.	θ	θ
2.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
3.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
4.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+	+
5.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.
6.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.
7.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.
8.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	.	.

Bereitung der Aufschwemmung: Tryp.-Maus (+) mit *Neosalv. oxyd.* $\frac{1}{500}$ i. v. behandelt, nach $\frac{1}{2}$ bzw. $\frac{1}{4}$ Stunden entblutet, in NaCl-Lösung + Na-Citrat (1%) Aufschw. zentrifugiert, einmal mit phys. Kochsalzlösung gewaschen, Sediment in Kochsalzlösung aufgeschwemmt (2 ccm) und dann je 0.60 ccm den Mäusen injiziert (Tr. verschwunden, obenstehende Flüssigkeit nach Zentrifugation gelblich-rötlich; nach 6 Stunden schwach scharlachrot).

Mittels gegenüber Trypanosomen gewinnen zu können, immer eine und dieselbe Operationsnummer zu gebrauchen.

Wie zu erwarten war, *wird bei Verwendung höherer Konzentrationen die Wirkung bei Trypanosomen verstärkt* (Tab. XIa). Gleichzeitig wird die latente Periode verkürzt und ist schließlich nicht mehr feststellbar, die Trypanosomen werden bei Konzentration von $1/200$ in der ersten halben Stunde im Blute vernichtet. Die Wirkung einer Neosalvarsanverdünnung $1/600$ und $1/700$ ist schon bedeutend schwächer.

Bei den Spirochäten liegen die Verhältnisse anders (Tab. XIa, XIb). Die „latente Periode“ ist auch bei stärkeren Konzentrationen deutlich erkennbar. Während dieser „latenten Periode“ vermochte die Verdünnung $1/300$ ebensowenig wie die Verdünnung $1/800$ die Parasiten zu beeinflussen. Das stimmt im allgemeinen mit den Versuchsergebnissen von *Levaditi* und *Arzt*¹⁶⁾ überein. Auch diese Autoren fanden, daß die Sterilisation bei *Febris recurrens* erst 5—7 Stunden nach der Behandlung eintritt. Dabei ist zu bemerken, daß in dieser Periode kein Unterschied in der Wirkung des Neosalvarsans bei normalen und vorbehandelten Tieren besteht. Bei weiterer Steigerung der Dosis ändern sich die Verhältnisse nur wenig. Noch bei einer Dosis von $1/130$, die sehr nahe der Dosis tolerata ($1/120$) liegt, ist eine mehrstündige Latenzperiode deutlich erkennbar, sofern die Zahl der Parasiten nicht zu klein ist.

Aus allem scheint der Schluß gerechtfertigt, daß *Neosalvarsan in stärkeren Konzentrationen die Trypanosomen auch in vivo direkt zu beeinflussen bzw. abzutöten imstande ist. Bei stärkeren Verdünnungen, die nahe der Dosis minima curativa liegen, erfolgt dagegen die Abtötung der Parasiten erst nach einem Zeitintervall, das gewöhnlich wenigstens 5 Stunden beträgt.*

Die Wirkung des Neosalvarsans bei Recurrensspirochäten tritt dagegen, sofern nicht die Dosis sich der überhaupt noch erträglichen stark nähert und die Parasitenzahl klein ist, nicht unmittelbar nach der Einverleibung des Mittels in Erscheinung, sondern erst nach einer „latenten Periode“, die unabhängig ist von der Konzentration. Daß die Recurrensspirochäten bei diesen Dosen nicht sogleich von dem Mittel angegriffen werden, ist verständlich, wenn man unsere Versuche in vitro (Tab. VIII) berücksichtigt. Wir haben nämlich dort gesehen, daß Neosalvarsan in einer ständigen Konzentration von $1/5000$ bzw. $1/10000$ (auf die gesamte Menge berechnet) mehr als 30 Minuten braucht, um die Spirochäten abzutöten. Eine solche Konzentration während eines derart langen Zeitraumes ist im Organismus überhaupt nicht zu erzielen, da das Mittel gleich nach der Einverleibung erstens durch Körpersäfte immer stärker verdünnt, durch Organzellen aufgenommen und auch schnell zur Ausscheidung gebracht wird. Nach *Frenkel-Heiden* und *Navassart*¹⁰⁾ beginnt die Ausscheidung besonders schnell

Tabelle XIa.
Prüfung der Neosalvarsanwirkung auf Trypanosomen bei verschiedenen Konzentrationen *in vivo*.

Tag nach der Einspritzung	Maus 24a		Maus 24b		Maus 23b		Maus 25a		Maus 25b		Maus 23a		Maus 23c		Maus 25c		Maus 25d		Maus 35a		
	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	24a	24b	
1.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.	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
6.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle XIb.
Prüfung der Neosalvarsanwirkung bei verschiedenen Konzentrationen auf Recurrensprochäten in vivo.
b) Vorbehandelte Mäuse.

Maus 41a		Maus 41b		Maus 42a		Maus 42b		Maus 43a		Maus 43b		Maus 44a		Maus 44b	
Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt		Rec.-Maus (+ W.) mit Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v. behandelt	
nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden		nach $\frac{1}{4}$ Stunden	
entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. R.-Sp. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. R.-Sp. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. R.-Sp. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. R.-Sp. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. + W., bewegl.)		entbl., Aufschw. zentr., gewasch., den Mäusen i. p. injiziert. (Bei Entbl. + W., bewegl.)	
45a	45b	47a	47b	49a	49b	51a	51b	46a	46b	48a	48b	50a	50b	52a	52b
0	+W.	0	+W.	0	+W.	0	+S.W.	0	+W.	0	+S.W.	0	+S.W.	0	0
++	++	++	++	++	++	++	+	++	+	++	+	++	++	+	+
+++	0	0	+++	+	0	+++	+++	+++	+++	+++	0	+++	+	+	+++
0	0	0	+++	0	0	0	+++	0	+W.	+++	+S.W.	0	0	0	+S.W.
0	0	0	+++	0	0	0	0	0	0	+W.	0	+	0	0	0

Tag nach der Infektion

1. 2. 3. 4. 5. 6.

bei intravenöser Injektion, und zwar gleich nach der Einverleibung. Dabei darf man die oben erwähnte Möglichkeit nicht aus dem Auge verlieren, daß auch in vitro ein Teil des Neosalvarsans durch aus den Blutkörperchen freiwerdenden Sauerstoff wahrscheinlich oxydiert wird und daß die Wirkung auf die Recurrensprochäten in vitro größtenteils auf oxydiertes Neosalvarsan zurückgeführt werden kann.

So wäre diese spät auftretende Wirkung in vivo damit zu erklären, daß Neosalvarsan eine gewisse Zeit braucht, um in eine aktivere Form übergeführt zu werden. Und da wir gesehen haben, daß durch Oxydation Neosalvarsan die neuen Eigenschaften bekommt, die ihm eine viel stärkere und schnellere Wirksamkeit in vitro wie in vivo verleihen, so glauben wir, daraus schließen zu dürfen, daß auch diese im Organismus erst eine gewisse Zeit nach seiner Einverleibung auftretende aktive Form nichts anderes ist als durch Organzellen oxydiertes Neosalvarsan.

Für diese Auffassung sprechen alle unsere mit oxydiertem Neosalvarsan experimentell gewonnenen Befunde:

Zunächst einmal die Feststellung,

1. daß diese stärkere Wirkung des Neosalvarsans *in vivo* erst nach demselben Zeitraum eintritt, welcher auch *in vitro* notwendig ist, um durch Oxydation dem Neosalvarsan die stärkste Wirksamkeit zu verleihen;

2. die Beobachtung, daß dieses Auftreten der wirksamen Substanz immer nach annähernd gleichen Zeitintervallen (5—6 Stunden) auch in verschiedenen Tierorganismen (gleicher Art — Mäusen—), dabei innerhalb gewisser Grenzen, unabhängig von der Konzentration eintritt;

3. der Nachweis, daß das Stärkeverhältnis der Wirkung *in vivo* auf Trypanosomen und *Recurrentsspirochäten* dasselbe bleibt, wie wir es schon *in vitro* fanden, wo nämlich auch die Trypanosomen früher und stärker als die *Recurrentsspirochäten* beeinflußt werden (Tab. VIII, II, IXa, Xa); und

4. endlich der Befund, daß oxydiertes Neosalvarsan seine Wirkung ebenso auf *Recurrentsspirochäten* wie auf die Trypanosomen kurze Zeit nach der Einverleibung entfaltet (Tab. IIIa, Va, VIII), was darauf hindeutet, daß diese Substanz die aktive Form, die keine Umbildung benötigt, darstellt. Diese Anschauung vertreten auch die schon genannten Autoren *Voegtlin* und *Smith*²⁹⁾, *Voegtlin* und *Thompson*³⁴⁾, *Voegtlin*, *Dyer* und *Miller*³⁵⁾ sowie *Schamberg*, *Kolmer* und *Raiziss*³⁰⁾.

Es führen uns aber, abweichend von den eben genannten Autoren, die mitgeteilten Versuche zu der Vorstellung, daß die *Trypanosomen* nicht nur durch das oxydierte, sondern auch schon durch das unveränderte Neosalvarsan geschädigt werden. Dabei wird wahrscheinlich das Neosalvarsan von den Parasiten absorbiert.

Für diese Annahme spricht vor allem die Abhängigkeit der Aufnahme von der Konzentration, der Zeit der Einwirkung und auch das Verhalten der nicht abgetöteten Parasiten nach der Behandlung. Alle Versuche deuten nämlich darauf hin, daß die Hemmungen in der Vermehrung der Parasiten von der Menge des aufgenommenen Mittels abhängig sind und daß das Neosalvarsan während der *ersten Zeit* nur in gewisser Menge fest verankert wird, da die Trypanosomen, rechtzeitig von dem Mittel befreit, keine Veränderungen in ihrer Vermehrungsfähigkeit und Pathogenität zeigen.

Dagegen verhalten sich die *Recurrentsspirochäten* anders. Eine Aufnahme des unveränderten Neosalvarsanmoleküls läßt sich nicht nachweisen, die Versuche sprechen vielmehr dafür, daß nur das Oxydationsprodukt imstande ist, in die Zelle einzudringen. Die Aufnahme des Neosalvarsans erfolgt möglicherweise zunächst auf dem Wege der Adsorption, und erst im Anschluß daran treten die Diffusionsvorgänge ein.

Es scheint, als wäre die Aufnahme des Mittels durch die Parasiten nicht so sehr von seiner Konzentration als vielmehr von seinem physikalisch-chemischen Zustand abhängig. Durch Oxydation werden wahrscheinlich außer der Bildung des Oxydationsproduktes die physikalischen Eigenschaften (Ladung, molekulare Größe) des Neosalvarsans verändert, und damit wird seine Aufnahme erleichtert. Auf diese Weise wäre es auch verständlich, warum die Beweglichkeit der Parasiten keinen Maßstab für den Grad der Einwirkung des Mittels darstellt, da das Anhaften des Mittels an der Oberfläche die Bewegungen der Parasiten nicht wesentlich hemmt. Offenbar gehen die Diffusionsvorgänge und chemischen Umsetzungen, die die Abtötung der Spirochäten zustande bringen, viel langsamer bei dieser Parasitenart vor sich. Das entspricht auch der *Ehrlich*schen Vorstellung über die Chemoreceptoren, da man deutlich zwei Phasen (*Kolle-Hetsch*) unterscheiden kann: primäre „Adsorptions Verankerung“ und sekundäre „chemische Umsetzung“ — Abtötung.

Die Ansicht über die Wirkung und die Aufnahme des Neosalvarsans findet auch durch die Ergebnisse von Versuchen, die ich über die Schutzwirkung des Neosalvarsans angestellt habe, eine Unterstützung und Bestätigung.

Durch *Ehrlich*²¹⁾ und *Hata*¹⁷⁾ ist bereits nachgewiesen, daß Salvarsan Hühner, denen es intramuskulär eingespritzt wird, längere Zeit gegen Spirochäteninfektion schützt, während die Schutzwirkung bei intravenöser Einverleibung nur wenige Tage anhält. Weiter geht aus Versuchen von *Gonder*²⁵⁾ u. a. hervor, daß nach Einspritzung in die Venen das Blutserum nur während einer gewissen Zeit die Eigenschaft besitzt, Parasiten abzutöten, was sich durch Reagensglasversuche zeigen ließ. Auf diesen Feststellungen fußend, stellte ich einige Versuche an, um zu prüfen, wie sich das Neosalvarsan in dieser Hinsicht verhält.

Aus Tab. XIIabc ergibt sich, daß unverändertes Neosalvarsan intravenös in Dosen von $\frac{1}{200}$ — $\frac{1}{400}$ nach 24 Stunden noch deutliche Schutzwirkung gegenüber einer Trypanosomeninfektion ausübt, in der Dosis $\frac{1}{500}$ jedoch nicht mehr, während das oxydierte Präparat in der gleichen Weise gegeben noch in der Dosis $\frac{1}{900}$ eine 24 Stunden später gesetzte Infektion verhindert und subcutan verabfolgtes, nicht oxydiertes Neosalvarsan die gleiche Wirkung noch in Dosen von $\frac{1}{500}$ und $\frac{1}{600}$ erkennen läßt. Wie lange dieser Schutz im einzelnen anhält, habe ich nicht mehr geprüft. Ich kann nur angeben, daß intravenöse Gaben von $\frac{1}{400}$ gegenüber einer nach 48 Stunden erfolgenden Infektion bereits unwirksam sind.

Grad und Dauer der Schutzwirkung müssen bestimmt werden durch die Umbildung, die das einverlebte Mittel im Körper erfährt, und durch die Ausscheidungsgeschwindigkeit, und diese beiden Vorgänge stehen

Tabelle XII a.
Prüfung der Neosalvarsan-Schutzwirkung bei Normalmäusen. (Tr. brucei).

Maus:	Neosalvarsan												Neosalv. oxyd.									
	179a	179b	179c	180a	198a	198b	198c	194a	194b	194c	196a	196b	196c	185a	185b	197a	197b	198ak	198bk	182a	182b	182c
Gewicht:	16 g	19 g	18 g	14 g	17 g	15 g	13 g	13 g	14 g	13 g	15 g	15 g	24 g							19 g	21 g	14 g
Dosis $\frac{1}{100}$ pro Körpergewicht	14. IX. Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v.												14. IX. Neosalv. oxyd. $\frac{1}{100}$ i. v.									
Tag der Infektion	15. IX. inf. m. Tr. br. (+)												15. IX. inf. m. Tr. br. (+)		15. IX. Inf. m. Tr. br. (+)							
Parasitenstand n. der Inf.	18. IX. Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v.												18. IX. Neosalv. $\frac{1}{100}$ i. v.									
	19. IX. inf. m. Tr. br. (+)												19. IX. inf. m. Tr. br. (+)		19. IX. Tr. br.							
1. Tag	+S.W.												+S.W.									
	+W.												+W.									
2. "	+W.												+W.									
3. "	+W.												+W.									
4. "	+W.												+W.									
5. "	+S.W.												+S.W.									
6. "	+W.												+W.									
7. "	+												+									
8. "	+												+									
9. "	+												+									

Tabella VIIb. Prüfung der Neosalv.-Schutzwirkung bei i.v. und sbc. Injekt. der Normalmäuse. (Tr. brucei.)

Neosalv. i.v. — Inf. nach 48 Stunden				Neosalv. sbc. — Inf. nach 24 Stunden			
Maus:	13a	13b	13c	15a	15b	16a	16b, 16c
Gewicht:	14	10	12	25	12	11	11
Dosis pro 20g Körpergew.:	23. IX. Neosalv. 1/100 i.v.			26. IX. Neosalv. 1/100 sbc.			
Tag der Intektion:	25. IX. inf. m. Tr. br. (+)			27. IX. inf. m. Tr. br. (+)			
Parasitenstand n.d. Inf.	Kontrollen			Kontrollen			
1. Tag	+S.W.	+W.	+S.W.	+W.	+W.	θ	+S.W. +S.W.
2. "	+	+	+	+	+	+S.W.	θ
3. "	+	+	+	+	+	+W.	θ
4. "	+	+	+	+	+	+	θ
5. "	+	+	+	+	+	+	θ
6. "	+	θ
7. "	θ
8. "	θ

Tabella VIIc. Prüfung der Neosalv.- (oxyd.) Schutzwirkung bei vorbehandelten Mäusen. (Tr. brucei.)

Neosalv. i.v. — Inf. nach 48 Stunden				Neosalv. sbc. — Inf. nach 24 Stunden			
Maus:	183a	183b	183c	185a	185b	185c	186a
Gewicht:	16	15	14	14	13	12	13
Dosis pro 20g Körpergew.:	14. IX. Neosalv. ox. 1/100 i.v.			18. IX. Neosalv. 1/100 i.v.			
Tag der Intektion:	15. IX. inf. m. Tr. br. (+)			19. IX. inf. m. Tr. br. (0,30 cem v. Aufschw. +)			
Parasitenstand nach d. Inf.	Kontrollen			Kontrollen			
1. Tag	θ	θ	θ	+W.	+W.	θ	+S.W.
2. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+W.
3. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
4. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
5. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
6. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
7. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
8. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
9. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+
10. "	θ	θ	θ	+	+	θ	+

wieder in Abhängigkeit von den Beziehungen, die zwischen Medikament und Körperflüssigkeiten bzw. Körperzellen bestehen. Es spricht alles dafür, und ist von *Voegtlin* und *Thomson* sowie *Voegtlin*, *Dyer* und *Miller* bezüglich der wahrscheinlich auftretenden Oxydationsprodukte auch bewiesen, daß das unveränderte Neosalvarsan sehr viel schneller ausgeschieden wird als das oxydierte und daß das letztere größere Affinitäten zu den Körperzellen besitzt als das erstere. Auf jeden Fall sehen wir auch beim Schutzversuch eine stärkere Wirkung des Oxydationsprodukts und Parallelität der Wirkung des subcutan gegebenen Präparats mit der des oxydierten.

Wollen wir nunmehr auf Grund des bis jetzt Gesagten auf die eingangs aufgestellten Fragen eine Antwort geben und den Mechanismus der Neosalvarsanwirkung bei verschiedenen Applikationen (sbc., i.p. und i.v.) wie auch die Unterschiede bei normalen und vorbehandelten Tieren erklären, so können wir folgendes anführen: Da nach unseren Befunden die Wirkung des Neosalvarsans auf Recurrensspirochäten hauptsächlich mit der Oxydation im Zusammenhang steht, so ist es verständlich, daß seine Wirkung bei sbc. Applikation am stärksten sein muß, da es in diesem Falle am stärksten oxydiert wird. Nach *Abderhalden*¹³⁾ vollziehen sich die Oxydationsvorgänge nur in den Zellen, womit auch die experimentellen Ergebnisse mit Neosalvarsan von *Ehrlich*²²⁾, *Castelli*²⁷⁾ sowie von uns übereinstimmen. Außerdem muß man dabei berücksichtigen, daß nach Arbeiten von *Frenkel-Heiden* und *E. Navasart*⁴⁾, *K. Greven*⁶⁾ sowie von *Beeson* und *Albrecht*¹⁾ die Ausscheidung des Neosalvarsans bei i.v. Injektion viel schneller vor sich geht, so daß ein großer Teil des eingespritzten Neosalvarsans schnell von der Wirkung ausgeschaltet wird.

Die Unterschiede in der Wirkung intravenöser Neosalvarsaninjektionen bei normalen und vorbehandelten Tieren können m. E. darauf zurückgeführt werden, daß die Neosalvarsanausscheidung nach i.v. Injektionen bei den vorbehandelten Tieren schneller vor sich geht als bei den normalen Mäusen. Diese Ansicht wird durch die Arbeiten von *Underhill* und *Davis*²⁾ unterstützt. Diese Autoren fanden nämlich, daß das Maximum der Ausscheidung bei einer Injektionsserie mit jeder Injektion ansteigt. Aufzuklären bleibt nur, welches die Ursache dieser erhöhten Ausscheidung ist. Nach *Voegtlin* und *Thompson* erscheinen bei weißen Ratten 52% des intravenös einverleibten Neosalvarsans binnen 24 Std. im Urin, während 33% auf dem Wege über die Leber (*Voegtlin*, *Dyer* und *Miller*) mit den Faeces ausgeschieden werden. Ob nun die nach Vorbehandlung zu beobachtende vermehrte Ausscheidung durch die Nieren primär auf einer verstärkten Tätigkeit derselben beruht oder ihren eigentlichen Grund in einer Änderung des Verhaltens anderer Organe, etwa der Leber gegenüber dem Arsenikale, hat, ist ohne weitere Versuche

nicht zu entscheiden. Aus dem oben Mitgeteilten ergibt sich, daß die Funktion des Bindegewebes und des Peritoneums eine solche Änderung nicht erfährt.

Die auffallende Tatsache, daß trotz der großen Anzahl experimenteller und klinischer Untersuchungen, welche im Laufe der Jahre über Salvarsan und Neosalvarsan ausgeführt wurden, unsere Kenntnisse über das Schicksal der Arsenobenzole im Organismus, besonders über ihre chemische Umwandlung und ihre Ausscheidung, außerordentlich lückenhaft sind, beruht in erster Linie darauf, daß es *mittels der uns zur Verfügung stehenden chemischen Methoden nicht möglich ist, die nur in ganz geringen Mengen im Körper verteilten Abbau- oder Umwandlungsprodukte zu erkennen und zu analysieren.*

Es fragt sich nun, wie sich in dieser Hinsicht die Trypanosomen verhalten. Die Ergebnisse meiner Versuche führen zu dem Schluß, daß bei diesen der Effekt der Vorbehandlung ein anderer sein muß. Ich habe Versuche in dieser Richtung nicht angestellt, bin aber zu der Mitteilung ermächtigt, daß *Kudicke* und *Meyer* nachgewiesen haben, daß bei Trypanosomen die Vorbehandlung die Heilwirkung nicht nur nicht verringert, sondern sie zunächst sogar verstärkt. Vorläufig ist diese Tatsache noch näher zu klären, es wäre aber denkbar, daß bei Trypanosomen infolge ihrer leichteren Beeinflussbarkeit durch kleinste Mengen des Neosalvarsans eine Summation der Wirkung des neu einverleibten und des von der Vorbehandlung her noch in irgendeiner Form zurückgehaltenen Mittels erfolgen kann.

Zusammenfassung.

1. Neosalvarsan wirkt in stärkeren Konzentrationen auf Trypanosomen direkt in vitro wie in vivo. Die Stärke dieser Wirkung ist der Konzentration proportional.

2. In den stärkeren Verdünnungen, die der Dosis minima curativa näher liegen, werden die Parasiten in vivo erst nach einem Zeitraum, nach der sogenannten „latenten Periode“, von dem in den Körperzellen umgewandelten Neosalvarsan beeinflusst.

3. Die Wirkung des Neosalvarsans in vivo auf Recurrensspirochäten erfolgt innerhalb bestimmter Grenzen — unabhängig von der Konzentration — stets nach dieser latenten Periode.

4. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sprechen dafür, daß das wirksame Agens, in welches das Neosalvarsan im Organismus umgewandelt wird, das Oxyd des Neosalvarsans darstellt, da bei oxydiertem Neosalvarsan die latente Periode verschwindet.

5. Trypanosomen nehmen wahrscheinlich schon das unveränderte Mittel auf, Recurrensspirochäten erst das Oxydationsprodukt.

Literaturverzeichnis.

- 1) *Beeson* und *Albrecht*, Arch. of Derm. a. syphil. 1922, S. 55. — 2) *Underhill, F. P.* and *Stantin H. Davis*, Arch. of Dermatol. a. Syphil. 5, 40. 1922. — 3) *Buschke*, Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 32. — 4) *Frenkel-Heiden* und *E. Navassart*, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 1913, Nr. 13. — 5) *Kyrle, J.*, Med. Klinik 1914, Nr. 9. — 6) *Greven, Karl*, Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 40. — 7) *Lockemann*, Dtsch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 32. — 8) *Dalimier*, Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1913. — 9) *Kolle*, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 1. — 10) *Frenkel-Heiden* und *E. Navassart*, Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 30. — 11) *Savnick*, Wien. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 30. — 12) *Oliver* und *Yamada*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. 18, 313. 1921. — 13) *Abderhalden, E.*, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 5. Aufl. Berlin und Wien. II, I. 1921. — 14) *Warburg* (zitiert bei *Abderhalden*, Lehrbuch der physiologischen Chemie II, I. 1921). — 15) *Levaditi, C.* und *Twort*, C. R. Soc. Biol. 62, II., 533. 1910. — 16) *Levaditi* und *Arzt*, Presse méd. 1912, Nr. 44. — 17) *Hata*, Dtsch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 17. — 18) *Ehrlich*, Abhandlungen über Salvarsan. Bd. III. München 1913. — 19) *Truffi*, Salvarsantherapie in Italien vom Ascoli-Inst. für Chemotherapie. Bd. I. 1912. — 20) *Lockemann, G.*, Biochem. Zeitschr. 78, 1. 1917. — 21) *Ehrlich*, Vortrag: X. Tagung d. Deutsch. Dermatol. Ges. 1908. Drei Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig 1909. S. 164. — 22) *Ehrlich*, 'Abhandlung über Salvarsan. München 1913. Bd. III. — 23) *Hamburger, H. J.*, Biochem. Zeitschr. 11, 443. 1908. — 24) *Kolle-Hetsch*, Lehrbuch der experimentellen Bakteriologie 6. Aufl. Berlin und Wien 1922. — 25) *Gonder, R.*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap., Orig. 15, 257. 1912. — 26) *Ehrlich*, Zeitschr. f. angew. Chemie 23, 2. 1910. — 27) *Castelli*, Zeitschr. f. Chemotherap. u. verw. Geb. 1, 122, 321. 1913. — 28) *Oliver* und *Douglas*, Journ. of pharmacol. a. exp. therap. 19, 187. 1922. — 29) *Voegtlin, C.* und *H. W. Smith*, Journ. of pharmacol. a. exp. therap. 15, 475, 16, 599. 1920. — 30) *Schamberg, J. F.*, *J. A. Kolmer* und *G. Raiziss*, Americ. journ. of syphilis 6, 1. 1922. — 31) *Raiziss* und *Falkow* (ref. d. *W. A. Collier*, Frankfurt a. M.) im Zentralbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh. 6, 129. 1922. — 32) *Ullmann, K.*, Wien. med. Wochenschr. 1911. Wien. klin. Wochenschr. 1913, S. 161, 216. Wien. med. Wochenschr. 1914, S. 738. Wien. klin. Wochenschr. 1922, S. 455, 479, 502. Derm. Wochenschr. 29, 1923. — 33) *Levaditi, C.* und *E. v. Knaffl-Lenz*, Bull. de la soc. de pathol. exot. 2, 405. 1909. — 34) *Voegtlin, C.* und *I. W. Thompson*, Journ. Pharmac. a. Exper. Therap. 20, 85. 1922. — 35) *Voegtlin, C.*, *H. A. Dyer* und *D. W. Miller*, Journ. Pharm. a. Exper. Therap. 20, 129. 1922.

Autorenverzeichnis.

- Acél, D.* siehe Liebermann, L. v. und D. Acél.
- Amster, S.* siehe Fleischer, Ludwig und S. Amster.
- Bieling, R.* und *A. Gottschalk.* Die Verteilung der Toxine im Körper. S. 125.
- — — — —. Bindung, Ausscheidung und Vernichtung von Toxinen im Körper. S. 142.
- Bleyer, Leo.* Der Nachweis der Abtötung durch Kultur und Tierversuch bei mit Hitze behandelten Bakterien. S. 98.
- Boecker, Eduard.* Über die submerse Vermehrung der Tuberkelbacillen in flüssigen Nährböden. II. Mitteilung. S. 121.
- Bonacorsi, L.* Über den Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf die entwicklungshemmende Wirkung chemischer Substanzen. S. 284.
- Bürgers, Th. J.* Das Scharlachproblem. Eine epidemiologische Studie. S. 323.
- Dresel, E. G.* Erwiderung zu vorstehender Arbeit von H. Reiter. S. 84.
- Fischer, K.* Über die Schädigung der Mundschleimhaut durch Tabakstaub. S. 296.
- Fleischer, Ludwig* und *S. Amster.* Über den Einfluß des Mediums auf die Resistenz der Bakterien. Desinfektionsversuche mit Hitze. S. 209.
- Fraenkel, Eugen* und *Hans Much.* Weitere Untersuchungen über Lymphogranulomatose. S. 391.
- Gosio, B.* Ergebnisse bakteriologischer Influenzaforschungen. S. 314.
- Gottschalk, A.* siehe Bieling, R. und A. Gottschalk.
- Jungeblut, Claus W.* Über Festigungsver-suche an Bakterien, mit besonderer Berücksichtigung der physikalisch-chemischen Veränderungen. S. 254.
- Kojima, Katsumi.* Über einen neuen Toxinbildner aus der Rauschbrandgruppe. S. 86.
- Kreuser.* Erfahrungen aus der Ruhr-epidemie von 1914—1920 in den Kreisen Saarbrücken und Saarlouis. S. 166.
- Liebermann, L. v.* und *D. Acél.* Über Resistenzänderungen der roten Blutkörperchen bei physischer Arbeit. S. 67.
- Liese, W.* siehe Strauss, W. und W. Liese.
- Meuli, Hans.* Studien zum Bakteriophagenproblem. II. Mitteilung. Die Konzentration des lytischen Prinzips und ihre Beziehungen zum Ablauf der Bakteriophagenreaktion. S. 46.
- Morgenroth, J.* und *R. Schnitzer.* Zur chemotherapeutischen Biologie der Mikroorganismen. II. Mitteilung. Weitere Beobachtungen über chemotherapeutische Antisepsis und Zustandsänderungen der Streptokokken. S. 221.
- Much, Hans* siehe Fraenkel, Eugen und Hans Much.
- Mühlens, P.* Die russische Hunger- und Seuchenkatastrophe in den Jahren 1921—1922. S. 1.
- Müller, Alfred.* Über die Prüfung von Desinfizientien. S. 94.
- Munter, F.* siehe Schnitzer, R. und F. Munter.
- Nuck, Kurt.* Praktische Erfahrungen über das Verhalten von Kleinhäusern aus „Ersatzbaustoffen“. S. 350.
- , *Kurt.* Untersuchungen über Wandisolationen unter sommerlichen Verhältnissen. S. 359.
- Ornstein, O.* siehe Ruppel, W. G. und O. Ornstein.
- Prigge, R.* siehe Schlossberger, H. und R. Prigge.

- Reiter, Hans.** Wird die Sterblichkeit vor vollendeter Aufzucht durch Geschwisterzahl und soziale Lage der Eltern beeinflusst? III. Mitteilung. S. 76.
- Rodewald, Karsten.** Über die Widerstandsfähigkeit von Geflügelcholera und Streptokokken gegenüber Sublimat, Carbonsäure und Trypaflavin. S. 117.
- Ruppel, W. G. und O. Ornstein.** Über die Immunisierung gegen Schweinerotlauf mit einem neuen keimfreien Impfstoff und über Schweinerotlaufserum. S. 101.
- Scheidegger, Edwin.** Studien zum Bakteriophagenproblem. IV. Mitteilung. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das lytische Agens und den Ablauf der übertragbaren Bakteriolyse. S. 403.
- Schlossberger, H. und R. Prigge.** Versuche zur kulturellen Differenzierung der säurefesten Bakterien. S. 186.
- Schnitzer, R. und F. Munter.** Über Zustandsänderungen der Streptokokken im Tierkörper. III. Mitteilung. S. 366.
- Schnitzer, R.** siehe Morgenroth, J. und R. Schnitzer.
- Simić, T. V.** Untersuchungen über die Wirkungsweise des Neosalvarsans. S. 417.
- Strauss, W. und W. Liese.** Untersuchungen zur Wertung einiger neuer Sputundesinfektionsverfahren. S. 245.
- Yoshioka, M.** Untersuchungen zur Pneumokokkenimmunität. V. Mitteilung. Beitrag zur Frage der Wertbestimmung von Pneumo- und Streptokokkenserum. S. 193.
- Weigl, R.** Die Beziehungen der X-Stämme zur Rickettsia Prowazeki. Vorläufige Mitteilung. S. 302.

7 4 8 9 1

1691

37

13064

