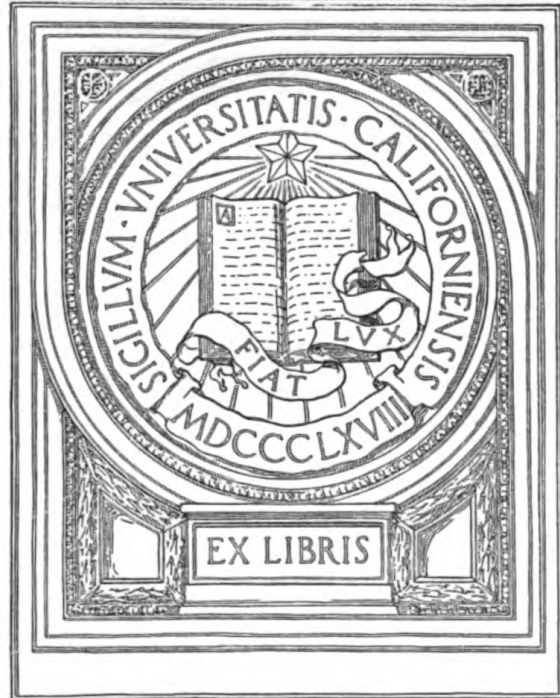


UC-NRLF



B 3 789 191

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
MEDICAL CENTER LIBRARY  
SAN FRANCISCO



EX LIBRIS

Gift of  
HOOPER FOUNDATION









# **ZENTRALBLATT**

für

## **Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**

In Verbindung mit

**Prof. Dr. R. Abel, Prof. Dr. M. Braun, Prof. Dr. R. Pfeiffer**  
Geh. Obermed.-Rat in Jena Geh. Reg.-Rat in Königsberg Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

**Prof. Dr. O. Uhlworm, Präsident Dr. A. Weber**  
Geh. Reg.-Rat in Bamberg in Dresden

und

**Prof. Dr. E. Gildemeister,**  
Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

**Erste Abteilung. 89. Band**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie  
und tierische Parasitenkunde**

**Originale**

Mit 44 Abbildungen im Text und 6 Tafeln



**Jena**

**Verlag von Gustav Fischer**  
1923

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
LIBRARY



# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 89. Beiheft.

Ausgegeben am 24. Oktober 1922.

*Nachdruck verboten.*

## Bericht über die 9. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie“ vom 8. bis 10. Juni 1922 in Würzburg.

Zusammengestellt von dem ständigen Schriftführer **R. Otto** (Berlin).

1. Tag. 8. Juni 1922 Vorm.

Sitzung im Hygienischen Institut der Universität.

Vorsitzender: Uhlenhuth (Marburg a. L.).

**Geschäftlicher Teil:** Der Vorsitzende begrüßt die Versammlung, im besonderen den Dekan der med. Fakultät sowie die aus dem Auslande erschienenen Mitglieder und Gäste. Er gedenkt der seit der letzten Tagung verstorbenen Mitglieder (Schütz-Berlin, Hofmann-Leipzig, Ungermann-Berlin, Klemensiewicz-Graz, Dunbar-Hamburg).

Lehmann (Würzburg) begrüßt die Versammlung namens der städtischen und der Universitätsbehörden im Hygienischen Institut der Universität.

Der Vorsitzende spricht dem Würzburger Komitee für die bereitwillige Unterstützung bei den Vorbereitungen zu dieser Tagung den besten Dank der Vereinigung aus.

Er teilt sodann mit, daß die Kasse geprüft und dem Schriftführer Entlastung erteilt ist.

Der Ausschuß schlägt folgende Statutenänderungen vor:

1) statt der Bezeichnung: „Freie“ den Namen „Deutsche“ Vereinigung für Mikrobiologie zu wählen und

2) dem § 2 der Statuten die Worte zuzufügen: „Die Mitglieder haben das Recht, Fachgenossen zur Aufnahme zu empfehlen. Ueber die Aufnahme entscheidet der Ausschuß“.

Die vorgeschlagenen Aenderungen werden von der Versammlung angenommen.

Auf Vorschlag des Ausschusses werden für die satzungsgemäß ausscheidenden Mitglieder Kollé (Frankfurt a. M.) und v. Ostertag (Stuttgart) gewählt:

Haendel (Berlin-Dahlem) und

Mießner (Hannover).

Als Vorsitzenden für die nächste Amtsperiode hat der Ausschuß Haendel (Dahlem) gewählt.

Der Ausschuß besteht demnach aus:

Haendel (Dahlem), Vorsitzender,

Kruse (Leipzig),

Doerr (Basel),

Abel (Jena),

Uhlenhuth (Marburg a. L.),

Mießner (Hannover),

Otto (Berlin), Schriftführer.

Die nächste Tagung soll im Jahre 1924 in Göttingen stattfinden.

Zum Schluß berichtet der Vorsitzende noch kurz über die Arbeiten der auf der Tagung in Jena gewählten Kommission und ihre Verhandlungen mit der „Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft“.

Erste Abt. Orig. Bd. 89.

Beiheft.

1

## Wissenschaftlicher Teil.

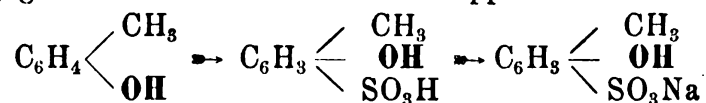
## I. Referat. Hailer (Berlin-Dahlem):

## Die chemischen Grundlagen der Desinfektionswirkung.

Von den Beziehungen, die zwischen der chemischen Konstitution einer Verbindung und ihrem Zustand in Lösung zu der Giftwirkung gegen Bakterien und Sporen bestehen, scheint die Erörterung der ersteren für einen chemisch Vorgebildeten eine besonders dankbare Aufgabe zu sein. Indes ist bis jetzt von der unendlich großen Zahl von Verbindungen anorganischer und organischer Natur nur ein verschwindend kleiner Bruchteil auf seine keimtötende Wirkung geprüft worden, nämlich, um kurz die Gruppen aufzuzählen, die Halogene, einige Oxydationsmittel, viele anorganische, manche organische Säuren, Salze, namentlich von Schwermetallen, mehrere Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aether und Ester, zahlreichere Phenole, wenige Aldehyde, von den Alkaloiden und Farbstoffen einige Stichproben.

Daß von diesen Stoffen die mit starker chemischer Reaktionsfähigkeit ausgestatteten die Zelle schädigen, indem sie mit ihren Bestandteilen durch Oxydation, Zersetzung, Bindung usw. reagieren, so Oxydationsmittel, Halogene, starke Säuren, vielleicht auch die Schwermetallsalze und Formaldehyd, ist einleuchtend. Viel schwerer ist die Wirkungsweise der chemisch indifferenten, d. h. mit den Bestandteilen der Zelle, dem Eiweiß, den Nukleinen, Lipoiden und Salzen, nicht in eine chemische Reaktion tretenden Verbindungen zu erklären, wie sie die organische Chemie in großer Zahl in den Alkoholen, Phenolen, Alkaloiden, Farbstoffen usw. liefert.

Es hat an Versuchen nicht gefehlt, die Giftwirkung in Beziehung zur chemischen Konstitution zu bringen auf Grund des freilich verhältnismäßig geringen Materials an Erfahrungstatsachen, das wir besitzen, und die Chemiker neigen, von Ueberlegungen aus der Farbenchemie aus, immer dazu, die bakterizide Wirkung auf gewisse Gruppen oder bestimmte Gruppierungen der Atome im Molekül, die ortho-, meta-, para-Stellung usw., zurückzuführen. So erklärte mir z. B. ein biologischer Fragen fernstehender Chemiker, als es sich während des Krieges um die Herstellung eines seifenfreien Kresolpräparates für militärische Zwecke handelte: die Aufgabe sei doch sehr einfach, man sulfuriere das Kresol, führe die Kresolsulfosäure über in ihr Natriumsalz und erhalte so eine neutral reagierende Verbindung, in der die Phenol-Hydroxylgruppe und damit die gegenüber Keimen wirksame Gruppe erhalten sei:



Eine derartige Lokalisierung von Wirkungen auf eine bestimmte Gruppe — wenigstens ohne Rücksicht auf das Gesamt-molekül — ist aber falsch; in diesem Falle wirken 5- und 10-proz. Lösungen dieser kresolsulfosauren Salze nicht in 2 Std. abtötend gegenüber Typhusbazillen, und es ist ja auch bekannt, daß der Organismus einverleibtes Kresol zum Teil in der Weise entgiftet, daß er es in sulfosaures Salz überführt. Ebenso unbegründet wäre es, aus der bakteriziden Wirkung des Form-, Acet- und Salizylaldehyds zu schließen, daß der Aldehydgruppe allgemein eine Giftwirkung zukomme. Dann würden gewisse Zucker,

statt Nährstoffe zu sein, toxisch wirken müssen. Selbst in einer verhältnismäßig so gut gekannten Gruppe, wie es, dank den Arbeiten von Ehrlich und Bechhold sowie Laubenheimer, die der Phenole ist, läßt sich aus der chemischen Konstitutionsformel einer neuen Verbindung nicht vorhersagen, ob sie überhaupt und ob stark oder schwach auf Bakterien wirken wird. Kurz, die Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution und der Wirkung sind bei den Desinfektionsmitteln noch ebenso ungeklärt, wie in der Pharmakologie.

Dagegen ist für die Aufnahme der Stoffe in die Zelle durch Overtons Versuche über die Narkose für eine Reihe von Körperklassen der Einfluß ermittelt, den die Substitution in homologen Reihen ausübt. Aber passive Aufnahme in die Zelle ist keineswegs identisch mit Giftwirkung. Wir wollen uns zunächst mit dieser passiven Aufnahme und im Zusammenhang damit mit der Frage befassen, wo und worauf die chemischen Mittel in der Bakterien- und Sporenzelle wirken.

Die semipermeable Membran, die wir trotz des Ausbleibens der Plasmolyse bei den grampositiven Arten auch bei den Bakterien annehmen müssen, läßt nach Overtons Versuchen an Pflanzenzellen einen in der Außenflüssigkeit gelösten Stoff dann in das Zellinnere durchtreten, wenn er in Lipoiden löslich ist, und zwar mit um so größerer Geschwindigkeit und in um so höherem Maße, je mehr sein Verteilungskoeffizient zugunsten der Lipoidphase liegt. Man kann diese Ergebnisse der Versuche mit Narcoticis an Pflanzenzellen — die Erörterung der Gründe würde zu weit führen — sehr wohl auf die Beziehungen zwischen Bakterien und Desinfektionsmittel übertragen.

Eine ausgesprochen nur gegen lipoidlösliche Mittel empfindliche Bakterienart ist der Tuberkelbazillus (Hailer): Normalsalzsäure und -natronlauge (3,65- bzw. 4-proz. Lösungen) töten Tuberkelbazillen nicht in 2 Std., 4-proz. Formaldehydlösung nicht in 45 Min.; das sind Konzentrationen und Zeiten, die von Milzbrandsporen nur die resistentesten Individuen keimfähig lassen, vegetative Zellen, wie Staphylokokken, aber sicher töten. Dagegen werden die Tuberkelbazillen abgetötet durch 0,5-proz. Kresollösung in 60, durch 1-proz. in 15 Min., durch 0,2 proz. Chlor-meta-kresollösung in 30 Min., durch 1,5-proz. Karbolsäurelösung in 30 Min. Unter den gleichen Bedingungen werden die gegen Säuren und Laugen um ein vielfaches empfindlicheren Staphylokokken nicht mit Sicherheit abgetötet (Versuche mit Batiststückchen als Keimträger). Tuberkelbazillen sind also gegen lipoidlösliche Desinfektionsmittel empfindlicher als resistente vegetative Zellen, gegen nicht in Lipoiden lösliche aber ungleich widerstandsfähiger als diese. Ihre wachsartige Hülle schützt ihre Plasmahaut gegen den Angriff so destruktiver Mittel, wie es Säuren und Laugen sind, während die lipoidlöslichen Stoffe diese Umhüllung glatt passieren und eine keineswegs sehr widerstandsfähige Zellsubstanz antreffen. Bei den nicht säurefesten Bakterienarten bestehen solche Unterschiede in der Resistenz gegen die beiden Klassen von Mitteln aber nicht.

Die nicht in Lipoiden löslichen Stoffe, wie die anorganischen Säuren und Salze, die zwei- und mehrbasischen organischen Säuren und Amidosäuren, die anorganischen Basen usw., müssen also, wenn sie bakterizid wirken, die Plasmahaut der Bakterien schädigen; die lipoidlöslichen Verbindungen dagegen können sowohl auf die Plasmahaut, als nach deren Durchdringung auf das Protoplasma selbst schädigend einwirken.

Dafür, daß in der Tat ihre Wirkung sich im Zellinnern vollzieht, spricht u. a. die Beobachtung, daß mit der Lipoidlöslichkeit, d. h. mit der Stärke der Aufnahme, in manchen Reihen von Verbindungen auch die bakterizide Kraft zunimmt. Freilich wird auch das Fällungsvermögen gegenüber Eiweiß in manchen Reihen, so bei den Alkoholen und Phenolen, mit steigender Lipoidlöslichkeit ein größeres, so daß der Beweis, daß es sich bei lipoidlöslichen Stoffen in der Tat um eine Aufnahme durch die Zelle und nicht bloß um Wirkung auf die Plasmahaut handelt, nicht immer leicht zu führen sein dürfte.

Die Annahme, daß die bakterizide, etwa ebenso wie die narkotische, Wirkung der Lipoidlöslichkeit ungefähr proportional gehe, daß also Lipoidlöslichkeit auch bakterizide Wirkung bedinge, die sich in einer früheren Auflage eines vortrefflichen pharmakologischen Lehrbuchs findet, ist aber keineswegs zutreffend. Beide Vorgänge, Narkose und bakterizide Wirkung, sind an sich verschieden: bei der Narkose handelt es sich um reversible Vorgänge, bei der Keimtötung aber um irreversible Veränderungen der chemischen oder physikalischen Natur der Zellbestandteile; allenfalls könnte man wohl die Narkose mit der antiseptischen Wirkung in Parallele stellen. Nach der Aufnahme eines Stoffes in die Bakterienzelle muß also noch ein weiterer Vorgang, wohl eine Beeinflussung der Zellkolloide, stattfinden, damit die Abtötung zustande kommt; die bloße Aufnahme von Fremdstoffen genügt dazu nicht. So hat, um 2 Beispiele zu nennen, der Ameisensäureäthylester  $\text{HCOOC}_2\text{H}_5$  eine beträchtliche bakterizide Wirkung, während sie dem nach Overtons Bestimmungen viel besser lipoidlöslichen Essigsäureäthylester  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$  fehlt und dem Propionsäureester  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$  in erheblich schwächerem Grade zukommt und die gleichfalls gut lipoidlöslichen und narkotisierenden Carbaninsäure- und Phenylcarbaninsäureester so gut wie wirkungslos auf die als Objekte in diesen Versuchen verwehdeten Paratyphusbazillen sind. Ferner wirken die sehr gut in Lipoiden sich lösenden Phenoläther nicht oder nur schwach auf vegetative Keime, während die weniger gut lipoidlöslichen freien Phenole ja eine hohe bakterizide Kraft haben; bei den Aethern der 2-wertigen Phenole wirken die schlechter lipoidlöslichen sauren Aether besser als die sich gut lösenden neutralen, z. B. hat das Eugenol

(Allylguajakol  $\begin{matrix} \text{HO} \\ | \\ \text{C}_6\text{H}_3\text{O} \end{matrix} \rangle \text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{CH}_2$ ) starkes Keimtötungsver-

mögen, dagegen sein neutraler Aether, der sogenannte Eugenolmethyläther  $[(\text{CH}_3\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{CH}_2]$ , keines. Wenn das Keimtötungsvermögen daher der Lipoidlöslichkeit keineswegs proportional geht, so muß man annehmen, daß die stärker wirksamen Verbindungen eine besondere Wirkung gegenüber Zellbestandteilen haben, von deren Natur noch die Rede sein soll.

Nun ist die Zweckmäßigkeit der Anschauungen Overtons für die Erklärung der Narkose sowohl wie der Desinfektionswirkung von Traube in einer großen Zahl von Veröffentlichungen zugunsten seiner Haftdrucktheorie angefochten worden. Haftdruck ist die Anziehung zwischen dem betr. Stoff und dem Lösungsmittel; je geringer diese ist, desto mehr konzentriert sich nach Traube entsprechend dem Gibbs'schen Theorem der betr. Stoff in der Oberfläche der Flüssigkeit, somit an der Grenze zweier Phasen, und um so größer ist vielfach die Tendenz, sich in der benachbarten Phase zu lösen, in sie hinein zu diosmieren bzw. sich von ihr adsorbieren zu lassen. Das heißt aber in dieser —

soviel ich weiß — neuesten Version der Traubeschen Anschauungen, die nicht immer den gleichen Ausdruck gefunden haben, doch wohl nichts anderes, als daß die relative Löslichkeit in den Phasen, d. h. die Verteilung, das bestimmende Moment für die Osmose ist. Denn nur, wenn der Haftdruck in der 2. Phase größer ist, wird die Tendenz bestehen, in sie in stärkerem Maße hineinzudiosmieren. Das ist aber nur ein anderer Ausdruck für die Lipoidtheorie. Man könnte sich indes dieser Anschauung doch freuen, wenn in der Tat die Bestimmung der Oberflächenspannung, die das Maß der Oberflächenaktivität ist, einen guten Maßstab für das Keimtötungsvermögen eines Stoffes gäbe. Das ist aber nicht der Fall; denn einerseits sind viele Stoffe, die oberflächenaktiv sind, keine Desinfektionsmittel, so Seifen, Eiweiß, Gelatine, oft nicht einmal Antiseptika; und andererseits sind manche kräftige Keimtötungsmittel nicht oberflächenaktiv, obschon sie ausgesprochen lipoidlöslich sind, so nach Bestimmungen von Joachimoglu die Benzolkohlenwasserstoffe und die halogensubstituierten aliphatischen Kohlenwasserstoffe vom Chloroform ab aufwärts.

Versuche von Johanne Christiansen an aliphatischen Alkoholen ließen aber u. U. die Deutung zu, daß die Oberflächenaktivität nicht allein ein Maß, sondern die Ursache der keimtötenden Wirkung selbst sei; ähnlich wie von Czapek gezeigt wurde, daß die Plasmahaut von Echeveria-Blattzellen durch viele organische Verbindungen, unabhängig von ihrer Konstitution, dann geschädigt wird, wenn die Oberflächenspannung der wässerigen Lösungen dieser Stoffe den gleichen Wert, nämlich von 0,68 hat, indem vermutlich dann die der Plasmahaut eigenen oberflächenaktiven Stoffe durch das Eindringen der Fremdstoffe verdrängt würden, und vereinzelte ähnliche Feststellungen wurden auch von Kisch bei Versuchen an Hefe und Schimmelpilzen gemacht. Eine derartige rein mechanische Wirkung der Lösung auf die Zellmembran müßte aber auftreten bei einem Wert der Oberflächenspannung, der vermutlich etwas geringer ist, als der der Plasmahaut, indem diese dabei ihre Fähigkeit, die Zellinhaltsstoffe abzuschließen, verliert. Bei den Versuchen von Christiansen aber trat Abtötung der Staphylokokken durch Methyl-, Aethyl- und Propylalkohol bei einer ganzen Reihe jeweils ziemlich gut übereinstimmender Oberflächenwerte, aber zu verschiedenen Zeiten, auf. So erweisen sich denn die Beobachtungen von Christiansen nur als ein Fall der in homologen Reihen vielfach festzustellenden Parallelität zwischen Lipoidlöslichkeit und Oberflächenspannungserniedrigung. Indes, auch wenn hier ein kausaler Zusammenhang zwischen Oberflächenaktivität und bakterizider Wirkung nachzuweisen wäre, so ließe dies noch keine Verallgemeinerung zu, denn es gibt Stoffe, die auch bei niedrigeren Oberflächenspannungswerten ihrer Lösungen, als sie hier beobachtet wurden, nicht bakterizid wirken, so Seifen und naphthensaure Salze.

Schließlich ist hier noch der Adsorption zu gedenken, auf die vielfach die Beziehung zwischen Desinficiens und Zelle, ja sogar die Keimtötung selbst zurückgeführt wurde. Mechanisch adsorbierbar sind oberflächenaktive Stoffe, und die Adsorption vollzieht sich nach der bekannten Formel in der Weise, daß aus verdünnteren Lösungen verhältnismäßig mehr aufgenommen wird als aus konzentrierteren, während bei der Verteilung der Quotient, nach dem der gelöste Stoff sich auf die beiden Phasen, die Lösung und die Zelle, verteilt, unabhängig von der Konzentration immer der gleiche ist. Daß Karbolsäure und Sublimat,

für die speziell eine Wirkung durch Adsorption behauptet wurde, nicht durch Adsorption, sondern entsprechend dem Verteilungssatz aus wässriger Lösung auf Hefezellen übergehen, wobei als lösende Phase noch das Eiweiß in Betracht zu ziehen ist, haben die Messungen von Reichel und Gegenbauer mindestens sehr wahrscheinlich gemacht. Dafür aber, daß die Adsorption solcher Stoffe an sich schon eine zum Zelltod führende Schädigung bedeute, wie das manche Arbeiten ohne weiteres annehmen, fehlt jeder Beweis.

Worin bestehen nun aber jene Schädigungen, die die Plasmahaut oder das Protoplasma durch die chemisch indifferenten Verbindungen erleiden? Diese Frage ist ihrer Beantwortung näher gerückt durch die im Reagenzglas an leblosem Material angestellten Versuche mit Eiweiß, Nukleoproteiden und Lipoiden, also an Stoffen in kolloidem Lösungs- und Gallertzustand. Diese Versuche zeigten einen starken Einfluß mancher dieser chemisch indifferenten Stoffe auf die Dispersität der Zellbaustoffe, der sich in Quellung und Entquellung von Gelen und Gallerten, Flockung von Eiweiß und Lipoiden äußert. Die Folge dieser Vorgänge ist dann: eine Aenderung der Permeabilität der Zellen, Ausfällung oder Lösung der Zellinhaltsstoffe und Fermente, kurz Aenderungen im Gefüge der Zelle, die, wenn sie irreversibel sind oder nicht innerhalb gewisser Zeit durch Beseitigung der Noxe aufgehoben werden, die Zelle ihrer Teilungsfähigkeit berauben müssen.

Die Quellung derartiger hydrophiler Kolloide besteht in einer Volumvergrößerung unter Bindung von Wasser und ist namentlich unter der Wirkung von Säuren und Basen die Vorstufe des Abbaus hochmolekularer Verbindungen in einfachere Spaltungsprodukte (der Hydrolyse). Die Quellung kann über eine Volumvergrößerung der Zelle bis zur Lösung (Verflüssigung) der Gallerte und damit bis zur Cytolyse fortschreiten, wie wir sie unter der Wirkung von gallensauren Salzen bei Pneumokokken, Meningokokken, Spirochäten und Trypanosomen, von Lezithinsuspensionen bei Typhus-, Coli- und Milzbrandbazillen, unter dem Einfluß von Kobragift und Pyrocyanase, namentlich aber von Natronlauge und Antiformin bei mehreren Bakterienarten, vor allem aber bei Behandlung mit zahlreichen, namentlich lipoidlöslichen Stoffen bei der Hefe kennen.

Umgekehrt besteht die Entquellung in einer Wasserentziehung, Schrumpfung, die bis zur Koagulation fortschreiten kann.

Bei der Prüfung lipoidlöslicher Stoffe fand sich, daß eine Anzahl ziemlich proportional der Lipoidlöslichkeit Gelatinegallerte zum Quellen bringt und daß fein suspendierte Lipoidteilchen durch einige sie lösende Stoffe scheinbar geflockt, in Wirklichkeit aber nach Calugareanu infolge von Quellung sichtbar werden. Indes ist hinzuzufügen, daß Quellung und Entquellung auch nicht bakterizid wirkenden Stoffen bei der Einwirkung auf Gallerten zukommt, Quellung z. B. dem Harnstoff, Entquellung mehreren Zuckerarten, indes erst in vergleichsweise höheren Konzentrationen. Ferner kommt ein ausgesprochenes Fällungsvermögen vielen lipoidlöslichen Stoffen zu, so den Phenolen und Alkoholen gegenüber Eiweiß, und zwar in beiden Fällen ziemlich proportional der keimtötenden Kraft, ferner einer Reihe gärungshemmender Stoffe im Hefepreßsaft (nach Versuchen von Warburg), schließlich Alkaloiden, darunter besonders dem Chinin.

Derartige Beziehungen zwischen Quellungs- und Fällungsvermögen in vitro und abtötender oder hemmender Wirkung

bei Zellen machen den Einfluß, den reversiblen der Entwicklungs- und Gärungshemmung ebenso wie den irreversiblen bei der Abtötung, der solchen chemisch keineswegs reaktionsfähigen Stoffen zukommt, verständlich. Dabei braucht es ja zur Aufhebung der Vermehrungsfähigkeit von Zellen keineswegs bis zur sichtbaren Niederschlagsbildung in der Zelle zu kommen, sondern eine erhebliche Dispersitätsverminderung, eine Entmischung der in einem sehr labilen Gleichgewicht stehenden Zellbestandteile reicht zur Erklärung der schädigenden Wirkung aus. So hat Warburg z. B. durch die Stoffe, die im Zellpreßsaft eine erhebliche Niederschlagsbildung bewirkten, innerhalb der Zelle keine Ausfällung trotz der Zellschädigung entstehen sehen.

Läßt sich die Wirkungsweise sowohl der chemisch stark reaktionsfähigen als der indifferenten Verbindungen zum Teil aus dem Verhalten der Zellbausteine *in vitro* folgern, und können wir annehmen, daß die Wirkung sich teils an der Plasmahaut, teils nach Aufnahme infolge Lipoidlöslichkeit im Zellinnern abspielt, so ist doch noch Verschiedenes über den Einfluß des Lösungszustandes der Stoffe auf die Wirkung zu sagen.

Die Theorie der Lösungen mit ihren Begriffen Ionen, Komplexe, Dissoziation sind durch Paul und Krönigs klassische Versuche, mit denen zeitlich die teilweise auf anderem Gebiete liegenden schönen Untersuchungen Scheurlens zusammenfielen, in die Bakteriologie eingeführt worden. Es sind aber auch hier von denen, die die Arbeiten zitierten oder besprachen, die Schlußfolgerungen kühner, allgemeingültiger gezogen worden, als von den Autoren selbst. So findet man denn öfters in der Literatur die Angabe, daß für die Wirkung von Säuren, Basen, Salzen die Dissoziation in Ionen der eigentlich maßgebende Faktor sei, daß Säuren- und Laugenlösungen um so stärker wirkten, je mehr H- bzw. OH-Ionen sie enthielten, Quecksilber- und Silbersalzlösungen entsprechend ihrem Gehalt an Metallionen. Das haben Paul und Krönig aus ihren Versuchen nicht abgeleitet, und es widerspricht auch durchaus dem Ergebnis ihrer Versuche. Daß es zu diesem Schluß überhaupt kommen konnte, liegt an der Verwendung von Milzbrandsporen als Testobjekten, die damals nötig schien infolge der Schwierigkeit, vegetative Zellen für einige Zeit bei gleicher Resistenz zu erhalten. Milzbrandsporen werden aber nur durch die chemisch stark reaktionsfähigen Stoffe, kaum durch die schwächer wirkenden Säuren, Basen usw. und so gut wie nicht durch die chemisch indifferenten, lipoidlöslichen Mittel angegriffen. Als später dann Paul mit Prall, mit Birstein und Reuß sowie Klocman seine Versuche an Staphylokokken anstellte, konnten auch die vorsichtigeren, von Paul und Krönig aus ihren Versuchen an Milzbrandsporen gezogenen Folgerungen nicht mehr ganz aufrecht erhalten werden.

Was zunächst die Säuren anlangt, so sind im allgemeinen stark in ihre Ionen gespaltene Säuren allerdings wirksamer als nur schwach dissoziierte, aber das Keimtötungsvermögen geht keineswegs bei Anwendung äquivalenter Lösungen dem H-Ionengehalt proportional, sondern bei gleich starker Dissoziation sind einzelne Säuren anderen um ein Mehrfaches an keimtötender Kraft überlegen, so gegen Milzbrandsporen die Salpetersäure und Trichloressigsäure der Salzsäure um etwa das 12-fache, gegen Staphylokokken die Jodwasserstoffsäure der Salzsäure um das 8-fache, und schwache Säuren, wie die Essig- und Buttersäure in Versuchen mit Staphylokokken, Fluorwasserstoffsäure gegen

Milzbrandsporen wurden verhältnismäßig viel stärker wirksam befunden, als ihrem Dissoziationsgrad entsprach. Kurz, man wird die Ursache für die Wirkung einer Säure nicht bloß bei den H-Ionen, also der Säurenatur, suchen, sondern auch an die Säureanionen denken müssen, die der Säure ja erst ihren spezifischen Charakter geben, und außerdem an das undissoziierte Molekül, das mindestens bei den Fettsäuren infolge seiner Lipoidlöslichkeit die Aufnahme und damit die Wirkung im Zellinnern erleichtert. Den teils quellenden, teils entquellenden Einfluß der Säureanionen kennt man ja aus der lyotropen Reihe Hofmeisters, und so wird man die Wirkung der Säuren ansehen müssen als algebraisch sich zusammensetzend aus der Wirkung der Ionen, von denen die des Anions teils +, teils negatives Vorzeichen hat. Gegen die Zurückführung der Säurewirkung ausschließlich auf das H-Ion spricht auch die sehr hohe Wirkungsverstärkung, die starke Säuren durch Zusatz ihrer Neutralsalze, die HCl durch Kochsalz-, die  $\text{NO}_3\text{H}$  durch Salpeterzugabe erfahren; diese Salzzugabe verringert nämlich stark die Dissoziation der Säure in ihre Ionen, also die H-Ionenkonzentration in der Lösung; sie müßte die keimtötende Kraft herabsetzen, wenn diese auf den H-Ionen ausschließlich beruhte. Dagegen ist die Wirkungsverstärkung der Säuren bei Neutralsalzzugabe durch den Einfluß der Anionen des Salzes auf die Quellwirkung der Säure gut erklärbar. Diese Verstärkung der Säurewirkung durch Salzzugabe findet eine Anwendung bei der Desinfektion milzbrandiger Häute durch HCl-NaCl-Lösungen nach dem Verfahren von Schattenfroh, Reichel und Gegenbauer (Pickelung).

Ganz ähnlich verhält es sich bei den Basen: hier ist nicht allein das OH-Ion maßgebend für die keimtötende Wirkung, sondern auch das Metallkation; nach Auer wirkt z. B. Calciumhydroxyd in Lösung stärker bakterizid als eine äquivalente Lösung von Natriumhydroxyd und Zusatz eines Salzes mit gleichem Kation verstärkt bei Natrium- und Kaliumhydroxyd gleichfalls die Wirkung auf Bakterien und Sporen innerhalb gewisser Grenzen; ein hoher Zusatz scheint die sporizide Kraft der Laugen allerdings herabzusetzen.

Ich komme nun zu der Wirkung der Schwermetallsalze, vor allem zu der des Sublimats, über dessen Eignung als Desinfektionsmittel die Meinungen so stark auseinandergehen. Bekannt ist, daß die bakterizide Kraft des Sublimats durch Zugabe von NaCl stark herabgesetzt wird, daß die sogenannten Angerer-Tabletten im Reagenzglasversuch schlechter bakterizid wirken, als die Sublimatlösung ohne Salzzusatz; Paul und Krönig führten diese Erscheinung auf die Zurückdrängung der Dissoziation des Sublimats, also der Hg-Ionenkonzentration durch die Zugabe eines Chlorids zurück; daraus ist dann in die Literatur übergegangen, die Hg-Salze wirkten entsprechend ihrem Gehalt an Hg-Ionen. Das stimmt schon mit den übrigen Ergebnissen von Paul und Krönig nicht überein, denn das stärker dissoziierte Quecksilbernitrat wirkt schlechter keimtötend als das Sublimat, und Höber hat darum zur Erklärung schon auf die Lipoidlöslichkeit des Sublimats aufmerksam gemacht, die ihm, wie wir es bei den Fettsäuren sahen, eine Wirkung auch innerhalb der Zelle ermögliche und ihm damit eine im Vergleich mit der des Quecksilbernitrats erhöhte keimtötende Kraft verleihe. Indes haben chemische Untersuchungen, die einige Jahre nach Paul und Krönigs Versuchen angestellt wurden, gezeigt, daß das Sublimat stark zur Selbstkomplexbildung neigt, daß es sich in teilweise kolloider Lösung befindet und daß es mit NaCl komplexe Salze, z. B. vom Typus  $\text{Na}^+$



$[HgCl_2]^{--}$ , in denen das Hg im Anion steckt, bildet. Es ist daher wohl zutreffender, anzunehmen, daß es gerade die geringe Dissoziation des Sublimats, die Selbstkomplexbildung ist, die, indem sie den kolloiden Zustand bedingt, die Lipoidlöslichkeit und damit die leichte Aufnahme in die Zelle und die im Vergleich mit der des Sublimats bei Salzzugabe verstärkte bakterizide Wirkung bewirkt und daß die Chlornatriumzugabe dadurch vermindernd auf das Keimtötungsvermögen wirkt, daß sie das teilweise kolloide  $HgCl_2$  in das Anion des entstehenden komplexen Salzes überführt.

Obschon Schwermetallsalze auf Eiweiß fällend wirken, wird das Keimtötungsvermögen des Sublimats von Gegenbauer, des Silbernitrats von Schumacher nicht auf Fällung von Zellbestandteilen zurückgeführt, sondern auf die hydrolytische Wirkung der Säure, die sekundär durch die Bindung der Salze an Eiweiß bei Gegenbauer, an Nukleinsäure bei Schumacher frei wird. Schumacher wies insbesondere bei Behandlung von Hefe mit Silbernitrat in der Außenflüssigkeit Phosphorsäure als Produkt dieser hydrolytischen Spaltung von Nukleinsäure nach; so interessant dieser Befund ist, so wurde dadurch doch nicht erwiesen, daß es sich bei dieser Entstehung von Phosphorsäure nicht um eine postmortale Zersetzung der Zellinhaltsstoffe handelt, also nicht um die Ursache des Zelltods, sondern um eine sekundäre Reaktion in der durch Abtötung permeabel gewordenen Zelle.

Die Wertung des Sublimats als Desinfektionsmittel möchte ich demjenigen meiner Herren Korreferenten überlassen, der die praktische Desinfektion besprechen wird. Ich glaube, daß mancher der besonders ungünstigen Befunde dadurch zustande kam, daß mit zu dichten Suspensionen gearbeitet wurde, was auf denselben Effekt hinausläuft, als ob das Sublimat in Gegenwart von Eiweiß einwirkte, und möchte der Möglichkeit, durch vereinte Behandlung mit Schwefelwasserstoff und Serum die sublimat-behandelten Keime wieder entwicklungsfähig zu machen, nicht den Einfluß bei der Beurteilung seiner Brauchbarkeit zur Desinfektion zuerkennen, wie der Beeinträchtigung seiner Wirkung durch Eiweißgegenwart, seiner Bindung auch durch Baumwolle und Leinen, der schlechten Benetzungsfähigkeit seiner Lösungen und nicht zu vergessen seiner Giftigkeit.

Ist die elektrolytische Dissoziation der Säuren, Basen und Salze nicht von dem ausschlaggebenden Einfluß, wie vereinzelt angenommen wurde, so ist für die Wirkung mancher Mittel die hydrolytische Spaltung, die sie in Lösung erfahren, sicher von großer Bedeutung. Es ist bekannt, daß Salze schwacher Basen mit starken Säuren und umgekehrt starker Basen mit schwachen Säuren in Lösung zum Teil gespalten sind in ihre Bestandteile, so daß die Lösung die Reaktion des stärkeren Anteils zeigt; z. B. reagiert die Lösung des Natriumacetats alkalisch, die des Eisenchlorids sauer. Mit derartigen hydrolytisch spaltbaren Verbindungen hat man es nun bei Desinfektionsmaßnahmen vielfach zu tun. Es gehören dazu die Eisen- und Aluminiumsalze, vor allem aber eine Reihe chemotherapeutisch hochwirksamer Chininderivate und basischer Farbstoffe; diese sind fast durchweg Salze starker Säuren mit schwachen Basen, daher hydrolytisch gespalten, so daß ein bestimmter, und zwar, wie Michaelis zeigte, indirekt elektrometrisch oder durch Indikatoren bestimmbarer Anteil in Lösung in Form der freien Base vorhanden ist; die freie Base kann aber im Gegensatz zum Salz nach Overton die Plasmahaut durchdringen und im Zellinnern zur Wirkung gelangen.

Je ärmer an H-Ionen, also je alkalischer nach dem üblichen Sprachgebrauch das Medium ist, desto besser ist, wie Michaelis an Alkaloidsalz-Pufferlösungen zeigte, die Wirkung z. B. des Eucupins auf Staphylokokken. Nun enthalten das Blut und die Gewebe, also Medien, in denen diese Mittel vorwiegend zur Anwendung kommen, Pufferstoffe, d. h. Phosphate, Bikarbonate, und amphotere Elektrolyte, nämlich die Eiweißstoffe; indem diese einen Teil der Säure binden, machen sie die stark wirksame Alkaloid- und Farbstoffbase in höherem Umfang aus ihrem Salze frei, als sie in rein wässriger Lösung vorhanden ist, und so ist es wohl zu erklären, daß diese Verbindungen in Serum nur wenig oder gar nicht schlechter, das Trypaflavin sogar besser wirken, als in wässriger Lösung.

Ferner sind hier zu erwähnen die alkalischen Phenollösungen. Die Phenole sind schwache Säuren, sie verbinden sich daher mit Alkalien, und die Lösungen, die sogenannten Phenollaugen, haben infolge der hydrolytischen Spaltung alkalische Reaktion, und je nachdem, ob die Spaltung eine weitgehende oder geringe ist, eine im Vergleich mit der Lösung des freien Phenols weniger oder mehr herabgesetzte bakterizide Wirkung. So tötet 1-proz. wässrige Kresollösung Staphylokokken an Batist in 30–40', eine gleichstarke Lösung aber, der eine dem Kresol äquivalente Menge Natriumhydroxyd beigegeben ist, in der also Natriumkresolat vorhanden ist, nicht in 24 Std. Derartige alkalische Kresollösungen, in denen alles oder ein erheblicher Teil des Kresols an Alkali gebunden ist, eignen sich also ihrer schlechten Wirkung auf Keime wegen nicht als solche zur Desinfektion, ganz abgesehen davon, daß sie empfindliche Stoffe und auch die Hände infolge ihres Gehalts an freiem Alkali angreifen. Bringt man aber derartige Kresollaugenverdünnungen zusammen mit Stoffen, die Alkali bilden, so wird das Kresol frei und kann auf die Keime einwirken. Das ist der Fall bei der Behandlung von Fäkalien, wo die Wirkung dieser Kresollaugen eine auffallend gute ist, und beim Sputum (Hailer). In diesem bindet das sauer reagierende Mucin einen Teil des Alkalis, zugleich tritt eine Quellung der schleimigen Bestandteile ein, so daß die Tuberkelbazillen für die Einwirkung des Kresols freigelegt werden. Das Wichtige ist aber dabei, richtige, gleichsam stöchiometrische Verhältnisse einzuhalten: es darf kein Alkaliüberschuß vorhanden sein, sonst erfolgt wohl Quellung, aber die Tuberkelbazillen werden durch Natriumkresolat ebensowenig abgetötet als die Staphylokokken in dem oben erwähnten Versuch. Der Vorgang ist bei richtiger Zusammensetzung:  $(\text{Kresol})\text{ONa} + \text{H}(\text{Mucin}) = (\text{Mucin})\text{.Na} + (\text{Kresol})\text{OH}$ , das nun auf die Tbc. wirkt; bei falscher aber:  $(\text{Kresol})\text{ONa} + \text{NaOH} + \text{H}(\text{Mucin}) = (\text{Mucin})\text{.Na} + \text{H}_2\text{O} + (\text{Kresol})\text{ONa}$ , also kein Freiwerden von Kresol, daher auch keine Abtötung der Tbc. Ein derartiges falsch zusammengesetztes, weil einen Alkaliüberschuß enthaltendes und daher unwirksames Präparat war das Ptyophagon. Quellung oder Lösung des Schleims bedeutet noch keine Wirkung auf die Tbc., es muß noch ein bakterizider Stoff vorhanden sein.

Das Sputum ist aber nicht immer gleichmäßig zusammengesetzt, manchmal wasser-, manchmal substanzreicher; die Zusammensetzung der Kresollauge muß also so abgestimmt sein, daß eine zur Quellung des Mucins in jedem Fall ausreichende, bei geringem Mucingehalt aber nicht zu große Menge Alkali vorhanden ist, da sonst nicht ausreichend Kresol in Freiheit gesetzt wird. Dies wird am besten erreicht, wenn auf 50 Teile Kresol etwa 8 Teile NaOH in der Lösung vorhanden sind. Nachdem ich im Anschluß an frühere Versuche über Kresollaugen diesen Zu-

sammenhang bei der von Uhlenhuth gelegentlich der Prüfung einer Anzahl von Desinfektionsmitteln des Handels gefundenen Wirkung des K-Lysols, eines alkalischen Kresolpräparats, auf den tuberkulösen Auswurf festgestellt hatte, ließen sich auch andere Phenole in der Form der Alkaliverbindungen verwenden. Dazu gehören vor allem die Kresolauflösungen und das Parol oder Parmetol, eine Lösung von Chlor-meta-kresol in annähernd der äquivalenten Menge NaOH. Chlormetakresol, auf dessen starke bakterizide Wirksamkeit in Seifenlösung und Eignung zur Auswurdesinfektion Laubenheimer schon 1909 hingewiesen hat, ist aber ein Phenol von viel stärker saurem Charakter als das unsubstituierte Kresol, ohnedem ist das Verhältnis zwischen Phenol und NaOH im Parol nicht so günstig wie in den geprüften Kresolalkalilösungen, daher kommen bei seiner Anwendung ausnahmsweise wohl einmal Versager vor, die aber praktisch belanglos sind.

Ebensogut wie in diesen Fällen das Serum bzw. Mucin die wirksamen Alkaloide, Farbstoffbasen und das Kresol aus den salzartigen Verbindungen gleichsam automatisch in Freiheit setzt, kann man dies auch willkürlich durch Zugabe alkalisch bzw. sauer reagierender Verbindungen erreichen; man erhält dann bei den Phenol-Alkali-Verbindungen rein wässrige Lösungen der entsprechenden Phenole, die dabei den Vorzug haben, billiger in der Herstellung und stärker in der Wirksamkeit auf Keime an Geweben, Holz usw. zu sein, als die entsprechenden Phenolseifenlösungen. Vor allem lassen sich so von Chlor-meta-kresol bis 0,4-proz. klare wässrige Lösungen von hohem Desinfektionswert gewinnen, die fast geruchlos und ungiftig sind und stärkere bakterizide Wirkung haben als die Phobrolverdünnungen von gleichem Gehalt an dem Phenol<sup>1)</sup>. Und stellt man mit Chlorthymol, einem allerdings teureren, auf synthetischem Weg gewinnbaren Phenol, derartige Chlorthymollösungen her und neutralisiert in entsprechender Weise deren Verdünnungen, so erhält man Lösungen, die bei einem Gehalt des Phenols von 0,03 Proz., also  $\frac{1}{33}$  Proz., schon in 20 Min. fast alle Staphylokokken und Paratyphusbazillen an den Granaten abtöten, also Lösungen von im Verhältnis zur Konzentration außerordentlich hoher Wirkung. Zudem wird die Wirkung der beiden Präparate in Wasser durch Zugabe von 10 Proz. Serum nur wenig beeinträchtigt.

Chlorthymol ist eine schwache Säure, sie wird aus ihrer Verbindung mit Alkali schon durch eine entsprechende Menge Natriumbikarbonat in Freiheit gesetzt, so daß das Ansetzen der Lösungen sehr einfach ist: man löst die berechnete Menge der alkalischen Chlorthymollösung im Wasser, rührt um und gibt etwas  $\text{NaHCO}_3$  zu. Chlor-m-kresol dagegen ist eine erheblich stärkere Säure, die erst durch stärkere Säuren, ihre sauren Salze oder einen erheblichen Ueberschuß von Bikarbonat in Lösung aus ihrem Salz frei gemacht werden kann. Zum Freimachen dieses Phenols aus seiner Alkaliverbindung eignen sich am besten die leicht in Tablettenform zu bringenden sauren Salze, z. B. Bisulfat oder primäres Phosphat, ferner Einleiten von Kohlensäure oder Zugabe von etwa dem 30fachen der äquivalenten Menge von Bikarbonat (d. h. 5 g auf 100 ccm der 0,4-proz. Lösung).

Mir scheint, daß vor allem die alkalischen Lösungen des Chlor-meta-kresols, in dieser Weise angewandt, ein brauchbares Mittel für die

1) Für die Anwendung zur Flächendesinfektion sind 0,2-proz. Lösungen ausreichend.

allgemeine Desinfektion am Krankenbett und geeignet wären, das unangenehm riechende Kresol und das giftige Sublimat dort zu verdrängen. Die Herstellung der gebrauchsfertigen Verdünnungen ist nicht halb so langwierig als die einer Sublimatlösung aus Tabletten.

Der hydrolytischen Spaltung ähnlich sind die sekundären Reaktionen gewisser Stoffe, die zur Bildung von desinfizierenden Lösungen führen. Das bekannteste Beispiel ist das Jodtrichlorid ( $JCl_3$ ), das sich in Lösung in Jodsäure, Salzsäure und das hauptsächlich bakterizid wirkende Jodmonochlorid ( $JCl$ ) spaltet; durch Zugabe von Kochsalz kann diese Spaltung so geleitet werden, daß eine möglichst hohe Ausbeute an Jodmonochlorid entsteht. Ein neues Beispiel einer derartigen sich in Lösung unter Freiwerden bakterizider Stoffe vollziehenden Spaltung sind die im Krieg bekannt gewordenen Chloramine. Dies sind Amide aromatischer Sulfosäuren, deren eines Amidwasserstoff durch Chlor substituiert ist, wodurch die Verbindung sauren Charakter erhält und Salze bilden kann. Das meist zur Anwendung kommende Präparat ist das jetzt auch in Deutschland hergestellte sog. Chloramin-T, das p-Toluolsulfchloramid-

Natrium, Toluol— $SO_2N \begin{matrix} \text{Cl} \\ \diagdown \\ \text{Na} \end{matrix}$ ; es zersetzt sich wie alle diese Verbindungen in Wasser unter Entstehung von Natriumhypochlorit und dem Sulfamid ( $T—SO_2N \begin{matrix} \text{Cl} \\ \diagdown \\ \text{Na} \end{matrix} + H_2O = T—SO_2NH_2 + NaOCl$ ), und zwar nicht

momentan und vollständig, sondern nur bis zu einem gewissen Gleichgewicht zwischen unzersetztem Präparat und Hypochlorit; verschwindet ein Teil des letzteren durch Oxydationsvorgänge oder andersartige Bindung, so zersetzt sich ein neuer Anteil des gelösten Präparats, so daß stets eine gewisse Konzentration an dem bakterizid ja sehr wirksamen Hypochlorit in Lösung vorhanden ist. Das Sulfamid, das andere Spaltungsprodukt, ist ohne Keimtötungsvermögen auch in gesättigter Lösung. 0,1-proz. Lösungen des Chloramin-T und ebenso der entsprechenden Verbindung des Benzolsulfamids wirken in wenigen Min. abtötend auf Staphylokokken und Paratyphus B-Bazillen; durch Gegenwart organischer Substanz wird aber die Wirkung etwas beeinträchtigt, wenn auch nicht in dem Maße, wie die von Hypochloritlösungen.

Dieses Chloramin ist nun, wie Uhlenhuth feststellte, ein auch für die Auswurfdesinfektion sehr geeignetes Präparat. Das ist auffallend, denn das Natriumhypochlorit, das in seiner Lösung vorhanden ist, homogenisiert ja in Form der Javelleschen Lauge nach den Versuchen von Bofinger das Sputum sehr gut, aber es tötet die Tbc. nicht ab. Und als Uhlenhuth mich einmal, als das Präparat eben aufgekommen war, fragte, was ich von seiner Anwendung für die Sputumdesinfektion hielte, sprach ich mich sehr zweifelhaft aus dem angegebenen Grunde aus. Uhlenhuth folgte dem Prinzip, daß Probieren über Studieren geht, setzte Versuche damit an und er hat recht behalten; das Präparat wirkt vorzüglich und ist geruchlos. Auf Tbc.-Reinkulturen aber ist es in 2-proz. Lösung, ebenso wie die Kresollaugen oder Chlor-m-kresol in alkalischer Lösung in 3 Std. ohne Wirkung. Ich kann mir zunächst nur die Erklärung denken, daß sich folgende Vorgänge vollziehen: es wird durch das in der Lösung schon vorhandene Hypochlorit die Homogenisierung eingeleitet; gleichzeitig entzieht das Mucin des Sputums als schwache Säure dem ungespaltenen Chloramin sein Natrium, so daß durch

Spaltung des freien Toluolsulfchloramids Chlor bzw. unterchlorige Säure entstehen, die nun auf die Tbc. abtötend einwirken. Für diese Erklärung spricht, daß Zugabe von Alkali zur Chloraminlösung zu etwa ebenso guter Quellung und Lösung des Schleims, aber nicht zur Abtötung der Tbc. führt, weil nun das Mucin sich des überschüssigen Alkalis bemächtigt und nicht des Natriums des Chloramins, so daß kein Zerfall des Toluolsulfchloramids in die bakterizid wirkende unterchlorige Säure bzw. Chlor erfolgt. Ich verkenne aber nicht die Berechtigung mancher Einwände, die sich gegen den angegebenen Erklärungsversuch machen lassen.

Schließlich möchte ich noch einiges über den Einfluß des Lösungszustandes, in dem sich das Desinficiens befindet, auf dessen Wirkung sagen. In der englischen Literatur finden sich Angaben, daß teeröhlhaltige Mittel in Emulsionsform besser wirken, als in gelöster. Diese Angabe ist aber zurückzuführen auf die sehr unzuverlässige englische Prüfungsmethodik; es ist wenig wahrscheinlich, das Mittel in der grobtropfigen Form der Emulsion, wo das einzelne Flüssigkeitsteilchen häufig größer ist als die Bakterienzellen, besser wirken sollen als im gelösten, molekulardispersen Zustand. Aber die Frage ist, wirken Stoffe besser im kolloiden oder im molekulardispersen Zustand, also in eigentlicher Lösung. Wir wissen darüber bis jetzt sehr wenig und sind in der Hauptsache auf Vermutungen angewiesen. Bei Stoffen, die durch chemische Umsetzung auf die Keime wirken, ist es ohne weiteres wahrscheinlich, daß sie im molekulardispersen Zustand am reaktionsfähigsten sind; dagegen mag für die Aufnahme im Weg der Lipoidlöslichkeit der kolloid gelöste Stoff der geeignetere sein, weil so die Adsorption als unter Umständen günstige Vorstufe der Aufnahme erleichtert ist. In der Tat sind Lösungen von Formaldehyd, also eines unzweifelhaft im Wege der chemischen Bindung wirkenden Mittels frisch aus den konzentrierten Lösungen des Handels durch Verdünnen bereitet weniger wirksam, als wenn sie einige Std. alt sind; das rührt daher, daß Formaldehyd in der konzentrierten Lösung, wie sie für die Herstellung der Verdünnung benutzt wird, zum größten Teil im polymeren und dann, wie die ultramikroskopische Prüfung lehrt, kolloiden Zustand sich befindet und daraus auch beim Verdünnen erst allmählich übergeht in den molekulardispersen bakterizid wirksameren (Hailer). Andererseits sahen wir, daß eine wenigstens teilweise kolloid gelöste Verbindung, das Sublimat, besonders stark wirksam ist und müssen auch für die Alkaloide und Farbstoffe annehmen, daß sie teilweise kolloid gelöst sind und daß dadurch ihre Wirkung noch in starker Verdünnung vermittelt wird. Indessen scheint ein gewisser Dispersitätsgrad doch Vorbedingung der Wirkung zu sein, denn für Alkaloide ist aus den Versuchen Overtons bekannt, daß ältere Lösungen weniger giftig sind, als frische, und Ähnliches hat meines Wissens Morgenroth für gewisse Chininderivate festgestellt. Durch Aufkochen läßt sich nach Overton die grobe Verteilung, in die die Basen allmählich durch Aggregation der kolloiden Teilchen übergegangen sind, wieder überführen in die feinere und wirksamere.

In diesem Zusammenhang möchte ich auch der seifenhaltigen Lösungen von Desinfektionsmitteln, vor allem der Phenole und des Formaldehyds, gedenken, in denen sich der eine Anteil, die Seife, ohne Frage im Zustand kolloider Lösung befindet. Man findet hier die auffallende Erscheinung, daß auf suspendierte Keime seifenhaltige Lösungen von Kresol, aber auch von anderen Phenolen besser keimtötend wirken, als rein wässrige Lösungen von gleichem Kresolgehalt, daß aber die letzteren die

seifenhaltigen Lösungen in der Wirkung auf Keime an Geweben weit übertreffen, so daß z. B. auf Staphylokokken an Batist 1-proz. wässrige Kresollösung meist besser wirkt, als eine 2,5 Proz. Kresol enthaltende Verdünnung der Kresolseife. Die Ursache ist nicht etwa, daß die Keime für seifenhaltige Lösungen besonders schwer erreichbar im Batist lägen; denn seifige Formaldehydlösungen haben unter gleichen Umständen besseres Keimtötungsvermögen als rein wässrige und bei ihrer hohen Kapillaraktivität dringen Seifenlösungen sicher überall dahin, wo Bakterien hingelangt sind. Als Ursache ist vielmehr anzusehen, daß aus einem Gemisch von 2 Stoffen der oberflächenaktivere in höherem Maße adsorbiert wird, und das ist die Seife, so daß auf dem Gewebe die Seifenkonzentration die des Kresols im Vergleich mit der Lösung übertrifft.

Diese Beobachtung hat auch ihre praktischen Seiten: zunächst ist eine Prüfungsmethode für Desinfektionsmittel, die so wenig mit den praktischen Verhältnissen übereinstimmende Bedingungen stellt und Ergebnisse liefert wie die Suspensionsmethode in diesem Falle, zum mindesten in der Anwendung als einzige Prüfungsmethode, als unzweckmäßig abzulehnen. Ferner aber sind rein wässrige Kresollösungen ihrer besseren Wirkung wegen auf Keime an Flächen, wie Geweben und Holz, — und in Suspension sind die Bakterien in der Desinfektionspraxis höchstens ausnahmsweise, nämlich in Urin und Badewasser — den seifenhaltigen vorzuziehen, trotz deren reinigender Wirkung. Derartige wässrige Kresollösungen sind sehr leicht und infolge der Seifenersparnis auch sehr billig auf dem früher erwähnten Wege mittels der Kresollaugen herzustellen, indem deren einfach darzustellenden Verdünnungen in Wasser eine entsprechende Menge Bikarbonat zugesetzt und umgerührt wird; die bis 2 Proz. klare Kresollösung enthält dann eine geringe Menge Soda und eignet sich gut für die Flächen- und Wäschedesinfektion im Krankenzimmer, noch besser die auf dem entsprechenden oben angegebenen Wege hergestellten wässrigen Lösungen des geruchlosen Chlormetakresol.

Es wäre vom chemischen Standpunkt noch mancherlei zu sagen über den Einfluß des Lösungsmittels, der Konzentration und der Temperatur, namentlich der im Laboratoriumsversuch viel zu wenig beachteten und bei der Anwendung der Mittel doch eine meist so große Rolle spielenden Temperaturen von 10° und darunter, auf die Wirkung, ferner über die kombinierte Anwendung zweier Mittel und die Frage der Addition oder Potenzierung der Wirkungen, für die die Bakterien als einzellige Objekte ja ein bequem zu handhabender Prüfstein sind. Indes ein solches Referat kann nur einen Ausschnitt dieses Grenz Arbeitsgebiets geben.

Die Versuche mit hochmolekularen Verbindungen, vor allem Farbstoffen, ferner mit Estern und anderen Stoffen, denen man ihrer Konstitutionsformel nach eine bakterizide Wirkung kaum zuschreiben würde, haben gezeigt, daß man Aussicht hat, in vielen Gruppen wirksame Verbindungen aufzufinden. Es wäre sehr wünschenswert im Interesse unserer Kenntnisse über die Beziehungen zwischen der Konstitution und der Giftwirkung, wenn aus zahlreichen Körperklassen möglichst ganze homologe Reihen auf ihr Verhalten gegenüber Bakterien geprüft würden. In chemischen Hochschullaboratorien werden nun zu Übungszwecken oder im Verlauf von wissenschaftlichen Untersuchungen Tag für Tag zahlreiche Verbindungen hergestellt, die für diese sehr dankenswerten Prüfungen nutzbar gemacht werden könnten. Dabei könnten nicht allein gewisse Regeln über die erwähnten Beziehungen gefunden, sondern unter Umständen auch

sehr wirksame Desinfektionsmittel entdeckt und nutzbar gemacht werden. Da unsere chemischen Fabriken sich in der Lieferung von Präparaten meist bedauerlich spröde verhalten, möchte ich einer solchen Zusammenarbeit zwischen chemischem und bakteriologischem Laboratorium, bei der beide Teile auf ihre Rechnung kommen könnten, sehr das Wort reden.

## II. Referat. Reichenbach (Göttingen):

### Die theoretischen Grundlagen der Desinfektion.

Mit 3 Kurven im Text.

Die theoretischen Untersuchungen über die Desinfektionsvorgänge haben sich bislang hauptsächlich in zwei Richtungen bewegt. Die eine beschäftigt sich mit den Vorgängen an der einzelnen Bakterienzelle — sie versucht, die Wirkung der Desinfektionsmittel und die dabei auftretenden Gesetzmäßigkeiten zu erklären, d. h. auf allgemeine physikalisch-chemische Gesetze zurückzuführen. Die andere nimmt zum Ausgangspunkt ihrer Ueberlegungen die zahlenmäßigen Vorgänge, die sich beim Absterben einer Bakterienansammlung, einer Population, abspielen: sie betrachtet die Absterbeordnung, und benutzt die Uebereinstimmung der Absterbeordnung mit gewissen, in ihrem Verlaufe quantitativ kontrollierbaren chemischen Reaktionen, um die für diese geltenden Gesetze auch auf das Absterben der Bakterien unter dem Einfluß von Desinfektionsmitteln anzuwenden.

Ueber die 1. Gruppe von Untersuchungen hat Ihnen ja mein Herr Korreferent eingehend berichtet. Mir bleibt jetzt die Pflicht, vor Ihnen die aus der Absterbeordnung sich ergebenden Probleme zu behandeln, und dabei möchte ich auf einige in mehr oder weniger engem Zusammenhange damit stehende Fragen aus der Prüfungsmethodik eingehen.

Sie wissen, daß wir die ersten exakten zahlenmäßigen Angaben über das Absterben einer Bakterienmenge unter dem Einfluß eines Desinfektionsmittels der Arbeit von Paul und Krönig verdanken, die ja auch in anderer Beziehung zum Ausgangspunkt der theoretischen Desinfektionsforschung geworden ist. Paul und Krönig haben eine ganze Reihe von zahlenmäßig verfolgten Desinfektionsversuchen — hauptsächlich an Milzbrandsporen und Staphylokokken — mitgeteilt, sie haben sich aber jeder Vermutung über das den Zahlen zugrunde liegende Gesetz zunächst enthalten. Ein erster Versuch zur Aufstellung eines solchen Gesetzes ist von Ikeda gemacht worden, der aus den Zahlen von Paul und Krönig den Schluß zog, daß die Zahl der Ueberlebenden umgekehrt proportional sei dem Quadrat der Einwirkungszeit. Man kann heute wohl ruhig sagen, daß die Ikedasche Berechnungsart ein Fehlschlag war und daß die leidliche Uebereinstimmung mit seiner Formel auf einem Zufall beruhte.

Die Kenntnis des wirklichen Gesetzes der Absterbeordnung verdanken wir Madsen und Nyman. Es ist das große Verdienst der beiden dänischen Forscher, daß sie, zuerst ebenfalls durch Berechnung der Zahlen von Paul und Krönig, dann auch durch eigene Versuche, die Uebereinstimmung des Absterbevorganges mit dem Verlauf der sogenannten monomolekularen Reaktionen nachgewiesen haben. Das sind

bekanntlich Reaktionen, bei denen nur eine Molekülgattung eine merkliche Aenderung ihrer Konzentration erfährt; sie verlaufen so, daß die Menge des neugebildeten Bestandteiles in jedem Moment der Menge des noch vorhandenen ursprünglichen Körpers proportional ist. Nennen wir die Anfangsmenge  $a$ , und die zurzeit bereits umgesetzte Menge  $x$ , dann ist die in der unendlich kleinen Zeit  $dt$  umgesetzte Menge  $dx$  proportional dem Wert  $a-x$ , und es gilt die Gleichung:

$$dx = (a-x) dt \cdot K, \text{ oder } \frac{dx}{dt} = K(a-x),$$

worin  $K$  eine von den Bedingungen des Versuchs abhängige Konstante bedeutet. Den Differentialquotienten  $\frac{dx}{dt}$  bezeichnet man als Reaktions-

geschwindigkeit, und die Konstante  $K$  als Reaktionsgeschwindigkeitskonstante. Auf den Absterbevorgang bei Bakterien übertragen heißt das, daß die Zahl der Absterbenden zu jeder Zeit der Menge der Ueber-

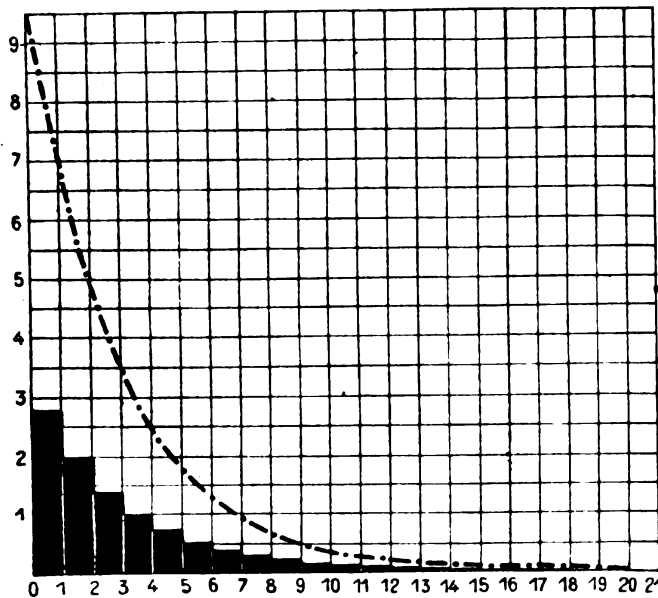


Fig. 1.

lebenden proportional ist. Die Gestalt der entstehenden Absterbekurve sehen Sie hier in dieser Figur (Fig. 1), wo ich einen Versuch von Madsen und Nymann graphisch aufgetragen habe. Sie sehen, daß die Kurve der Ueberlebenden zunächst steil, dann immer langsamer abfällt, und daß ebenso die Zahl der in der Zeiteinheit absterbenden, die durch die schwarzen Rechtecke ausgedrückt wird, von Minute zu Minute kleiner wird, und das muß so sein, da sich die Anzahl der Ueberlebenden, der die Absterbegeschwindigkeit proportional ist, ständig vermindert. In demselben Sinne, wie man bei chemischen Vorgängen von der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante spricht, kann man nun hier von einer Konstante der Desinfektionsgeschwindigkeit sprechen, und man kann diese Konstante unter sonst gleichen Umständen als Maß für die Leistung eines Desinfektionsmittels ansehen. Man kann sogar noch weitergehen. Man kann, ganz wie es bei chemischen Reaktionen möglich ist, die Veränderungen der Geschwindigkeitskonstante, die durch Aenderungen der Konzentration des Desinfektionsmittels und durch Aenderung der Temperatur hervorgerufen werden, zahlenmäßig als Konzentrationsexponenten und Temperaturkoeffizienten bestimmen und bekommt dadurch einfache vergleichbare Zahlenwerte für den Einfluß dieser Faktoren. Die Wirkungsart eines Desinfektionsmittels würde sich danach durch die 3 Größen: Geschwindigkeitskonstante, Konzentrationsexponent und Temperaturkoeffizient ausdrücken lassen. Diese Werte sind — theoretisch wenigstens — unabhängig von der Anfangsmenge der Bakterien, sie werden aber be-



einflußt von der Art der Bakterien und dem Medium, in dem die Desinfektionswirkung vor sich geht. Für diese beiden Faktoren müssen also die Werte besonders bestimmt werden.

Natürlich ist es ein sehr verlockender Gedanke, diese Gesetzmäßigkeiten zur praktischen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel zu verwenden. Allerdings würde eine auf dieser Grundlage vorgenommene Wertung keine unmittelbaren Hinweise für die Verwendung des Mittels in der Praxis geben — sie hätte aber den großen Vorteil wissenschaftlich exakter zahlenmäßiger Angaben, und wäre methodisch darin überlegen, daß an Stelle der häufig unsicheren Abtötungszeit die exakter bestimmbare Bakterienzahl gesetzt wird.

Leider hat sich nun gezeigt, daß dieser ganze, so stolz erscheinende Bau auf sehr wenig festen Grundlagen steht. Es ist außer mir besonders von Reichel darauf hingewiesen worden, daß die beiden Vorgänge — auf der einen Seite die monomolekularen Reaktionen, und auf der anderen der Desinfektionsprozeß — nur eine formale Uebereinstimmung zeigen, daß sie aber in ihrem Wesen nichts miteinander zu tun haben. Beide haben das Gemeinsame, daß sie logarithmisch verlaufen, daß also die Anzahl der reagierenden Moleküle oder der absterbenden Bakterien immer der Menge der noch vorhandenen proportional ist. Bei dem chemischen Vorgange rührt das daher, daß, ganz allgemein gesprochen, die Moleküle nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit in den zur Umsetzung geeigneten Zustand geraten, und diese Wahrscheinlichkeit muß natürlich der Anzahl der noch vorhandenen Moleküle proportional sein. Die Bakterien aber befinden sich, wenn die Versuchsanordnung mit Sorgfalt getroffen ist, dem Desinfektionsmittel gegenüber sämtlich in der gleichen Lage, und es ist absolut nicht einzusehen, warum von zwei Bakterien gleicher Resistenz das eine früher absterben sollte als das andere<sup>1)</sup>. Wenn also Unterschiede in der Absterbezeit auftreten, so muß das auf der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der einzelnen Bakterienzellen beruhen, und die Gesetzmäßigkeit des Absterbevorganges kann nur so erklärt werden, daß die einzelnen Resistenzstufen in solcher Zahl vorhanden sind, daß ihr Absterben einem Exponentialgesetz folgt, daß sie selber also eine geometrische Reihe bilden. Das gesetzmäßige Absterben der Bakterien ist also nicht im Wesen des Desinfektionsvorganges begründet, es ist kein physikalisch-chemischer, allmählich ablaufender Prozeß, sondern es beruht auf der — diesem Vorgang gegenüber zufälligen — Abstufung der Resistenz, und die Gesetzmäßigkeit tritt nur dann auf und die Konstante der Desinfektionsgeschwindigkeit existiert überhaupt nur dann, wenn in der zum Versuche benutzten Bakterienmenge diese Abstufung der Resistenz vorhanden ist.

Das letztere scheint nun allerdings — man kann wohl sagen, überraschenderweise — fast immer der Fall zu sein. Eine ganze Reihe von Arbeiten — von Paul und seinen Mitarbeitern, von Madsen und Nymann, Harriet Chick und auch von mir selbst — haben die

1) Diesen Satz muß ich auch gegenüber den jüngst von B. Lange, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96 S. 92 geäußerten Bedenken unbedingt aufrecht erhalten. Natürlich können einmal Ausnahmen vorkommen, aber das beruht im allgemeinen auf Versuchsfehlern, die vermieden werden können und in meinen Versuchen jedenfalls vermieden worden sind. Auch können selbstverständlich solche Unregelmäßigkeiten niemals die gesetzmäßige Absterbeordnung vortäuschen.

Absterbeordnung bestätigt, und demgegenüber kommen einzelne Ausnahmen, wie sie von Eijkman, Harriet Chick und von mir gefunden sind, kaum in Betracht. Eine durch künstliche Kultur gewonnene Bakterien- oder Sporenmenge ist im allgemeinen so aufgebaut, daß die Individuen der niedrigsten Resistenzstufe am zahlreichsten vorhanden sind, und daß mit zunehmender Resistenz die Anzahl der Individuen immer kleiner wird: die Keime der höchsten Widerstandsfähigkeit sind in der geringsten Anzahl vertreten. Ich betone das ausdrücklich deshalb, weil in der Literatur sich immer wieder bis in die allerneueste Zeit hinein der Irrtum findet, als sei der Aufbau so, daß der größte Teil der Keime eine mittlere Resistenz aufweise, an die sich dann nach beiden Seiten mit abnehmender Häufigkeit Keime von niedrigerer oder höherer Widerstandsfähigkeit anschließen. Ich gebe ohne weiteres zu, daß ein solcher

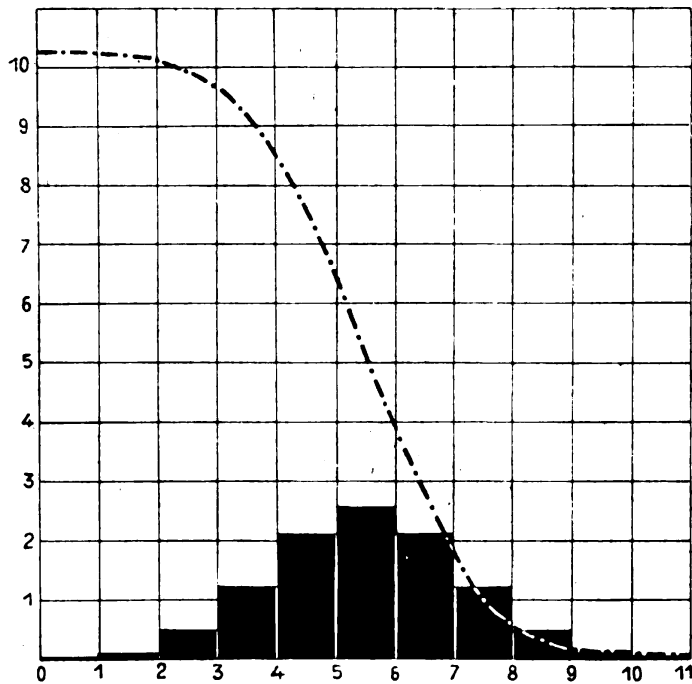


Fig. 2.

Aufbau der wahrscheinlichste wäre — wenn wir andere organische Gebilde nach dem Grad irgendeiner variierenden Eigenschaft ordnen, so bekommen wir tatsächlich Kurven, die dieser Art der Verteilung entsprechen. Die Absterbeordnung müßte dann so aussehen, wie es Fig. 2 zeigt — die Kurve der Ueberlebenden müßte in der Mitte einen Wendepunkt haben und die Absterbenden müßten nach der binomialen Wahrscheinlichkeitskurve angeordnet sein. Das widerspricht aber durchaus der Wirklich-

keit, wie sie in Fig. 1 zum Ausdruck kommt, und es nützt nichts, daß man sich dieser Tatsache verschließt. Wir müssen im Gegenteil versuchen, die Konsequenzen daraus für die Desinfektionslehre zu ziehen.

Man kann zunächst daran denken, die Tatsache, daß sich in den meisten Fällen die sogenannte Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante berechnen läßt, trotz der veränderten Auffassung vom Wesen dieser Konstante, zur Wertbestimmung der Desinfektionsmittel zu benutzen. Die Vorteile einer solchen zahlenmäßigen Angabe wären so groß, daß man vielleicht über die theoretischen Bedenken hinwegkommen könnte. Auch bleiben ja die Beziehungen zwischen Temperatur und Konzentration einerseits und dem Wert der Konstante andererseits bestehen, so daß auch der Einfluß dieser beiden Faktoren seinen zahlenmäßigen Ausdruck finden könnte. Aber man muß sich doch immer wieder klar machen, daß in der Konstante nicht ein physikalisch-chemischer Vorgang, sondern nur ein bestimmter Aufbau der benutzten Bakterienmenge zum Ausdruck kommt und daß deshalb, wenn man gewissenhaft sein will, in

jedem einzelnen Falle festgestellt werden muß, ob dieser Aufbau wirklich vorhanden ist. Dazu sind statt der theoretisch nötigen 2 Zählungen eine größere Reihe erforderlich, und so wird das Verfahren neben aller theoretischen Anfechtbarkeit auch praktisch umständlich und mühsam. Es kommt dann hinzu, daß, nach einzelnen Versuchen von Paul und seinen Mitarbeitern zu schließen, die Konstante nicht nur von der Art und der Anwendung des Desinfektionsmittels, sondern in sehr hohem Maße auch von Zufälligkeiten bei der Präparation des Testmaterials abhängig ist. Solche Zufälligkeiten beeinflussen nun nicht nur den absoluten Wert der Konstante, sondern sie scheinen, was viel schlimmer ist, bei verschiedenen Mitteln verschieden stark zu wirken — so daß dadurch auch die Benutzung der Konstante als relatives Maß in Frage gestellt werden würde. Ich halte es sehr wohl für möglich, daß diese Unzuträglichkeiten eine Eigentümlichkeit der von Paul benutzten Granatenmethode sind und daß sie bei Verwendung von Suspensionen nicht hervorgetreten wären — aber immerhin sind sie ein Grund mehr, der Verwendung der Desinfektionskonstante mit Mißtrauen zu begegnen. Großen Wert für die Praxis der Desinfektionsmittelprüfung wird meines Erachtens deshalb dieses Verfahren schwerlich je besitzen.

Von sehr großer praktischer Bedeutung ist dagegen eine Folgerung, die sich aus der logarithmischen Absterbeordnung ohne weiteres ergibt: nämlich die Abhängigkeit der Desinfektionszeit von der Anfangsmenge. Es leuchtet ein, daß die Zeit, die nötig ist, um die Bakterienmenge  $a$  bis auf einen Keim zu vermindern — was ja praktisch der Abtötung gleichkommt — daß die gleich sein muß dem Quotienten aus dem  $\log.$  von  $a$  und der Geschwindigkeitskonstante — also direkt proportional dem  $\log.$  der Anfangsmenge; oder mit anderen Worten: wenn die Ausgangsmenge in geometrischer Progression sich ändert, so ändert sich gleichsinnig, aber in arithmetischer Progression, die Abtötungszeit. Sie können sich das sehr einfach an dieser Kurve hier vorstellen (s. Fig. 1) — beträgt die Anfangsmenge nicht 9500, sondern etwa die Hälfte, so wird die Kurve parallel mit sich selbst nach unten zu verschoben und erreicht die Abszisse selbstverständlich früher, als es bei der großen Ausgangsmenge der Fall war. Natürlich wird eine solche Regel nicht den Wert eines mit mathematischer Sicherheit gültigen Gesetzes beanspruchen können. Die Verteilung der Keime in der Suspension ist kaum mit absoluter Regelmäßigkeit zu erreichen, und solche Unregelmäßigkeiten in der Verteilung fallen natürlich gerade bei den in geringer Anzahl vorhandenen Resistenzstufen besonders stark ins Gewicht. Auch mag die Anzahl der resistenten Keime manchmal etwas anders sein, als sie nach der exponentiellen Anordnung sein müßte. So treten ab und zu gerade gegen den Schluß des Versuches Unregelmäßigkeiten auf, und insbesondere zieht sich manchmal der Desinfektionsvorgang etwas länger hin, als man nach der Formel erwarten sollte. Aber im großen und ganzen stimmt doch die Erfahrung sehr gut mit der Theorie überein, jedenfalls darf man nicht auf Grund dieser kleinen Unregelmäßigkeiten den Einfluß der Anfangsmenge auf die Abtötungszeit leugnen wollen.

Nun läßt sich selbstverständlich die Verlängerung der Abtötungszeit durch Vergrößerung der Anfangsmenge nicht beliebig weit treiben — die Grenze wird dann erreicht sein, wenn in der Aussaat — auf die kommt es ja allein an — mindestens 1 Keim der höchsten Resistenzstufe vorhanden ist. Eine weitere Vergrößerung der Ausgangsmenge muß ohne Einfluß auf die Abtötungszeit sein, vorausgesetzt natürlich,

daß die Absterbeordnung allein die Sachlage beherrscht und daß nicht andere Einflüsse der Dichte der Aufschwemmung mitspielen.

Solche Einflüsse sind aber nun tatsächlich vorhanden — die Dichte der Bakterienaufschwemmung übt an sich — ganz unabhängig von dem Absterbegesetz und der verschiedenen Resistenz der Keime — eine Schutzwirkung aus. Einen Versuch zur Trennung dieser beiden Einflüsse hat wohl zuerst Potthoff auf meine Anregung unternommen, und ich selbst habe ähnliche, noch nicht abgeschlossene Versuche jetzt im Gange. Besonders eingehend hat sich in allerletzter Zeit B. Lange mit der Frage beschäftigt — Herr Lange war so freundlich, mir einen Abzug seiner noch unveröffentlichten Untersuchungen zuzusenden<sup>1)</sup>. Auch aus diesen Untersuchungen geht unzweifelhaft eine erhebliche Schutzwirkung der Dichte selbst hervor, die, und darin gebe ich Herrn Lange vollständig recht, bei dichten Aufschwemmungen den Einfluß der Zahl überwiegen kann. Aber man darf darum nicht den Einfluß der Zahl

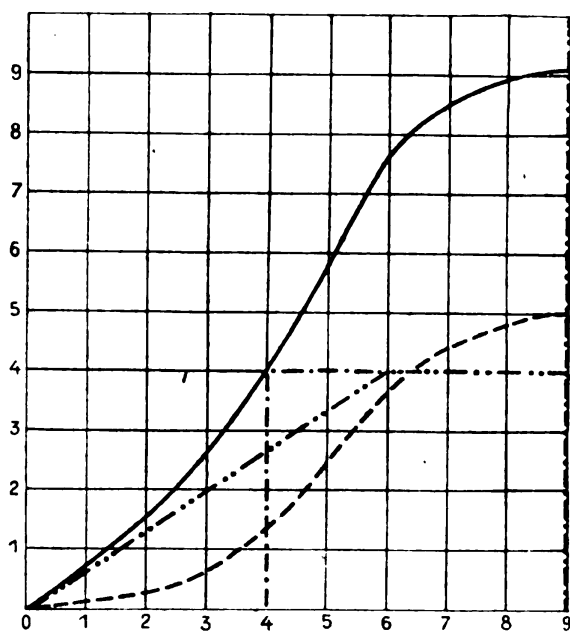


Fig. 3.

ganz vernachlässigen — daß er vorhanden sein muß, folgt ohne weiteres aus der Absterbeformel, und daß er wirklich vorhanden ist, läßt sich durch Versuche beweisen, bei denen die spezifische schützende Wirkung der Dichte ausgeschaltet wurde.

Für die Praxis der Desinfektionsmittelprüfung ist die Kenntnis dieser Verhältnisse von großer Bedeutung. Ich stimme vollständig darin mit Herrn Lange überein, daß es keinen Sinn hat, die Dichte der Aufschwemmungen so groß zu nehmen, daß eine spezifische Schutzwirkung durch die Dichte stattfindet. Denn unter den Verhältnissen der Praxis wird eine solche Schutzwirkung in den weitaus meisten Fällen auch nicht vorhanden sein, und ihre Berücksichtigung im Versuch würde eine überflüssige, wirtschaftlich nicht zu rechtfertigende Erschwerung der Anforderungen bedeuten. Andererseits werden wir, vorläufig wenigstens, nicht gut umhin können, die Forderung aufzustellen, daß in der zur Nachkultur benutzten Aussaatmenge mindestens 1 Keim der höchsten Resistenz vorhanden ist. Diese beiden Forderungen sind miteinander nur dann zu vereinigen, wenn sich die Wirkungsbereiche von Zahl und Dichte nicht überschneiden, d. h. wenn nicht die Aufschwemmungen, um genügend resistente Keime zu enthalten, schon so dicht sein müssen, daß die Dichte an sich schützend wirkt. Genaue Untersuchungen über die Abgrenzung der beiden Wirkungsbereiche liegen noch nicht vor — so viel läßt sich aber doch schon sagen, daß tatsächlich eine Uebereinanderlagerung stattfindet und daß es deshalb unmöglich ist, beiden For-

1) Die Arbeit ist inzwischen in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96, S. 92 erschienen.

derungen streng zu entsprechen. Wir werden ihnen am nächsten kommen, wenn wir die Aufschwemmungen nicht allzu dicht nehmen, wenn wir aber dafür möglichst große Aussaatmengen zur Nachkultur verwenden.

In Fig. 3 sind diese Verhältnisse kurvenmäßig dargestellt. Als Abszissen sind die Logarithmen der Aufschwemmungsdichten eingetragen, als Ordinaten die Abtötungszeiten. Die —.. Kurve gibt den Einfluß der Zahl wieder; sie verläuft zuerst geradlinig aufwärts, dann horizontal: die Stelle des Knickes entspricht derjenigen Dichte der Aufschwemmung, bei der in der Aussaat alle Resistenzstufen vorhanden sind. Die gestrichelte Linie gibt etwa die spezifische Schutzwirkung der Dichte wieder, und in der ausgezogenen Kurve ist die gemeinsame Wirkung der beiden Einflüsse dargestellt. Die günstigste Dichte der Aufschwemmung läßt sich nun — theoretisch wenigstens — so finden, daß man durch den Knickpunkt der —.. Kurve eine zur Abszissenachse parallele Linie nach rückwärts zieht, bis sie die ausgezogene Kurve schneidet. Das von diesem Schnittpunkt auf die Abszisse gefällte Lot ergibt dann die günstigste Dichte der Aufschwemmung. Die Abtötungszeit ist dann ebenso groß, wie sie ohne die spezifische Schutzwirkung der Dichte nur durch die Miterfassung der resistentesten Keime sein würde.

Um diese theoretischen Erwägungen in die Praxis umzusetzen, würde allerdings die genaue Kenntnis des Verlaufes der gestrichelten Kurve nötig sein.

Diese Schwierigkeiten bestehen aber — das darf ich hier nebenbei bemerken — nur für die Verwendung von Aufschwemmungen. Es ist ein entschieden nicht zu unterschätzender Vorzug des Keimträgerverfahrens, daß hier der gegenseitige Schutz der Keime ganz oder doch fast ganz wegfällt und daß die Wirkung der Zahl nahezu rein hervortritt. Man kann deshalb die am Keimträger haftende Bakterienmenge ruhig so groß nehmen, wie es mit Rücksicht auf die Wahrscheinlichkeit der Aussaat höchst resistenter Keime erforderlich erscheint, ohne fürchten zu müssen, daß damit durch den Einfluß der Dichte die Abtötungszeit über das praktisch nötige Maß verlängert werde.

Diese letzteren Erwägungen führen uns zu der ebenfalls mit der Absterbeordnung eng zusammenhängenden Frage, ob bei den in der Natur vorkommenden Keimen ebenfalls eine Abhängigkeit der Abtötungszeit von der Zahl anzunehmen ist. Es gibt ja in der Desinfektionspraxis eine ganze Reihe von Fällen, in denen die Anzahl der abzutötenden Keime gering ist. Dahin gehören z. B. die Desinfektion der Hände, der Wäsche, von Gebrauchsgegenständen — kurz eigentlich alle, in denen nicht die keimhaltigen Ausscheidungen selbst desinfiziert werden sollen. Können wir nun auf diese Fälle auch das Absterbegesetz anwenden, können wir annehmen, daß hier, entsprechend der geringen Keimzahl, auch die Abtötungszeit kurz ist? Die Frage ist gleichbedeutend mit der nach dem Resistenzaufbau der natürlich vorkommenden Keime. Bedauerlicherweise wissen wir ja über die Resistenz natürlicher Bakterien sehr wenig — aber das steht, glaube ich, doch fest, daß wir auf keinen Fall die Erfahrungen, die wir an künstlichen Kulturen über die Absterbeordnung gewonnen haben, auf natürlich vorkommende Bakterien übertragen dürfen und daß wir bei ihnen nicht ohne weiteres einen exponentiellen Aufbau der Resistenzstufen erwarten können. Das wird uns klar, wenn wir über die Gründe

dieses Aufbaues uns eine Vorstellung zu machen versuchen. Sie wissen vielleicht, daß ich einmal einen solchen Erklärungsversuch gemacht habe — ich möchte Sie jetzt mit den im Prinzip sehr einfachen, in der rechnerischen Durchführung aber doch etwas komplizierten Vorstellungen nicht bemühen. Nur soviel darf ich sagen, daß nach diesen Anschauungen die einzelnen Resistenzstufen durch Zurückbleiben eines bestimmten Bruchteiles der Individuen bei der Teilung entstehen, daß sie also jedesmal wieder in der einzelnen Kultur zur Ausbildung kommen. Der eigentümliche Aufbau ist also eine Wirkung des gegenseitigen Einflusses der in engster Gemeinschaft in derselben Kultur entstandenen Zellen, und ein solcher Einfluß ist bei den natürlich vorkommenden Bakterien, die ja unter ganz anderen Bedingungen herangewachsen sind und von deren Entstehungsgeschichte wir sehr wenig wissen, selbstverständlich in den meisten Fällen nicht ohne weiteres vorauszusetzen.

Wir können deshalb über den Resistenzaufbau dieser Keime gar nichts voraussagen und müssen mit der Möglichkeit rechnen, daß sich hier auch unter einer kleineren Anzahl verhältnismäßig viele hochresistente Keime finden. Bis auf weiteres werden wir also die im Laboratorium gefundenen höchsten Resistenzgrade bei der Bemessung der Abtötungszeit zugrunde legen müssen, und damit rechtfertigt sich die Forderung, die Dichte der Aufschwemmungen und die Beschickung der Keimträger so zu wählen, daß in der Aussaat mindestens ein Keim der höchsten Resistenzstufe vorhanden ist.

Eine Stütze für die eben entwickelte Anschauung vom Wesen der Resistenzunterschiede ist das Verhalten ihrer Erbllichkeit. Es liegt ja die Frage nahe, ob die Individuen, die bei einem quantitativ durchgeführten Desinfektionsversuche bis zuletzt übrig bleiben, die also in diesem Versuche von allen benutzten Keimen die größte Widerstandsfähigkeit besessen haben — ob die bei weiterer Fortzüchtung nun auch wieder Keime von ähnlicher großer Resistenz hervorbringen. Das ist nun nach den bislang vorliegenden, allerdings nicht zahlreichen Versuchen, nicht der Fall. Wenn wir mit einer so gewonnenen Kultur wieder einen Desinfektionsversuch anstellen, so bekommen wir dieselbe Absterbekurve wie mit dem Ausgangsstamm, und auch die Abtötungszeit wird nicht merklich verlängert. Die in einer Kultur vorhandenen Resistenzunterschiede sind also keine erblichen Eigenschaften, und es ist keine Aussicht vorhanden, durch Auslese der resistenten Individuen einer Kultur zu einem resistenteren Stamm zu gelangen. Das stimmt durchaus überein mit unserer Ansicht über die Entstehung der resistenten Keime — es sind Modifikationen im Sinne der Erblchkeitslehre, die durch Einwirkungen in der Kultur selbst jedesmal wieder von neuem entstehen, aber nicht erblich fixiert sind.

Ich möchte aber nicht mißverstanden werden. Daß die einzelnen Stämme einer Bakterienart vererbare Resistenzunterschiede aufweisen können, weiß ich sehr wohl; darüber liegen ja — besonders bei Milzbrandstämmen — sehr ausgedehnte Untersuchungen vor. Aber das hat hiermit nichts zu tun — diese Unterschiede sind in ganz anderer Weise, wahrscheinlich durch längere Einwirkung natürlicher Wachstumsbedingungen, zustande gekommen, jedenfalls nicht durch Auslese der resistenten Individuen einer Kultur. Es mag auch gern möglich sein, daß sich einmal aus einer Kultur Individuen mit vererbaren Resistenzunterschieden abspalten — aber auch solche Vorkommnisse haben gar nichts zu tun mit den

Resistenzstufen, die jedesmal in gesetzmäßiger Zahl in jeder Kultur auftreten. Darum gehorcht bei diesen auch die Streuung nicht der gewöhnlichen binomialen Wahrscheinlichkeitskurve, wie wir sie sonst bei der fluktuierenden Variation organischer Gebilde finden, und wie sie nach den Untersuchungen von Reichel auch auftritt, wenn wir die Milzbrandstämme nach ihrer Resistenz ordnen, sondern wir haben eine eigene, durch die Art der Entstehung bedingte Gesetzmäßigkeit, die in der Exponentialkurve zum Ausdruck kommt.

Ich möchte damit die Betrachtungen über die Absterbeordnung verlassen und zunächst die Frage erörtern, ob wir an Stelle der als ungeeignet erkannten Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante einen anderen zahlenmäßigen Ausdruck für die Wertung eines Desinfektionsmittels finden können.

Da ist zunächst zu bemerken, daß jede solche Zahl immer nur ein Maß für die Wirkung, aber niemals für den gesamten Wert eines Desinfektionsmittels sein kann. Denn der Wert eines Mittels hängt außer von der Wirksamkeit noch von einer ganzen Reihe anderer Eigenschaften ab — ein schwach, d. h. nur in relativ starker Lösung wirksames Mittel, von dem aber die nötige Konzentration wohlfeil und einfach herzustellen ist und das keine unangenehmen Nebenwirkungen, besonders keine ätzenden Eigenschaften und keine starke Giftigkeit besitzt, kann sehr viel wertvoller sein, als ein anderes, das zwar in starker Verdünnung wirksam, aber wegen seiner sonstigen Eigenschaften weniger geeignet ist. Mit dieser Einschränkung ist aber das Bedürfnis nach einem einfachen zahlenmäßigen Ausdruck für die Charakterisierung eines Mittels durchaus anzuerkennen. Nun wissen Sie, daß in England und Amerika der sog. Karbolsäurekoeffizient eingeführt worden ist — das ist die Zahl, die angibt, wievielmals stärker die Konzentration des fraglichen Mittels sein muß, als die einer unter sonst gleichen Umständen gleich wirksamen Karbolsäurelösung. Der Gedanke, der diesem Vorgehen zugrunde liegt, ist sehr einfach und einleuchtend. Man hoffte offenbar, die Schwierigkeiten und Unsicherheiten, die sich einer absoluten Bewertung entgegenstellen, dadurch zu umgehen, daß man zu der relativen Wertbezeichnung griff — in der Erwartung wohl, daß all die vielen, zum Teil schwer zu beherrschenden Umstände, die für den Ausfall des Versuches in Betracht kommen, nun auf beide Mittel — auf das Phenol und das zu prüfende — in gleichem Sinne und in gleicher Stärke einwirken würden. Auf die Einzelheiten der Methoden, ihre Abweichungen in den einzelnen Ländern und die Versuche zur Verbesserung einzugehen, ist hier jetzt nicht der Ort, ich möchte nur ganz allgemein sagen, daß der Fehler, und zwar ist das ein unvermeidlicher Fehler aller Relativmethoden, darin liegt, daß die Voraussetzung, nach der die Versuchsbedingungen auf beide Mittel gleichartig wirken, nicht zutrifft. Der Koeffizient muß also, je nach den Versuchsbedingungen, ganz verschieden ausfallen — und damit ist seine Bedeutung für die sichere Charakterisierung der Mittel sehr fraglich geworden.

Die Umstände, von denen der Wert des Koeffizienten beeinflußt wird, sind in der Hauptsache folgende: Zuerst die benutzte Bakterienart. Da sehr viele Desinfektionsmittel bis zu einem gewissen Grade spezifisch wirken, kann der Koeffizient ganz verschieden ausfallen je nach dem Grade der besonderen Empfindlichkeit, den die Versuchsbakterien dem Phenol oder dem zu prüfenden Mittel gegenüber besitzen. Man könnte den Fehler verringern, wenn man 2 Versuche mit 2 ver-

schiedenen Keimarten, die erfahrungsgemäß öfter ein entgegengesetztes Verhalten zeigen, z. B. Typhusbazillen und Staphylokokken — anstelle — aber damit wäre der Hauptvorzug der Methode — die Aufstellung einer einzigen Zahl — schon preisgegeben.

Weiter kann der Koeffizient beeinflußt werden durch relative Verschiedenheiten in der entwicklungshemmenden Kraft der beiden Mittel. Die Versuche werden aus Suspensionen angestellt — dabei ist ein Mitübertragen von Desinfiziens in den Nährboden unvermeidlich. Es wäre nun gerade ein besonderer Vorzug der Relativmethode, wenn sie diesen, häufig so lästig empfundenen Uebelstand, unschädlich machen könnte — das ist aber leider nicht der Fall, weil abtötende und entwicklungshemmende Wirkung keineswegs parallel zu gehen brauchen. Der Fehler durch die Entwicklungshemmung kann also beim Phenol eine ganz andere Bedeutung haben, als bei dem zu prüfenden Mittel und damit den Koeffizienten größer oder kleiner ausfallen lassen, als er nach der Desinfektionskraft des Mittels sein müßte.

Das schlimmste Bedenken aber ist die Abhängigkeit des Koeffizienten von der Konzentration der verglichenen Mittel. Der relative Wert zum Phenol würde nur dann bei allen Konzentrationen gleich sein, wenn die Wirkungskurven parallel verliefen, mit anderen Worten: wenn sich die Wirksamkeit beider Mittel gleichmäßig mit der Konzentration änderte. Nun hat aber gerade das Phenol eine sehr eigenartige Wirkungskurve — die Wirkung ist der 4. Potenz der Konzentration proportional — sie wird deshalb von der des geprüften Mittels in den meisten Fällen stark abweichen, und deshalb sind auch die gefundenen Karbolsäurekoeffizienten bei verschiedenen Konzentrationen meistens stark voneinander verschieden. Es ist nur ein schwacher Notbehelf, wenn man den Koeffizienten bei 2 Konzentrationen bestimmt und aus diesen Zahlen das Mittel nimmt — ein solcher Mittelwert kann natürlich über die wirklichen Verhältnisse gar keine Auskunft geben. Richtiger wäre es schon, wenn man beide Zahlen anführte — aber damit verzichtet man auch wieder auf die Einheitlichkeit des Ausdruckes.

Ferner ist der Koeffizient abhängig von der Art des Mediums, in dem die Prüfung stattfindet. Die Abtötungszeit wird bekanntlich stark verlängert durch Zusatz von Substanzen, die als Nährmittel dienen können — aber auch diese Wirkung ist bei den einzelnen Desinfektionsmitteln verschieden stark. Auch hier wird man dadurch Abhilfe schaffen müssen, daß man den Koeffizienten zweimal: in destilliertem Wasser und nach Zusatz eines Nährmediums bestimmt.

Auch die Aenderungen der Temperatur können in verschiedener Weise die Wirkung der beiden Mittel beeinflussen, so daß also der Koeffizient je nach der Versuchstemperatur verschieden ausfallen kann. Das würde, auch wenn man bei der Prüfung eine bestimmte Temperatur einhalten wollte, doch den praktischen Wert des Koeffizienten herabsetzen, da ja in der Praxis die Desinfektionsmittel bei sehr verschiedenen Temperaturen angewandt werden müssen.

Sehr beachtenswerte Vorschläge zur Verbesserung des relativen Prüfungsverfahrens sind in allerletzter Zeit durch Lockemann gemacht worden. Die Desinfektionsmittel werden nach ihrer chemischen Beschaffenheit in 8 Gruppen eingeteilt und als Vergleichsmittel wird immer ein gut charakterisierter Repräsentant der einzelnen Gruppe benutzt. Außerdem sollen die Vergleiche mit verschiedenen Testbakterien, verschiedener Zubereitung der Objekte, sowie mit verschiedenen Konzentrationen der



Lösungen angestellt werden. Durch ein übersichtliches Bezeichnungssystem läßt sich die benutzte Prüfungsart in jedem Falle einfach und eindeutig bezeichnen. Die Schwierigkeit bei der praktischen Anwendung wird aber wohl darin bestehen, daß es nicht leicht sein wird, von allen möglichen Kombinationen gerade die für den einzelnen Fall am besten passende herauszufinden, da eine Prüfung jedes Mittels mit allen Verfahren und Kombinationen allzu großen Aufwand an Zeit und Mühe erfordern würde.

Ich glaube aber doch, daß dies tatsächlich ein Weg ist, auf dem wir vorwärts kommen können, und daß die Lockemannschen Vorschläge einer gründlichen Prüfung wert sind.

In mathematisch eleganterer Form, aber im Prinzip ebenfalls dem Karbolsäurekoeffizienten sehr ähnlich, erscheinen die Vorschläge von Reichel. Reichel verlangt mit Recht, daß zur Charakterisierung eines Desinfektionsmittels seine gesamte Wirkungskurve, d. h. die Abhängigkeit zwischen Konzentration und Abtötungszeit festgelegt werde. Die Beziehung hat im allgemeinen die Form  $T \times C^n = K$ , d. h. das Produkt aus Zeit und einer gewissen Potenz der Konzentration ist konstant. Ist der Exponent  $n = 1$ , so bedeutet das einfach, daß die Abtötungszeit der Konzentration umgekehrt proportional ist — die Wirkungskurve wird dann eine gleichseitige Hyperbel. Ist  $n$  größer als 1, so nimmt die Abtötungszeit rascher zu als die Konzentration — ist  $n$  kleiner als die Einheit, so bleibt die Abtötungszeit hinter der Konzentration zurück. Sind die Werte für die Konstante und den Exponenten einmal bestimmt, so müßte sich für jede Konzentration die nötige Abtötungszeit und umgekehrt für jede gewünschte Abtötungszeit die nötige Konzentration berechnen lassen. In Wirklichkeit können aber diese Zahlen ebensowenig Anspruch auf absolute Gültigkeit machen, wie alle sonstigen Angaben über die Stärke von Desinfektionsmitteln — sie sind ebenfalls abhängig von der angewandten Methodik, der Bakterienart und der Resistenz der benutzten Stämme, sowie von der Ausgangsmenge.

Reichel macht deshalb auch selbst den Vorschlag, auf Grund der gefundenen Konstanten das zu prüfende Mittel mit einem gut bekannten Desinficiens in Vergleich zu setzen und er schlägt dazu den Formaldehyd wegen seiner sehr einfachen Wirkungskurve vor. Ein solcher Vergleich würde auch hier selbstverständlich nur für eine bestimmte Konzentration gelten — der Vorzug besteht aber darin, daß der Koeffizient durch einfache Rechnung für jede beliebige Konzentration bestimmt werden kann und daß sich so sein Verlauf durch die ganze Konzentrationsskala hindurch festlegen läßt. Damit hätte man natürlich eine sehr viel wertvollere Beurteilungsmöglichkeit, als wenn man, wie bei der amerikanischen Methode, den Koeffizienten nur bei zwei willkürlich festgesetzten Konzentrationen bestimmt und daraus das Mittel nimmt.

Auch die Reichelschen Vorschläge halte ich, trotz mancher theoretischer und praktischer Bedenken, für durchaus beachtenswert — ich glaube zwar nicht, daß sie die endgültige Lösung des Problems bedeuten, aber zweifellos werden auch sie bei allen weiteren Versuchen zur Aufindung einer Beurteilungsmethode mitberücksichtigt werden müssen.

Unabhängig von diesen Bestrebungen, einen einfachen zahlenmäßigen Ausdruck für die Wirkung eines Desinfektionsmittels aufzufinden, sind nun auch über die Prüfungs methodik selbst sehr lebhaft Meinungsverschiedenheiten hervorgetreten. Die Frage, ob das Aufschwemmungsverfahren oder die Anwendung von Keimträgern vorzuziehen sei, hat

gerade in letzter Zeit wieder lebhaft die Gemüter bewegt. Es ist ja besonders mein Herr Korreferent gewesen, der sehr warm für die Keimträgermethode eingetreten ist. In der Tat sind ja auch die Vorzüge der Methode unverkennbar. Ich habe schon vorhin darauf hingewiesen, daß es als ein großer Vorzug des Keimträgerverfahrens anzusehen sei, daß man mit der Aussaatmenge so hoch gehen kann, wie man es mit Rücksicht auf die Miterfassung hochresistenter Keime für nötig hält — ohne fürchten zu müssen, daß ungewollte Schutzwirkungen das Resultat beeinflussen. Es kommt hinzu, daß die Antrocknung der Testbakterien an Keimträger am besten den natürlichen Verhältnissen entspricht — in den meisten Fällen der praktischen Desinfektion durch chemische Mittel handelt es sich tatsächlich um Bakterien, die in trockenem Zustande an irgendwelchen Gegenständen haften. Ein weiterer großer Vorzug ist die Möglichkeit der Entfernung des Desinfektionsmittels vor der Aussaat, die in einfacher Weise durch Abspülen des Keimträgers oder auch, wenn es nötig ist, durch Behandeln mit chemischen Mitteln geschehen kann.

Als ein Nachteil ist zweifellos der Umstand anzusehen, daß durch das Trocknen die Testbakterien — wenigstens die vegetativen Formen — in einer nicht immer zu beherrschenden Weise geschädigt werden. Es werden dadurch die am wenigsten resistenten Individuen abgetötet — das würde keinen erheblichen Nachteil bedeuten — aber es werden auch zweifellos die Ueberlebenden in ihrer Widerstandsfähigkeit herabgesetzt, und diese Schädigung schreitet mit der Zeit der Aufbewahrung der Testobjekte fort. Man kann zwar durch Aufbewahrung bei sehr niedriger Temperatur den Prozeß sehr langsam gestalten, das läßt sich praktisch aber nur selten durchführen, und so kommt es in Wirklichkeit darauf hinaus, daß die Objekte sehr häufig neu hergestellt werden müssen, und daß es trotzdem schwer ist, sie von gleichmäßiger Resistenz zu bekommen. Für Sporen sind diese Bedenken nicht so schwerwiegend, weil sie durch das Trocknen viel weniger geschädigt werden.

Was nun die Suspensionsmethode anlangt, so hat auch sie ihre Vorzüge und ihre Nachteile. Ein sehr großer Vorzug ist die Möglichkeit, durch Zählung der Ueberlebenden den zeitlichen Verlauf des Abtötungsprozesses sicher verfolgen zu können: die Methode ist deshalb für alle Aufgaben, welche die Kenntnis des Absterbeverlaufes verlangen, unentbehrlich. Ein weiterer Vorteil ist, daß sich bei ihr viel leichter gleichförmige Bedingungen erzielen lassen, als bei der Verwendung von Keimträgern.

Als Nachteil sind zunächst die vorhin geschilderten Schwierigkeiten zu nennen, die sich bei Bemessung der Dichte der Aufschwemmung ergeben. Hinzufügen möchte ich, daß bei der Prüfung von starken, d. h. in geringer Konzentration wirksamen Mitteln, weitere sehr erhebliche Fehler dadurch entstehen können, daß der auf den einzelnen Keim zur Wirkung kommende Anteil des Mittels je nach der Dichte der Suspension verschieden sein kann.

Der bedenklichste Nachteil ist aber jedenfalls die Schwierigkeit, die entwicklungshemmende Wirkung des Mittels auszuschalten, und dieser Nachteil wird nicht mit Unrecht von den Gegnern der Methode als Hauptargument für ihre Verurteilung angeführt. Die Verhältnisse liegen hier aber doch komplizierter, als häufig angenommen wird, und das mag es rechtfertigen, wenn ich zum Schluß noch etwas näher auf diese Frage eingehe.

Man muß, wenn man über die Frage der Entwicklungshemmung ins klare kommen will, zwei Dinge streng voneinander trennen, die in der

Literatur nicht immer genügend auseinandergehalten werden. Einmal die Verschlechterung des Nährbodens durch das mitüberimpfte Desinfektionsmittel und zweitens die an das Bakterium selbst, sei es durch Adsorption, sei es durch Lösung oder durch chemische Vorgänge gebundenen Mengen des Desinficiens. Daß die Nichtbeseitigung des ersteren Anteils sowohl für theoretische, wie für praktische Versuche einen erheblichen Fehler bedeuten kann, ist selbstverständlich, und es ist sehr bedauerlich, daß die Beseitigung nur in so seltenen Fällen — wie z. B. beim Sublimat — vollkommen gelingt. Um den Fehler möglichst zu verringern, müßte man die Suspension dicht und die überimpfte Menge klein nehmen, aber das steht im Widerspruch mit der aus anderen Erwägungen vorher aufgestellten Forderung, gerade umgekehrt nicht zu dichte Aufschwemmungen bei großer Aussaatmenge zu verwenden. Man wird deshalb in jedem einzelnen Falle überlegen müssen, wie sich der Fehler am besten vermeiden läßt, und wird je nach Zweck und Ziel des Versuches entscheiden müssen, ob das Suspensionsverfahren trotz dieses Fehlers Anwendung finden kann.

Etwas anders liegt nun die Sache bei dem an den Keim selbst gebundenen Desinfektionsmittel. Auch dessen Beseitigung wäre für manche theoretische Untersuchungen unbedingt zu wünschen: wenn es sich aber darum handelt, die Grundlagen für praktisch anzuwendende Desinfektionsvorschriften zu schaffen, dann kommen doch noch andere Ueberlegungen in Frage. Wann können wir ein Bakterium praktisch als abgetötet ansehen? Die Antwort ist theoretisch sehr einfach: ein Bakterium ist ungefährlich, wenn es so weit geschwächt oder so stark mit Desinfektionsmittel beladen ist, daß es im Tierkörper nicht zum Wachstum kommt, und wenn zweitens unter natürlichen Verhältnissen keine Möglichkeit besteht, daß die Bindung mit dem Desinfektionsmittel rückgängig wird. Ob diese Bedingungen erfüllt sind, läßt sich mit voller Sicherheit natürlich nur durch den Tierversuch feststellen: wollen wir den Ausfall des gewöhnlichen Desinfektionsversuches zur Beurteilung benutzen, so muß zunächst die Vorfrage entschieden werden, ob die Kultur oder der Tierversuch das empfindlichere Mittel zum Nachweis der Lebensfähigkeit ist. Wenn sich herausstellen sollte, daß ein Bakterium, das unter den Kulturbedingungen, die wir ihm bieten, nicht mehr zu wachsen vermag, auch im Tierversuch sich als sicher unschädlich erweist, dann würde es eine unnütze Erschwerung der Anforderungen bedeuten, wenn man nun das Bakterium weiter vom Desinfektionsmittel befreien oder wenn man die Kulturbedingungen verbessern wollte. Das gilt besonders für den chemisch gebundenen Anteil des Desinfektionsmittels. Ob es z. B. gerechtfertigt ist, beim Sublimat die nachträgliche Behandlung der Bakterien mit Schwefelwasserstoff zu verlangen, um so auch das fest an die Zelle gebundene Desinfektionsmittel zu beseitigen, das kann nur durch Tierversuche entschieden werden. Ich weiß sehr wohl, daß das keine einfache Aufgabe ist — die Möglichkeit der Spaltung durch den Schwefelwasserstoff des Darmes muß berücksichtigt werden — aber ob es erlaubt ist, die Frage so sehr als *noli me tangere* zu behandeln, wie das bisher geschehen ist, scheint mir doch sehr zweifelhaft. Der an sich gewiß richtige Grundsatz, im Zweifelsfalle lieber zu viel als zu wenig zu verlangen, hat die Grenze seiner Berechtigung in wirtschaftlichen Erwägungen, und die sind heute leider sehr viel notwendiger als in früherer

Zeit. Jedenfalls wäre es sehr zu bedauern, wenn aus solchen zunächst doch etwas doktrinären Erwägungen heraus das Sublimat, das sich bislang in der Desinfektionspraxis tausendfach bewährt hat und das für manche Zwecke, z. B. für die hygienische Händedesinfektion, unentbehrlich ist, als minderwertiges Desinficiens hingestellt und allgemein durch Kresolpräparate ersetzt werden sollte.

Und ganz ähnliche Erwägungen gelten auch für die Anwendung der sogenannten optimalen Nährböden für die Nachkultur. Es soll gewiß nicht das Verdienst von Süpfle und seinen Schülern herabgesetzt werden, die uns diese Nährböden geschenkt haben, und es ist auch gern zuzugeben, daß wir erst durch die Verwendung dieser Nährböden zu richtigeren Vorstellungen über die Wirkung mancher Desinfektionsmittel gekommen sind. Wenn man aber daraus den Schluß ziehen wollte, daß nun alle unsere praktischen Desinfektionsmaßnahmen, die auf Grund früherer Versuche aufgebaut sind, als unzureichend anzusehen seien, so wäre das doch wohl, glaube ich, zu weit gegangen. Wir haben bei allen Desinfektionsmaßnahmen schon immer mit recht erheblichen Sicherheitsfaktoren gearbeitet, und ich glaube, daß die Sicherheitsfaktoren im allgemeinen auch noch unter den veränderten Verhältnissen genügen werden.

Ganz allgemein gesprochen, glaube ich, daß wir unsere zukünftige Aufgabe nicht nur darin sehen dürfen, immer raffiniertere Methoden zum Nachweis des Ueberlebens der Infektionserreger zu finden, sondern daß wir wohl oder übel auch einmal an die Beantwortung der Frage herangehen müssen, wieweit diese wenigen, stark in ihrer Lebensfähigkeit geschwächten Keime noch gefährlich sind. Die Beantwortung dieser Frage würde sowohl vom theoretischen, wie auch vom praktisch wirtschaftlichen Standpunkte ein sehr verdienstvolles Unternehmen sein.

### III. Referat: Neufeld (Berlin):

#### Desinfektionspraxis.

Die allgemeine theoretische Desinfektionslehre hat für Mediziner, Chemiker und Biologen von jeher ein außerordentliches Interesse geboten, und dieses Interesse hat sich in ungeahnter Weise gesteigert, seit wir wissen, daß eine echte Desinfektion in vivo, eine Abtötung nicht nur von Protozoen und Spirochäten, sondern auch von Bakterien im lebenden Körper erreichbar ist. Demgegenüber führt uns die Besprechung der Desinfektionspraxis auf ein Gebiet, das man in manchem Sinne als ein besonders undankbares bezeichnen darf. Was man theoretisch fordern möchte, nämlich eine schnelle und restlose Vernichtung aller nach außen gelangenden Krankheitskeime, davon läßt sich in der Praxis nur ein bescheidener Teil durchführen; kaum irgendwo tritt die triviale Wahrheit, daß alle praktische Tätigkeit auf Kompromissen beruht, so unerfreulich wie hier zutage.

Wie besonders die Ausführungen von Flügge, Kirchner, Heim, Lentz u. a. und die Erörterungen in den Jahren 1907 und 1913 in der Versammlung des deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege

gezeigt haben, herrschte schon lange allgemeine Uebereinstimmung darüber, daß die früheren Desinfektionsvorschriften gar zu viel veraltete, überflüssige und schikanöse Bestimmungen enthielten, daß sie erheblicher Verbesserungen und Vereinfachungen bedurften, und daß insbesondere die Schlußdesinfektion in der Praxis fast immer durch zu späte Ausführung entwertet wurde. Trotzdem wurde eine grundsätzliche Aenderung nicht getroffen, und so habe ich die ausgedehnten Ruhrepidemien des Jahres 1917 zum Anlaß genommen, zunächst für diese Krankheit eine neue Desinfektionsordnung zu entwerfen, und es ist mir, nicht ohne Widerstände, gelungen, den größten Teil meiner Vorschläge durchzusetzen. Es wurde vom Preuß. Ministerium eine Desinfektionsanweisung für Ruhr erlassen, die zunächst probeweise bis ein Jahr nach Beendigung des Krieges in Kraft bleiben sollte. Ich habe schon damals daran die Hoffnung geknüpft (Med. Klin. 1918. No. 33), daß die Neuordnung nicht nur dauernd bestehen bleiben, sondern daß ähnliche Regelungen auch für alle anderen Seuchen getroffen werden möchten. In der Tat sind dann vom preuß. Wohlfahrtsministerium auf Grund von Entwürfen, mit deren Ausarbeitung, nachdem man sich in einem größeren Kreis von Sachverständigen über einige Hauptgesichtspunkte geeinigt hatte, Flügge, Seligmann und ich betraut wurden, neue Desinfektionsordnungen auch für Typhus, Diphtherie, Genickstarre, Scharlach, Körnerkrankheit und Tuberkulose erlassen worden. Dieser Mitarbeit verdanke ich es wohl, daß mir das heutige Referat übertragen wurde; naturgemäß verfüge ich jedoch nicht über ausgedehnte Beobachtungen in der Praxis, ich hoffe, daß in dieser Hinsicht meine Ausführungen in der Diskussion Ergänzung finden werden.

Ich möchte nun zunächst die Grundgedanken dieser neuen Desinfektionsordnungen gegenüber den früheren darlegen, wobei ich von den letzteren naturgemäß in einseitiger Weise gerade die Punkte hervorheben werde, in denen sie mir unzumutbar und verbesserungsbedürftig erschienen. Ich betone aber ausdrücklich, daß die alten Anweisungen im allgemeinen wohldurchdacht waren, und daß vor allem das Gesetz von 1905, von dem sie einen Teil bilden, einen außerordentlichen Fortschritt gebracht hat.

Die alten Anweisungen entsprechen vor allem nicht der seit lange gesicherten Erkenntnis, daß im Mittelpunkt jeder Seuchenbekämpfung der kranke Mensch bzw. der Keimträger stehen muß, während leblose Gegenstände im Verhältnis dazu nur eine geringe Rolle als Ueberträger spielen, und zwar in der Regel auch nur dann, wenn sie nicht allzu lange vorher und wenn sie in grober Weise mit infektiösen Ausscheidungen verunreinigt sind. Weiterhin gingen aber die Vorschriften augenscheinlich von dem Bestreben aus, alle Gegenstände zu umfassen, durch die überhaupt jemals eine Uebertragung stattfinden konnte und ebenso alle Maßnahmen zur Unschädlichmachung. So steht denn in der Tat in der alten Anweisung fast alles darin, was man nur wünschen kann, vor allem z. B. auch, daß die dort angeführten Gegenstände nicht nur bei der Schlußdesinfektion berücksichtigt werden sollen, sondern daß die laufende Desinfektion ganz besonders wichtig ist, es steht auch ausdrücklich darin, daß diejenigen Gegenstände, die bereits laufend desinfiziert worden sind, bei der Schlußdesinfektion nicht nochmals desinfiziert werden sollen, es ist ferner gesagt, daß nicht immer alle dort genannten Dinge desinfiziert zu werden brauchen, sondern nur soweit anzunehmen sei, daß sie mit den Krankheitserregern behaftet wären. Nur war keine Vorsorge ge-

treffen, wer die laufende Desinfektion veranlassen und überwachen sollte, nur ist nicht gesagt, woran der Desinfektor erkennen soll, ob einer der genannten Gegenstände mit den Erregern behaftet ist und woher er wissen soll, welche Dinge bereits laufend desinfiziert worden sind. Natürlich hat der Desinfektor (in Berlin habe ich mich selbst davon überzeugt, anderswo war es gewiß nicht anders) immer sämtliche Gegenstände und sämtliche Räume der Wohnung desinfiziert. Das ist auch wohl unvermeidlich. In der alten Desinfektionsanweisung heißt es: desinfiziert werden sollen „infizierte oder der Infektion verdächtige Räume, namentlich solche, in denen sich Kranke aufgehalten oder Leichen gestanden haben“. Ich will nicht die Frage aufwerfen, weshalb ein Raum, in dem ein Sarg gestanden hat, desinfiziert werden soll, sondern nur darauf hinweisen, daß der Gesetzgeber, wie aus der genannten Vorschrift deutlich hervorgeht, daran gedacht hat, auch solche Räume der Desinfektion zu unterziehen, in denen sich der Kranke überhaupt nie aufgehalten hat. In der Praxis bleibt aber einem Desinfektor, der nicht schon während der Krankheit im Hause tätig gewesen ist, und der nicht ganz spezielle Anweisungen erhält, meist gar nichts anderes übrig, als eben schematisch die ganze Wohnung zu desinfizieren.

Auch in einer anderen Hinsicht sind die früheren Desinfektionsanweisungen allzu schematisch gefaßt, indem nämlich die meisten Vorschriften gleichzeitig für Typhus und Ruhr ebenso wie für Diphtherie und Genickstarre galten, also für Krankheiten, deren Uebertragungsart völlig verschieden ist.

Als Beispiele für überflüssige und schädliche Maßnahmen in den früheren Anweisungen für Typhus und Ruhr sei folgendes angeführt: Die Desinfektion von Büchern und Akten (wobei in erster Linie strömender Dampf genannt wird), Gardinen, Pelzwerk, der Samt- und Plüschmöbel, der Wände mindestens bis zu 2 m Höhe, der Türen und Fenster, der Kalkanstrich für getünchte Wände.

Dennoch haben auch die überflüssigsten Maßnahmen gelegentlich ihre Verteidiger gefunden. Bei einer Besprechung über meinen ersten Entwurf für die Ruhranweisung führte ich als Beispiel dafür die Desinfektion von Bilderrahmen an, fand damit aber nicht allgemeine Zustimmung.

Besonderen Widerspruch fand aber mein Vorschlag, grundsätzlich mit jeder Desinfektionsanweisung eine Belehrung über die spezielle Uebertragungsweise der betreffenden Krankheit zu verbinden, so daß derjenige, der die Desinfektion ausführt, bei jeder Maßnahme den Zweck erkennen kann. Das seien Dinge, hieß es, die mit der Desinfektion nichts zu tun hätten und nicht in eine Desinfektionsanweisung hinein gehörten.

Mir schien das aber gerade der Kernpunkt zu sein, wenn die laufende Desinfektion nicht nur wie bisher auf dem Papier als das Wichtigste anerkannt, sondern wirklich mit Verständnis durchgeführt werden sollte; ich ging von Anfang an von dem Gedanken aus, daß dabei die Mitwirkung der Angehörigen unerläßlich sei. Es ist dann in der Tat auch wirklich an der Spitze jeder Desinfektionsordnung eine gemeinverständliche und klare Belehrung gesetzt und gesagt worden, daß der Kranke und seine Angehörigen über die Uebertragungsweise zu belehren sind („eingehend und wiederholt zu belehren“, stand in meinem ersten Entwurf). Ich halte das auch jetzt noch für das Wichtigste; ich würde sogar, wenn ich vor die Wahl gestellt wäre, bei einem Typhus-

Ruhr- oder Cholerafall, der unter ungünstigen hygienischen Verhältnissen und bei unzulänglicher Isolierung in der Wohnung behandelt werden müßte, den Schutz der Angehörigen entweder nur durch Desinfektionsmaßnahmen oder nur durch Belehrung zu versuchen, das letztere vorziehen.

Die allzu schematische Handhabung der Desinfektion verführte dazu, sie auch bei Krankheiten anzuwenden, bei denen sie überhaupt keinen Sinn hat; so war früher bei Kindbettfieber eine Zimmerdesinfektion vorgesehen. Da kann man sich eigentlich nicht wundern, wenn übereifrige Kreisärzte, wie ich das mehrfach, zuletzt noch während des Krieges in Berlin erlebt habe, die ganze Wohnung eines Menschen desinfizieren ließen, der von einem tollwutverdächtigen Hunde gebissen worden war.

An sich möchte ich solche Auswüchse eines „furor desinfectorius“ nicht allzu tragisch nehmen. Alle überflüssigen Maßnahmen aber schaden weniger direkt durch die Kosten und Schädigungen, die sie verursachen, als durch andere Folgen: erstens lenken sie die Aufmerksamkeit von dem ab, was wirklich nötig ist und zweitens sind sie die Hauptursache für die vielbeklagte verspätete Ausführung der Schlußdesinfektion. Gar nicht selten fand diese erst 3 oder 4 Wochen nach Ablauf der Krankheit statt; in Berlin ging es besonders schnell, aber auch hier vergingen, wenn der Kranke gestorben war, oder ins Krankenhaus gebracht worden war, so weit ich feststellen konnte, in der Regel etwa 8 Tage bis zur Schlußdesinfektion. Leib- und Bettwäsche, die etwa noch lebende Erreger enthalten könnte, ist dann längst in der Wäsche, überhaupt findet der Desinfektor natürlich nur die Gegenstände vor, die man ihm freiwillig überläßt. Was hat eine an sich richtige Maßnahme, wie die Desinfektion des Aborts, für einen Zweck, wenn derselbe inzwischen schon 8 Tage lang von der ganzen Familie, oft auch von anderen Hausgenossen, benutzt worden ist?

Es bedarf keiner weiteren Ausführung, daß hier die Grenze, wo „die Vernunft zum Unsinn und die Wohltat zur Plage wird“, längst überschritten ist, und man wird Flügel beistimmen müssen, wenn er sagt, daß es gerade die verspätete Ausführung ist, wodurch die Schlußdesinfektion oft zu einer „unwürdigen Komödie“ wurde.

Diese Mißstände sind schon unendlich oft drastisch geschildert worden und wenn sie nicht längst abgestellt wurden, so liegt das wohl daran, daß dazu nicht nur eine Aenderung der Desinfektionsvorschriften, sondern vor allem eine andere Organisation der Seuchenbekämpfung nötig ist. Damit kommen wir eigentlich erst zu dem Kernpunkte des Ganzen. Wenn ich vorhin meine Mitarbeit bei der Neuordnung erwähnte, so muß ich das jetzt dahin ergänzen, daß auf diesem Gebiete noch viel mehr als sonst Anregungen und Vorschläge leicht zu geben sind, und daß die Schwierigkeit erst bei der Ausführung beginnt. Das eigentliche Verdienst bei der ganzen Neuordnung müssen wir daher unserer Preuß. Medizinalverwaltung, vor allem ihrem Fachreferenten Lentz zuschreiben, die den Mut hatten, eine Neuordnung, die sowohl die Aerzte und das ärztliche Hilfspersonal wie auch die Gemeinden vor ganz neue Aufgaben stellt, in dieser schweren Zeit einzuleiten und trotz vieler Widerstände zäh und beharrlich durchzuführen. Die laufende Desinfektion muß, so weit nicht dauernd eine sachverständige Berufspflegerin da ist, von einer darin ausgebildeten Gemeindeschwester oder einem Desinfektor eingeleitet und in ihrer weiteren Durchführung durch Besuche etwa alle 2—3 Tage überwacht werden. Die Durchführung selbst wird — und auch das ist

wohl ein Novum — dann meist in den Händen der Familienmitglieder liegen.

Dabei sollen außer den infektiösen Entleerungen des Kranken die Leib- und Bettwäsche sogleich beim Wäschewechsel desinfiziert werden, bei den Darmkrankheiten der Abort nach jeder Benutzung durch den Kranken, ferner Fußböden, Bettvorleger u. dgl, aber nur da, wo sie sichtlich mit Ausscheidungen verunreinigt sind und zwar wiederum sofort nach der Verunreinigung. Bei Ruhr ist, mit Rücksicht auf Heymanns Befunde über die Möglichkeit einer Verstreuung angetrockneter Fäzesteile, eine einmalige tägliche Desinfektion des ganzen Fußbodens vorgesehen.

In einem Punkte gehen die neuen Vorschriften über die früheren hinaus, nämlich bezüglich der Desinfektion der Hände. Auf die große Rolle der infizierten Hand bei der Krankheitsübertragung wird an der Spitze aller Anweisungen hingewiesen. In den alten Anweisungen war in etwas eigentümlicher Stilisierung nur nebenher von „den Händen und sonstigen Körperteilen“ die Rede und in den allgemeinen Vorbemerkungen hieß es, die Pflegeperson sollte „ihren Körper regelmäßig desinfizieren“. Es ist nicht leicht zu sagen, was man sich darunter vorgestellt haben mag.

Nun zur Schlußdesinfektion! Bei der ersten Ruhranweisung hatte ich geglaubt, auf eine solche ganz verzichten zu sollen, sobald durch Zeugnis des Arztes, des Desinfektors oder der Schwester die vorschriftsmäßige Durchführung der laufenden Desinfektion nachgewiesen sei; die Schlußdesinfektion sollte damit gewissermaßen nur als Drohung oder als Strafe für die Versäumnisse während der Krankheit bestehen bleiben. Dieser Standpunkt hat vielfach Widerspruch gefunden: die Kontrolle über die laufende Desinfektion sei schwer durchzuführen, bei der Schlußdesinfektion seien manche Gegenstände heranzuziehen, die von der fortlaufenden Desinfektion nicht betroffen würden, vor allem erfordere der Moment, wo die Absonderung aufgehoben und der Genesene wieder mit anderen in Verkehr tritt und zugleich das Krankenzimmer ohne Einschränkung von anderen wieder betreten wird, besondere Maßnahmen. Besonders Flügge ist noch neuerdings (Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1921. S. 373) nachdrücklich dafür eingetreten, in jedem Falle eine Schlußdesinfektion vorzunehmen. So ist denn eine Schlußdesinfektion in allen Anweisungen wieder vorgesehen, doch stellt sie in der Regel nichts anderes dar, als eine etwas erweiterte Ausführung der vorher geübten laufenden Desinfektion, wobei weder Dampf noch Formaldehyd benutzt wird; demgemäß — und das ist das Entscheidende — wird sie in der Regel von denselben Personen durchgeführt, die bereits die laufende Desinfektion besorgt oder überwacht haben. So wird sie ganz von selbst rechtzeitig ohne Verzögerung ausgeführt.

Daneben ist aber — und daran wird man meines Erachtens festhalten müssen — die Möglichkeit einer verschärften Desinfektion vorgesehen, bei der das ganze Krankenzimmer desinfiziert werden soll, erforderlichenfalls unter Zuhilfenahme der Dampf-, und bei Diphtherie, Scharlach, Meningitis auch der Formaldehyddesinfektion. Das soll vom Arzt oder Kreisarzt da angeordnet werden, wo die Gefahr einer Weiterverbreitung der Krankheit besonders groß ist, wie in überfüllten und besonders unsauberen Wohnungen, in Lebensmittelbetrieben, in Pensionaten. Diese verschärfte Desinfektion sollte aber meines Erachtens eine Ausnahme sein.



Bei der Schlußdesinfektion steht in allen Anweisungen wieder die Bemerkung, daß sie sich auf alle Gegenstände zu erstrecken habe, die mutmaßlich mit Absonderungen des Kranken verunreinigt sind; solche unbestimmten Angaben scheinen mir nicht glücklich zu sein. Auch sonst mag vielleicht noch die eine oder andere Einzelvorschrift überflüssig sein. Im ganzen aber — und das geht auch aus fast allen Besprechungen hervor — wird man nicht verkennen dürfen, daß die Neuordnung einen wesentlichen Fortschritt gegen früher bedeutet, daß sie mit vielen überflüssigen, veralteten Vorschriften aufräumt, und daß sie im wesentlichen das wirklich Notwendige in einer Form anordnet, daß es in den meisten Fällen auch tatsächlich und vor allem rechtzeitig durchgeführt werden kann.

Was nun die Desinfektionsmittel und ihre Anwendung bei den einzelnen zu desinfizierenden Objekten betrifft, so ist bei der laufenden und bei der einfachen (nicht verschärften) Schlußdesinfektion, abgesehen von dem Kochen der Wäsche und der Desinfektion von Stuhlgang und Harn mit Kalkmilch, hauptsächlich Sublimatlösung 1 : 1000 vorgesehen, vor allem für die Fußböden, den Abort, verunreinigte Stellen an der Wand, der Bettstelle usw. Hierdurch wird den berechtigten Klagen über den oft wochenlang haftenden Kresolgeruch nach der Zimmerdesinfektion abgeholfen. Für Bett- und Leibwäsche, waschbare Kleidungsstücke ist neben dem Auskochen Einlegen in Sublimat- oder Kresolseifenlösung vorgesehen; für Metallteile von Abort, Badewannen und auch für Messer und Gabeln, die das Auskochen nicht vertragen, nur Kresollösung. Letzteres erscheint nicht besonders appetitlich, und man sollte meinen, daß es selbst bei Diphtherie und Meningitis genügen würde, diese Geräte, bevor sie zum ersten Male wieder von anderen Personen benutzt werden, mit heißem Wasser oder Sodalösung (wie es in der ersten Fassung der Ruhranweisung vorgesehen war), gründlich zu reinigen; bei allen anderen Krankheiten, besonders auch Typhus und Ruhr, ist ja eine Infektion auf diesem Wege überhaupt äußerst unwahrscheinlich und besondere Vorschriften im Grunde überflüssig.

Niemand, der sich mit Desinfektionsversuchen beschäftigt hat, wird Sublimat und Kresolseife als ideale Mittel ansehen; ja man kann leider nicht einmal behaupten, daß sie für die angegebenen Zwecke zuverlässig wirksam sind. Mit vollem Recht betont Hailer (in seiner demnächst erscheinenden Monographie über Desinfektion, die ich in den Korrekturbogen benutzen durfte), daß über die Wirkung der Mittel unter praktischen Verhältnissen in sehr verschiedenem Milieu, wobei oft der größte Teil des Mittels durch Umsetzungen und Adsorption sogleich unwirksam wird, bei Temperaturen, die oft sehr viel tiefer als in den Laboratoriumsversuchen liegen usw., eigentlich noch sehr wenig bekannt ist und daß es eine dringende Aufgabe der weiteren Forschung wäre, nach besseren, wirksameren und von unerwünschten Nebenwirkungen freien Desinfektionsmitteln zu suchen, damit in dieser Hinsicht seit langer Zeit endlich einmal wieder ein wesentlicher Fortschritt erzielt würde. Auch die für die einzelnen Mittel jetzt vorgeschriebenen Konzentrationen sind meines Erachtens im Grunde recht willkürlich.

Von der Kalkmilch wissen wir, daß sie weder bei der Desinfektion im Steckbecken noch in der Grube mit Sicherheit alle Typhuskeime abtötet, gewiß schon nicht, wenn die Mischung — wie meist in der Praxis — nicht gründlich verrührt wird.

Das früher als stärkstes Mittel geltende Sublimat hat, wie bekannt, seit Gepperts und Ottolenghis Untersuchungen viel von seinem Kredit eingebüßt, und in neuester Zeit ist Süpfle zu noch weit ungünstigeren Ergebnissen gekommen. Es bewirkt bekanntlich in den gebräuchlichen Konzentrationen und Zeiten überhaupt keine vollständige Abtötung, sondern meistens nur Entwicklungshemmung und wenn wir Kresole und Phenole ebensogut neutralisieren könnten, wie Quecksilbersalze, so würde das Ergebnis bei diesen Mitteln wohl ähnlich sein. Man darf aber nicht übersehen, daß auch nach vollständiger Neutralisation nicht alle der Sublimatlösung ausgesetzten Keime wieder zum Vorschein kommen, sondern immer nur ein Bruchteil.

Es ist nun die Frage, was man für die Praxis aus solchen Laboratoriumsergebnissen schließen soll. Für einen Sonderfall, nämlich für die Desinfektion infizierter Wunden, haben die von Reinhardt und Schiemann und seinen Mitarbeitern ausgeführten Versuche neuerdings den direkten Beweis erbracht, daß die Verhältnisse in der Praxis zum mindesten nicht immer so ungünstig zu liegen brauchen, wie in den genannten Vitro-Versuchen: durch einmalige kurze Spülung der Wunden mit Sublimat 1:500—1:1000 — also eine Behandlung, die ganz wirkungslos sein müßte, wenn Süpfles theoretische Versuche einen Rückschluß auf die Praxis gestatten würden — kann man einen sehr großen Teil der Versuchstiere vor einer Streptokokken-Wundinfektion schützen, die bei Kontrolltieren ohne Ausnahme tödlich verläuft. Hier wird also im lebenden Organismus das Sublimat zum mindesten nicht so weit neutralisiert, daß seine Wirkung aufgehoben würde. Dabei kommt das Mittel hier erst im lebenden Gewebe in Gegenwart von Serum und Blut mit den Erregern in Berührung, also unter Bedingungen, die die Desinfektionswirkung aufs äußerste erschweren und umgekehrt die Neutralisation begünstigen. Man sollte meinen, daß die Verhältnisse weit günstiger liegen, wenn das Sublimat zunächst eine Zeitlang auf die keimhaltigen Substrate einwirkt, bevor sie in einen Organismus gelangen. Direkte Beobachtungen, inwieweit der lebende Körper in anderen Fällen als „optimaler Nährboden“ und als Neutralisator für mit Sublimat behandelte Krankheitserreger wirkt, liegen allerdings nicht vor. Ich möchte mich aber der Meinung anschließen, daß eine Neutralisation von Sublimat durch eiweißhaltige Stoffe, wie Serum und Milch, oder durch Schwefelwasserstoff zwar gelegentlich unter den Bedingungen des täglichen Lebens vorkommen kann, daß das aber seltene Ausnahmefälle sein werden und daß wir in der Regel damit rechnen dürfen, daß die Entwicklungshemmung schließlich zum Absterben der Keime führt. Das gilt besonders für die hygienische Händedesinfektion; hier ist Sublimat zweifellos das weitaus beste Mittel, vor allem hat es auch den unschätzbaren Vorteil der stundenlangen Nachwirkung durch das in der Haut gespeicherte Quecksilber.

Besondere Schwierigkeiten ergeben sich bekanntlich bei Tuberkulose; hier galt bis vor kurzem die von Flügge eingeführte 5-proz. Sublimatlösung als das relativ beste Desinficiens; sie ist auch in der neuen Anweisung nicht nur für Taschentücher (neben Auskochen), Bettüberzüge, Betten, Matratzen, verunreinigte Stellen an Kleidern, Fußböden, Wänden, sondern auch zur Desinfektion des Auswurfs vorgesehen. Dabei wissen wir, daß sie in etwas dickere Sputumballen nicht einzudringen vermag.

Nun haben wir bekanntlich seit Erlaß der Desinfektionsanweisungen in einem Punkte, nämlich bei der Sputumdesinfektion wesentliche Fort-

schritte gemacht; Uhlenhuth, Jötten und Hailer fanden in Kresolpräparaten mit bestimmtem Alkalizusatz (Alkalilysol, Parmetol) Mittel, die in der Tat in das Innere von Sputumballen einzudringen und innerhalb einiger Stunden die Tuberkelbazillen darin mit ausreichender Sicherheit abzutöten vermögen. Gewiß ist die Lösung dieser langen vergeblich bearbeiteten Aufgabe als ein wesentlicher Erfolg zu begrüßen.

Ich möchte aber bemerken, daß ich selbst gerade bei Tuberkulose für wesentliche Erleichterung der Vorschriften eingetreten bin, insbesondere dafür, außerhalb der Krankenanstalten überhaupt keine Desinfektion des Auswurfs, sondern nur eine nach Möglichkeit durch den Kranken selbst vorzunehmende Reinigung oder Desinfektion der Spuckgläser vorzuschreiben, ferner die Benutzung von Spuckfläschchen nur für geschlossene Räume, also nicht auf der Straße und im Freien zu fordern; ebenso halte ich die laufende Desinfektion der Hände und der beschmutzten Kleider des Kranken mit Sublimat für kaum durchführbar, und die Desinfektion von Büchern und Gegenständen, die der Kranke mit schmutzigen Fingern berührt hat, für ebenso überflüssig wie die Desinfektion von Stuhl bzw. Urin bei Darm- und Nierentuberkulose. Verzichtet man auf diese Dinge, so kann auch die nicht unbedenkliche Vorschrift wegbleiben, wonach im Krankenzimmer dauernd eine Schüssel mit 5-proz. Sublimatlösung stehen soll. Gerade bei einer so chronischen und gleichzeitig allverbreiteten Krankheit sollte man meines Erachtens alle Maßnahmen auf das Allernotwendigste beschränken.

Ich stehe auch auf dem Standpunkt, daß die Desinfektion bzw. Reinigung der Spuckgefäße, insbesondere der Ränder, praktisch viel wichtiger ist, als die Abtötung der Bazillen im entleerten Sputum. Ob dieselben in eine städtische Kloake und auf Rieselfelder oder auf einen ländlichen Misthaufen gelangen, wo sie übrigens der Belichtung, dem Wechsel zwischen Feuchtigkeit und Trockenheit und anderen Einflüssen doch bald erliegen, — in keinem Falle dürften sie eine nennenswerte praktische Gefahr bedeuten. Ganz dasselbe gilt für Auswurf, Erbrochenes und Gurgelwasser, deren Desinfektion bei Diphtherie und Genickstarre vorgeschrieben ist; auch hier wird uns das Gefäß mehr interessieren, als der Inhalt.

Etwas anders liegt die Sache bei Stuhl und Urin von Typhus- und Ruhrkranken. Bei Ruhrstühlen besonders ist in vielen Fällen schon mit Rücksicht auf die Fliegengefahr eine sofortige Stuhldesinfektion geboten. Im übrigen wird in Orten mit modernen Einrichtungen zur Fäkalienbeseitigung die Abtötung der Erreger im Stuhl und Harn ziemlich gleichgültig sein, notwendig dagegen meist in kleinstädtischen oder ländlichen Verhältnissen, wo der Grubenhalt, nachdem er inzwischen mit manchen Händen in Berührung gekommen ist, schließlich zur Düngung von Gemüsebeeten verwendet wird, auf denen dann die besten Radieschen und Salatblätter gedeihen. Als ideal wird man allerdings auch in diesem Fall unsere Desinfektionsverfahren leider schon deshalb nicht ansehen können, weil der Typhus- und noch mehr der Ruhrkranke natürlich in den meisten Fällen auch die Ränder des Nachtgeschirrs und Steckbeckens beschmutzt, wo die Kalkmilch gar nicht hinkommt; die an sich schon wenig erfreuliche Vorschrift, die Gefäße zur Desinfektion mindestens 2 Std. stehen zu lassen, ist also insofern auch nicht ganz unbedenklich.

So stoßen wir auf Schritt und Tritt auf recht bedenkliche Unvollkommenheiten in allen unseren Maßnahmen. Da ergibt sich ganz von

selbst die Frage, ob es denn für unsere Zwecke überhaupt auf eine vollständige Abtötung aller Erreger so viel ankommt, oder ob es nicht in den meisten Fällen genügen wird, wenn der größte Teil, besonders der oberflächlich gelegenen Keime, zugrunde gegangen ist. Praktische Beobachtungen und theoretische Erwägungen scheinen in der Tat in diesem Sinne zu sprechen. Ein wichtiges Beispiel sei hier genannt. Die meisten derjenigen Uebertragungen, die wir überhaupt durch Desinfektion bekämpfen können, wird durch menschliche Hände vermittelt. Nun haben aber Ostermann, sowie Schiemann und Landau gezeigt, daß durch Berührung einer infizierten mit einer reinen Hand auf diese letztere von mehreren Tausend Keimen durchschnittlich nur einer übergeht, und die letztgenannten Untersucher wiesen außerdem auf die große Bedeutung der sog. „Selbstreinigung“ der Hand hin; an infizierten Fingern sterben nämlich in ganz kurzer Zeit Hunderte und Tausende von Coli-Keimen von selbst ab. Schiemann und Landau zeigten ferner, daß künstlich mit Coli-Bazillen infizierte Hände durch kein einziges Desinfektionsverfahren mit völliger Sicherheit keimfrei zu machen sind, daß aber im Vergleich selbst mit dem schlechtesten Desinficiens die Wirkung von Seife und Bürste äußerst mangelhaft ist. Für jeden, der solche Versuche zum ersten Male macht, ist es gewiß überraschend, zu sehen, daß Bazillen, die unmittelbar vorher in einem kleinen Flüssigkeitströpfchen auf die Fingerkuppen gebracht werden, durch energisches Waschen und Bürsten mit Seife und Nachspülen der Hände in reinem Wasser so gut wie niemals sich vollständig entfernen lassen, daß vielmehr von der frischgewaschenen, anscheinend völlig sauberen Hand meist Hunderte, oft Tausende von Keimen in flüssigen Agar übergehen. Trotzdem wird man — das lehren allein schon die Beobachtungen an Typhusbazillenträgern — den genannten Autoren recht geben; wenn sie sagen, daß „einfaches Händewaschen und Gebrauch von Klosettpapier gewiß bisher mehr Ansteckungen verhütet haben und auch in Zukunft verhütet werden, als alle Desinfizientien“. Experimentelle Ergebnisse im Verein mit den praktischen Beobachtungen führen uns eben immer wieder zu dem Schluß, daß die Uebertragung der hier in Frage kommenden Krankheiten in den allermeisten Fällen durch grobe Unsauberkeiten zustande kommt und durch sehr einfache, theoretisch als ganz unzulänglich anzusehende Maßnahmen verhütet werden kann.

Hält man sich nun weiter die große Gefährdung durch Bazillenträger und durch Frühkontakte vor Augen — Gefahren, denen wir in der Regel überhaupt nicht durch Desinfektion begegnen können — so wird man wohl zu der Ueberzeugung kommen, daß es sich nicht rechtfertigen läßt, bei allen Desinfektionsmaßnahmen etwa so strenge Anforderungen zu stellen, wie z. B. bei der Desinfektion von Trinkwasser. Hier müssen wir verlangen, daß das Wasser nach der Desinfektion in einem ganzen Liter in der Tat keinen lebenden Typhusbazillus mehr enthält. Wollten wir bei allen unseren Desinfektionsmaßnahmen dieselben Ansprüche stellen, so hieße das wirklich Mücken seihen, wo wir doch Kamele schlucken müssen. Für die meisten Fälle wird man in der Praxis nach meiner Ueberzeugung weiter kommen, wenn man nach dem umgekehrten Prinzip verfährt, nämlich nach dem Motto: ein Bazillus ist kein Bazillus.

Ueberhaupt dürfen wir niemals aus dem Auge verlieren, daß ja die ganze Desinfektion nur einen Teil, und zwar nur einen recht bescheidenen Teil der allgemeinen Seuchenbekämpfung darstellt. Meines Erachtens

wird die Entwicklung der Zukunft auch weiterhin dahin gehen, andere Maßnahmen mehr und mehr in den Vordergrund zu stellen, die die Verhütung von Infektionen auch da ermöglichen, wo jede Desinfektion versagt. Um bei der Ansteckung durch Fäkalien zu bleiben, so geht man bei unseren jetzigen Maßnahmen, um es etwas drastisch auszudrücken, vielfach offenbar von der Vorstellung aus, als sei es unbedingt nötig, die Ausleerungen eines Typhuskranken so zu desinfizieren, daß jedermann ohne Gefahr die größten Mengen davon herunterschlucken darf. Ist das aber nicht ein etwas einseitiger Standpunkt? Sollten wir nicht vor allem versuchen, es dahin zu bringen, daß uns die Köchin ihren Stuhl und Urin auch dann nicht in den Salat hineinbringt, wenn sie zufällig nicht Bazillenträgerin ist, ebenso die Melkerin nicht in die Milch, daß Gemüse, die roh verzehrt werden, überhaupt nicht mit menschlichen Fäkalien gedüngt werden, daß die Leute auch in den kleinsten Dörfern allmählich lernen, daß sie sich die Hände waschen müssen, wenn sie mit Mist hantiert haben? Das alles ist gewiß schwierig und nur allmählich durch zähe und beharrliche Arbeit zu erreichen, aber es ist nicht unmöglich, und es würde dies die einfachste, wirksamste und billigste Art der Seuchenbekämpfung sein, zugleich auch die einzige, die uns für die dringendste Aufgabe der Zukunft zu Gebote steht, nämlich die Bekämpfung der durch Hustentröpfchen vermittelten Ansteckungen. Mit vollem Recht hat kürzlich Flügge (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 34. S. 212) betont, daß auch bei diesen Krankheiten, obwohl hier natürlich eine Prophylaxe weitaus am schwierigsten ist, vorbeugende Maßnahmen gar nicht so aussichtslos sind, wie es oft dargestellt wird; daß es sich auch hier, um zunächst die größten Quellen der Ansteckung zu verstopfen, im Grunde um die einfachsten Reinlichkeits- und Anstandsregeln handelt. Diese ganze Art der Prophylaxe ist also vorwiegend eine Sache der Aufklärung und Belehrung, sie gehört nicht zu meinem Thema, aber ich habe geglaubt, darauf wenigstens kurz hinweisen zu sollen, weil es gerade in einem Kreise von Hygienikern geboten erschien, die Desinfektion nicht nur für sich, sondern im Zusammenhange mit der ganzen Seuchenbekämpfung als einen Teil derselben zu besprechen. Die meisten Fehlgriffe auf unserem Gebiet sind meiner Ansicht nach dadurch entstanden, daß man diesen Zusammenhang aus den Augen verloren hat.

#### IV. Referat. Nöller (Berlin):

##### Die Bekämpfung der hygienisch wichtigen tierischen Schädlinge.

Der Begriff des Schädlinges ist von der ursprünglichen Wortbedeutung: „jeder Organismus, der schadet“ immer mehr eingeeengt worden auf das Gebiet der tierischen Schädlinge und hat auch hier noch Einschränkungen erfahren, indem die mikroskopisch kleinen als Krankheitserreger wichtigen Tiere (Urtiere als Mikroparasiten) und die nur im Inneren des Körpers lebenden entoparasitischen, schädigenden Würmer und Arthropoden bei der Schädlingsbekämpfung meist nicht berücksichtigt werden. Die Bekämpfung der hygienisch wichtigen Schädlinge erstreckt sich vielmehr nur auf Tiere, die entweder mit dem Körper des

Menschen und der Tiere gar nicht in Berührung kommen, sondern nur in seiner Umgebung leben und als Seuchen- oder Parasitenwirte oder -zwischenräger gefährlich werden können (Ratten, Stubenfliegen). Oder aber die Schädlinge sind mehr oder minder auf ein inniges, zeitweises oder ständiges Leben auf dem Körper des Menschen oder der Haustiere angewiesen und beziehen also als temporäre oder stationäre Ektoparasiten ihre Nahrung auf Mensch und Haustier.

Die 1. Gruppe der nichtparasitischen in der Umgebung des Menschen und der Tiere vorkommenden Schädlinge umfaßt vorwiegend Säugetiere (Mäuse, Ratten, Tarbagane [wichtig besonders für Pestgegenden], ausnahmsweise auch Füchse und Fledermäuse [in Tollwutgegenden]), und besonders von den Insekten die Stubenfliege und ihre nächsten Verwandten sowie die übrigen im Kote ihre Entwicklung durchmachenden oder kotfressenden Fliegen in Gegenden mit bazillären oder protozoären Darmkrankheiten. Auch alle auf Wunden Wundsekret aufnehmenden Fliegenarten können hierher gerechnet werden.

Die Gruppe der vorübergehend schmarotzenden (temporären) oder der ständigen (stationären) Ektoparasiten umfaßt Gliedertiere (Zecken, Milben, Insekten) in zahlreichen mehr oder minder eng an den Körper des Menschen und der Haustiere angepaßten Gruppen. Vom bloßen temporären Blutsaugen in einzelnen Entwicklungsstufen bis zur regelmäßigen Blutmahrung in allen Entwicklungsstufen, die auf dem Körper bleiben, führt der Weg zu ständig auf dem Körper mit lymphesaugenden oder beißenden Mundwerkzeugen ihre Nahrung suchenden Gruppen. Dann kommen wir zu Gruppen, bei denen Larvenstadien bereits in Wunden (Myiasis) oder unter die unverletzte Haut oder weiter in den Körper hineinwandern, so daß wir bei ihnen den Uebergang zum Entoparasiten vor uns haben (Dasselfliegen, Rachen-, Magen- und Darmbremsen).

An die hygienisch wichtigen Schädlinge sind die Haus- und Speicherschädlinge als nächstliegende Schädlingsgruppen anzuschließen. Da ihnen aber meist (abgesehen von Mäusen, Ratten und Stubenfliegen) jede hygienische Bedeutung fehlt, muß für sie auf die einschlägigen Werke hingewiesen werden. (Vgl. besonders die Arbeiten und Berichte von Zacher in den Mitteilungen der biologischen Reichsanstalt und an a. O.)

Die tierischen Schädlinge unserer Nutzpflanzen haben ihrer gewaltigen wirtschaftlichen Bedeutung entsprechend in ihrer Bekämpfung früher als die hygienisch wichtigen Schädlinge eine gründliche systematische Durcharbeitung erfahren. Für jeden, der sich mit der Schädlingsbekämpfung auf hygienischem Gebiete befassen will, sind die dort erzielten allgemeinen Erfahrungen und die Kenntnisse über die Anwendung besonders der chemischen Mittel gar nicht zu entbehren, und z. B. die Werke und Arbeiten von Bourcart 1910, Escherich 1913, Hollrung 1898 und 1914, Reh 1917 und Schwartz 1913, die wichtigsten Veröffentlichungen und Flugblätter (Nr. 46 u. a.) der Biolog. Reichsanstalt und die Pflanzenschädlings- oder Speicherschädlingsliteratur landwirtschaftlicher und entomologischer Zeitschriften (insbesondere der Zeitschrift für angewandte Entomologie) sollten allen denen bekannt sein, die den hygienisch wichtigen Schädlingen zu Leibe gehen wollen.

Daß gelegentlich in populären Anleitungen (Kockerols 1912, Andresen 1912), in systematischen Behandlungen schädlicher Gliedertiere (Eysell 1913) oder in Fabrikantenzeitungen (Löflfl 1913) und chemisch-technischen Handbüchern (Blücher 1918 ff.), auch in Handbüchern der Desinfektion (Graßberger 1913) und der Toxikologie und Hygiene

(Kobert 1906 und Lehmann 1919 in Rubner, Gruber und Ficker) sich wertvolle Angaben für unser Gebiet finden, sei erwähnt, aber mit dem Bemerkten, daß die Ausbeute für den Schädlingsbekämpfer da häufig recht mager bleibt.

Ehe wir zur Bekämpfung der uns hier fesselnden Schädlingsgruppen übergehen, müssen wir uns einige allgemeine Grundzüge und Arten der Schädlingsbekämpfung vor Augen halten.

Den Feind, den man bekämpfen will, muß man genau kennen. Dieser Satz bildet für unser Gebiet die wichtigste Wahrheit. Nach einem gerade bei uns (wegen der im Frieden meist geringen Bedeutung der Schädlinge) recht lange anhaltenden Zeiträume vollständiger Gleichgültigkeit gegenüber der Lehre von den Schädlingen ist unter dem Einflusse des Krieges mit Läuseplage, Flecktyphus und Malaria beim Menschen und einer Räudeausbreitung ohnegleichen beim Pferde die Bedeutung der hygienisch wichtigen Schädlinge über die schon im Frieden geschulten, der Tropenhygiene nahestehenden Kreise hinaus der breiten Oeffentlichkeit vor Augen geführt worden. Viel wertvolle Arbeit ist in den Kriegsjahren und seither geleistet worden, aber noch viel größer wären die Erfolge gewesen, wenn die Kenntnisse der Lebensweise unserer Schädlinge größere gewesen wären. Denn es läßt sich der in Schule und Hochschule vernachlässigte Unterricht eines solchen Gebietes durch Flugblätter und Feldaufklärung deshalb nicht ganz erfolgreich nachholen, weil die Grundlagen zu sehr fehlen. Die Lehren des Krieges sollten eine Warnung bilden, daß die jetzt aufgeblühte Kenntnis von den Schädlingen nicht so schnell wieder vernachlässigt wird, wenn ruhige Zeiten bleiben, daß vielmehr durch Forschung und Lehre dazu beigetragen wird, daß die Kenntnisse erhalten, vertieft und verbreitet werden.

Die jeweils angewandte Art der Bekämpfung muß sich also ganz nach den Lebensgewohnheiten der einzelnen Schädlinge richten. Da deren Gruppen, wie schon angedeutet, die größten Abweichungen in ihrer Lebensweise voneinander zeigen, werden also auch die Methoden der Bekämpfung sehr wechseln müssen. Daß man dann, wenn im Lebenslaufe eines Schädlinges begründet mehrere Arten der Bekämpfung möglich sind, die wirksamsten und bequemsten und technisch am leichtesten durchzuführenden bevorzugen wird, bedarf keiner besonderen weiteren Auseinandersetzung.

Die zweifellos bequemste Art der Bekämpfung ist die Bekämpfung einer Schädlingsart durch ihre natürlichen Feinde oder Parasiten und Krankheitserreger (sog. biologische Bekämpfung). So wertvolle Ergebnisse diese Methode in Einzelfällen bei der Pflanzenschädlingsbekämpfung gelegentlich geliefert hat, so spärlich sind durchschlagende Erfolge bei der Bekämpfung hygienisch wichtiger Schädlinge gewesen. Während bei den Feldmäusen in Thessalien mit Hilfe des Loefflerschen Mäusetyphusbazillus sich gute Erfolge erzielen ließen, schwanken die Erfolge bei den verschiedenen übrigen für die Ratten- und Mäusevertilgung benutzten Bakterienpräparaten ganz erheblich, und durchschlagende Erfolge sind seither kaum wieder erzielt worden, ein Ergebnis, das deshalb nicht sonderlich wundernimmt, weil es nur wenige Seuchen überhaupt gibt, die eine Tierart ganz verschwinden lassen können.

Die Bakterienbekämpfung der Ratten ist besonders durch die sorgfältigen Untersuchungen von Neumark und Heck, 1921 noch weiter deshalb in Mißkredit gekommen, weil die im Handel befindlichen Prä-

parate sich sehr häufig als völlig unwirksam erwiesen haben. Weiterhin haben die Kriegserfahrungen deutlich gezeigt, daß die Gefahr der Ansteckung mit den Rattenbakterien nicht so gering einzuschätzen ist, wie das von den angeblich „unschädlichen“ Kulturen nach Aussage ihrer Hersteller zu erwarten war.

Alle übrigen Methoden der Schädlingsbekämpfung sind in ihrer Wirkung auf die Stelle der Bekämpfung beschränkt. Ein Fortschreiten des Schädlingssterbens ohne besonderes Zutun erstreben sie nicht.

Ohne Zuhilfenahme chemischer oder physikalischer Mittel läßt sich bei manchen rein mechanisch durch Abfangen, Einsammeln, Erlegen eine Bekämpfung in bescheidenem Maße durchführen, eine Bekämpfung, die dann besonders wirksam werden muß, wenn sie sich z. B. auf die wenigen im Winter übriggebliebenen *Anophelis*-Weibchen in Stallungen oder Häusern oder auf Säugetiere zur Winterzeit erstreckt. Auch das Absammeln vollgesogener Zeckenweibchen von Weiderindern in Piroplasmosegegenden kann bei unseren heimischen Verhältnissen mit geringeren Tier- und Zeckenmengen gewisse Erfolge bringen. Die mechanische Bekämpfung versagt aber in dem Augenblicke, in dem der Schädling in Massen auftritt oder über sehr große Flächen oder Scharen von Tieren verbreitet ist, so daß sich das Sammeln nicht mehr lohnt.

Größere Erfolge hat schon ohne Zuhilfenahme besonderer physikalischer oder chemischer Mittel die Entziehung der Lebensbedingungen für empfindliche und leicht erreichbare Entwicklungsstufen eines Schädlings zu verzeichnen.

In erster Linie ist hierbei an ein Entziehen der Nahrung zu denken. So findet das Verhungernlassen der Läuse praktische Anwendung, wenn es sich darum handelt, bei genügender Unterkunftsmöglichkeit Wohnungen läusefrei zu machen. Das Gleiche geschieht mit Stallungen und Weiden bei der Räude verschiedener Haustiere. Auch in der Bekämpfung der Zecken spielt die Befreiung der Weiden von Vieh für die Dauer der Entwicklung eines bestimmten infizierten Zeckenstadiums da Anwendung, wo man genügend Weiden zur Verfügung hat. Bei der Tatsache, daß aber manche Schädlinge besonders bei kühler Temperatur wahre Hungerkünstler darstellen, muß die Entfernung der nahrungspendenden Menschen oder Tiere oft noch mit mechanischer, physikalischer oder chemischer Vernichtung der Schädlinge verknüpft werden (Wanzenbekämpfung in Hühnerlegenestern, Vogelmilbenbekämpfung in Vogelställen oder Vogelbauern). Besser als Nahrungsentziehung wirkt bei im Wasser sich entwickelnden Schädlingsstadien Wasserabspernung und Austrocknung oder bei strömungsliebenden Formen möglicherweise in gewissem Maße ein Anstauen des Wassers. Diese Mittel finden ja in der Kriebelmückenbekämpfung neben der mechanischen Brutvernichtung in weitestem Maße Anwendung.

Die Bekämpfung mit physikalischen Mitteln hat ihr Hauptwirkungsgebiet in der Befreiung kleiner Räume, von Kleidungsstücken, Stallgeräten, Geschirren oder tierischen Produkten von den Schädlingen oder ihren Entwicklungsformen. Ruhende oder bewegte Heißluft und Wasserdämpfe sowie kochendes Wasser spielen bei der Entlausung von Kleidern ja bekanntlich eine große Rolle. Bei der Vernichtung von Räummilben in Putzzeug und an Geschirr hat sich heiße Luft glänzend bewährt. Dort wurde von Priebatsch sogar der Versuch gemacht, die Räummilben auf dem Pferdekörper abzutöten. Dieser Versuch scheiterte aber



daran, daß die Temperaturregulation der Haut die Milben vor der Hitze-  
wirkung in weitem Maße schützt.

Bei der Bekämpfung der Fliegenlarven im Mist kann die Hitze  
genau wie bei der Bakteriendesinfektion in eleganter Weise durch Dünger-  
packung und -umpackung erzeugt werden. Die an sich altbekannte  
Methode spielt in der französischen Literatur als biothermische Methode  
nach Roubaud 1915 eine Rolle. Die Kälte kann nur selten mit Erfolg  
zur Schädlingsbekämpfung herangezogen werden, weil die Gliederfüßler  
infolge geringer Atmung und herabgesetzten Stoffwechsels hier eher  
konserviert als geschädigt werden. Nur sehr wärmeliebende Formen  
wie die Läuse werden von Kälte oft stark geschädigt.

Die wichtigste, verbreitetste und vielseitigste Methode der Schädlings-  
bekämpfung ist die mit Hilfe von chemischen Mitteln. Sie  
weicht bei den schädlichen Säugetieren von den für die Vergiftung  
höherer Tiere maßgebenden Grundzügen der Giftlehre nicht wesentlich ab  
und erfordert nur bei den Magengiften eine sorgfältige Auswahl der Köder  
und der Orte, an denen man die Köder auslegt. Bei Vergiftung mit Atem-  
giften können die für Säugetiere üblichen Gaskonzentrationen von Gasen  
Benutzung finden, die an Sachen möglichst wenig Schaden anrichten. So  
hat in Deutschland das Claytongas (CO und SO<sub>2</sub>), ja auch das Gemisch  
Nocht-Giemsma immer mehr dem CO allein weichen müssen.

Bei den Schädlingen aus der Gruppe der Gliedertiere (wir werden  
sie zur Abkürzung als Ungeziefer schlechthin bezeichnen) müssen wir  
uns nochmals vergegenwärtigen, daß wir lebende Gliederfüßler zu be-  
kämpfen haben, eine Aufgabe, die nur allzu leicht mit der Desinfektion  
gegen Bakterien in Analogie gebracht wird. Schon bei der Vernichtung  
unserer Schädlinge in der Außenwelt sind diese Aufgaben bei der „Des-  
insektion“ = Desinfektion gegen Ungeziefer ganz verschieden von denen  
der Bakteriendesinfektion.

Zwei Eigenschaften der Gliederfüßler machen uns die Aufgabe so  
schwer: das ist erstens ihre große Eigenbewegung, zweitens ihr Chitin-  
panzer. Die Bakterien sind fast ganz unbeweglich oder doch praktisch  
unbeweglich. Sie kriechen und fliegen nicht aus eigener Kraft. Wohin  
sie mit den Ausscheidungen des kranken Tieres gebracht worden sind,  
da bleiben sie festgebannt, da sind sie zu finden und zu bekämpfen.  
Und sie haben keinen Chitinpanzer, der gegen rein wässrige Lösungen,  
gegen Säuren und Laugen in höchstem Grade schützt. Deshalb wird  
das Gebiet der Bakteriendesinfektion von der Anwendung wässriger  
Lösungen beherrscht, die lokal da angewandt werden, wo die Bakterien  
liegen, und hier Gutes schaffen. Beim Ungeziefer pflegen sie aber gänzlich  
zu versagen, weil dieses kriecht oder fliegt, sich der Wirkung also ent-  
ziehen kann und dank seinem festen Chitinpanzer ein Bad in der wässrigen  
Desinfektionsflüssigkeit meist gut übersteht.

Wir müssen also bei der Desinfektion gegen Gliederfüßler in erster  
Linie Mittel anwenden, die auch in Ritzen, Fugen und überhaupt in den  
ganzen Raum eindringen, sich da verbreiten und ihre Wirkung entfalten,  
und wir müssen bei den Mitteln auch darauf sehen, daß sie nicht wie  
Wasser von dem Chitinpanzer ablaufen, sondern in das Gliedertier ein-  
dringen und es töten.

Diese beiden Erwägungen bilden die Grundlage für jede erfolgreiche  
Ungezieferbekämpfung. Diese zerfällt, wie aus der Schilderung des Un-  
geziefers hervorgeht, in zwei Teile: 1) Bekämpfung des Ungeziefers auf  
dem Wirt selbst, 2) Bekämpfung in der Außenwelt.

1) Die 1. Aufgabe erfordert die genaueste Kenntnis des Mittels. Es tritt bei der Bekämpfung des Ungeziefers auf dem lebenden Tiere noch eine weitere Anforderung an das Mittel hinzu. Das Mittel soll hochgradig wirksam sein. Diese Forderung bleibt bestehen. Aber es soll bei hoher Wirksamkeit, d. h. Giftigkeit für das Ungeziefer, den Menschen oder das Tier nicht schädigen.

Die Mittel, die das erreichen sollen, werden angewandt a) als Salben, die eingerieben oder aufgestrichen werden; b) als flüchtige Zubereitungen mit Alkohol, als Linimente; c) in wässriger Lösung als Bad oder Waschung; d) als reine Flüssigkeit ohne besonders hohe Dampftension; e) als verdampfende, niedrig siedende Flüssigkeit mit hoher Dampfwirkung; f) als reines Gas; g) als Pulver, trocken.

2) Bei der Bekämpfung der Gliedertiere in der Außenwelt fällt die Rücksicht auf Hautschädigungen und Vergiftungen des Wirtstieres in weitem Maße weg. Freilich dürfen die Mittel den Raum nicht gar zu sehr schädigen. Im übrigen aber sind keine Rücksichten auf die Gesundheit der Wirte zu nehmen, wenn genügend Zeit bleibt, ehe der Raum nach Entfernung des Mittels wieder von Mensch oder Tier benutzt wird.

Die Mittel werden angewandt a) als Pulver; die Wirkung ist aber dann eine recht beschränkte; b) als Spritzmittel rein oder in Lösung; sie werden in feiner Verteilung auf die befallenen Gegenstände oder Flächen gespritzt und vernichten das Ungeziefer im Bereiche der besprengten Fläche; c) als Flüssigkeit, in der die befallenen Gegenstände untergetaucht werden; d) als verdampfende Flüssigkeit, die nach Ausgießen Raum und Fläche in einen Gasschwaden hüllt; e) als Gas. Der zu reinigende Gasraum wird abgedichtet und mit dem giftigen Gase gefüllt. Die Gase dringen von selbst durch ihre Diffusionskraft in alle Winkel, Fugen und Ritzen, erreichen also auch verkrochene Ungeziefer und bilden in geschlossenen Räumen die wirksamste Art der Desinfektion gegen Ungeziefer.

Wollen wir Ungeziefer mit chemischen Mitteln beikommen, so müssen wir uns klar machen, an welchen empfindlichen Stellen wir angreifen können und müssen. Denn gerade wie der Gaskampf gegen den Menschen, stellt die chemische Schädlingsbekämpfung eine systematische Vergiftung dar. Die Gifte werden ausprobiert und bei genügender Wirkung so angewandt, daß sie unter den gegebenen Bedingungen ihre maximale Wirkung entfalten können, sofern sie am geeigneten Angriffspunkte eingesetzt werden.

Unsere Gliedertiere sind nun, wie gesagt, durch ihren Chitinpanzer recht gut geschützt. Das Chitin ist gegen Säuren und Laugen in hohem Grade widerstandsfähig. Da das uns angehende Ungeziefer noch dazu meist recht kräftig entwickelte Chitinpanzer hat, ist der ersten Gruppe der Gifte,

#### den Haut- oder Aetzgiften

bei uns ein recht geringer Wirkungskreis beschieden, im Gegensatz zu dem Gebiete der Pflanzenschädlingsbekämpfung, wo weichhäutige Schädlinge eine große Rolle spielen.

Aber die Haut ist ja nicht der einzige Angriffspunkt beim Gliedertier. Die Gifte der zweiten Gruppe,

die Berührungs- oder Kontaktgifte im weiteren Sinne, entfalten zwar ihre Wirkung auch schon, wenn sie mit dem Panzer des Gliedertieres bloß in Berührung kommen. Ihre Wirkung beruht aber nicht auf einer Aetzung, sondern die Kontaktgifte sind vorwiegend Mittel mit starker Adhäsionskraft und einer gewissen Flüchtigkeit. Sie dringen deshalb an den feinhäutigen Stellen des Körpers und der Gliedmaßen sowie in die Atemlöcher und Mundwerkzeuge ein und wirken als Protoplasmagifte oder gar als Atemgifte. Sie spielen bei unserer Aufgabe eine Hauptrolle und leiten über zur Gruppe der

#### Atemgifte.

Denn die Atmungsorgane sind ja durch die Stigmen von außen zugänglich. Deshalb sind gerade die Atemgifte auch bei Gliedertieren mit hartem Panzer berufen, eine große Rolle zu spielen. Da sie sich vor allem aus verdampfenden Flüssigkeiten oder reinen Gasen zusammensetzen, haben sie auch in der Raumdesinfektion ihre führende Rolle erlangt.

Dann hat ja das Ungeziefer auch seine Mundwerkzeuge, mit denen es Nahrung aufnimmt. Mithin können wir auch in diese Gifte einführen, die vom Magen aus zur Wirkung gelangen und als

#### Nahrungs- oder Magengifte

bezeichnet werden. Ihr Wirkungsbereich bei der Bekämpfung des parasitischen Ungeziefers ist deshalb ein beschränkter, weil die Mehrzahl unserer Parasiten Blutsauger sind, die keinerlei andere Nahrung aufnehmen. Und das Blut des Wirtes können wir nicht so vergiften, daß es die Blutsauger schädigt. Beste Wirkungen jedoch entfalteten die Magengifte bei den hautfressenden Krätzmilben, bei den schuppenfressenden Mallophagen und aber auch bei den lymphesaugenden Milben der Gattung Psoroptes und auffallenderweise auch bei den blutsaugenden Zecken. Es scheint, als ob die oberen Hautschichten so große Giftmengen speichern können, daß selbst die Lymphe dort eine gewisse Giftigkeit erlangt, oder als ob die geringen Giftmengen, die von den Zecken beim Einstich durch die Haut aufgenommen werden, hinreichen, die Zecke zu vergiften.

Als weitere, vorwiegend mechanisch wirkende Gruppe lassen sich die Erstickungsmittel oder mechanisch wirkenden Mittel anreihen. Sie entfalten ihre Wirkung durch Verstopfung der Atemlöcher oder durch Festkleben des Ungeziefers, wohl auch dadurch, daß sie die Haut so schlüpfrig machen oder verschmierern, daß die Gliedertiere allmählich ermatten und zugrunde gehen. Es läge nahe, auch eine Einteilung der Gifte nach ihrer Wirkungsweise im Organismus des Ungeziefers zu geben. Doch liegen darüber noch keine genügenden Arbeiten vor.

An die Ungeziefergifte lassen sich die Hilfsstoffe anschließen. Es sind:

1) Salbengrundlagen. Sie dienen dazu, Milbengifte zu lösen, in fettiger Lösung innig mit der Haut in Berührung zu bringen, flüchtige Mittel an die fettige Grundlage zu binden und dadurch die Wirkung zu verlängern und die Resorption giftiger oder hautschädigender Milbengifte zu verhindern oder zu verlangsamen.

2) Linimentgrundlagen, Spiritus und Seife.

Sie dienen dazu, das giftige Mittel zu lösen, die Adhäsion am Ungezieferpanzer zu erhöhen (gegenüber rein wässerigen Lösungen, die fettige Chitinpanzer nicht benetzen) und das gelöste Mittel auch in Dampfform mit den Atmungswerkzeugen des Ungeziefers in Berührung zu bringen. Auch dienen sie zum Verdünnen dickflüssiger Mittel.

3) Wasser als Lösungsmittel wasserlöslicher Gifte und als Emulsionsgrundlage.

Im Anschluß seien noch die Abschreckungsmittel erwähnt, meist starkriechende Substanzen aus der Gruppe der Atem- oder Berührungsgifte, die durch ihren Geruch die Schädlinge abhalten sollen.

Welche Faktoren bedingen nun die Wirksamkeit der Ungeziefermittel? Bei den ungeziefertötenden Chemikalien sind für die Wirksamkeit folgende Eigenschaften maßgebend:

1) Die Giftigkeit (Toxizität) für das Ungeziefer. Je höher die Giftigkeit für das Ungeziefer, um so wirksamer wird ein Mittel sein und um so sparsamer wird man damit umgehen können, weil es noch in Verdünnungen oder Mischungen genügend wirkt.

Es hat sich herausgestellt, daß die verschiedenen Arten des Ungeziefers sich in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen die Gifte recht verschieden verhalten. Als Magengift scheint ja Arsenik allgemein wirksam und hochgiftig zu sein. Bei den Atemgiften aber sind die Unterschiede geradezu ungeheuer. Jedes Tier hat gegen ein bestimmtes Gift seine Konstanten. Bei Atemgiften drückt man diese im Produkt der Gaskonzentration und Einwirkungszeit aus und gibt die Temperatur der Prüfung an. Diese ist wichtig und darf nie vernachlässigt werden. Denn das Ungeziefer ist in seinen Lebensäußerungen ganz von der Temperatur abhängig. In der Kälte, d. h. bei unter  $+10^{\circ}$  C etwa, liegen die Tiere im Erstarrungszustande. Ihr ganzer Stoffwechsel ruht teilweise oder ganz; die Atmung ist eingeschränkt oder eingestellt. Infolgedessen fehlt den Giften auch jede Möglichkeit, in großem Umfange aufgenommen zu werden und zur Wirkung zu gelangen. Je höher die Temperatur (bis zu  $40^{\circ}$  C gerechnet), um so lebhafter wird das Tier, um so schneller atmet es und um so stärker ist sein Stoffwechsel. Gasförmige Stoffe können also schnell in größter Masse aufgenommen werden, sie kommen schnell mit den Säften des Gliedertieres in Berührung und entfalten sofort ihre Wirkung. Die Berücksichtigung der Temperatur ist bei den Gasversuchen von ganz fundamentaler Bedeutung. Die Gasdesinfektion läßt eben bei unter  $+10^{\circ}$  C bei manchen Ungezieferarten ganz im Stiche.

Wie verschieden diese Konstanten der Giftigkeit sein können, sei an der Blausäure gezeigt: Stechmücken verenden bei 0,03—0,05 Volumprozent in 15 Min. sicher, Kleiderläuse erst bei 1-stünd. Einwirkung von 2,0 Volumprozent (Teichmann) und Sarcopites-Milben des Pferdes erst bei über 1,0 Volumprozent in 6 Std. (Nöller). Aehnliche Verhältnisse liegen bei Schwefeldioxyd vor. Die genauen Ziffern finden sich in Spezialarbeiten.

Bei den Kontaktgiften läßt sich die Giftigkeit nicht in so exakten Formeln ausdrücken. Ihre Wirkung kann sich aus Aetzwirkung, Atmungswirkung und Protoplasmawirkung (Lipoidlösung) zusammensetzen. Einen ungefähren Anhalt gibt die Zeit, die bei einer bestimmten Temperatur vergeht, ehe ein in ein Mittel untergetauchtes Gliedertier verendet ist, wobei zu beachten bleibt, daß nicht nur eine Betäubung vorliegt.

Bei den Kontaktgiften spielt die Temperatur genau die gleiche Rolle wie beim reinen Atemgifte. Bei der Bekämpfung auf der Haut des Wirtes sorgt dessen Hauttemperatur häufig für genügende Wirkung.

2) Die Flüchtigkeit der Mittel. Neben der Giftigkeit verdient die Flüchtigkeit bei den Atem- und Kontaktgiften als Faktor der Wirksamkeit die größte Beachtung. Nichtflüchtige Mittel können nie eine Fernwirkung entfalten. Sie wirken nur da, wo sie hingestrichen oder hingespritzt worden sind. Nur bei den Magengiften kann deshalb auf die Flüchtigkeit verzichtet werden.

Wie bereits genügend betont wurde, sind ja unsere Ungezieferarten oft recht beweglich. Wollen wir sie mit einem Mittel erreichen, so können wir das am besten, wenn das Mittel eine gewisse Flüchtigkeit besitzt und durch den verdampften Anteil eine Fernwirkung entfaltet.

Die Kontaktgifte spielen bei unserer Bekämpfung ja die gleiche Rolle wie die neueren Gaskampfstoffe im Gaskampfe. Wie es da darauf ankam, ein Gelände mit Flüssigkeiten zu bespritzen, die langsam verdampfen, und durch ihre schweren, lagernden Dämpfe oder durch Spritzer die Soldaten zu vernichten, so haben wir bei den Kontaktgiften die Aufgabe, eine besprengte Fläche mit allen ihren Unebenheiten und Fugen in einen dichten, giftigen Dampfmantel einzuhüllen, dem alles Ungeziefer zum Opfer fällt.

Dieses Problem ist das wichtigste Problem der modernen Schädlingsbekämpfung. Denn ihm bietet sich in der Praxis ein riesiges Arbeitsfeld. Für gasdicht verschließbare Räume reichen ja reine Atemgifte aus, für glatte flüssigkeitsdichte Flächen kommen auch wenig flüchtige Mittel mit Erfolg in Frage. Für alle unebenen und undichten Flächen mit Fugen und Rissen und Räume, die von solchen Flächen begrenzt sind, müssen wir zu jenen flüchtigen Flüssigkeiten greifen, die zwischen Atem- und Kontaktgiften stehen.

Ihre Flüchtigkeit muß so groß sein, daß sie auf der Ebene, auf der die Flüssigkeit in Tropfen ausgespritzt worden ist, die ganze Fläche in einen Dampfschleier einhüllen, der sich in alle Ritzen und Fugen ein-senkt.

Auf der anderen Seite darf aber auch die Dampfspannung nicht so hoch sein, daß die Flüssigkeit augenblicklich verdunstet, weil dann die Schädlinge nicht lange genug mit den Dämpfen in Berührung bleiben.

Nun gibt es vielleicht recht wenig Mittel, die gerade diese passende Flüchtigkeit besitzen. Dann läßt sich ein Ausweg so finden, daß zu flüchtige Mittel mit einem nicht oder weniger flüchtigen Träger oder Lösungsmittel angewandt werden. Zu wenig flüchtige Mittel dagegen löst man in einer flüchtigeren, gut verteilbaren Flüssigkeit.

Die meisten Mittel zeigen ihre Flüchtigkeit durch ihren Geruch an. Natürlich kann es auch ebenso flüchtige und deshalb ebenso wirksame Stoffe geben, die geruchlos bleiben und trotzdem durch hohe Giftigkeit ihrer Dämpfe ausgezeichnet sind. Löffl 1915 deutet das an, wenn er die Geruchsintensität mit der Flüchtigkeit zusammen als Faktor der Wirksamkeit hinstellt.

Die Hauptfaktoren der Wirkung sind Giftigkeit und Flüchtigkeit. Aber noch ein weiterer Faktor bedingt bei gleicher Giftigkeit eine mehr oder minder große Wirkung:

Die Adhäsionskraft des Mittels ist sowohl für Magengifte wie für die Kontaktgifte recht wichtig. Für Magengifte spielt sie insofern eine Rolle, als ein Mittel mit großer Adhäsionskraft naturgemäß

die Oberhautschichten der Räudetiere z. B. viel besser benetzt und durchzieht als ein Mittel mit geringer Adhäsion. Es schafft also hier eine gründliche Imprägnation, wo Lösungen mit geringer Benetzungskraft wirkungslos ablaufen. Dieser Umstand bildet den Hauptgrund für den Vorzug öligter oder emulgierter Lösungen vor den rein wässerigen Zubereitungen der Zecken- und Räudemittel in Form der Bäder und Waschungen. Bei Salben bildet die hohe Adhäsion ihrer Grundlagen (Fette) den Hauptgrund ihrer überlegenen Wirkung.

Aber vor allen Dingen bei den Kontaktgiften kommt der Adhäsionskraft hohe Bedeutung zu. Denn die Panzer der Gliedertiere sind glatt und fettig auf ihrer Oberfläche. Wässerige Lösungen laufen ab, ohne in die Atemlöcher, Mundwerkzeuge usw. einzudringen. Anders liegen die Verhältnisse bei Flüssigkeiten mit starker Adhäsion, die die Panzer sofort benetzen. Diese Flüssigkeiten haften auf dem Chitin fest, verbreiten sich auf seiner Oberfläche und dringen in alle Poren ein, entfalten also schnell und sicher da ihre Wirkung, wo die wässerigen Lösungen im Stiche lassen. Das Verhalten benetzender und nicht benetzender Flüssigkeiten ist in dem Schema von Cooper und Laws 1915 bei saugenden Zecken recht deutlich dargestellt. Die rein wässrige Badeflüssigkeit läßt um die vordere Hälfte der Zecke einen Luftraum, die Emulsion mit höherer Adhäsion dringt überall hin und benetzt die ganze Zecke bis zu ihren eingebohrten Mundwerkzeugen.

Aber nicht nur Eigenschaften, die die Wirkung bedingen und steigern, sondern auch solche, die das Mittel praktisch verwendbar machen, müssen vorhanden sein.

1. Die Giftigkeit für Menschen und Haustiere spielt hier die erste Rolle, besonders bei der Bekämpfung des in oder auf der Haut ständig lebenden Ungeziefers. Hier haben wir die schwere Aufgabe, das Ungeziefer zu vergiften, ohne das Wirtstier zu schädigen. Wir dürfen also nur solche Gifte verwenden, die bei hochgradiger Giftigkeit für das Ungeziefer nur in ungiftigen Mengen durch die Haut resorbiert werden und wir müssen bei leicht resorbierbaren Giften eine Anwendungsweise finden, bei der wir die Resorption auf ein ungefährliches Maß herabsetzen.

Bei den Magengiften, die in Form der Bäder und Waschungen angewandt werden, ist diese Erwägung ebenso wichtig wie bei den Kontaktgiften.

Aber selbst in der Außenwelt — wie bei der Raumdesinfektion — muß diese Forderung praktischer Anwendbarkeit erfüllt werden. Wir dürfen nur Substanzen verwenden, die für Menschen und Haustiere nicht allzu gefährlich sind, wenn nicht Unglücksfälle eintreten sollen. Besonders bei der Gasdesinfektion ist hierauf zu achten. Es dürfen nicht Gase zur Verwendung kommen, die bei hochgradiger Giftigkeit für den Menschen etwa noch wenig wahrnehmbar sind. Wir haben hier ganz entgegengesetzte Aufgaben wie beim Gaskampfe. Dort kommt es darauf an, Gase auszusuchen, die der Mensch möglichst wenig wahrnimmt, bei uns dagegen sind giftige Gase ohne starken warnenden Geruch wegen der Gefahr der Unglücksfälle höchst bedenklich. Je unangenehmer das Gas für den Menschen riecht, um so weniger besteht die Gefahr, daß jemand in einen mit Gas gefüllten Raum hereintritt, ohne die Gefahr zu bemerken. Ein möglichst intensiver Warnungsgeruch ist deshalb für desinfektorisch angewandte Gase besonders wertvoll. Ein Beispiel möge das erläutern: Die Blausäure riecht zwar schwach stechend, doch nicht

unerträglich unangenehm. Infolgedessen sind Todesfälle oder doch Schädigungen bei ihrer Anwendung mehrfach beobachtet worden. Bei dem Schwefeldioxyd, der sog. wasserfreien schwefligen Säure, ist der stechende Geruch aber schon in ganz ungefährlichen Konzentrationen ein so unerträglicher, daß bei diesem Gase trotz seiner weiten Verbreitung in der Ungezieferbekämpfung Unglücksfälle zu den größten Seltenheiten gehören. Entgegen den Anforderungen des Gaskampfes werden wir in geschlossenen Räumen bei der Schädlingsbekämpfung Gase oder verdampfende Flüssigkeiten bevorzugen, die infolge großer Flüchtigkeit leicht entweichen und nicht zu lange festgehalten werden.

2. Feuergefährliche und explosive flüchtige Gifte sind ebenfalls mit Vorsicht anzuwenden, und zwar nur von Personal, das diese Eigenschaften zur Genüge kennt. Wo gleich wirksame, nicht verbrennbare Ersatzstoffe vorhanden sind, wird man diesen tunlichst den Vorzug geben.

3. Metalle, Farben und Gewebe stark angreifende Stoffe sind ebenfalls von Nachteil. Besonders bei der Desinfektion von Kleidern, Ausrüstungsgegenständen, Geschirr usw. muß in dieser Hinsicht die größte Unschädlichkeit des Desinfektionsmittels verlangt werden.

4. Der Preis des Schädlingsmittels spielt deshalb eine große Rolle, weil wir besonders in der Raumdesinfektion meist recht große Mengen der Substanz brauchen. Auch bei der Schädlingsbekämpfung auf dem Körper unserer großen Haustiere werden wegen der großen Flächen recht beträchtliche Mengen der Mittel erforderlich.

Nach der Betrachtung der allgemeinen Grundzüge der Schädlingsbekämpfung wenden wir uns nunmehr den einzelnen Schädlingsgruppen zu und vermerken, daß es hier nicht unsere Aufgabe ist, alles zusammenzutragen, was über deren Bekämpfung bekannt ist. Es können vielmehr nur die Methoden Erwähnung finden, die in der letzten Zeit, insbesondere im Kriege und später, Gegenstand besonderer Aufmerksamkeit gewesen oder geworden sind.

### **Nicht-parasitische Schädlinge von hygienischer Bedeutung.**

1. Ratten und Mäuse, die nicht nur als Krankheitsträger oder Parasitenträger für Menschen und Haustiere (Pest, Weilsche Krankheit, Amöbenruhr, Lamblienruhr[?], bazilläre Darmkrankheiten, Trichinenträger und Flohträger), sondern auch als Speicherschädlinge von Bedeutung sind, wurden in der Kriegszeit mit den herkömmlichen Mitteln bekämpft. Eine umfassende Zusammenstellung ihrer Biologie und der Bekämpfungsmethoden gab der leider nur in einem sehr kurzen Auszuge veröffentlichte Vortrag von Prof. Reh, Hamburg, im Naturwiss. Verein Hamburg 1920. Bemerkenswert ist an der Rattenbekämpfung, daß die Bakterienpräparate während des Krieges mehrfach bewiesen haben, daß ihre Unschädlichkeit nicht vorliegt. So sind selbst Todesfälle beim Menschen nach Aufnahme von Bakterienkulturen zur Bekämpfung der Rattenplage beobachtet worden. Am gefährlichsten scheinen die Ratinkulturen zu sein, über deren schädliche Wirkung Wreschner (1921) und Willführ und Wendlandt (1921) berichten. (Vgl. hierzu auch Uhlenhuth und Hübener 1913, Bahr 1921 und Raebiger und Bahr 1922 sowie Neumarck und Heck 1921!)

Bei der Ratten- und Mäusebekämpfung mit Giften scheinen außer den für Haustiere ziemlich unschädlichen Meerzwiebelpräparaten die Be-

mühungen der Bayerischen Farbenfabriken im Sokialbrot und Sokialweizen zu einem Präparate geführt zu haben, das für Ratten und Mäuse eine spezifisch hohe Giftwirkung mit ziemlich weitgehender Unschädlichkeit für Haustiere verknüpft. Die Ausprüfung des Präparates in der Praxis dürfte aber noch nicht ganz abgeschlossen sein. Der wirksame Bestandteil dieser Giftpräparate ist nach freundlicher Mitteilung der Fabrik das 3-Methylxanthin.

Daß die Rattenkampftage in Berlin stets einen gewaltigen Geflügelverlust an Phosphorvergiftung im Gefolge hatten, konnte der Vortragende bei dem im Pathologischen Institute der Tierärztlichen Hochschule in Berlin eingelieferten Geflügel stets ausgiebig beobachten. Da auf dem Kongreß noch ein besonderer Vortrag über Rattenbekämpfung angekündigt ist, kann ein weiteres Eingehen auf diese Schädlinge hier unterbleiben.

2. Die Stubenfliege und ihre nächsten Verwandten haben besonders im Kriege bei der Verbreitung der Darmkrankheiten eine verhängnisvolle Rolle gespielt, und ihre Bekämpfung mußte deshalb das Interesse aller Armeehygieniker insbesondere in den Sommermonaten und auf den tropischen Kriegsschauplätzen auf sich lenken. Von den Bekämpfungsformen gelangten hauptsächlich bekannte Arten zur Anwendung: Fliegenleim, Arsenikfliegenpapier und Formalinmilch in Häusern oder Vorrichtungen zur Vermeidung der Brutablage und Brutentwicklung in Fäkalien und Mist. Auch Chlorkalkzusätze oder kresolhaltige Produkte setzte man mit Erfolg zu den Brutstätten der Fliegen zu. Besondere Vorschläge zu Neuerungen oder systematischer Anwendung alter Verfahren gab Roubaud 1915, der zur systematischen Anwendung der Düngerpackung anriet („biothermische Methode“). Chemikalienzusätze zu Dünger empfahl besonders Wilhelmi 1919. Er prüfte neben Borax und Kalisalzen Chlorkalk und gelöschten Kalk, und stellte damit die Konzentrationen fest, die wir bei einer Anwendung solcher Produkte den Desinfektionen zugrunde legen müssen.

Die Empfindlichkeit der Stubenfliege gegen Blausäure stellte Teichmann 1918 fest. Die Fliege wird nach ihm mit Sicherheit getötet, wenn 0,1 Volumprozent HCN 30 Min. oder 0,25 Volumprozent 15 Min. einwirken. Für die Praxis (bei Gasverlusten) schlägt er eine Arbeitskonzentration von 0,2 Volumprozent bei 30 Min. Einwirkung vor. Da Teichmann auch Larven und Puppen bei einer Konzentration von 0,25–0,5 Proz. Cyannatrium in wässriger Lösung absterben sah, geht er soweit, einen Zusatz von 65,5 g Cyannatrium in 25 l Wasser gelöst, auf je 1 cbm Mist täglich als Bekämpfungsmittel im Großen anzuraten. Es ist wohl kaum anzunehmen, daß dieses Verfahren bei praktischer Anwendung unter ländlichen Verhältnissen als ganz unbedenklich zu betrachten ist, selbst wenn stets sorgfältig darauf geachtet wird, daß die Begießung nur weitab vom Stalle vorgenommen wird.

### Parasitische Schädlinge.

Wenn wir bei Ratten, Mäusen und Fliegen die Lebensgewohnheiten als einigermaßen bekannt voraussetzen konnten, müssen bei den nun behandelten temporär oder ständig parasitischen Gliedertieren einige Vorbereitungen den Bekämpfungsmethoden vorausgehen. An guten Einführungen in die Biologie dieser Ungeziefergruppen seien Eysell 1913, Patton und Cragg 1913 und Riley und Johannsen 1915 erwähnt. Auch die Lehrbücher der Parasitenkunde geben über manche Fragen



Aufschluß, versagen aber leider bei vielen Gruppen ganz. Erfreulicherweise mehren sich gerade in letzter Zeit die monographischen oder wenigstens rein biologischen Einzel- oder Gruppenbearbeitungen unserer Schädlinge.

**1. Die Bekämpfung temporärer Ektoparasiten.** (Entwicklung findet in mehr oder minder großer Ausdehnung in der Außenwelt statt.) Nur zur Nahrungsaufnahme wird das Wirtstier aufgesucht. Fast durchgehend Blutsauger.

1. Zecken. Bei den Zecken ist die Dauer des Aufenthaltes auf dem Wirt verschieden. Manche Arten bleiben vom Larvenstadium ab bis zum Imago auf einem Tiere (einwirtige Zecken); andere befallen als Larve einen Wirt, saugen sich voll Blut, häuten sich zu Nymphen, die sich sogleich nochmals auf diesem ersten Wirt vollsaugen; nun fallen sie ab und erst nach der Häutung als Imago suchen sie einen zweiten Wirt auf, von dem sie nach der Blutmahlzeit zur Eiablage abfallen (zweiwirtige Zecken). Es sind das durchgehend Zeckenarten, die in jedem Entwicklungsstadium nur einmal saugen, also zu den Ixodidae gehören. Die dreiwirtigen Zecken dieser Familie fallen nach jedem Saugakte ab und häuten sich in der Außenwelt. Erst nach langer Hungerzeit suchen sie einen neuen Wirt auf. Zu den dreiwirtigen Zecken gehört unsere wichtigste heimische Zecke, der Holzbock (*Ixodes ricinus*).

Die wanzenartig lebenden Argasiden saugen bei Mensch und Tier (Hausgefögel) in jedem Entwicklungsstadium oftmals Blut, dehnen den Saugakt aber im Gegensatze zu den Ixodidae nur über Minuten bis höchstens Stunden aus. In der Zwischenzeit leben sie in Mauerritzen oder Fugen der Wohnungen und der Gefögelställe verborgen.

Die Bekämpfung ist infolgedessen bei beiden Gruppen eine verschiedene. Bei den Ixodinen muß das Hauptgewicht auf die Vernichtung der Zecken auf dem Tiere gelegt werden. Die Bekämpfung wird, abgesehen von mechanischen Methoden, von künstlichen Weidebränden und von sorgfältig der Biologie angepaßtem Weidewechsel fast ausschließlich durch arsenikhaltige Bäder oder Waschungen (sog. Dipping, dips) erzielt. Die Wirkung beruht auf einer allmählichen Vergiftung der Zecken in der infolge der häufigen Bäder stark arsenhaltigen Haut. Die Wirkung der Arsenikbäder war lange unklar geblieben. Es ist das Verdienst von Cooper und Laws, 1915, daß sie die Arsenwirkung mit ziemlicher Sicherheit als Magengiftwirkung bei der blutsaugenden Zecke hingestellt und eine Aufnahme durch die Zeckenhaut abgelehnt haben. Ob freilich diese Erklärungsweise ganz genügt, ob nicht vielleicht noch eine in Spuren auftretende Arsenwasserstoffatemwirkung eine Rolle spielt, muß dahingestellt bleiben.

Daß auch die Schwefelalkalibäder gut wirken, steht fest. Die wichtigste Badeflüssigkeit behandelt Chapin 1916. Da die Methoden der Zeckenbekämpfung bei du Toit 1918 und bei Knuth und du Toit 1922 monographisch bearbeitet sind, erübrigt sich hier ein weiteres Eingehen auf den Gegenstand.

Die Argasinen sind chemisch in ihren Schlupfwinkeln durch Eingießen tödender Flüssigkeiten oder durch Desinfektion des ganzen befallenen Raumes mit Gasen zu vernichten. Eine systematische Durchprüfung der Gase bei dieser Gruppe fehlt noch. Die für Gefögelställe wichtigen Schutzeinrichtungen, die ein Aufkriechen der Zecken auf die Sitzstangen des ruhenden Gefögels unmöglich machen, sind ebenfalls

bei Knuth und du Toit 1921 beschrieben und abgebildet: Drahtanhangung der Sitzstangen, Petroleumnäpfe an den Befestigungsstangen. Da manche Larven auf dem Geflügel dauernd bleiben sollen, muß im Notfalle auch eine Salben- oder Badebehandlung vorgenommen werden.

2. Vogelmilben (*Dermanyssus*). Die Vogelmilben ähneln biologisch den Argasiden. Sie saugen hauptsächlich nur im Dunkeln, also nachts, häufig Blut und verkriechen sich sonst in ihre Schlupfwinkel in Ritzen und Fugen der Stallungen und in die Streu der Vogelnester. Ihre Biologie hat durch Wood 1917 eine Bearbeitung erfahren.

Ihre chemische Bekämpfung hat die Vernichtung in ihren Schlupfwinkeln zum Ziele und erreicht das durch Eingießen giftiger Flüssigkeiten oder durch Desinfektion des ganzen Raumes mit giftigen Gasen, sofern die bloße Entfernung der Milben nicht zum Ziele führt. Systematische Arbeiten über die Gaskonstanten der Milben fehlen noch.

3. Die Flöhe. Die Flöhe bilden nach ihrer Aufenthaltsdauer auf dem Wirt gemessen keine einheitliche Gruppe. Die der behaarten Säugetiere halten sich nach Verlassen der Puppe während ihres ganzen ferneren Lebens im Haarkleide des Wirtes auf, das sie höchstens zur Eiablage verlassen. Doch geschieht auch dies nicht regelmäßig, sondern die Eier fallen nach der Ablage selbst zu Boden. Ja in manche Gattungen saugen sich wenigstens die Weibchen dauernd fest (*Sarcopsylla* bei Mensch und Haustier, *Vermipsylla* bei Pferden, *Echidnophaga* und *Hectopsylla* bei Geflügel).

Die Eier werden bei diesen Gruppen auf den Lager- und Schlafstätten und in den Nestern abgelegt. Die Larven schlüpfen dort aus, nähren sich von Staub und Kot der erwachsenen Flöhe und verpuppen sich an diesen Orten. Ritzen, Fugen werden als Aufenthaltsort bevorzugt.

Die sich nicht einbohrenden oder festsaugenden Vogelflöhe dagegen halten sich meist nur während des Saugaktes auf dem Vogel. Sonst findet man sie nur in Nestern, Legenestern und Schlupfwinkeln der Vögel.

Der Menschenfloh steht zwischen beiden Gruppen. Er befällt den Menschen zum Blutsaugen, hält sich aber oft tagelang in der Kleidung des Menschen auf, von dem er aber leicht abspringt. Eier, Larven und Puppen finden sich im Staub der Fugen von Bettgestellen und auf dem Fußboden der Wohnungen in Ritzen und Winkeln. Die Säugetierflöhe sind auf dem Säugetier und in den Larvenfundstätten zu bekämpfen, auf dem Säugetier mit Bädern, Waschungen oder Gas (vgl. Gasbehandlung der Räude!), in der Stallung durch Abwaschen oder Bespritzen mit giftigen Mitteln, am besten durch Desinfektion mit Gas. Bei den sich nicht festsaugenden Vogelflöhen genügt die Bekämpfung in Nestern und Stallungen. Die Bekämpfung auf dem Geflügel ist aussichtslos und überflüssig. Die Bekämpfung in Nestern und Stallungen geschieht wie bei den Säugetierflöhen oder rein mechanisch durch Entfernung der die Flöhe und Flohbrut enthaltenden Legenesterfüllung und des Stallbelages. Beim Menschen kann zur Wohnungsdesinfektion unter Umständen noch die Desinfektion der Kleidung treten. Die Abtötung der Flöhe, ihrer Eier, Larven und Puppen durch giftige Gase ist schon von der indischen Pestkommission mit Blausäure versucht worden. Mit Schwefeldioxyd sind systematische Versuche zur Ermittlung der notwendigen Gaskonzentrationen bei Hundeflöhen und Katzenflöhen und ihren Eiern und Larven von Schiemann 1918 und Hornung 1920 vorgenommen worden. In Schiemanns Versuchen zeigten sich die Flöhe etwas empfindlicher als die Flohlarven.

Es ergab sich, daß  $2\frac{1}{2}$  Volumprozent  $\text{SO}_2$  zwischen  $+10$  und  $+20^\circ \text{C}$  bei 4-stünd. Einwirkung alle Flöhe und ihre Larven abtöten. Nach Hornung 1920 ist der Grenzwert der Wirkung bei  $+15$  bis  $32^\circ \text{C}$  für Hunde- und Katzenflohlarven und Eier ein Gehalt von  $11,42 \text{ mg SO}_2$  im Liter Luft festzustellen, was  $0,4$  Volumprozent entspricht. Daß diese Grenzwerte, die sich auf Analysenprocente beziehen, wesentlich überschritten werden müssen, wenn es sich darum handelt, die in einen Raum einzuleitende Gasmenge zu bestimmen, liegt klar auf der Hand.

Von Mitteln, die die Flöhe abhalten, sei Naphthalin erwähnt, das gegenüber anderen angeblich flohabschreckenden Mitteln nach eigenen Erfahrungen im Felde bei Einstreu in Bett oder Schlafsack wenigstens eine gewisse Wirkung aufzuweisen scheint.

4. Wanzen. Die Wanzen des Menschen und der Haustiere (des Hausgefügels) belästigen ihr Opfer nur beim Blutsaugen. Sie sind gewöhnlich stark lichtscheu und saugen vorwiegend nachts. Nach dem Saugakte flüchten sie in ihre Verstecke.

Ihren Aufenthalt und ihre Brutstätten haben sie in den Wohnungen des Menschen, hinter Bildern, in Ritzen und Fugen von Betten, Möbeln und Wandbekleidungen und in der Bettstreu bei Holzwoollverwendung.

Die Wanzen der Haustiere (bes. des Hausgefügels) finden sich vorwiegend in Spalten und Fugen des Stalles und zur überwiegenden Mehrheit in der Streu der Nester und Legenester oder in Schlupfwinkeln und Schlafstätten.

Die vorwiegend chemische Bekämpfung beschränkt sich deshalb auf die Vernichtung der Wanzen in ihren Schlupfwinkeln und geschieht durch giftige Flüssigkeiten oder durch Raumesinfektion mit Gas. Während bei den Hühnerwanzen, die jedenfalls häufig nichts anderes darstellen als Bettwanzen (Reuter 1913, Nöller 1920), wegen der strengen Lokalisation auf Legenester die Vernichtung des Inhaltes derselben manchmal allein zum Ziele führt, ist bei allen übrigen Wanzen der Haustierstallungen und der Bettwanzen nur die strengste Raumausgasung erfolgreich. Bezüglich der Mittel der chemischen Bekämpfung gibt Hase 1917 in seiner Monographie der Bettwanze und in seiner Arbeit 1918 der Blausäure den Vorzug. Er stellt fest, daß zwar schon  $0,2$  Volumprozent  $\text{HCN}$  hinreichen, freisitzende Wanzen zu töten, daß aber für Tiere, die tief in den Ritzen und Fugen sitzen, besser eine Menge von Cyannatrium zu verwenden ist, die eine Blausäurekonzentration von  $1$  Volumprozent ergeben müßte. Die Wirksamkeit dieses Verfahrens ist sattsam erprobt worden. Die von Hase betonte Gefahrlosigkeit des Verfahrens selbst bei Verwendung in Etagenhäusern hat aber durch eine Reihe von Blausäuretodesfällen nach Ausgasungen jetzt eine wesentlich andere Beleuchtung erfahren.

Man hat immer mehr erkennen müssen, daß die zunächst an den Tag gelegte Anschauung von dem schnellen Herausdiffundieren der Blausäure bei der Lüftung nicht zutrifft. Es hat sich vielmehr gezeigt, daß die Blausäure in den Wohnungen wahrscheinlich in Wänden und Betten adsorbiert in so hoher Konzentration verbleiben kann, daß noch nach stundenlanger Lüftung schwere Schädigungen und Unglücksfälle sich ereignen können. Bei der Kleiderlausbekämpfung wird auf diese Frage nochmals eingegangen werden.

Aus diesem Grunde gewinnt das in der Großstadt seit jeher bevorzugte Gas der Wanzenbekämpfung, das Schwefeldioxyd, wieder umso größere Bedeutung, weil man nach Neufelds Vorbild 1915 gelernt hat,

die unangenehmen Nebenwirkungen (Angreifen von Metallen, Schädigung von Farben) durch die beste Anwendungsweise des wasserfreien, verflüssigten Gases aus Stahlflaschen in hohem Maße herabzusetzen. Als Arbeitskonzentration wird meist eine Gasmenge von 6 kg auf 100 ccm Raum angewandt (vgl. Rittershofer 1921, Der Ungeziefer- und Schädlingsbekämpfer. Jg. 1. Nr. 5. S. 22).

### 5. Blutsaugende Mücken.

a) Stechmücken (Culicidae). Die Stechmücken befallen ihre Opfer nur vom Frühjahr bis zum Herbst. Nur die Weibchen stechen, und zwar mit Vorliebe an heißen und schwülen Tagen, besonders in den Nachmittags- und Abendstunden. Im Winter suchen manche Arten dunkle, vor Frost geschützte Stellen auf, an denen sie in Massen überwintern. So bilden die Keller im Winter das Hauptreservoir für die Mücken ganzer Ortschaften aus der *Culex*-Gruppe, die hauptsächlich Vogelblut saugt. Die Eier werden auf Pfützen, Tümpel oder in Teiche und Altwässer, Torfgruben, Moor- und Sumpfgewässer abgelegt. Dort entwickeln sich die Larven zur Puppe. Manche Arten überwintern auch im Larvenzustande.

Ihre Biologie und Bekämpfung hat durch Martini 1920 eine ausführliche Bearbeitung erfahren, so daß jeder für das Gebiet Interessierte sich dort Rat holen kann.

Die wichtigsten Gruppen sind:

1. Die *Culex pipiens*-Gruppe: Mücken, deren Weibchen fast nur Vogelblut saugen. Ueberwinterung nur als Imago in Häusern und Kellern. Eier, Larven und Puppen nur in den kältefreien Jahreszeiten vorhanden.

2. Die *Anopheles*-Gruppe. Weibchen saugen Blut der Hausäugetiere (insbesondere bei Rind, Schwein und seltener beim Pferde), und des Menschen. Stechen im Stalle und im Freien. Aufenthaltsorte der Mücken in erster Linie Ställe und Wohnungen, Ueberwinterungsorte Ställe, Stallräume, Böden, auch in Kellern — Ueberwinterung bei uns nur als Imago. Eier, Larven und Puppen im Sommer vorhanden.

3. Die *Aedes*-Gruppe. Weibchen stechen Mensch und Hausäugetiere im Freien und gehen nicht in Stallungen oder Wohnungen über. Im Herbst sterben die Mücken ab. Die Ueberwinterung geschieht als Ei. Die Eier werden an Ränder von Pfützen auf Laub niedergelegt. Die Gruppe enthält zwar nicht die hygienisch wichtigsten, wohl aber die als Plagegeister des Menschen in Wald und Park wichtigsten Arten.

Die Bekämpfung der Mücken hatte im Kriege die gleichen Richtlinien wie früher. Die Kellerbekämpfung faßt meist die für die Menschen weniger wichtige *Culex*-Gruppe. Soweit man von der Mückenprophylaxe durch Drahtnetze vor Tür und Fenster und von rein mechanischer Bekämpfung absieht, bleibt als Hauptziel der Bekämpfung der Larvenvernichtung durch kresolhaltige, ölige Mittel oder durch Petroleum übrig. An Neuerungsversuchen ist hier lediglich von Teichmann 1918 eine Auflösung von Cyannatrium in Wasser oder gar eine Vergasung des Luftraumes über Sümpfen empfohlen worden, beides Anregungen, die weder unbedenklich noch praktisch ausführbar sind.

Bei der Ausräucherung von Wohnungen dagegen, wie sie besonders bei der *Anopheles*-Bekämpfung hygienisch nötig wird, kommt zu den früher üblichen Spritz- und Räuchermitteln nach Teichmann 1917 und 1918 die Blausäure deshalb mit Erfolg hinzu, weil die Stechmücken (*Culex*!) gegen Blausäure so hochempfindlich sind, daß 0,02—0,03

Volumprozent schon zur Abtötung in 15 Min. hinreichen, eine Gaskonzentration an deren unteren Grenze Mäuse 15 Min. leben können. Die Gefahren hoher Konzentration scheiden hier also ganz aus.

b) Kriebelmücken. Die Kolumbazenser oder Kriebelmücken, fliegenartige Tiere von 2 mm Länge, befallen als Weibchen Haustiere in Schwärmen auf der Weide in den Frühjahrs- und Sommermonaten und können tödliche Wirkung ausüben, da ihr Speicheldrüsensekret schwer giftig wirkt (vgl. J. H. Stokes 1914!). Ihre Eier werden an Wasserpflanzen und Steine in strömenden Gewässern abgelegt und entwickeln sich besonders an den Stellen stärkster Strömung zu Larven, die nach der Ueberwinterung sich verpuppen und bei Eintritt starker Wärme plötzlich scharenweise ausschlüpfen. Da den Larven in Bach oder Strom meist nicht beizukommen ist und den freibleibenden Mücken ebenso wenig, richtet sich die chemische Bekämpfung auf die Suche nach salbenartigen oder flüssigen stark riechenden Mitteln, die auf die zu schützenden Tiere aufgetragen werden und gegen die Stiche der Mücken schützen sollen. Das Problem ist noch nicht einwandfrei gelöst. Wo infolge günstiger örtlicher Verhältnisse eine Möglichkeit zum Eingriffe in die Gewässer besteht, kann durch Trockenlegung der Hauptbrutherde der Kriebelmückenbestand arg gefährdet werden. Auch zeitweises Ablenken oder Anstauen des Wassers kann schon günstige Wirkungen aufweisen. Entkrauten dürfte selten brauchbare Ergebnisse liefern.

Die Kriebelmückenfrage hat infolge tatkräftiger Förderung des preuß. Landwirtschaftsministeriums bei uns eine gründliche Bearbeitung gefunden, und die Arbeiten von Wilhelmi 1920—1922 stellen alles über die Mücken und ihre Bekämpfung Bekannte zusammen. Einen kurzen Abriß hatte Nöller 1919 gegeben. Das Verdienst, die Larven und Puppen der heimischen Arten sorgfältigst beschrieben zu haben, gebührt Friedrichs 1919—1921. Eine Bestimmungstabelle der Mücken gibt auch Enderlein 1921.

c) Die Gnitzen (Ceratopogonien) stellen unsere kleinsten blut-saugenden Mücken aus der Gruppe der Chironomiden dar und werden in den Tropen als Ueberträger der Pferdesterbe und der südamerikanischen Leishmaniose verdächtigt. Die Mückenweibchen sind in der Abend- und Morgendämmerung lästige Blutsauger an Mensch und Haustier. Ihre Larven leben im Wasser oder unter feuchten Baumrinden. Bei der ungenügenden Kenntnis ihrer Biologie kann sich vorläufig die Bekämpfung nur gegen die Imagines richten, die man durch abschreckende Mittel zu beseitigen sucht. Systematische Bekämpfungsversuche stehen noch aus.

d) Die Pappatacimücken (Phlebotomen, Sandfliegen), gehören zu den Phychodiden und sind besonders im Feldzuge in Mazedonien als Ueberträger des Pappataciefiebers wieder der breiten Oeffentlichkeit vorgeführt worden. Sie befallen Menschen, Haustiere und Eidechsenarten als lästige Blutsauger und versetzen schmerzhaftige Stiche. Ihre Larven entwickeln sich in feuchten Fugen und Spalten, in Mauerwerk, in Höhlen und Bodenspalten, nicht im Wasser (vgl. Doerr und Ruß 1913!). Ihre Bekämpfung ist eine rein mechanische. Eine systematische Prüfung chemischer Mittel oder von Abschreckungsmitteln steht noch aus.

#### 6) Stechfliegen (ausschl. Lausfliegen).

6a) Stechfliegen der Stallungen: Der Wadenstecher (*Stomoxys calcitrans*). Die hauptsächlich in den Stallungen vorkommende Kuhstallsfliege, der sog. Wadenstecher, *Stomoxys calci-*

trans, läßt sich auf das Tier nur zum Saugakt nieder. Ihre Eier legt sie in den Dung ab, aus dem sie im Stalle selbst oder auf dem Düngerhaufen ausschlüpfen. Die chemische Bekämpfung sucht nach Mitteln (Salben, riechenden Flüssigkeiten), die auf die Tiere aufgestrichen, gegen die Angriffe der Fliege schützen: sie geht dann zur Stalldesinfektion durch Gase über, um die Fliegen im Stalle zu töten und 3. zur Vernichtung der Larven im Dünger durch Beimischen giftiger Stoffe oder Uebergießen mit larventötenden Flüssigkeiten. Alles, was über die Larven- und Vollkerfbekämpfung bei der Stubenfliege gesagt ist, gilt auch für die *Stomoxys calcitrans* (vgl. S. 48).

6b) Freilebende, blutsaugende Fliegen. Die Glossinen haben für Mensch und Tier als Krankheitsüberträger, die freilebenden *Stomoxys*-, *Haematobia*-, *Lyperosia*-Arten und Bremsen (Tabaniden) mit ihren Hauptgattungen *Tabanus*, *Pangonia*, *Cadecera*, *Haematopota* und *Chrysops* als Krankheitsüberträger und Plage des Weideviehes größte wirtschaftliche Bedeutung.

Alle diese Stechfliegen besuchen das Wirtstier nur beim Blutsaugen. Sonst sind diese flugverwandten Tiere in der Natur weit verbreitet, nur an zusagende Geländestriche gebunden. Eier bzw. Larven werden teils in Viehkot auf der Weide (*Stomoxys*, *Haematobia*), teils in die feuchte Erde und an Gewässerränder (Bremsen), teils in schattige Gebüsche (Glossinen) abgelegt. Da also weder Larven noch Fliegen wegen ihrer weiten Verbreitung oder starken Ortsbewegung einer systematischen Bekämpfung zugänglich sind, bleibt als Aufgabe nur die Suche und Prüfung von abschreckenden Schutzstoffen übrig, die gegen die Angriffe der Stechmücken sicher schützen. So groß die Anzahl der „Hausmittel“ nach dieser Richtung ist, so sehr fehlt es an wirklich brauchbaren, exakt durchgeprüften Abschreckungsmitteln.

Nicht blutsaugende Fliegen mit blutsaugenden Larven kommen beim Menschen in den Tropen sowie bei Hausvögeln dort vor, in unseren Gegenden nur als Parasiten in Nestern nicht domestizierter Vogelarten [Fliegengattung *Protocalliphora* (*Phormia*)]. Ueber die systematische chemische Bekämpfung dieser Larven ist abgesehen von mechanischer Beseitigung noch nichts bekannt.

## 2. Schädlinge, die ständig auf dem Körper von Menschen und Tieren leben und hier ihre ganze Entwicklung durchmachen:

1) Die Krätz- und Räude milben. Während beim Menschen nur die eigentliche Krätze, die durch die Grabmilbe, *Sarcoptes hominis*, erzeugt wird, eine Rolle spielt, kommen bei den Haustieren neben zahlreichen *Sarcoptes*-Arten, die wie beim Menschen Gänge in die Haut graben, deren Epithel sie mit ihren beißenden Mundwerkzeugen aufnehmen und durch ihren Darm schicken, noch Milben mit oberflächlicherer Ernährungsweise und Schuppennahrung (*Dermatophagus*-Arten) und Milben, die mit stechenden Mundwerkzeugen Lymphe saugen (*Psoroptes*-, *Dermatocoptes*-Arten) vor. Neben weniger wichtigen kleineren Gruppen spielen sodann noch die *Demodex* (*Acarus*)-Milben eine Rolle.

Die für unsere Betrachtungen wichtigsten Formen sind neben der menschlichen Krätze milbe vor allen Dingen die wichtigsten Räudeerreger des Pferdes (*Sarcoptes equi* und *Psoroptes equi*) und die stechende Räude milbe des Schafes, *Psoroptes communis var. ovis*. Die Krätz- und Räude milben sitzen in oder unmittelbar auf der Haut und machen ihren ganzen Lebenslauf hier durch. Ihre Bekämpfung muß

deshalb in erster Linie in der Vernichtung der Milben auf dem Körper des lebenden Tieres bestehen („Räudebehandlung“) und wird durch milbentötende Salben, Bäder, aufgetragene Flüssigkeiten oder neuerdings durch Gase erstrebt und erreicht. Bei der Auswahl der Mittel muß Sorge getragen werden, daß das behandelte Tier nicht leidet, oder gar tödlich vergiftet wird. Da naturgemäß auch viele Milben teils bei hoher Temperatur fortzukriechen, teils mechanisch abgescheuert und verstreut werden, hat die chemische Bekämpfung in zweiter Linie die wichtige Aufgabe, die Milben in Kleidung, an Geschirr, Sattelzeug und im Stall abzutöten, d. h. die Desinfektion von Kleidung, Geschirr, Putzzeug u. a., und endlich die Stalldesinfektion.

Die Kriegerzeit hat bei der Räudebekämpfung der Pferde zu systematischer Arbeit gezwungen und reiche Erfolge zu verzeichnen gehabt. Als die Rohstoffknappheit einsetzte, wurden Ersatzmittel in der Räudebehandlung immer mehr herangezogen.

Auf die Rohölbehandlung folgte das einigermaßen wirksame Petroleum. Badeflüssigkeiten nach Art der Zeckenbäder dagegen haben auf dem östlichen Kriegsschauplatze keinen Eingang finden können. Ihre Anwendung verbot sich aus den Schwierigkeiten der Einrichtung gut heizbarer Bäder. Als die Versuche Priebatschs, den Milben mit heißer Luft in den Heißluftöfen beizukommen, gescheitert war, wurde endlich in dem Gasbehandlungsverfahren ein sicher wirksames Milbenbekämpfungsverfahren gefunden, dessen Wirkung eine so durchschlagende gewesen ist, daß wir heute in Deutschland die Pferderäude nur noch selten sehen. Das Verfahren besteht darin, daß man die Pferde unter Abdichtung des Kopfes in eine Gaszelle einstellt, die mit 4 Volumprozent Schwefeldioxyd gefüllt wird. In dieser Gaskonzentration, die Milben und Brut resflos abtötet, bleiben die Pferde 1 Stunde. Der der Gaswirkung nicht ausgesetzte Kopfteil wird mit milbentötenden Salben oder Flüssigkeiten behandelt.

Das Verfahren, Gase zur Bekämpfung von parasitären Hautkrankheiten zu benutzen, hat seine frühesten Vorgänger bereits im Mittelalter (vgl. Brieger 1918!). Zur endgültigen technischen Lösung gelangte das Problem erst im Kriege unter dem Einflusse der Erfahrungen des Gaskampfes und Gasschutzes. Nachdem Clark und Raper 1917 mit Chlor, und vor allen Dingen Bruce und Hodgson 1916 mit Schwefeldioxyd nach Schwefelverbrennung gewisse Erfolge bei der Behandlung krätziger Menschen erzielt hatten, wurde unabhängig voneinander und von diesen Vorarbeiten das Gasverfahren für den Hund von Lépinay und für das Pferd von Vigel und Chollet 1917 in Frankreich, und von Nöller 1917 in Deutschland in den Grundzügen zwar übereinstimmend, in wesentlichen Punkten aber abweichend ausgearbeitet und eingeführt. Nöller hatte bei seinen Vorversuchen auch an Blausäurebenutzung gedacht, aber dabei die Erfahrung machen müssen, daß die Blausäure von der Haut aus so schnell resorbiert wird, daß Pferde früher an Gasvergiftung verenden, ehe die Milben auf der Haut wesentlich geschädigt werden. Das Schwefeldioxyd dagegen pflegt in wirksamen Dosen bei sachgemäßer Anwendung keine Hautschädigung oder Allgemeinsymptome zu verursachen. Es kann hier nicht die Aufgabe sein, die Einzelheiten des Verfahrens zu schildern, da darüber besondere Bücher und Arbeiten vorliegen (Nöller 1919 u. 1920). Nur so viel sei erwähnt, daß das Verfahren mit Erfolg auch bei *Sarcoptes*-Räude des Rindes (Baumann 1920), der *Sarcoptes*-Räude des Hundes

(Hinz 1920) und vor allen Dingen in immer steigendem Maße bei der Psoroptes-Räude des Schafes (Roecke 1920, Nagel 1920 u. a.) Anwendung findet.

Die Tatsache, daß gelegentlich Gasvergiftungen von der Haut aus in seltenen Fällen vorkommen (Nöller 1919 u. a.), hat die Anwendung des Verfahrens beim Pferde nicht beeinträchtigen können.

Die Literatur über das Räudegasverfahren ist bis 1919 bei Nöller 1919 zusammengestellt; ein Nachtrag findet sich bei Nöller 1920. Außerdem sei auf Eberhard 1920 und 1921, Flury 1919, Frickhinger 1920, Habersang 1919, Jöchle 1920, Klein 1921, Kramer 1920, Kretschmar 1922, Pabst 1919, Pfenninger 1919, Raebiger 1920, Reinhardt 1919 und 1920, du Toit 1918 u. a. hingewiesen.

Köhn 1919 schlug vor, das Schwefeldioxyd durch Rauch von verbrannter Dachpappe (Teerrauch) zu ersetzen. Doch läßt sich bei den sehr zähen Räumilben mit diesem Rauche kein sicherer Erfolg erzielen. Immerhin dürfte sich die Durchprüfung der Teerräucherung und vielleicht der Räucherung mit Vegetabilien (z. B. der aus dem Mittelalter bekannten Wacholderräucherung) bei den empfindlichen Fliegen und Mücken empfehlen.

An neueren Vorschlägen ist der von Bertrand und Dassenville 1919 zu buchen. Diese Forscher möchten dem Chlorpikrin (Nitrochloroform) vor dem Schwefeldioxyd den Vorzug geben, können aber weder durch Angabe exakter Milbentötungsversuche, noch durch Hinweis auf die angeblich geringere Gefährlichkeit für Pferd und Personal ihre Empfehlung genügend stützen. Jedenfalls hat in Deutschland das Chlorpikrin keinen Eingang gefunden, weil das Schwefeldioxyd die Räude tilgung in kurzer Zeitspanne schon erreicht hatte.

Die Literatur über die Wirkung des Chlorpikrins findet sich bei Bertrand und seinen Mitarbeitern 1919, bei Moore 1918 und in der Zusammenfassung von Wille 1921.

Daß ebenso wie die Milbentötung auf dem Pferde auch die Stalldesinfektion durchgearbeitet werden mußte, liegt auf der Hand. Als Empfindlichkeitsziffern für Sarcptes-Milben des Pferdes gibt Nöller 1917 für Schwefeldioxyd als praktisch verwertbare Konzentration 3 Volumprozent bei 6-stünd. Einwirkung an. Blausäure dagegen betäubt in einer Konzentration von 2 Volumprozent in  $\frac{1}{2}$  Std. nur die Milben und 1 Volumprozent läßt selbst bei 6-stünd. Einwirkung bei Sommertemperatur die Eier am Leben. Es werden also in der Praxis so hohe Konzentrationen erforderlich, daß eine Desinfektion große Gefahren im Gefolge haben würde. An kresolhaltigen Lösungen erweist sich Kresotinkresol Merck bei 3-proz. und mehrstündiger Anwendung vollauf wirksam.

Auf den Menschen ist das Gasbehandlungsverfahren bei Krätze noch nicht übertragen worden. Bei den immerhin bestehenden Gefahren und dem geringen Bedürfnisse nach neuen Krätzeheilmitteln ist es fraglich, ob die Uebertragung überhaupt lohnen würde.

2. Die Läuse. Die Läuse sind blutsaugende Insekten, die ebenfalls ihre gesamte Entwicklung auf dem Körper von Mensch und Säugetier durchmachen. Die Eier werden an Haare angeklebt, nur eine Art des Menschen, die Kleiderlaus, legt sie hauptsächlich in ständig getragenen Kleidungsstücken ab.

Die chemische Bekämpfung richtet sich also bei Tieren in erster Linie gegen die Läuse auf dem Körper und geschieht durch Salben, wässrige Badeflüssigkeiten, Waschungen, Einreibungen mit läusetötenden,



flüchtigen Mitteln, Streupulvern und neuerdings bei Haustierläusen auch durch giftige Gase. Bei der Kleiderlaus des Menschen müssen in erster Linie die Kleider entlauset werden. Die Entlausung von Wohnungen, Stallungen, Kleidung und Geschirr, Sattelzeug, Putzzeug ist die zweite Aufgabe.

Die 3. Aufgabe, abschreckende Schutzstoffe zu finden, ist trotz vieler Versuche noch nicht zufriedenstellend gelöst.

Der Krieg hat mit Flecktyphus, Rückfallfieber, wolhynischem Fieber und einer allgemeinen Verlausung in Quartier und Schützengraben eine Hochflut von Arbeiten über die Biologie (Müller 1915, Hase 1915, Sikora 1915) sowie über Biologie und Bekämpfung (Nocht und Halberkann 1915, Halberkann 1916, Heymann 1915, Teichmann 1918, Dreuw 1915, Löffl 1915, Schiemann 1918, Neufeld 1915, Zucker 1915, Nuttall 1917 u. 1918) besonders der Kleiderlaus im Gefolge gehabt.

Wenn wir zunächst die Versuche, Läuse abhaltende oder auf dem Körper und in der Wäsche tötende Mittel zu finden, überblicken, so ergibt sich, daß, abgesehen von den z. B. in manchen russischen Gegenden üblichen Butterhemden (Blau 1917) und den Schutzanzügen eine ganze Reihe chemischer Stoffe von gewisser, sogar abtötender Wirksamkeit festgestellt wurde: Kresolpuder nach Herxheimer und Nathan 1915, Methylphenyläther (Anisol) nach Fränkel 1915, Kresolmethyläther und vor allem Globol (Dichlorbenzol) nach Nocht und Halberkann 1915, zahlreiche ätherische Oele (Wülker 1915, Sikora 1915, und Sergent und Foley 1915). Diesen Mitteln schließt sich eine Reihe weiterer, schon früher gebräuchlicher an. Es ist aber nicht möglich gewesen, mit Streupulvern oder derartigen Substanzen praktische Erfolge bei der Läusebekämpfung zu erzielen. Ja manche der käuflichen Mittel haben schon Schädigungen im Gefolge gehabt (nitrobenzolhaltige Mittel, vgl. Schultz 1915, und „Plagin“ nach Zernick 1915, Demsar 1915).

Bei der systematischen Entlausung kamen außer physikalischen Mitteln Versuche mit gutwirkenden verdampfenden Flüssigkeiten (Benzin, Xylol, Tetrachlorkohlenstoffe, Trichloräthylen, letzteres nach Kulka, Ragg und Felix) in Frage. Schwefelkohlenstoff mußte als zu explosiv ausgeschaltet werden. Seine Anwendung erübrigt sich auch deshalb, weil ihn das Trichloräthylen an Wirksamkeit erreicht. Bald aber bekamen, wie in der Raumdesinfektion, auch hier die Gase die beherrschende Rolle, wenn die physikalischen Mittel nicht ausreichten. Für das Schwefeldioxyd in einer Konzentration von 2,5 bis etwa 4 Volumprozent bei mehrstündiger Einwirkung sprachen sich vor allen Dingen Neufeld 1915, Nocht und Halberkann 1915 und Schiemann 1918 aus. Hornung gab 1920 genaue Untersuchungen über die Wirkungsgrenzen und Wirkungsbedingungen dieses Gases.

Die Blausäure wurde bereits von Heymann 1915 ohne rechten Erfolg versucht und dann von Teichmann 1917 in die Läusebekämpfung eingeführt. Die notwendige Arbeitskonzentration ist eine recht hohe; bei 1-stünd. Einwirkung sind 1,5 Volumprozent, bei 2-stünd. Dauer 1,0 Volumprozent Blausäure nötig, um alle Altersstufen und die Nissen abzutöten. Die außerordentlich hohe Konzentration gerade gegenüber den Läusen macht das Blausäureverfahren für die Wohnungsdurchgasung gegen Läuse noch mehr unbrauchbar als bei der Entwanzung. Nachdem man bei der Wohnungsdurchgasung mit Blausäure nunmehr eine ganze

Reihe von Menschenleben vernichtet hat (Freymuth 1921, Klostermann 1921) kommt man von der Blausäure jetzt immer mehr ab.

Auch das von Flury und Hase 1920 in die Schädlingsbekämpfung eingeführte Cyklon, hauptsächlich aus Cyankohlensäuremethylester bestehend, hat ja wegen seiner Gefahren weder in die Wanzen-, noch in die Läusebekämpfung Eingang finden können, nachdem Seligmann 1921 über schwere Schädigungen an den Genitalien der Arbeiter, und Klostermann 1921 auf die Gefahren hingewiesen hatte, eine Befürchtung, die auch Freymuth 1921 schon geäußert hatte.

Die wichtigsten Arbeiten über Blausäure- und Cyklonschädigungen sind Berg 1920, Klostermann 1921, Lehmann 1920, Seligmann 1921, Gilbricht 1921, Rasch 1921, Heerdt 1921 und Freymuth 1921.

Die Filzlausbekämpfung hat wesentliche Neuerungen nicht aufzuweisen.

In der Kopflausbekämpfung sind teils technische Verbesserungen geschaffen, teils neue Wege beschritten worden. An technischen Verbesserungen sind Hauben zu erwähnen, die man bei Verwendung verdampfender Läusemittel aufsetzt, so die Lixhaube nach Hase 1921 und die Hyghaube nach Schnell 1921. Besonders wertvoll ist aber die Einführung des Schwefeldioxyds in gasdichter Haube nach Muster des Räudeverfahrens durch Lenz 1921 geworden. Bei den Pferdelausen hat die Schwefeldioxydbehandlung in der Gaszelle eine radikale Vernichtung zur Folge (Nöller 1919). Die notwendigen Gaskonzentrationen für diese Laus stellt Hornung 1920 fest.

3. Die Haarlinge und Federlinge (Mallophagen). Haarlinge und Federlinge („Federläuse“) verbringen ihre ganze Entwicklungszeit auf der Haut im Haar- bzw. Federkleid von Säugetieren bzw. Vögeln. Sie haben beißende Mundteile, nähren sich von Hautschuppen und kleben ihre Eier an Haare oder Federn an.

Die chemische Bekämpfung ist wenig erforscht. Sie richtet sich gegen die Mallophagen im Haar- oder Federkleid und geschieht durch Salben, Waschungen oder Streupulver. Gase dürften sich am besten eignen. Sie sind aber, abgesehen von den Erfahrungen bei der Bekämpfung der Pferdehaarlinge noch nicht erprobt. Die  $\text{SO}_2$ -Gasziffern für einige Mallophagen bringt Hornung 1920. Ob das bei Federlingen des Geflügels von Bischopp und Wood 1919 so sehr gelobte Fluornatrium als Streupulver oder Bad hinreichend wirksam ist, muß noch abgewartet werden. Bei starkem Befall müßten auch Geschirr und Putzzeug desinfiziert werden, schließlich etwa sogar die Stallungen (nur im Notfalle, da die Tiere wenig das Bestreben haben, sich in der Außenwelt zu verbreiten).

4. Flügellose Lausfliegen. Die Schaflausfliege bringt ihr ganzes Leben auf dem Schafe zu, sie saugt Blut, lebt in der Wolle und legt dort ihre Puppen ab. Ihre Bekämpfung wird heute, abgesehen von der Salbenbehandlung und von Räudebädern, mit großem Erfolge mit Hilfe der Räudegasbehandlung durchgeführt.

Auch bei den geflügelten Lausfliegen der Haussäugetiere (Pferd, Rind, Hund in den Tropen) dürfte diese Bekämpfungsweise bei Massenbefall anzuwenden sein.

Bei den geflügelten Vogellausfliegen (Taube), die ihre Puppen auch in Nest und Stall ablegen, sind Nester und Stallungen mit zu desinfizieren. Systematische Untersuchungen fehlen aber hier noch.

Im vorliegenden Vortrage konnten nur Hauptpunkte der Bekämpfung hygienisch wichtiger Schädlinge gestreift werden. Es ist dringend nötig, nochmals auf die Vielgestaltigkeit des Gebietes aufmerksam zu machen und vor voreiligen Analogisierungen mit der Bakteriendesinfektion zu warnen.

Die wichtigste Erscheinung an dem neu aufstrebenden Gebiete ist das Handinhandarbeiten von Schädlingsbiologen mit Hygienikern und Toxikologen. Die moderne Giftbekämpfung formuliert ihre Forderungen ebenso scharf wie die moderne Chemotherapie, und es ist meines Erachtens nur eine Frage der Zeit, daß wir noch zu spezifischen Schädlingsgiftgasen gelangen, die bei exakter Dosierung das ungeschützte Säugetier oder den ungeschützten Menschen nicht schädigen, während sie den Schädling vernichten. Erfolgversprechende Befunde sind in dieser Richtung schon erhoben worden. (Vgl. Blausäure bei Stechmücken, Nitrobenzoldampfversuche bei verschiedenem Ungeziefer nach Moore 1916, deren Ungefährlichkeit aber von Chandler mit Recht bestritten wird, und die Trichloräthylenversuche von Nöller 1920 bei *Sarcoptes*-Milben!). Alle diese Versuche können bisher nur als Anfänge angesehen werden, deuten aber die Möglichkeit der Lösung des Problems an.

Weiter ist zu betonen, daß die neuere Schädlingsbekämpfung mit einem gefährlichen Rüstzeuge arbeitet, das einer Aufsicht durch Aerzte und Tierärzte gar nicht entbehren kann, ja hie und da gesetzgeberische Maßnahmen erforderlich macht (Blausäure). Ja, es dürfte auch anzustreben sein, daß alle sich gewerbsmäßig mit der Schädlingsbekämpfung befassenden Personen eine staatliche Prüfung durchmachen und Konzession besitzen müssen, eine Forderung, die schon von mehreren Seiten immer wieder erhoben worden ist. Denn nur so lassen sich Wirkungen der Schädlingsbekämpfung erhöhen und die Schädigungen möglichst herabdrücken. Der Staatsbürger hat ja letzten Endes ein Recht darauf, daß er nicht zum Versuchsobjekte von Schädlingsbekämpfern mit unwirksamen oder ungeprüften, teuren Mitteln einerseits, oder aber von kuragierten Ungezieferbekämpfern, welche auch vor dem gefährlichsten und bedenklichsten Mittel nicht zurückschrecken, gemacht werden darf.

#### Literatur zum Referat Nöller.

- (1915), Ungezieferplage und Ungezieferbekämpfung. Dtsch. Verl. f. Volkswohlf., Dresden. — (1919), Räudegazellen im Betrieb durch Laien. (Berlin. tierärztl. Wochenschrift. Jg. 35. Heft 18. S. 152.) — (1919), Gasbehandlung räudekranker Pferde. Preuß. Min. f. Landwirtschaft, Domänen u. Forsten. Nr. IA II Ig 1916 vom 30. I. 1919. (Veröff.: Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Nr. 8. S. 64.) — Abbot, W. S. (1919), Naphthalene vs. chicken lice. (Journ. Econ. Entom. Concordia. Vol. 12. 1919. S. 397—402; Ref.: Bull. Inst. Pasteur. T. 18. S. 117. — Andresen, S. (1912), Die Vertilgung schädlicher Tiere und Pflanzen. Verl. Trowitzsch, Berlin. — Axenfeld (1915), Naphthalin und Sehorgan. (Dtsch. med. Wochenschr. Jg. 1915. Nr. 19.) — Bacot, A. (1914), A study of the bionomics of the common rat fleas and other species associated with human habitations. (Journ. of hygiene. Plague Suppl. III. Jan. 1914. p. 447—654.) — Ders. (1916), The temperature necessary for the destruction of lice and their eggs. (Brit. med. journ. 1916. p. 167.) — Ders. (1917), A simple means of ascertaining if a sterilizing hut is hot enough to destroy lice and nits in clothing or blankets. (Brit. med. journ. 1917. p. 151.) — Ders. and Martin, C. J. (1914), Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. (Journ. of hygiene. Vol. 13. Plague Suppl. III.) — Ders. and Ridewood, W. G. (1914), Observations on the larvae of fleas. (Parasitology. Vol. 7. p. 157—175.) — Bahr, L. (1921), Ueber Rattenvertilgungsmittel. (Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 87. S. 466—470.) — Baumann, E. (1919), Gasbehandlung räudekranker Rinder. (Tierärztl. Rundsch. Jg. 25.

Nr. 22. S. 231. — Bedford, H. (1915), Experiments and observations carried out with *Psoroptes communis* at Onderstepoort. (Union South Africa Dept. of Agricult. 3 and 4th reports of the Director of Veterinary Research. 12. Nov. 1915. p. 101—105.) — Berg (1920), Blausäurevergiftungen durch Fahrlässigkeit des Kammerjägers. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Jg. 33. Nr. 11.) — Bertrand, G. (1919), Sur la haute toxicité de la chlorpicrine vis-à-vis de certains animaux inférieurs. (Compt. rend. acad. sci. T. 168. p. 742. — Ders., Brocq-Rousseau et Dassonville (1919), Destruction du charancon par la chlorpicrine. (Compt. rend. acad. sci. T. 169. p. 880—882.) — Dies. (1919), Influence de la température et d'autres agents physiques sur le pouvoir insecticide de la chlorpicrine. (Compt. rend. acad. sci. T. 169. p. 1059—1061). — Dies. (1919), Action comparée de la chlorpicrine sur le charancon et sur le trilobium. (Compt. rend. acad. sci. T. 169. p. 1428—1430.) — Dies. (1919), Destruction de la punaise des lits (*Cimex lectularius* Mer.) par la chlorpicrine. (Compt. rend. acad. sci. t. 169. p. 441—443.) — Ders. et Dassonville (1919), Sur le traitement de la gale des équidés par les vapeurs de chlorpicrine. (Compt. rend. acad. sci. T. 169. p. 486—489.) — Ders. et Rosenblatt (1919), Action toxique comparée de quelques substances volatiles sur divers insectes. (Compt. rend. acad. sci. T. 168. p. 911.) — Bishopp, F. C., and Wood, H. P. (1917), Mites and lice on poultry. (Farmer's Bull. No. 801. U. S. Depart. Agric. Bur. Entom. Washington 1917. 26 p. — Dies. (1917), Preliminary experiments with sodium fluoride and other insecticides against biting and sucking lice. (Psyche [Boston]. Vol. 24. No. 6. Dez. 1917. p. 187—189; Ref. Rev. of applied Entom. Vol. 6 [1918]. p. 89.) — Ders. (1920), Thoughts on insects in relation to production of live-stock and poultry. (Journ. Americ. vet. med. assoc. Vol. 57. [New ser. fol. 10.] p. 414—422.) — Blaschko, A. (1915), Zur Prophylaxe des Flecktyphus. (Dtsch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 1. S. 12 und Nr. 8. S. 228.) — Blau (1917), Die planmäßige Insektenbekämpfung bei den Russen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 83. S. 343—388.) — Bourcart, E. (1910), Les maladies des plantes. Leur traitement raisonné et efficace en agriculture et horticulture. Paris, Verl. Doin. — Bruce, J., and Hodgson, St. (1916), Treatment of scabies by sulphur vapour. (Brit. med. journ. 5. Aug. 1916. Nr. 2901. p. 177—178.) — Bruck, F. (1915), Zur Läusebekämpfung mittels Cinol. (Med. Klinik. 1915. S. 1240.) — Chandler, W. (1917), Investigations of the value nitrobenzol as a parasiticide with notes and its use in collecting external parasites. (The journal of parasitology, Urbana, Vol. 4. p. 27—32.) — Chapin, R. M. (1916), The chemical composition of lime-sulphur animal dips. (U. S. Dept. of Agriculture. Bull. Nr. 451. 14. Dez. 1916.) — Clark, H., and Raper, S. (1917), The treatment of scabies by chlorine gas. (Brit. med. journ. 28. Juli 1917. Nr. 2952. p. 113.) — Clayton, T. A. (1917), Guérison de la gale, des teignes et des phthiriasés animales par la sulfuration. (Bull. acad. méd. T. 78. p. 811—819. 29. Dez. 1917.) — Cooper, W. F. and Laws, H. E. (1915), Some observations on the theory and practice of dipping. (Parasitology. Vol. 8. p. 190—217.) — Curschmann, F. (1915), Zur Vertilgung der Läuse im Felde. (Dtsch. med. Wochenschr. 1915. S. 891.) — Demsar (1915), Aus der Feldpraxis. (München. med. Wochenschr. Jg. 62. Feldärztl. Beil. Nr. 19. S. 671. — Doerr, R., u. Russ, V. (1913), Die Phlebotomen. In: Mense, C. (1913), (Handb. d. Tropenkr. 1. Bd. S. 263—283.) — Eberhard (1920), Ueber Erfahrungen bei der Gasbehandlung der Pferderäude mit Schwefeldioxyd, insbesondere über den Einfluß derselben auf die Temperatur, die Puls- und Atemfrequenz. (Inang. Diss. Berlin 1920 u. Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 32. S. 81; Ref. Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 37. Nr. 18. S. 209—210.) — Ders. (1921), Ueber Todesfälle, Erkrankungen und Beschädigungen bei der Gasbehandlung der Pferderäude. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 37. Nr. 33. S. 385—387.) — Enderlein, G. (1921), Das System der Kriebelmücken (Simuliidae). (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 29. Nr. 16. S. 197—200.) — Engelberting (1920), Uebertragung der Räude des Pferdes auf den Menschen. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 28. Nr. 43. S. 501—502.) — Ernst, W. (1919), Neuere Arbeiten über Räudeheilung und Bekämpfung. (München. tierärztl. Wochenschr. Jg. 70. Nr. 8. S. 113 u. Nr. 9.) — Escherich K. (1913), Die angewandte Entomologie in den Vereinigten Staaten. Verl. Parey, Berlin. — Ewert, R. (1916), Die Ermittlung der in Teerdämpfen enthaltenen pflanzenschädlichen Bestandteile. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. 50. S. 695—832.) — Eysell, A. (1913), Krankheitserreger und Krankheitsüberträger unter den Arthropoden. (In Mense, Handb. d. Tropenkr. 2. Aufl. Bd. 1.) — Felix, A. (1915), Zur Methode der Läusevertilgung durch Dämpfe chemischer Agentien. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 28. S. 647—648.) — Flury, F. (1919), Die Tätigkeit des Kaiser Wilhelm-Instituts . . . im Dienste der Schädlingsbekämpfung. (Verh. d. Dtsch. Ges. f. angew. Entom. z. 2. Mitgliedervers. im Sept. 1918. S. 61—75.) — Ders. und Hase, A. (1920), Blausäurederivate zur Schädlingsbekämpfung. (München. med. Wochenschr. 1920. Nr. 27. S. 779—780.) — Forster, M. H. (1918), Preliminary report on carbon tetrachloride vapour as a delousing agent. (U. S. Publ. Health Repts. Washington. Vol. 33. 1918. Nr. 43.) — Fränkel, S. (1915), Ueber ein neues sehr wirksames Mittel gegen

die Kleiderlaus. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 313.) — Ders. (1915), Weitere Mitteilungen über läusetörende Mittel. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 371.) — Freymuth, A. (1921), Todesfälle durch Blausäure. (Desinfektion. Jg. 6. Heft 7. S. 244—246.) — Ders. (1922), Die Chemie im Kampf mit den Parasiten. (Vortragsbericht. Dtsch. Allg. Ztg. 10. Juni 1922. Morgenausg. 2. Beiblatt. Hinweis auf Blausäuregesetz.) — Frickhinger, H. W. (1916) (Referat über Depoli, G.): Dichlorbenzol als Insektentötungsmittel. (Zeitschr. f. angew. Entom. Bd. 3. S. 436.) — Ders. (1919), Die Gasbehandlung der Pferderäude. (Die Umschau. Jg. 23. Nr. 30. S. 470—473.) — Ders. (1920), Schwefeldioxyd in der Schädlingsbekämpfung. (Prometheus. Jg. 32. Heft 1. S. 14—16.) — Friederichs, K. (1921), Zur Kriebelmückenfrage. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 28. Nr. 14. S. 171—173 u. Nr. 17. S. 212—213.) — Ders. (1919, 1921), Untersuchungen über Simuliiden. Teil I u. II. Zeitschr. f. angewandte Entomolog. Teil I. Bd. 4. S. 61—83; Teil II. Bd. 8. S. 31—92.) — Ders. (1920), Neues über Kriebelmücken. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jg. 36. Nr. 48. S. 567—569.) — Ders. (1920), Zur Kenntnis der deutschen Simuliiden. Vorläufige Mitteilung. (Sitzungsbericht u. Abh. der naturforsch. Gesellsch. Rostock. Neue Folge. Bd. 7.) — Ders. (1921), Ueber Kriebelmücken und Gnitzen. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 63. H. 1 u. 2. S. 7—19 u. S. 62—71.) — Galewsky (1915), Zur Behandlung und Prophylaxe der Kleiderläuse. (Dtsch. med. Wochenschr. 1915. S. 285—652.) — Galli-Valerio, B. (1916), Neue Beiträge zur Biologie und zur Bekämpfung der Läuse. (Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 78. 1916. S. 37.) — Gilbricht, E. (1921), Ueber Todesfälle bei Begasungen mit Blausäure und Blausäurederivaten. (Desinfektion. Jg. 6. H. 10. S. 353—356.) — Glaserfeld, Br. (1918), Pferderäude beim Menschen. (München. med. Wochenschr. Jg. 1918. Nr. 22.) — Grassberger, R. (1913), Die Desinfektion in Theorie und Praxis. Für Aerzte, Chemiker und Ingenieure. Verl. Hirzel, Leipzig. — Habersang (1918), Diagnose und Therapie der Pferderäude. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 34. S. 331.) — Ders. (1919), Schwefeldioxydvergiftungen in der Räudegaszelle. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 30. S. 371.) — Halberkann, J. (1916), Chemische und physikalische Methoden zur Bekämpfung der Kleiderläuse. (Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene. Beihefte zu Bd. 20. S. 77.) — Harms, B. (1918), Die Gasbehandlung der Pferderäude. (Die Naturwissenschaften. Jg. 6. Heft 46. S. 673—675.) — Hase, A. (1915), Beiträge zu einer Biologie der Kleiderlaus. (Verl. Parey, Berlin und Zeitschr. f. angew. Entom. Bd. 2.) — Ders. (1916), Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Läusebekämpfung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 81. S. 319—378.) — Ders. (1917), Die Bettwanze. Ihr Leben und ihre Bekämpfung. (Monogr. z. angew. Entom. Nr. 1 zu Bd. 4 zur Zeitschr. f. angew. Entom. Verl. P. Parey, Berlin. 144 S.) — Ders. (1918), Ueber die Bekämpfung der Bettwanzen (*Cimex lectularius* L.) mittels Cyanwasserstoff (Blausäure). (Zeitschr. f. angew. Entom. Bd. 4. S. 297—309.) — Ders. (1919), Neue Beobachtungen und Versuche über die Lebensfähigkeit der Kleiderläuse und ihrer Eier. (Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 82. S. 461.) — Ders. (1919), Die Bekämpfung der Läuse, Wanzen und anderer Parasiten, insbesondere die Bekämpfung mittels Blausäure. (Verh. d. Dtsch. Ges. f. angew. Entom. 2. Mitgliedervers. Sept. 1918. S. 88—105.) — Ders. (1919), Neue Beobachtungen aus dem Leben der Bettwanze (*Cimex lectularius* L.). (Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 83. S. 22—39.) — Ders. (1920), Ueber die wirtschaftliche Bedeutung von Ungeziefer und Schädlingen sowie über einige Aufgaben der Praxis aus der angewandten Zoologie, besonders Entomologie. (Zeitschr. f. techn. Biol. Bd. 8. Heft 3/4. S. 156—194.) — Ders. (1920), Ueber die praktische Ausgestaltung des Unterrichts in Schädlingskunde. (Naturwissenschaftl. Monatsh. f. d. biologischen, chemischen, geographischen u. geologischen Unterricht. Bd. 19. Heft 3. S. 57—71.) — Ders. (1921), Zur Frage der Kopflausbekämpfung. (München. med. Wochenschr. Nr. 37. S. 1193—1194.) — Ders. (1921), Ueber die wirtschaftliche Bedeutung der Ungezieferbekämpfung sowie über ein neues Verfahren zur Wohnungsassanierung. („Kali“, Zeitschrift f. Gewinnung, Verarbeitung u. Verwertung d. Kalisalze. 15. Jg. H. 1. S. 8—12.) — Heerdt, W. (1921), Zur Cyanfrage. (Desinfektion. Jg. 6. Heft 12. S. 433—435.) — v. Herff (1915), Zur Vertilgung der Läuse. (München. med. Wochenschr. 1915. Nr. 13. S. 457—458.) — Herxheimer, K., u. Nathan, E. (1915), Zur Prophylaxe und Verbreitung des Ungeziefers im Felde. (Therap. Monatshefte. Jg. 29.) — Dies. (1915), Ein weiterer Beitrag zur Bekämpfung des Ungeziefers im Felde. (München. med. Wochenschr. Jg. 62. Feldärztliche Beilage Nr. 24. S. 831—832.) — Heymann, B. (1915), Die Bekämpfung der Kleiderläuse. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. S. 299.) — Hinz, W. (1919), Ueber Versuche der Begasung von Hunden mit SO<sub>2</sub>. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. S. 403—405.) — Hoffmann, J. A. (1919), Begasung gegen Räude. (Tierärztl. Rundsch. Jg. 25. Nr. 18. S. 180—182.) — Hoffmann, J. A. (1919), Gasbehandlung räudekranker Rinder. (Tierärztl. Rundschau. Jg. 25. Nr. 22. S. 218.) — Ders. (1919), Bestimmungen zur Versicherung räudekranker Pferde gegen etwaige Nachteile der Gasbehandlung. (Tierärztl. Rundsch. Jg. 25.

Nr. 35. S. 408—409. Nachtrag. Nr. 37. S. 444.) — Ders. (1919), Behandlung der Rände in Gaszellen. (Tierärztl. Rundschau. Jg. 25. Nr. 31. S. 355.) — Hollrung, M. (1898), Handbuch der chemischen Mittel gegen Pflanzenkrankheiten. 1. Aufl. Verlag P. Parey, Berlin. — Ders. (1914), Die Mittel zur Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten. 2. Aufl. des „Handb. d. chem. Mittel . . .“ Verlag Parey, Berlin. — Hornung, W. (1920), Die Grundlagen der Anwendung von Schwefeldioxyd bei der Ungezieferbekämpfung. (Veröffentlichungen aus dem Gebiete der Medizinalverwaltung. Bd. 11. Heft 2. S. 211—230.) — Jöchle (1920), Versuche zur Bekämpfung der Dasselplage mit giftigen Gasen. (München. tierärztl. Wochenschr. Jg. 71. Nr. 28, 29 u. 30.) — Klein, W. (1921), Wirkung der schwefligen Säure auf den Organismus mit besonderer Berücksichtigung der perkutanen Säurevergiftung. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jg. 37. Nr. 5. S. 49—51.) — Klostermann, M. (1921), Ueber die Gefahren der Blausäure- und Zyklondurchgasungen. Desinfekt. H. 6. S. 212—217. — Knuth, P., u. du Toit, P. J. (1921), Tropenkrankheiten der Haustiere. (Mense, Handb. d. Tropenkrankh. 2. Aufl. Bd. 6.) Verl. Barth, Leipzig. Biologie und Bekämpfung der Zecken. S. 452—514 u. S. 572—581. — Kobert, R. (1906), Lehrbuch der Intoxikationen. 2. Aufl. Bd. 2. Verl. Enke, Stuttgart. — Kockerois, J. (1912), Ungeziefer, Schmarotzer und Schädlinge aus dem Tierreich. Ihr Vorkommen und ihre Bekämpfung. Verl. Schaper, Hannover. — Köhn (1919), Kopfbehandlung der Rände mit Dioxydöl. (Zeitschr. f. Veterinärk. Jg. 31. S. 315—316.) — Ders. (1919), Räudebekämpfung durch Teerräucherung. (Zeitschr. f. Veterinärk. Jg. 31. S. 129—137.) — Kramer (1920), Versuche mit der Schwefeldioxydbehandlung der Räude bei Haustieren. Inaug.-Dissert. (Ref. Tierärztl. Rundsch. Jg. 26. S. 318.) — Kretschmar (1922), Ueber die Schafräudetilgung in Ostpreußen im Jahre 1921. („Georgine“ Land- u. forstwirtschaftl. Zeitung v. 1. IV. 22. Nr. 13.) — Krüger (1919), Ein Fall von Vergiftung nach Begasung mit SO<sub>2</sub>. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Nr. 31. S. 272.) — Kulka, W. (1915), Ein neues Mittel zur Läusevertilgung. (München. med. Wochenschr. 1915. S. 630.) — Kunze, M. (1919), Zur Einrichtung von Begasungs-(Enträudungs-)Anstalten. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Nr. 34. S. 308—309.) — Labbé, H. (1915), Destruction des poux et traitement des phthirases. (Bull. acad. méd. T. 73. p. 615.) — Ders. et Wahl, M. (1915), Recherches sur l'intoxication des insectes du genre „Pediculus“ par les vapeurs de différents corps minéraux ou organiques. (Journ. de physiol. et de path. gén. T. 16. p. 872.) — Lehmann, K. B., u. Mitarbeiter (1911), Die gechlorten Kohlenwasserstoffe der Fettreihe, nebst Betrachtungen über die einphasische und zweiphasische Giftigkeit ätherischer Körper. (Arch. f. Hyg. Bd. 74. S. 1—60.) — Ders. (1919), Arbeits- und Gewerbehygiene. III. Die Gefährdung des Arbeiters durch chemische Gifte. In: Rubner, Gruber u. Ficker (1919), Handb. d. Hyg. Bd. 4. 2. Abt. S. 127—274. — Ders. (1920), Bestehen gerechtfertigte hygienische Bedenken gegen die Verwendung von Blausäure und blausäurehaltigen Mitteln (Zyklon) als Vernichtungsmittel für Ungeziefer im großen (Entwesung)? (München. med. Wochenschr. Nr. 53. S. 1517—1520.) — Lenz, A. (1921), Ueber ein neues Verfahren zur Bekämpfung der Kopfläuse mit Schwefeldioxyd. (München. med. Wochenschr. Nr. 39. S. 1252—1253.) — v. Lobaczewski, A. R. (1915), Zur Frage der „Entlausung“. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 373.) — Löffl, K. (1915), Ungeziefer tödende Chemikalien. (In: „Der chemisch-technische Fabrikant“. Beilage zur Seifensiederzeitung. Augsburg. Jg. 1915. S. 289—290.) — Mac Cormac, H., and Small, W. D. (1917), The scabies problem on active service. (Brit. med. journ. No. 2960. 22. Sept. 1917. p. 384.) — Martini, E. (1920), Ueber Stechmücken, besonders deren europäische Arten und deren Bekämpfung. (Beihfte zum Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 24. Beiheft 1. 267 S.) — Moore (1916), Fumigation of animals to destroy their external parasites. (Journ. of econ entomol. Vol. 9. p. 71—80.) — Ders. (1917), Volatility of organic compounds as an index of the toxicity of their vapors to insects. (Journ. of agricult. research. Vol. 10. H. 7.) — Ders. (1918), The effect of laundering upon lice (*Pediculus corporis*) and their eggs. (Journ. of Parasitol. Urbana. Vol. 5. p. 61—68.) — Ders. (1918), Fumigation with Chlorprolin. (Journ. of economic entomology. Vol. 11. No. 4. p. 357—362.) — Müller, J. (1915), Zur Naturgeschichte der Kleiderlaus. Verl. Alfr. Hölder, Wien u. Leipzig. — Nagler, A. (1920), Bekämpfung der Schafräude durch Begasung. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 36. Nr. 47. S. 553—554.) — Neumarck, E., u. Heck, H. (1921), Ueber Rattenvertilgung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 87. S. 39—50.) — Nevermann u. Wilhelm (1920), Zur Bekämpfung der Kriebelmückenplage. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 28. Nr. 12/13. S. 133—138, und Berl. tierärztl. Wochenschr. Jg. 26. Nr. 14. S. 151—156.) — Nocht, B., u. Halberkann, J. (1915), Beiträge zur Läusefrage. (München. Wochenschr. S. 626.) — Nöllner, W. (1917), Zur Biologie u. Bekämpfung des *Sarcoptes milbe* des Pferdes. (Zeitschr. f. Veterinärkunde. Jg. 29. S. 481—504.) — Ders. (1919), Die Behandlung der Pferderäude mit Schwefeldioxyd. Verlag R. Schoetz, Berlin. — Ders. (1919), Zur Parasitenkunde bei Haus- und Nutztieren. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 27. Nr. 49.

S. 1—18.) — Ders. (1920), Kurze Bemerkungen zur Biologie und Bekämpfung der Sarcopotesmilbe des Pferdes. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 23. Nr. 3. S. 25—29.) — Nuttall, G. H. F. (1917), Bibliography of Pediculus and Phthirus (Parasitology. Vol. 10. p. 1—42.) — Ders. (1918), Combating lousiness among soldiers and civilians. (Parasitology. Vol. 10. p. 411—586.) — Pabst, H. (1919), Ueber die Konzentrationsabnahme von Schwefligsäureanhydrid während der Begasung der Räudepferde. Inaug.-Diss. Tierärztl. Hochschule Hannover. — Patton, W. S., and Cragg, F. H. (1913), A textbook of medical entomology. London, Madras u. Calcutta. — Pfenninger, W. (1919), Erfahrungen über die Schwefligsäureanhydridbehandlung bei räudekranken Maultieren. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. 61. Heft 9 u. 10.) — Prowazek, S. v. (1915), Bemerkungen über die Biologie und Bekämpfung der Kleiderlaus. (München. med. Wochenschr. 1915. S. 67.) — Raebiger (1919), Gasbehandlung räudekranker Rinder. (Tierärztl. Rundsch. Jg. 25. S. 193—194.) — Ders. (1920), Gasbehandlung der Schafräude mittels  $\text{SO}_2$ . Vortragsbericht. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 36. Nr. 37. S. 439. Im Sitzungsberichte des Vereins Thüringer Tierärzte.) — Ders., u. Bahr, L. (1922), Ueber Mißstände und Gefahren bei dem Verkehr mit bakteriellen Ratten- und Mäusevertilgungsmitteln. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 95. S. 442—445.) — Ders., u. Ehrlich, K. (1920), Zur Behandlung der Räude bei Pferden und Rindern mittels Schwefeldioxyd. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jg. 28. S. 1—5.) — Rasch, W. (1921), Die Bedeutung der Blausäure und ihrer Derivate für die Schädlingsbekämpfung. (Desinfektion. Jg. 6. Heft 5 u. 6. S. 153—177 u. S. 201, 212.) — Reh, L. (1917), Die wichtigsten Schädlinge des Gemüsebaues und ihre Bekämpfung. 2. Aufl. Verl. Edm. Buchner, Hamburg. — Ders. (1919), Ratten und Mäuse, ihre Bedeutung für den Menschen und ihre Bekämpfung. (Vortrag vom 28. Mai 1919. Kurzer Bericht in: Verh. d. naturwiss. Vereine zu Hamburg. 3. Folge. Verh. 26. S. 27—28.) — Reinhardt, R. (1919), Mitteilungen aus dem Pferdelaazarett Brüssel. XIV. Vergiftungen durch Schwefligsäureanhydrid. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Heft 18. S. 148—149.) — Ders. (1919), Mitteilungen aus dem Pferdelaazarett Brüssel. XV. Zur Geschichte der Schwefeldioxydbehandlung der Räude. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Nr. 19. S. 155.) — Reuter, O. M. (1913), Die Familie der Bett- oder Hauswanzen. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiologie. Bd. 9. S. 251.) — Reuter (1920), Rückblick über den Gaskampf. (Zeitschr. f. Veterinärkunde. Jg. 32. S. 97—99.) — Rittershofer, A. (1922), Die Entstehung und Bekämpfung von Rattenplagen. (Der Ungeziefer- und Schädlingsbekämpfer. Jg. 2. Nr. 2 u. 3.) — Roecke (1919), Ein neues Verfahren zur Behandlung der Schafräude. (Dtsch. landwirtschaftl. Tierzucht. Ausg. A. Jg. 23. Nr. 52. S. 352—353.) — Ders. (1919), Aus der Praxis der Räudebekämpfung, insbesondere der Behandlung der Räude mit  $\text{SO}_2$ . (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 35. Nr. 48. S. 479.) — Ders. (1919), Räudegasbehandlung bei Schafen. (Tierärztl. Rundschau. Jg. 25. Nr. 33. S. 384.) — Roubaud, E. (1915), Études biologiques sur la méthode biothermique de destruction des œufs dans le tas de fumier. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 615; Ref. Bull. de l'Inst. Past. 1916. T. 14. p. 188.) — Ders. (1915), Production et autodestruction par le fumier de cheval des mouches domestiques. (Compt. rend. acad. sci. 1915. p. 325; Ref. Bull. de l'Inst. Past. T. 13. 1915. p. 690.) — Ders. (1919), Antagonisme du bétail et de l'homme dans la nutrition de l'Anopheles maculipennis. La rôle antipaludique du bétail domestique. (Compt. rend. acad. sci. T. 169. p. 483—485.) — Ders. (1920), Les conditions de nutrition des Anopheles en France du bétail et le rôle du bétail dans la prophylaxie du paludisme. (Ann. Inst. Past. T. 34. p. 181—228.) — Rosenhaupt, H. (1917), Die Weilsche Krankheit als Kriegseuche. Ein neuer Krankheitsüberträger aus dem Insektenreiche. (Die Naturwissenschaften. Jg. 5. S. 435—438.) — v. Saceghem, R. (1918), La peste du cheval ou horse-sickness au Congo belge. (Bull. soc. path. exot. T. 11. p. 423—432.) — Scheuring, L. (1920), Die Ueberwinterung niederer Wassertiere in vorübergehend trockengelegten Gewässern. (Allg. Fischerei-Zeitg. Jg. 45. Nr. 20. S. 238—241.) — Schiemann, O. (1918), Ueber schweflige Säure als Mittel zur Tötung von Läusen und Flöhen. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankh. Bd. 87. p. 389—409.) — Schnell, W. (1921), Ein schnelles und sicheres Verfahren zur Kopflausbeseitigung. (Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 42. S. 1264—1265.) — Schuemaker (1919), Vorschläge zur raschen und gründlichen Bekämpfung der Pferderäude. (Mitteil. d. Vereins badischer Tierärzte. Jahrg. 19. Nr. 2. S. 9; Ref.: Münch. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 70. Nr. 20. S. 346—347.) — Schultz (1915), Nitrobenzolvergiftung durch Einatmen eines Läusemittels. (Münch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 13. S. 458.) — Schwartz, M. (1913), Mittel und Maßnahmen zur Bekämpfung der schädlichen Tiere. (In: Sorauer, P. (1907—1913). Handb. d. Pflanzenkrankh. 3. Aufl. Bd. 3. S. 726—747.) — Seel, E. (1915), Ueber Mittel und Wege zur vollständigen Entlausung. (Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 49. S. 1464.) — Seligmann, E. (1921), Schwere Hautschädigungen durch Zyklondämpfe. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 45. S. 1329—1331.)

— Sergent, Edm., et Foley, H. (1915), Destruction par l'essence d'Eucalyptus des poux du corps. . . (Bull. soc. path. exot. T. 8. p. 378—381.) — Shilston, A. W. (1915), Observations on the life-history of *Psoroptes communis* var. *ovis*. (Union South Africa. Dept. of Agricult. 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> Rep. of the Director of Veterinary Research. 1915. p. 71—98.) — Sikora, H. (1915), Beiträge zur Biologie von *Pediculus vestimenti*. (Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 76. S. 523.) — Stokes, J. H. (1914), A clinical, pathological and experimental study of the lesions produced by the bite of the black fly (*Simulium venustum*). (The Journ. of cutaneous diseases. Vol. 32. p. 751—769 u. p. 830—856. New York. Nov./Dez. 1914. Bericht in Riley and Johanssen (1915), Handbook of medical entomology. p. 321—326. Ithaca, New York und Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 28. Nr. 49. S. 584—585.) — Teichmann, E. (1917), Ein neues Mittel zur Bekämpfung der Stechmücken. (Münch. med. Wochenschr. Nr. 32. S. 1041—1042.) — Ders. (1917), Cyanwasserstoff als Mittel zur Entlausung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 83. S. 449—466.) — Ders. (1917), Bekämpfung der Stechmücken durch Blausäure. (Ebenda. Bd. 85. S. 1—16.) — Ders. (1918), Bekämpfung der Stechmücken durch Blausäure. (Ebenda. Bd. 86. S. 35—51.) — Ders. (1918), Blausäureverfahren und Winterbekämpfung bei Stechmücken. (Zeitschr. f. angew. Entomol. Bd. 5. S. 118—125.) — Ders. (1918), Die Bekämpfung der Wachsmotte (*Galleria melonella*) durch Blausäure. (Ebenda. Bd. 4. S. 287—289.) — Ders. u. Nagel, W. (1919), Versuche über Entgiftung eingeatmeter Blausäure durch Natriumthiosulfat. (Biochem. Zeitschr. Bd. 93. S. 312—323.) — du Toit, P. J. (1917), Ueber das Sammeln und die Zucht der heimischen Zecke, *Ixodes ricinus* L. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jg. 1917. S. 109 u. 124.) — Ders. (1918), Bemerkungen zur Gasbehandlung der Pferderäude. (Ebenda. Jg. 34. S. 361—362.) — Ders. (1918), Ueber Zecken und deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 19. S. 1—16. S. 97—128 u. S. 210—241.) — Uhlenhuth, P., u. Hübener, F. (1913), Bakterien der Paratyphusgruppe als Krankheitserreger bei Tieren. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. v. Kollé-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 1089—1090 u. S. 1118.) — Valentin, F. (1918), Chemischer Befund einer Rohölvergiftung der Pferderäude. (Wien. tierärztl. Monatsschr. 5. Jahrg. H. 8. S. 231—239.) — Weidner, E. (1917), Behandlung der auf den Menschen übertragenen Pferderäude mit Petroleum. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 64. S. 132 (60).) — Wesenberg, G. (1915), Zur Bekämpfung der Läuseplage. (Dtsch. med. Wochenschr. 1915. S. 86. — Widmann, E. (1915), Zur Frage der Uebertragung von Bakterien durch Läuse. (Münch. med. Wochenschr. 1915. Feldärztl. Beil. Nr. 39. S. 1336—1338.) — Ders. (1915), Beiträge zur Kenntnis der Biologie der Kleiderlaus und deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1915. Bd. 80. S. 289—298.) — Wille, J. (1921), Chlorpikrin als Schädlingsbekämpfungsmittel in seinen Wirkungen auf Tier und Pflanze. (Die Naturwissenschaften. Jg. 1921. H. 3. S. 1—8.) — Ders. (1920), Blausäuredurchgasung und Lebensmittel. (Gesundheitsingenieur. 1920. Nr. 37. S. 227—238.) — Willführ u. Wendlandt (1921), Ueber Massenerkrankungen durch Ratinkulturen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 94. S. 192—199.) — Wilhelmi, J. (1917), Die gemeine Stechfliege (Wadenstecher). (Zeitschr. f. angew. Entomol. Bd. 4. Beiheft 2 [Monographie].) — Ders. (1919), Die angewandte Zoologie als wirtschaftlicher, medizinisch-hygienischer und kultureller Faktor. Verl. J. Springer, Berlin. — Ders. (1919), Versuche zur Bekämpfung der in Kot, Mist und anderen organischen Abfallstoffen lebenden Muscidenbrut, insbesondere der gemeinen Stechfliege (*Stomoxys calcitrans*), mit Kalisalzen und anderen Chemikalien. (Mitteil. a. d. Landesanst. f. Wasserhyg. H. 25. S. 190—273.) — Ders. (1920), Die Kriebelmückenplage, Uebersicht über die Simuliidenkunde, besonders in praktischer Hinsicht. Verl. G. Fischer, Jena. — Ders. (1921), Das Cyanwasserstoffverfahren, insbesondere in wasserhygienischer Hinsicht. (Hyg. Rundsch. Nr. 4. S. 97—105.) — Ders. (1921), Neuere Verfahren der Verwendung von Kalk bei der Bekämpfung wirtschaftlicher und gesundheitlicher Schädlinge. (Vortrag, gehalten auf der außerordentlichen Hauptversammlung des Vereins deutscher Kalkwerke e. V. am 29. Juni 1921 in Weimar.) — Ders. (1921), Ueber die Fortschritte der praktischen Kriebelmückenforschung und die wasserhygienischen Gesichtspunkte der Bekämpfung. (Hyg. Rundschau. Nr. 5. S. 129—136. Nr. 6. S. 161—168.) — Ders. (1921), Praktische Versuche zur Bekämpfung der Simuliidenbrut durch Wasserstauung. (Desinfektion. Jahrg. 6. H. 11. S. 394—399.) — Ders. (1921), Die Bekämpfung der gesundheitlichen und wirtschaftlichen Schädlinge. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Med.-Verwaltung. Bd. 12. H. 2. S. 61—91.) — Ders. (1922), Die Gelege der Simuliiden und ihre Vernichtung. (Desinfektion. Jahrg. 7. H. 1. S. 1—8.) — Ders. (1922), Praktische Versuche zur Bekämpfung der Simuliidenbrut mittels gelöschtem Kalk. (Ebenda. Jahrg. 7. H. 2. S. 37—40.) — Wolffhüegel, K. (1910), Die Flöhe (Siphonaptera) der Haustiere. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 8. H. 2/3. S. 218—236 u. S. 354—382.) — Wood, H. P. (1917), *Dermanyssus* of fowls: its development and habits. (U. S. Dept. Agricult. Bull. Nr. 553.) — Ders. (1919), The depluming mite of chickens: Its complete eradication from flock by one



treatment. (Journ. econ. entom. Concordia. Vol. 12. p. 402—404.) — Wreschner, H. (1921), Ueber Mißstände und Gefahren bei dem Verkehr mit bakteriellem Ratten- und Mäusevertilgungsmitteln. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 93. S. 35—42.) — Wülker, G. (1915), Zur Frage der Läusebekämpfung. (Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 628.) — Ders. (1919), Das Papatacificier und seine Ueberträger. (Die Umschau. 19.9. Nr. 15. S. 227—230.) — Ders. (1919), Die Zoologie im Kriege. (In Schmid, B., Deutsche Naturwissenschaft, Technik und Erfindung im Weltkriege. Verl. Nernich, Leipzig u. München. S. 587—628.) — Zabel (1915), Entlausungsversuche und ihre Ergebnisse. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Jg. 28. Nr. 16.) — Zernick (1915), Schädigungen durch Plagin. (Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 26.) — Zucker, A. (1915), Zur Bekämpfung der Kleiderläuse. (Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 76. S. 294—303.) — Zupnik, L. (1915), Zur Frage der Läusevertilgung. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 371.)

8. Juni 1922 nachmittags. Vorsitzender: Kossel (Heidelberg).

Diskussion zu den Referaten I—IV.

Fleischer (Göttingen): Im Anschluß an die Ausführungen der Herren Referenten über die sehr unterschiedliche Beeinflussung der Desinfektionswirkung durch verschiedenartige Lösungsmittel möchte ich Ihnen kurz über die Ergebnisse einiger Desinfektionsversuche, besonders mit Farbstoffen, berichten, die ich in gemeinsamer Arbeit mit Herrn Dr. Amster angestellt habe. Diese Versuche werden Ihnen zeigen, wie ausschlaggebend ganz geringfügige Aenderungen der Wasserstoffionenkonzentration, d. h. des Säuregrades, in dem Lösungsmittel des Desinfizians für den Desinfektionserfolg sein können. Wir wurden zu unseren Versuchen veranlaßt durch eine Beobachtung am p-Nitrophenol, das von Michaelis für das schwachsaure Gebiet als Indikator eingeführt wurde; es ist als Salz gelb gefärbt und als Molekül farblos. Das p-Nitrophenol tötet in einer Konzentration von 1:1000 (die Lösung erfolgte in gewöhnlichem, d. h. kohlen-säurehaltigem destillierten Wasser) Coli selbst nach 24-stünd. Einwirkung nicht ab. Sobald wir aber den Säuregrad des destillierten Wassers um eine minimale, nur mit feinen Meßmethoden festzustellende, Spur vermehrt hatten, zeigte p-Nitrophenol eine fast vollkommene Desinfektionswirkung gegenüber Coli.

Unsere geringfügigen Aenderungen des Säuregrades umspannen überhaupt nur den Bereich zwischen  $\text{pH} = 5$  und  $\text{pH} = 8,5$ ; ( $\text{pH} = \text{Wasserstoffexponent}$  nach Sörensen), d. h. zwischen einer  $\frac{1}{100000}$  normalen Salzsäure und einer  $\frac{1}{500000}$  Natronlauge. Für den Laien erscheint dieser ganze Bereich durchaus als neutral; eine  $\frac{1}{100000}$  normal Salzsäure schmeckt nicht sauer, eine  $\frac{1}{500000}$  normal Natronlauge nicht alkalisch. Für die benützten Bakterien — wir haben mit Coli, Pyocyaneus und Staphylococcus aureus gearbeitet — sind diese Aenderungen des Säuregrades in den angewandten Desinfektionszeiten jedenfalls nicht wesentlich schädlich. Wir haben also die reine Desinfektionswirkung des Farbstoffes gewahrt und nicht etwa eine Säure- bzw. Basenwirkung addiert.

Auch noch kleinere Aenderungen des Säuregrades lassen unter Umständen krasse Unterschiede in der Desinfektionswirkung auftreten, wie folgender Methylgrünversuch zeigt, bei dem der Säuregrad nur variiert wurde von dem des gewöhnlichen destillierten Wassers bis zu dem unseres Leitungswassers, d. h. etwa bis zum Neutralpunkt. Wir haben von Methylgrün eine Verdünnung hergestellt 1:500.

- a) in gewöhnlichem destillierten Wasser;
- b) in gewöhnlichem destillierten Wasser, das in der Platinschale nochmals aufgekocht war;
- c) in Leitungswasser.

Nun wurde ein Desinfektionsversuch mit Coli gemacht und nach 12-stünd. Einwirkung festgestellt:

In a) nur eine geringe Desinfektionswirkung, in b) und c) dagegen ein vollständiger Desinfektionserfolg. Das frisch in der Platinschale aufgekochte Wasser war infolge des Aufkochens an Kohlensäure ärmer, d. h. sein Säuregrad um eine Spur verringert worden.

Ich glaube nicht, daß bisher bei der Beurteilung von Desinfektionsmittelwirkungen derartige geringfügige Aenderungen des Säuregrades im Lösungsmittel berücksichtigt worden sind. Nur Michaelis hat vor kurzem für einen Spezialfall, nämlich die Chininalkaloide, die Bedeutung des Säuregrades für ihre verschiedene Wirkung im Körper und im Reagenzglas auseinandergesetzt.

Wir haben nun unter anderem den Einfluß dieser geringen Aenderungen im Säuregrade auf die Desinfektionswirkung der sauren Farbstoffe: Martiusgelb, p-Nitrophenol, und der basischen: Trypaflavin, Methylgrün und Methylenblau untersucht. Zu unserer Methodik möchte ich noch bemerken, daß wir die geringfügigen Aenderungen des Säuregrades durch Puffer, und zwar durch Phosphatgemische, bewirkten. Wir stellten uns 5 Phosphatgemische her von einer pH von 5,6, 7,1 (Neutralpunkt) 8 und 8,5, also zwei schwach saure, ein neutrales und zwei schwach basische. Eine Messung des Säuregrades war in den einzelnen Desinfektionsröhrchen selber, die je 4%, ccm Farbstofflösung und 1/2 ccm Puffer enthielten, mittels der Michaelis'schen Indikatorenmethode natürlich nicht mehr möglich; die Gaskettenmessung kam, schon wegen des Umfanges unserer Versuche, nicht in Frage; sie war auch nicht nötig, da es uns ja nur auf Vergleichswerte ankam. Die Prüfung auf lebende Keime erfolgte durch Ueberimpfen auf Schrägagar.

Ich möchte Ihnen hier nur berichten über einige Versuchsergebnisse beim Martiusgelb, Trypaflavin und über einen, unsere Fragestellung berührenden Phenolversuch. Ueber unsere sämtlichen Versuche stehen Tabellen hier zur Verfügung. Unsere ausführliche Arbeit erscheint in Kürze.

Martiusgelb zeigt gegenüber unserem *Pyocyanus*-Stamm bei der Prüfung in gewöhnlichem destilliertem Wasser in der Verdünnung 1:2000 — die Löslichkeitsgrenze liegt zwischen 1:1000 und 1:2000 — nach 6-stünd. keinerlei, nach 18-stünd. Einwirkung eine geringe Desinfektionswirkung. Unsere geringfügige Vermehrung des Säuregrades steigerte aber den Desinfektionserfolg so sehr, daß jetzt nach 6-stünd. Einwirkung die Verdünnung 1:2200 vollkommen, 1:3300 fast völlig abtötete und selbst 1:9900 noch eine gewisse Desinfektionswirkung erkennen ließ, nach 18-stünd. Einwirkung 1:9900 sogar noch vollkommen abtötete. Eine Verminderung des Säuregrades unter den des destillierten Wassers führte dagegen sofort zu einer Verschlechterung der Desinfektionswirkung. Durchaus ähnlich wie *Pyocyanus* verhielt sich unser *Staphylococcus*-Stamm.

Eine Art Ergänzung zu unseren Martiusgelbversuchen bildet folgender Phenolversuch. Wir wählten die Verdünnungen 1:190, 1:220 und 1:240. Alle drei waren nach 1-stünd. Einwirkung auf *Coli*, wenn gewöhnliches destill. Wasser als Lösungsmittel benutzt wurde, wirkungslos. Die Veränderung des Säuregrades erfolgte dieses Mal durch Zugabe geringer HCl- bzw. NaOH-Mengen, seine Messung erst im fertigen Desinfektionssystem. Es zeigte sich nun, daß eine ganz minimale Vermehrung des Säuregrades, eine Vermehrung, die etwa dem Unterschiede des Säuregrades einer 1:500 000 und einer 1:1 000 000 normal Salzsäure entspricht, die Desinfektionskraft der drei Konzentrationen so steigerte, daß die Verdünnungen 1:190 und 1:220 jetzt *Coli* nach 1 Std. völlig, 1:240 fast völlig abtöteten. Die geringste Verminderung des Säuregrades unter den des destill. Wassers ließ dagegen alle Konzentrationen wieder völlig wirkungslos erscheinen. Wir sehen also beim Martiusgelb und beim Phenol eine beträchtliche Steigerung der Desinfektionswirkung durch geringfügige Vermehrung des Säuregrades über den des destill. Wassers.

Gerade umgekehrt verhält sich der basische Farbstoff Trypaflavin, dessen geringste, nach einer Stunde unseren *Coli*-Stamm noch völlig abtötende Konzentration bei der Lösung in gewöhnlichem destill. Wasser zwischen 1:20 000 und 1:30 000 liegt. Durch Verminderung des Säuregrades steigerten wir die Wirkung des Trypaflavins derart, daß die Verdünnung 1:40 000 vollkommen, 1:50 000 fast völlig genügte und selbst die Verdünnung 1:100 000 noch eine deutliche Verminderung der lebenden Keime erkennen ließ. Die Vermehrung des Säuregrades über den des destill. Wassers verschlechterte dagegen die Desinfektionswirkung so sehr, daß nunmehr selbst die Verdünnung 1:5000 nicht mehr vollständig desinfizierte. Wir sehen also, daß unsere geringfügigen Aenderungen des Säuregrades Unterschiede in der Desinfektionswirkung im Verhältnis 1:10 erkennen lassen. Für Trypaflavin ist also der Säuregrad des gewöhnlichen, kohlen-säurehaltigen destill. Wassers durchaus nicht der optimale.

Welche Erklärungsmöglichkeit gibt es für diese merkwürdige Steigerung der Desinfektionswirkung bei sauren Farbstoffen durch geringfügige Vermehrung, bei basischen dagegen durch geringfügige Verminderung des Säuregrades? In erster Linie spielt wohl eine Aenderung des Dissoziationsgrades der Farbstoffe eine Rolle, und zwar in dem Sinne, daß die Zurückdrängung der Dissoziation die Desinfektionswirkung steigert. Das Farbstoffmolekül scheint also der wahre Träger der Desinfektionswirkung zu sein. Unser Erklärungsversuch gilt natürlich vorläufig nur für unsere Versuchsfarbstoffe und für die von uns gebrauchten Bakterien. Ob sich hinter diesem Erklärungsversuch ein allgemeines Gesetz für die Desinfektionswirkung schwach saurer oder schwach basischer Desinfektionsmittel birgt, läßt sich wohl heute noch nicht sagen.

Unsere Versuchsergebnisse lassen durchaus die Notwendigkeit erkennen, ein Desinfektionsmittel nicht nur in einem einzigen Säuregrade des Lösungsmittels zu prüfen.

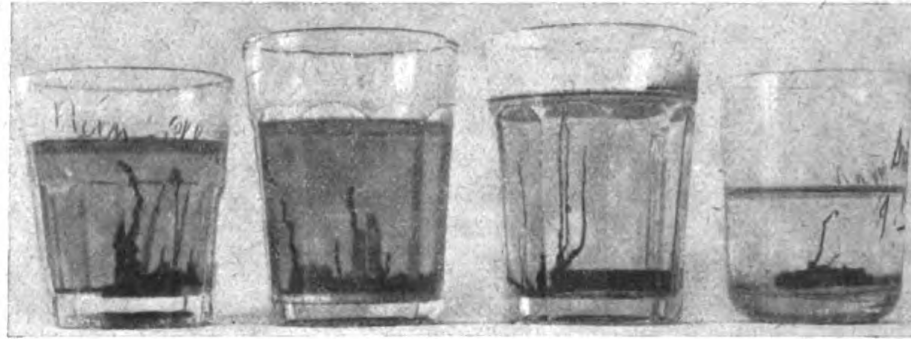
sondern vielmehr den Säuregrad in dem von uns angegebenen Bereich zu variieren, bei dem die Addition einer Säure- oder Basenwirkung noch nicht in Frage kommt, um so die optimale Wasserstoffionenkonzentration zu finden.

Uhlenhuth (Marburg): Die neue Desinfektionsanweisung bringt gewisse Erleichterungen. Ich möchte aber davor warnen, darin zu weit zu gehen. Ich kann mich durchaus nicht der auch hier ausgesprochenen Ansicht anschließen, daß man hochinfektiöses Material, besonders auch tuberkulöses Sputum, dadurch einwandfrei beseitigt, daß man es in den Abort hineingießt. Ich halte eine nähere Begründung hier nicht für nötig. Wir Hygieniker müssen uns überhaupt davor hüten, den Wert der Desinfektion, die durch jahrelange mühevollere Untersuchungen aufgebaut ist, zu geringerschätzig zu betrachten. Wir sollten uns vielmehr bemühen, sowohl nach besseren Desinfektionsmitteln wie Methoden zu suchen. Mich beschäftigt das Problem der Sputumdesinfektion schon seit 10 Jahren, nicht nur weil es mir reizvoll erschien, eine bisher als unlösbar angesehene Aufgabe zu lösen, sondern weil ich in der Tat der Ueberzeugung bin, daß die Sputumdesinfektion von großem praktischen Werte ist. Die in der Desinfektionsanweisung bisher vorgeschriebenen Verfahren der Desinfektion von Auswurf und Stuhlgang sind unwirksam. Wenn man aber wirksame Methoden besitzt, so muß man sie anwenden. Es ist geradezu gefährlich und erscheint in höchstem Maße inkonsequent, wenn man den tuberkulösen Menschen anhält, mit dem Versprühen von Sputumteilchen beim Husten, Niesen und Sprechen vorsichtig und rücksichtsvoll gegen seine Mitmenschen zu sein, und demgegenüber das aus seinen Lungen entleerte Sputum so behandelt, als sei es eine ganz harmlose Flüssigkeit. Das wirkt wenig erzieherisch auf den Kranken und auf den Arzt. Außerdem besteht beim Reinigen durch Spülen und Bürsten der Spuckgläser die Gefahr der Tröpfcheninfektion, die um so weniger zu unterschätzen ist, als Berichte über erfolgte Infektionen aus jüngster Zeit vorliegen. Kein Geringerer als Robert Koch hat die Sputumdesinfektion schon gleich nach der Entdeckung des Tuberkelbazillus durch umfangreiche Untersuchungen bearbeiten lassen (Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 2.). Wenn auch die Tröpfcheninfektion nach meiner Ansicht die Hauptrolle spielt, so sind doch die anderen Infektionswege, die Schmierinfektion usw. nicht zu vernachlässigen. Daß das Bedürfnis nach einer Sputumdesinfektion besteht, beweisen auch die häufigen Klagen der Fürsorgeschwestern über den Mangel eines brauchbaren Desinfektionsverfahrens in der Praxis, und so hat denn das Zentralkomitee für Bekämpfung der Tuberkulose ein Preisausschreiben erlassen, das durch unsere Untersuchungen eine Lösung gefunden hat. Meiner Ansicht nach muß man den Tuberkelbazillus da abtöten, wo man ihn fassen kann, und da man mit dem Kochverfahren in der Praxis nicht vorwärts kommt, ist eine chemische Desinfektion am Platze. Wie Ihnen bekannt ist, habe ich alkalische Kresol-Präparate, besonders das Alkalylsol, das die Firma Schülke und Mayr-Hamburg auf meine Veranlassung herstellt, für die Sputumdesinfektion auf Grund sehr umfangreicher Versuche mit Jötten und Hailer empfohlen<sup>1)</sup>. 5-proz. Lösungen töten die Tuberkelbazillen im Sputum, auch wenn es noch so dickballig ist, in 4 Std. sicher ab. Die Laboratoriumsversuche müssen dabei genau nach der von uns gegebenen Vorschrift ausgeführt werden. Die Wand des Glases muß beim Umschwenken mit der desinfizierenden Flüssigkeit benetzt und Schaumbildung muß möglichst verhütet werden, denn es ist klar, daß der Versuch nur dann zum einwandfreien Resultat führt, wenn wirklich auch alle Tuberkelbazillen mit der Desinfektionsflüssigkeit in ausreichende Berührung kommen. Wichtig ist auch die Zusammensetzung des Alkalylsols. Wie die Versuche ergeben haben, wird durch weiteren Alkalizusatz die Desinfektionswirkung beeinträchtigt oder aufgehoben. Das zeigt sich auch ganz besonders beim Parmetol, das vor Alkalylsol den Vorzug der Geruchlosigkeit hat. Der Alkaligehalt darf einen bestimmten Prozentgehalt nicht überschreiten, sonst wirkt es nicht. Beim Parmetol sind über den optimalen Alkaligehalt noch Untersuchungen im Gange, die noch nicht ganz abgeschlossen sind.

1) Uhlenhuth, Jötten u. Hailer, Die Desinfektion des tuberkulösen Auswurfes. (Med. Klin. 1921. Nr. 10. S. 273/276). — Uhlenhuth, Neue Verfahren zur Desinfektion von tuberkulösem Auswurf. (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 3, 4. 1921. Heft 7.) [Festschr. z. Deutschen Tuberkulosekongreß.] — Ders. u. Hailer, Neue Versuche zur Abtötung der Tuberkelbazillen im Auswurf. (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 34. Heft 3.) — Ders. u. Jötten, Die Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum mit chemischen Desinfektionsmitteln. (Arch. f. Hyg. Bd. 90. I. u. II. Mitteilung. Heft 6-8.) — Ders. und Hailer, Ueber die Desinfektion mit tuberkulösem Auswurf infizierter Wäsche. (Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 50. 1922.)

Notwendig ist es, daß diese Präparate unter sorgfältiger chemischer Kontrolle stehen, auch werden auf meine Veranlassung die Präparate vor der Abgabe auf ihre Tuberkelbazillen abtötende Kraft im Sputum geprüft.

Noch auf ein anderes Präparat möchte ich hinweisen. Es ist das Chloramin-Heyden, ein festes, organisches Chlorpräparat von gleichbleibender Zusammensetzung. Es ist p-Toluolsulfonchloramidnatrium. Sein Gehalt an Chlor, dem wirksamen Bestandteil, beträgt 12,6 Proz.; es ist in leicht abspaltbarer Form organisch gebunden. Chloramin-Heyden ist unbegrenzt und unverändert haltbar im Gegensatz zu anorganischen Hypochloriten, Chlorkalk usw. Es löst sich in Wasser mit neutraler oder nahezu neutraler Reaktion. Da es sich beim Chloramin um ein organisches Hypochlorit handelt, habe ich es bei meinen Sputumversuchen zum Vergleich mit dem Antiformin mitherangezogen. Es zeigte sich, daß es in der Wirkung ganz verschieden war. Auf Bakterien, die ja vom Antiformin vollkommen gelöst werden, hat es keinen auflösenden Einfluß. Doch zeigte es sich, daß das Sputum ziemlich gut homogenisiert wurde, wenn auch nicht so schön wie von Antiformin. Interessant war nun, daß nach unseren bisherigen Untersuchungen die tuberkulösen Sputa durch 15-, 10- und 5-proz. Lösungen in 4 Std. desinfiziert wurden. Ich habe das in zahlreichen Versuchsreihen festgestellt. Nur in 2 Fällen war ein Ausfall insofern zu verzeichnen, als von 2 geimpften Meerschweinchen 1 Tier nach 4 Std. erkrankte, während das andere gesund blieb. Es ist wahrscheinlich, daß hier ein Versuchsfehler vorliegt, wie das ja auch leicht bei solchen Sputumversuchen vor-



Eisenbäume in Chloramin (10-proz.) Eisenbäume in Antiformin (10-proz.)

kommt. Auch mit 3-proz. Lösungen hatte ich nach 4 Std. schon ziemlich gute Resultate, wenn auch eine regelmäßige Abtötung nicht erfolgte, 1-proz. Lösungen versagten. Es war also mit 5-proz. Lösungen das erreicht, was ich durch Kombination von Antiformin mit anderen Desinfektionsmitteln vergebens versucht hatte: Homogenisierung des Sputums und gleichzeitige Abtötung der Tuberkelbazillen. Um event. die auflösende Wirkung zu erhöhen, wurde die 5-proz. Chloraminlösung mit 0,5-proz. Natronlauge versetzt. Dadurch wurde aber die abtötende Wirkung vollkommen aufgehoben. Worauf das beruht, vermag ich zunächst nicht zu sagen. Auf Grund dieser Versuche glaube ich, das Chloramin, das auch als Rohchloramin (90 Proz.) ebenso gut wirkt, für die Sputumdesinfektion empfehlen zu können, besonders da es gut homogenisiert und ziemlich geruchlos ist. Ein besonders für diesen Zweck geeignetes Präparat wird demnächst in den Handel gebracht. Da es auch Baumwolle, Leinen usw. nicht angreift, wie das Materialprüfungsam t festgestellt hat, so eignet es sich auch zur Wäschedesinfektion. Auch Metalle, wie Nickel, Kupfer, Zinn und Aluminium, erweisen sich als widerstandsfähig, während Zink und besonders Eisen stark angegriffen werden. Sie erinnern sich vielleicht der eigenartigen Eisenbäume, die ich in Antiforminlösungen entstehen sah<sup>1)</sup>. Es sind das sehr feine zarte Gebilde, die aus dem Eisen emporwachsen. Legt man Eisen in Chloraminlösungen hinein, so wachsen auch Eisenbäume, die sich jedoch in ihrer äußeren Gestalt durch ihre Dicke und Knorrigkeit von den Antiforminbäumen unterscheiden.

(Demonstration: siehe Abbildung.)

1) Siehe Arb. aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 32. 1909. Heft 1.

Laubenheimer (Heidelberg): Im Anschluß an die Ausführungen von Herrn Uhlenhuth möchte ich Ihnen über neuere und ältere noch nicht veröffentlichte Versuche über die Desinfektion von tuberkulösem Sputum berichten. Schon 1908 fand ich in dem m-Xylenol gelöst in dioxystearinsäurem Kali, und in dem Chlor-m-Kresol gelöst in rizinolsäurem Kali, zwei Präparate, die das bisher angewandte Sublimat und die verschiedenen Kresole an Wirksamkeit weit übertrafen. Eine 5-proz. Verdünnung von m-Xylenol tötete Tuberkelbazillen in dickballigem Auswurf schon nach 3 Std., eine ebenso starke Verdünnung von Chlor-m-Kresol nach 8stünd. Einwirkung sicher ab. Das Chlor-m-Kresol in rizinolsäurem Kali wurde später als „Phobrol“ bekannt und hat sich allen Nachuntersuchern als Sputumdesinfektionsmittel gut bewährt. Zahlreiche weitere Versuche zeigten mir, daß man mit der Konzentration noch beträchtlich weiter herunter gehen kann und trotzdem in einer für die Praxis gut anwendbaren Zeit noch sichere Abtötung der Tuberkelbazillen im Auswurf erzielt. So erhielt ich z. B. mit einer 4-proz. Phobrolösung (= 2 Proz. wirksames Chlor-m-Kresol) ebenfalls schon nach 8 Std. eine vollkommene Desinfektion unter schwierigen Umständen (grobgeballtes Sputum mit gleicher Menge Desinfektionsflüssigkeit übergossen, kein Vermischen). Eine 3-proz. Phobrolösung tötete, in doppelter Menge einem Sputum zugesetzt, die darin enthaltenen zahlreichen Tuberkelbazillen sogar schon nach 2 Std. sicher ab.

Auch auf angetrocknetes Sputum wirkt das Phobrol sehr gut ein, namentlich wenn die Unterlage aufsaugungsfähig ist. An rohe Tannenholzbrettchen und an solche mit Oelfarbe gestrichene wurden dicke Sputumballen angetrocknet und mit einer 2-proz. Phobrolösung übergossen, so daß die Flüssigkeit nicht von den Brettchen herunterlief. Von den rohen Holzbrettchen wurde die Lösung schnell aufgesaugt, während sie auf den gestrichenen Brettchen auf die Dauer des Versuches stehen blieb. Nach 2, 3, 4, 5 Std. wurden die Sputumballen abgeschabt, mit Kochsalzlösung ausgewaschen und auf je 2 Meerschweinchen verimpft. Nach 5 Std. waren die Tuberkelbazillen in dem Auswurf auf den gestrichenen Brettchen abgetötet, auf den rohen Holzbrettchen dagegen schon nach 3 Std.

Auch mit Reinkulturen von Tuberkelbazillen stellte ich Desinfektionsversuche an. Es zeigte sich dabei, daß Chlor-m-Kresol zu  $\frac{1}{8}$  Proz. Tuberkelbazillen in einer Aufschwemmung in einer Stunde sicher abtötete.

Schon bei meinen ersten oben erwähnten Untersuchungen über Chlor-m-Kresol brachte ich dasselbe durch Natronlauge in Lösung und erhielt damit bei Verwendung von Staphylokokken als Testbakterien gute Ergebnisse. Ein solches Präparat, jetzt von der Firma Schülke u. Mayr, Hamburg, als Parmetol in den Handel gebracht, wurde von Uhlenhuth, Hailer und Jötten als Sputumdesinfektionsmittel näher geprüft. Die genannten Forscher fanden dasselbe schon nach 2 Std. in 5-proz. Lösung als wirksam, ein Befund, den ich durch eigene Untersuchungen bestätigen kann. Ebenso stimme ich mit Uhlenhuth und Jötten darin überein, daß das Alkalilysol von Schülke u. Mayr in 5-proz. Verdünnung nach 2 Std. Tuberkelbazillen im Auswurf abtötet.

Wir haben also in dem Phobrol, dem Parmetol und dem Alkalilysol nunmehr 3 Präparate, die alles leisten, was man von einem brauchbaren Sputumdesinfektionsmittel billigerweise erwarten kann, und es fragt sich nur, welchem von den dreien man den Vorzug geben soll. Leider ist das Phobrol, das ich für das in der Desinfektionspraxis am allgemeinsten brauchbare Präparat halte, augenblicklich sehr teuer, da es als Lösungsmittel des Chlor-m-Kresols Rizinusseife enthält. Das billigste ist Alkalilysol, aber es hat den Nachteil, daß es konzentriert und in Verdünnungen an der Luft unbeständig ist, sich schwer löst, stark nach Kresol riecht und giftig ist. Diese Nachteile vermeidet das Parmetol. Es gibt mit Wasser in jeder Konzentration klare Verdünnungen, ist haltbar, hat einen kaum bemerkbaren Geruch und ist praktisch ungiftig. Letzterer Umstand scheint mir besonders hervorzuheben zu sein, da das Desinfektionsmittel dem Kranken in die Hand gegeben werden muß.

Nach dem Gesagten dürfte die Frage der Sputumdesinfektion, über deren Wichtigkeit zur Bekämpfung der Tuberkulose wohl Einstimmigkeit herrscht, gelöst erscheinen. Es gilt nunmehr die im Laboratorium gewonnenen Erfahrungen in die Praxis umzusetzen und, wie bei allen anderen Infektionskrankheiten so auch bei der Tuberkulose, den Grundsatz zu verwirklichen, daß keine Krankheitserreger enthaltende Ausscheidungen des Kranken undesinfiziert das Krankenzimmer verlassen. Bis diese Erkenntnis aber auch bei der Tuberkulose restlos in die Tat umgesetzt ist, werden noch manche Schwierigkeiten von seiten der Aerzte, des Pflegepersonals und der Kranken zu überwinden sein.

Huntemüller (Gießen) berichtet im Anschluß an die Ausführungen des Herrn Neufeld über praktische Desinfektionsmaßnahmen bei der Bekämpfung der Kriegseuchen.

Die Händedesinfektion wurde mit gutem Erfolg bei der Bekämpfung der Cholera an der Sinaifront angewandt. Da die Muselmanen auf Grund ihrer religiösen Vorschriften nach der Defäkation ihre Hände waschen, oder dieses in der Wüste, wo das Wasser fehlt, symbolisch mit Sand vortäuschen, so wurde dem Waschwasser, wo es zur Verfügung stand, 1‰ Sublimat zugesetzt, oder den Truppen Gelegenheit gegeben, die Hände mit pulverisiertem, gebranntem Kalk, der in großer Menge zur Verfügung stand, abzureiben.

Die Weiterverbreitung durch den abgesetzten Stuhlgang kam kaum in Betracht, da dieser in dem trockenen Sandboden schnell austrocknete.

Durch diese Maßnahmen wurde die Cholera auf den linken Flügel der Armee beschränkt.

Eine große Rolle bei der Epidemie spielte die individuelle Disposition. Es zeigte sich, daß von den gut genährten, widerstandsfähigen Deutschen niemand an Cholera erkrankte, während unter den türkischen Truppen, obwohl sie alle 2 Mon. gegen Cholera geimpft wurden, infolge von Unterernährung und Ueberanstrengung viele Todesfälle vorkamen, insbesondere starben in einer Rekonvaleszenten-Kompagnie 80 Proz. der Erkrankten.

Auch über die Bekämpfung der Tröpfcheninfektion, die Herr Neufeld als die wichtigste Aufgabe unserer Desinfektionsmaßnahmen bezeichnet, konnten im Kriege praktische Erfahrungen gesammelt werden.

Bei einer schweren Diphtherieepidemie unter einem bayer. Regiment an der Westfront konnte durch Desinfektion (3mal tägl. 1 Tablette) der Mundhöhle mit Formesin, einem Ersatzpräparat für Formamint, gute Erfolge beobachtet werden. Da nur eine geringe Menge Tabletten zur Verfügung stand, so konnten die Maßnahmen nur bei einer Kompagnie durchgeführt werden. Die auf H.s Veranlassung hergestellten Providoform-(Tribrom- $\beta$ -Naphthol-)Tabletten wurden zu spät geliefert, so daß sie hier nicht mehr in größerer Menge zur Anwendung kamen.

Nach dem Kriege sind dann mit neu von der Fabrik zur Verfügung gestellten Tabletten, sowie mit Providoformlösungen in der Gießener Kinder- und Frauenklinik Desinfektionsversuche angestellt. Es zeigte sich, daß die Diphtheriebazillen nach der Behandlung (3mal tägl. 1 Tablette) zwar nicht verschwunden waren, aber atypisch wurden und ihre Giftigkeit verloren. Diese atypische Form konnte bei schwächlichen und skrofulösen Kindern besonders in der Nase noch lange Zeit nachgewiesen werden, während sie bei gut genährten, normalen Kindern bald verschwand. Es spielt also auch hier die Resistenz des Individuums eine große Rolle.

Der Dauerdesinfektion der Mundhöhle mit Desinfektionsmitteln in Tablettenform schreibt H. bei der Bekämpfung der Krankheiten der Atemwege eine große Bedeutung zu.

Es muß Wert darauf gelegt werden, die Infektionskeime unschädlich zu machen, bevor sie mit den Speicheltröpfchen in die Außenwelt gelangen, andererseits dafür zu sorgen, daß aus der Außenwelt in die Mundhöhle gelangte Krankheitskeime vernichtet werden, bevor sie Schaden gestiftet haben. Es sollen daher einmal die Kranken und Bazillenträger ihre Mundhöhle dauernd auf diese Weise desinfizieren, andererseits aber auch die, welche mit ihnen in Berührung kommen: Pflegepersonal, Aerzte, Desinfektoren.

Süpfle (München): Unsere Anschauung über die Wirksamkeit eines Desinfiziens gründen wir auf die Ergebnisse des Experimentes: wir trachten hierbei, bestimmte Testbakterien unter bekannten Bedingungen der zu prüfenden Schädigung auszusetzen und danach festzustellen, ob die Bakterien noch lebensfähig sind oder nicht. Größte Wichtigkeit hat also die Frage: wann können wir einen Keim als tot ansehen? Herr Reichenbach hat in seinem Referat die optimalen Nährböden erwähnt, die ich wegen ihrer Fähigkeit, auch vereinzelte geschwächte Keime zu üppiger Vermehrung zu bringen, zur Nachkultur bei Desinfektionsversuchen empfohlen habe; nach der Meinung von Herrn Reichenbach wäre es eine unberechtigte Verschärfung unserer Anforderungen an ein Desinfiziens, wenn wir verlangen sollten, daß die Desinfektion so weit getrieben werden müsse, bis die Bakterien auch in optimalen Nährböden nicht mehr auskeimen: denn es sei vorläufig unbewiesen, daß der Tierkörper als optimaler Nährboden anzusehen sei. Es ist richtig, daß wir nichts darüber wissen, ob meine optimalen Nährböden den empfänglichen Tierkörper übertreffen oder nicht; dasselbe gilt aber auch von den gewöhnlichen Nährböden, die bisher als Kriterium für die Lebensfähigkeit der Bakterien vorbehaltlos benutzt wurden. Für die wissenschaftliche Beurteilung einer Abtötungswirkung müssen wir nach meiner Ueberzeugung an dem Prinzip der optimalen Nachkultur festhalten. Gewiß ist es aber sehr erwünscht, die Frage des Herrn Reichenbach, ob der Tierkörper als optimaler Nährboden anzusehen ist, an einem ausreichenden Tiermaterial zu prüfen.

Uebrigens ist es unter den chemischen Desinfizientien im wesentlichen nur das Sublimat, dessen Abtötungskraft bei Verwendung optimaler Nährböden gegenüber unserer bisherigen Vorstellung besonders vermindert erscheint; ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß das Sublimat offenbar sehr lange Zeit braucht, um in den Protoplasmaleib der Bakterien einzudringen und ihn tödlich zu verändern; es wird zunächst nur von den Hüllschichten der Bakterien adsorbiert und kann nicht nur durch chemische Neutralisation mittels Sulfiden, sondern auch durch Behandlung mit Kohle wieder entfernt werden. Gegenbauer in Wien hat gezeigt, daß fast ebenso wirksam bloßes Waschen mit Wasser ist. Diese Beobachtungen hat Herr Hans Engelhardt unter meiner Leitung weiter verfolgt und gefunden, daß durch 2—3 Wochen langes Liegenlassen der Keime in wiederholt gewechseltem Wasser Milzbrandsporen als lebensfähig zu erkennen sind, die 14 Tage in 5-proz. Sublimatlösung waren, ebenso Staphylokokken, die 8 Std. in 0,1-proz. oder 2 Std. in 1-proz. Sublimatlösung lagen. Man hat früher gegen die praktische Bedeutung des Laboratoriumsexperimentes, der Sublimat-einwirkung nach dem Vorgang von Geppert sowie von M. v. Gruber eine Sulfid-entgiftung folgen zu lassen, eingewendet, es würde dadurch eine Bindung zwischen dem Quecksilber und den Proteinen im Innern der Keime gesprengt und erst hiermit die Keimfähigkeit wiederhergestellt; es würde durch die Sulfideinwirkung also eine in der Praxis irreversible Zustandsänderung im künstlichen Laboratoriumsexperiment reversibel gemacht. Nach unseren Versuchen ist diese Vorstellung aber irrig, da man mit der Methode der chemischen Neutralisation keine auffällig späteren Abtötungsfristen erhält, als mit den beiden anderen Entgiftungsverfahren.

H. Reichel (Wien): Zu den Ausführungen des Herrn Reichenbach möchte ich betonen, daß die Feststellung der Wirkungskurven, d. h. der Funktionalbeziehungen zwischen Konzentration — oder auch sonstiger Intensität — und Zeitdauer die unentbehrliche Voraussetzung für die Prüfung und vergleichende Bewertung von Desinfizientien bildet. Nur so sind bestimmte Voraussagen über erforderliche Konzentrationen für bestimmte Leistungen und über erforderliche Zeiten für gegebene Konzentrationen zu gewinnen. Die Höhe der so zu ermittelnden Konstanzzahlen hängt naturgemäß vom jeweiligen Stande unserer Erfahrung ab; sie können durch neue Methoden wieder erhöht werden, was aber ihre praktische Verwendbarkeit nicht beeinträchtigt. Mit dieser Forderung nach den Wirkungskurven stehe ich keineswegs allein; auch Ikeda, Wo. Ostwald, Harriette Chick, Paul, Phelps, Gregersen fordern wesentlich dasselbe. Die Beobachtung des Absterbeverlaufes, deren große Literatur Herr Reichenbach ja ausführlich besprochen hat, läuft endlich auch nur auf eine komplizierte, vielleicht — ich glaube aber kaum — besonders exakte Feststellung jener Wirkungskurven hinaus, die zu den sog. Geschwindigkeitskurven von Madsen und Nyman nicht etwa im Widerspruche, sondern einfach dazu senkrecht stehen. Endversuche, wie ich sie zur Feststellung jener Funktion benütze, sind zweifellos leichter anzustellen und im Ergebnis, nach dem was wir bisher wissen, nicht ungenauer als Zählversuche. Die mit den ersteren gewonnenen Konstanten haben den großen Vorzug, unmittelbar die Abtötungszeit berechnen zu lassen, während dazu bei der Zählmethode noch eine Konstante mehr (Halb- oder Drittel- usw.- Wertkonstante) ermittelt werden müßte.

Solche Voraussagen, wie sie allein durch die Wirkungskurven möglich werden, können dann zu jedem Vergleiche mit bekannten Wirkungen anderer Mittel benützt werden und diese eminent praktische Frage: wieviel kostet die Ausführung einer bestimmten Desinfektion mit dem einen Mittel und wieviel mit dem anderen? wird uns immer wieder gestellt werden. Die englischen und amerikanischen Lösungen dieser Frage stellen Kurzschlüsse vor, und wenn ich das Betreten ähnlicher Wege empfehle, so warne ich zugleich davor, die Sache für leicht zu halten und auch davor, die Prüfungsmethoden und die zu berechnenden Vergleiche starr zu fixieren. Ein gangbarer Weg zu einer Normung der Desinfektionsmittel scheint ja die schon mehrfach vorgeschlagene konventionelle Aufstellung von Zweckgruppen zu sein, doch könnte man auch so zu einer Wertziffer für jedes Mittel nur durch eine wieder konventionelle vergleichende Bewertung der Zweckgruppen und durch ein ebenfalls konventionelles Punktsystem der Leistungen gelangen. Dieses Ziel erscheint doch wohl recht ferne, ja kaum erreichbar, vielleicht auch kaum von Wert. Es erscheint mir als bedenklich, wenn in jüngster Zeit von bakteriologischen Fachmännern die Möglichkeit einer so weitgehenden Normung in der Öffentlichkeit der beteiligten Industriekreise betont und in nahe Aussicht gestellt wird. Der Fall liegt doch recht anders als bei der Normung der Heilsera, die meist nur einen Zweck und auch nur eine zweckmäßige Anwendungsart haben.

Zu Herrn Hailers Referat sei hervorgehoben, daß nach allem offenbar die Lösungsverteilung der Stoffe ihre abtötende Wirkung vorwaltend bestimmt. Dabei

dürfte von großer Bedeutung die sekundäre Verschiebung sein, die in der Verteilung des Wassers zwischen der Flüssigkeit und den wasserarmen dispersen Zellphasen vor sich geht. Die Lösung von Phenol, Chloroform, Lipoiden u. a. im Eiweiß verdrängt daraus das Wasser, dessen Konzentration auch für die der so wichtigen Ionen dieses Stoffes:  $H^+$  und  $OH^-$  maßgebend sein muß. Scheinbare Widersprüche, die vielfach noch für die Annahme ionaler Wirkungen bestehen, z. B. bei den Säurewirkungen, dürften sich lösen, wenn man endlich daran geht, jene Verteilungsgleichgewichte exakt messend zu verfolgen und so die bisher fast unbekanntenen Konzentrations- und Ionisationsverhältnisse in den die Lebensvorgänge hauptsächlich tragenden Phasen selbst in Betracht zu ziehen.

Die nächste Aufgabe der theoretischen Desinfektionsforschung wird die sein, festzustellen, bis zu welchem Punkte die verfolgbaren Veränderungen der lebenden Keime gediehen sein müssen, um den Tod unausweichlich nach sich zu ziehen, wozu — wie Herr Reichenbach mit Recht betont hat — das Studium auch untertölicher Wirkungen von größtem Belange sein wird. Die zum Zelltode führenden Vorgänge müssen durch Beschreibung ihres zeitlichen Ablaufes erfaßt werden. Nur eine solche Kinetik des Abtötungsvorganges, nicht die heute ausreichend gekennzeichnete Pseudokinetik der Absterbeordnung kann diese Aufgabe lösen.

G. Seiffert (München): Bei den gegen Tuberkulose gerichteten Desinfektionsmaßnahmen wird mit voller Berechtigung der Desinfektion des Auswurfes größte Bedeutung geschenkt. Die Frage, ob und wie weit die Desinfektion auch die mit den Hustentröpfchen ausgeschiedenen Tuberkelbazillen vernichten kann, findet nicht entsprechende Beachtung. Man steht zwar theoretisch auf dem Standpunkt, daß die Tröpfcheninfektion im Flüggeschen Sinne einen wichtigen Infektionsweg darstellt, zieht hieraus aber nicht entsprechende praktische Folgerungen. Man begnügt sich im allgemeinen damit, die Flüggeschen Forderungen zum persönlichen Schutz zu empfehlen, an weitere Maßnahmen wird kaum gedacht. Der Grund mag darin liegen, daß man vielleicht heute, auf Grund der eingehenden Versuche Flügges und seiner Schule, zu sehr die Infektion durch Einatmung ausgehusteter Tröpfchen in den Vordergrund schiebt, andere durch Tröpfchen bedingte Infektionsmöglichkeiten daneben aber zu wenig beachtet. Die etwas gleichgültige Stellung gegenüber den Tröpfchen mag auch darauf beruhen, daß man sich trotz der umfangreichen Untersuchungen über Tröpfchen doch noch kein richtiges Bild machen kann, in welchem Umfange Tuberkelbazillen mit den Tröpfchen ausgeschleudert und verbreitet werden. Der bisherige Tröpfchennachweis war meist nur indirekt oder erlaubte gewissermaßen nur Stichproben. Eine Methode, die alle Tröpfchen unter verschiedensten Bedingungen sichtbar macht, gab es nicht, sie könnte erst zeigen, wie weitgehend in der Wirklichkeit die Tröpfchen zur Verbreitung der Tuberkelbazillen beitragen.

Ein Sichtbarmachen der Hustentröpfchen (und auch der Nieströpfchen) mit dauernder Fixation der Bilder ist nach einem Verfahren möglich, das auf dem Nachweis des Wassergehalts der Tröpfchen beruht. Chemische Reaktionen treten im allgemeinen nur bei Anwesenheit von Wasser ein. Bringt man zwei miteinander reagierende Stoffe in trockener Form und feiner Verteilung auf ein Papier und bespritzt das Papier mit Wasser, so wird an den befeuchteten Stellen die Reaktion eintreten. Verwendet man hierbei eine schnell erfolgende, feine und deutlich sichtbare Reaktion, so wird man genaue Abbildungen der Wassertröpfchen auf den präparierten Papieren erhalten. Zum Nachweis der Hustentröpfchen erwies sich auf Grund zahlreicher Versuche folgendes Verfahren als brauchbar. Ein wenig saugfähiges Papier wird mit einer 2proz. Ferrosulfatlösung bestrichen und nach Trocknen mit fein gepulvertem Ferricyankalium eingerieben. Hustet man gegen ein derartiges Papier, so erscheinen sofort blaue Punkte, die in Form und Größe den ausgehusteten Tröpfchen, je nach der Saugfähigkeit des Papiers, entsprechen. Man kann auf dem Papier Tröpfchen bis zu  $10\mu$  mikroskopisch nachweisen. Wäscht man das Papier schnell und gründlich mit Wasser, so sind die Bilder fixiert (Voraussetzung für Fixation nur gut geleimte Papiere). Bei dem Waschen wird das Ferricyankalium so schnell fortgespült, daß es mit dem Ferrosulfat eine Reaktion nicht eingehen kann. (Präparierte Papiere sind durch F. M. Lautenschläger-München zu beziehen.)

Mit dieser Methode wurden eingehende Untersuchungen über Zahl, Form, Streuweite der Tröpfchen angestellt, außerdem wurde mit ihr die Verbreitung der Hustentröpfchen in den Wohnungen Tuberkulöser untersucht. Hierüber wurde kurz auf dem Tuberkulosekongreß in Bad Kösen berichtet, ein eingehender Aufsatz wird in den Brauerschen Beiträgen erscheinen.

Die Untersuchungen zeigten, daß die Hustentröpfchen in weitgehendem Maße von Bazillenhustern verbreitet werden; unter Nachprüfung der Arbeiten von Ziesché



und Hippke konnte festgestellt werden, daß mit den Hustentröpfchen Tuberkelbazillen in nicht unerheblichen Mengen und in weit feinerer Ausstreuung, wie dies etwa bei Auswurf möglich wäre, dauernd von Hustern verbreitet werden. Die Versuche zeigten weiterhin, daß die Tröpfchen nicht nur für Inhalationsinfektionen, sondern vielleicht auch in noch höherem Grade für Schmier- und Staubinfektionen besonders im Kindesalter in Frage kommen. Die tuberkelbazillenhaltigen Tröpfchen stellen daher eine Infektionsgefahr dar, die bei der Desinfektion ernstlich beachtet werden muß.

Es ergab sich demnach die praktische Frage, läßt sich unter Anwendung einfacher Desinfektionsmaßnahmen die Verbreitung tuberkelbazillenhaltiger Hustentröpfchen verhüten?

Die Tröpfchen werden bedeutungslos, wenn es gelingt, sie im Augenblick des Hustens abzutangen und die in ihnen enthaltenen Erreger abzutöten. Husten gegen die Hand, gegen das Taschentuch wird die Tröpfchen zwar für eine gewisse Zeit lokalisieren, aber stets die Möglichkeit zu weiterer Verbreitung geben. Nach verschiedenen Versuchen wurde praktisch folgendes Verfahren zur Vernichtung der Tuberkelbazillen in den Hustentröpfchen durchgeführt: auf dem Boden einer kleinen Untertasse werden mehrere Lagen Zeitungspapier bzw. eine Watteschicht gelegt und gut mit einem Desinfektionsmittel — insbesondere wurde hier das Alkalyzol verwendet — befeuchtet. Tuberkulöse wurden angewiesen, gegen die Tasse aus größter Nähe zu husten. Auf diese einfache Weise lassen sich alle ausgehusteten Tröpfchen abfangen und die in ihnen enthaltenen Bakterien abtöten. Das Verfahren läßt sich nach richtiger Belehrung praktisch gut durchführen. Daß man in dieser Art ein Zimmer wirklich von Hustentröpfchen freimachen kann, zeigt folgender Versuch. In dem Zimmer einer Tuberkulösen wurde zunächst die Tröpfchenausbreitung festgestellt; sie war sehr erheblich, dann wurde der Frau oben genanntes Verfahren und seine Bedeutung auseinandergesetzt. Die Frau verfuhr entsprechend. Nach 2 Tagen wurden abermals Papiere ausgelegt, es konnten auf ihnen nur ganz vereinzelt Tröpfchen festgestellt werden. Die von den Tröpfchen ausgehende Infektionsgefahr hat sich in diesem Falle praktisch beseitigen lassen. Weitere Versuche in einer Fürsorgestelle haben gezeigt, daß das Verfahren sich bei verständigen Personen ohne Mühe durchführen läßt. Neben diesem Verfahren erscheinen noch andere laufende Desinfektionsmaßnahmen im besonderen für die Kleidung, die stark mit Tröpfchen beschmutzt wird, und für die Möbel usw. notwendig, die sich aus den üblichen Desinfektionsmaßnahmen ergeben und daher keiner weiteren Ausführungen bedürfen. Die Untersuchungen mit der neuen Darstellungsmethode der Tröpfchen haben gezeigt, daß den Hustentröpfchen bei der Tuberkuloseverbreitung eine größere Bedeutung, wie bislang angenommen zukommt, daß man aber durch einfache Maßnahmen diese Gefahr sehr erheblich verringern kann. Es mag erwähnt werden, daß derartige Maßnahmen auch bei anderen Krankheiten, deren Erreger durch Husten und Niesen ausgeschieden werden, in Frage kommen und entsprechende Anwendung finden sollten.

Czaplewski (Köln):

Meine Damen und Herren!

Gestatten Sie mir zu den eingehenden Ausführungen der Herren Referenten über die so schwierige Frage der Desinfektion einige Bemerkungen aus der Desinfektionspraxis heraus zu machen. Ich bitte Sie dabei ausdrücklich von vornherein, das, was ich vorbringen werde, als sine ira et studio, nur im Interesse der Sache selbst gesagt, zu betrachten.

Die neue Desinfektionsordnung hat bei den Desinfektionsanstalten alles andere als das Gefühl der Befriedigung ausgelöst, vielmehr große Beunruhigung und ernste Besorgnis hervorgerufen.

Um es von vornherein klarzustellen, so möchte ich vorausschicken, daß auch ich der Ansicht bin: es ist früher unzweifelhaft vielfach zu viel, unzweckmäßig und nicht im rechten Zeitpunkt, d. h. meist zu spät desinfiziert worden. Eine Revision unserer Anschauungen und eine Reform der Desinfektionspraxis war also wohl berechtigt und am Platze. Mir sind für die Desinfektionspraxis einige lateinische Sprüche immer sehr beherzigenswert erschienen: Ne quid nimis, nichts im Uebermaß; Nil nocere, nicht Schaden anrichten; Ne bis in idem, nichts (unnützlich) doppelt machen; Cito, schnell; tuto, sicher; jucunde, bequem und angenehm, d. h. ohne übermäßige Belästigung des Publikums!

Anmerkung: Da die Zeit für die Diskussionsbemerkungen aus allgemeinem Zeitmangel zu kurz bemessen war, konnte ich manches, was ich zu den Referaten zu sagen hatte, nicht vorbringen, habe es aber für die Drucklegung in Klammern beigefügt.

Mit einem Wort, auch ich bin dafür, die Desinfektion auf das notwendigste Maß zu beschränken — über das sich freilich streiten läßt.

Die neue Desinfektionsordnung betont mit Recht die Wichtigkeit der laufenden Desinfektion gegenüber der Schlußdesinfektion. Erstere ist unzweifelhaft wichtiger; denn die Hauptquelle der Ansteckung und Uebertragung ist der kranke Mensch und in zweiter Linie erst alles das, was durch ihn infiziert wurde. Diese letzteren Infektionsquellen sind schon allein aus dem Grunde weniger gefährlich, weil dabei viele Krankheitskeime in unschädlicher Weise fixiert werden und ganz von selbst mehr oder weniger rasch und vollkommen zugrunde gehen. Dadurch nimmt die Zahl der Infektionstüchtigen immer mehr ab und die Gefahr der Infektion wird immer geringer.

Die neue Desinfektionsordnung geht nun von der Annahme und Voraussetzung aus, daß die laufende Desinfektion auch wirklich gut und absolut zuverlässig ausgeführt wird. Wer liefert aber die Garantie, daß dies auch wirklich der Fall ist? Es unterliegt vielmehr keinem Zweifel, daß damit der Hinterziehung von desinfektionspflichtigem Material Tür und Tor geöffnet ist. Der Arzt soll entscheiden. Er ist aber vielfach abhängig von den Wünschen der Angehörigen der Kranken, welche aus Bequemlichkeit und wegen der hohen Kosten die notwendigen Desinfektionen erfahrungsgemäß möglichst zu umgehen und zu vermeiden suchen. Eine weitere Folge ist eine Abnahme der Anmeldungen bei den Desinfektionsanstalten, namentlich, was ja auch beabsichtigt war, in bezug auf die Schlußdesinfektion.

Der Schlußdesinfektion hat man mit Recht vorgeworfen, daß sie vielfach zu spät kommt und daher so ganz überflüssig, ja widersinnig ist, namentlich wenn der Kranke nach Genesung und seine Angehörigen mit andern Personen schon wieder lange in Berührung gekommen waren usw. Dieser Vorwurf ist ganz richtig und vollberechtigt. Er trifft meiner Ansicht nach nicht die Schlußdesinfektion an sich, sondern das Meldewesen, welches hier eben einer Reform bedarf. Würden die Desinfektionsmeldungen, ohne Umwege über die Gesundheitspolizei, direkt an die Desinfektionsanstalt gelangen und dieser die sinngemäße Ausführung nach den Vorschriften übertragen werden, könnte viel Zeit gespart werden, und das Verfahren würde besser klappen. Auf die Schlußdesinfektion gänzlich und in allen Fällen zu verzichten, ist unmöglich. Man wird aber dahin arbeiten müssen, sie da, wo sie notwendig erscheint, auch wirklich sinngemäß zur richtigen Zeit auszuführen und auch hinsichtlich der Ausdehnung auf das notwendige Maß zu beschränken.

Bei genauer Betrachtung der komplizierten Vorschriften der neuen Desinfektionsordnung zeigt sich nun, daß dieselbe eigentlich nur die soeben als „Preußische“ Krankheiten bezeichneten Infektionskrankheiten betrifft. Für die Städte und Gemeinden bedeutet dies tatsächlich aber keine wesentliche Entlastung. Denn sie müssen ihre Desinfektionseinrichtungen, den ganzen Apparat des Desinfektionswesens und die angestellten Desinfektoren für den Bedarf ihrer Infektionskrankenhäuser, für die sonst notwendigen Fälle, zur Bekämpfung größerer Seuchen und zur Abwehr der gemeingefährlichen Krankheiten doch beibehalten, um jederzeit gerüstet und nicht im Ernstfall wehrlos zu sein.

Es handelt sich jetzt geradezu um die Frage des Weiterbestehens der Desinfektionsanstalten, welche an sich durch die kolossalen Steigerungen der Ausgaben für Personal, Löhne, Chemikalien in einem schweren Existenzkampf stehen.

Ich hatte den Eindruck, daß die ganze neue Desinfektionsordnung auf Ersparnis berechnet war. Leider bin ich aber zu der Ueberzeugung gekommen, daß genau das Gegenteil erreicht ist, und daß sie uns viel teurer zu stehen kommt, dafür aber weniger leistet und viel weniger zuverlässig ist als das alte Verfahren mit seinen unzweifelhaften Mängeln. Das neue Verfahren verwendet wieder mehr Menschenarbeit; Menschenarbeit ist aber teurer. Warum doch wurde seinerzeit die Einführung des Formalinverfahrens als ein gewaltiger Fortschritt begrüßt? Weil es ein automatisch arbeitendes Verfahren ist, welches uns unabhängig macht von der Sorgfalt und Geschicklichkeit der Desinfektoren, da die Formaldehyddämpfe mit größter Wahrscheinlichkeit überall dahin kommen, wo auch Krankheitskeime mit verspritzten Tröpfchen und Staub hingelangt sein können.

(Das Formalinverfahren wird neuerdings zurückgesetzt, nicht etwa, weil es sich nicht bewährt hätte, sondern weil Formalin zu schwer zu haben und zu teuer geworden war. Dies liegt aber, wie ich höre, daran, daß das Formalin in großen Mengen von zum Teil ausländischen Fabriken aufgekauft wird, um daraus durch Kondensation mit Karbolsäure etc. Kunstharze und ähnliche Kondensationsprodukte zu erzeugen. Es wäre da doch in Erwägung zu ziehen, dies zu verbieten, wenn dem Staate dadurch für die Seuchenbekämpfung so wichtige Desinfektionsmittel entzogen werden.)

Ich muß gestehen, ich kann mich der Empfindung nicht erwehren, daß wir, wenn

wir die Desinfektion so energisch abbauen und alles, was wir gestern noch dringend empfohlen (namentlich die Schlußdesinfektion) heute für ganz unnötig erklären, geradezu den Ast absägen, auf dem wir sitzen.

In jahrelanger geduldiger Arbeit hat man das Publikum dazu erzogen, daß es von der Notwendigkeit der Desinfektion überzeugt ist und dieselbe mit ihren unangenehmen Konsequenzen geduldig auf sich nimmt. Hat man auch bedacht, was das Publikum von den Neuerungen denken soll? Ist es ein Wunder, wenn es dadurch kopfscheu gemacht wird und wenn dadurch das Ansehen der autoritativen Vertreter notwendig leidet?

Daher möchte ich die dringende Bitte und Mahnung an alle diejenigen richten, die über die so wichtige Desinfektionsfrage zu entscheiden haben: Erschweren Sie uns nicht die praktische Desinfektionsarbeit! Und vernichten Sie uns nicht das Werk, das viele Männer der Wissenschaft und der Praxis in jahrelanger Arbeit mühsam aufgebaut haben.

Dabei ist praktisch die neue Desinfektionsordnung zum Teil ganz undurchführbar und ist z. T. vollkommen zurückgenommen. Und sehe ich den Eudeffekt an, so finde ich, daß die alten Einrichtungen schlagfertig für den Bedarfsfall erhalten bleiben, zum Teil namentlich auf dem Lande sogar noch weiter ausgebaut werden müssen, daß die Arbeit aber zum Teil durch stärkere Verwendung von Menschenkräften verteuert wird. Dazu kommt stellenweise noch erhöhte Einstellung von weiblichen Kräften, die untergebracht werden müssen! — für laufende Desinfektion, wodurch weitere erhebliche Mehrkosten verursacht werden. Gesamtergebnis also: keine Ersparnisse, im Gegenteil mehr Ausgaben.

Ich habe hier noch einige kurze Bemerkungen über Desinfektionsmittel zu machen, zunächst über den Dampf.

Auch die Verwendung der Dampfapparate wollte man beschränken. Nach dem, was ich während des Krieges und nach dem Kriege gesehen, haben gerade die Dampfapparate ihre absolute Unentbehrlichkeit für jeden Ernstfall: Krieg, schwere Seuchen usw. schlagend erwiesen. Sie sind einfach und zuverlässig. Wo sie noch fehlen, muß man sie beschaffen! Bezüglich der Größe soll man nach meinen Erfahrungen über 4 cbm nicht hinausgehen, da sie dann zu schwerfällig sind. Kleinere von 2 cbm sind im Ernstfall zu klein und höchstens für fahrbare Desinfektoren zuzulassen, die an sich durchaus nicht ideal sind. Dagegen bin ich dafür, wie bei Dampfkesseleinrichtungen, nicht einen, sondern zwei solche Apparate aufzustellen, damit man stets für großen Bedarf und bei Versagen des einen, eine Reserve hat. (Zentralverschlüsse sind unnütz teuer. Die einfachen Verschlüsse genügen. Der Rand der Tür soll aber nicht geschwächt, sondern verstärkt werden. Um Durchnässung des Desinfektionsgutes durch Ueberschwappen zu vermeiden, muß die seitliche Rinne am Schutzdach genügend breit und das Abflußrohr weit und nicht verstopft sein. Vakuumformalinalapparate (z. B. Rubner-Apparate) sind gewiß sehr gut und für empfindliche Objekte sehr wünschenswert. Wir sind aber leider noch nicht so weit, daß wir, wie ein Rechtsanwalt in einem Prozeß wegen Sachbeschädigung durch Desinfektion verlangte, diese gewiß vollkommeneren aber auch viel teureren und empfindlicheren Systeme überall verlangen könnten. Wir müssen zufrieden sein, wenn überhaupt schon ein leistungsfähiger Dampfapparat vorhanden ist. Bei den mit elektrischer Luftpumpe arbeitenden Rubner-Apparaten hat es sich bei uns gelegentlich als sehr störend erwiesen, daß bei Herabsetzung und Sperrung der Elektrizität, ferner natürlich bei Beschädigung des Motors, der ganze Apparat unverhältnismäßig lange außer Gefecht gesetzt wurde. Bei den mit Benzin arbeitenden Luftpumpen aber hat die Beschaffung des Benzins Schwierigkeiten bereitet. Dazu ist das Benzin auch sehr teuer geworden. Die Preise der Desinfektionsmittel sind ganz enorm gestiegen, und die Beschaffung der Desinfektionsmittel hat während des Krieges und nach dem Kriege oft recht große Schwierigkeiten gemacht.)

Mit einigen Worten muß ich dabei des Sublimats gedenken, das in 1-prom. und jetzt sogar in 5-prom. Lösung empfohlen wird.

Wenn auch seit Geppert festgestellt ist, daß das Sublimat tatsächlich nicht die anfangs angenommene und gerühmte absolute Desinfektionskraft besitzt, sondern daß dabei eine Nachwirkung infolge einer Art Depotwirkung eintritt, welche diese hohe absolute Desinfektionskraft gewissermaßen vortäuscht, bleibt das Sublimat immer noch eines der praktisch brauchbarsten Desinfektionsmittel. Nicht außer acht gelassen werden darf aber seine enorme Giftigkeit, die man neuerdings fast vergessen zu haben scheint. Wenn ich hier bezüglich des Sublimats ein warnendes Wort spreche, möchte ich aber daran erinnern, daß ich es gerade gewesen bin, der bei der praktischen Wohnungsdesinfektion die giftige und teure, riechende Karbolsäure des „Berliner Desinfektionsverfahrens“ durch die geruchlose 1-promillige (und für Wasche ungefärbte) Sublimatlösung (aus Pastillen zu bereiten) ohne jeden Schaden ersetzt hat.

Vor der 5-prom. Sublimatlösung möchte ich direkt warnen. Ich für meine Person lehne sie glatt ab. Ganz abgesehen davon, daß auch sie in dicke Sputumballen

nicht sicher eindringt, ist sie viel zu stark, greift, worüber unsere Desinfektoren klagen, Hände und Gegenstände, z. B. Polituren, Metallsachen viel stärker an und die Giftigkeit dieser starken Lösung ist eine viel größere. Ich trage daher die schwersten Bedenken, sie zur laufenden Desinfektion insbesondere von Sputum, Laien in die Hand zu geben, um so mehr, da mir in neuerer Zeit mehrere Fälle von schwerer, zum Teil tödlicher Sublimatvergiftung bekannt geworden sind. (Zwei Fälle sind besonders typisch zur Kennzeichnung der Sorglosigkeit, mit welcher Sublimatvergiftungen mitunter zustande kommen.)

In dem einen Falle erkrankt ein Museumsaufseher an Typhus. Als er im Krankenhaus aufgenommen war, revidiert seine Frau seine Taschen und findet darin rötliche Krümel. Da stellt sich denn folgendes heraus: Der Patient war ein Quartalstrinker. Um den Geruch des Alkohols zu verdecken, hatte er lose in der Tasche Pfefferminzpastillen. Die von der Frau gefundenen roten Bröckel aber waren Reste einer Sublimatpastille, welche er ebenfalls lose in die Tasche gesteckt. So genoß er also Pfefferminzpastillen mit Sublimatbeimengungen. Sein angeblicher Typhus war eine Sublimatvergiftung mit Dickdarmphterie. Er kam durch.

Viel tragischer ist der Fall einer jungen Aerztin, welche in gleichen Kristallisationschalen, wie sie zu Färbezwecken benutzt werden, 1) eine Zahnwasserlösung, 2) eine ganz konzentrierte Sublimatlösung vorrätig hielt. Beim Aufstehen im Winterdunkel verwechselte sie eines Tages in der Eile die beiden Lösungen. Als sie die konzentrierte Sublimatlösung in den Mund bekam, spuckte sie dieselbe so schnell wie möglich aus, mußte husten und, soviel ich weiß, erbrechen. Dabei hat sie aber wohl doch etwas Sublimat verschluckt, vielleicht auch aus den verätzten Mund- und Rachenorganen resorbiert. Trotz der erdenklichsten Pflege starb sie nach 5 oder 6 Tagen mit schwerer Nephritis und weit hinaufreichender Dickdarmphterie. Wenn solche Fälle in Kreisen passieren, die mit Sublimat umzugehen wissen sollten, dann muß man wohl ganz davon absehen, dies fürchterliche Gift, Laien à discrétion in die Hand zu geben.

Bezüglich der Desinfektion des tuberkulösen Auswurfs möchte ich daran wieder erinnern, daß Abkochen in 1-proz. Sodalösung doch ein ganz vorzügliches und ganz bequemes Mittel zur Unschädlichmachung des Auswurfs, namentlich des tuberkulösen, ist. Sehr bequem ist auch Sterilisieren in den kleinen Wexschen Handsterilisatoren, welche ich seit Jahren für Laboratoriumszwecke verwende und auch Lautenschläger empfohlen habe. Der Boden braucht nur 1 Finger hoch (wie Looock für seinen Milchsterilisator empfahl) mit Wasser bedeckt zu sein. In 14 Min. kann auf gutem Gaskocher die ganze Sterilisation beendet sein.

Tuberkulöses Sputum undesinfiziert in die Kanalisation oder Abortgruben oder auf Düngerhaufen zu geben, halte ich für unerlaubt und direkt strafbar!

Das Zentrum der praktischen Seuchenbekämpfung ist und bleibt die Desinfektionsanstalt mit ihren stationären Dampf- (und ev. Vakuum-)Apparaten. Aus praktischen Gründen wird sie bekanntlich vielfach an ein Krankenhaus angelehnt, welches an sich Desinfektionseinrichtungen nicht entbehren kann, seinerseits aber der Desinfektionsanstalt den Dampf liefert<sup>1)</sup>. So ist das an vielen Orten. In größeren Städten gibt es vielfach mehrere Desinfektionsanstalten, öffentliche und an Hospitälern. Wichtig erscheint mir dann, daß die Leitung in einer Hand vereinigt ist, und daß diese Anstalten einheitlich mit einheitlichem Personal arbeiten, welches der Leiter nach Bedarf verschieben kann.

In großen Städten sind diese Verhältnisse oft geradezu mustergültig geregelt. Dies trifft aber noch nicht für das Land zu. Hier empfiehlt sich m. E. die Errichtung einer öffentlichen Desinfektionsanstalt im Anschluß an das Kreis Krankenhaus möglichst mit zentraler Lage.

Das ist sehr wichtig, denn die Entfernungen spielen bei der Desinfektion eine sehr große Rolle. Wo große Entfernungen in Frage kommen, ist daher eine Automobilisierung des Betriebes empfehlenswert und rentabel, wie dies meines Wissens z. B. in Hamburg und Mannheim durchgeführt ist. In Köln hat es sich leider noch nicht erreichen lassen. Die Pferdebespannung der großen Desinfektionswagen wird aber immer teurer und ist sprunghaft auf 10, 20, 35, 50 M. pro Pferd und Stunde hinaufgegangen und zeigt noch weiter steigende Tendenz.

Automobilbeförderung empfiehlt sich aber nicht nur in Rücksicht auf große Entfernungen, sondern bedeutend schnelleres Arbeiten und infolgedessen Ersparnis an teurem Personal, das dadurch besser eingesetzt werden kann. Um die

1) Anmerkung bei der Korrektur: Dies System hat sich jetzt als das wichtigere erwiesen. Unsere Anstalten arbeiten weiter, während, wie ich höre, an anderen Orten Desinfektionsanstalten mit eigener Dampfanlage in Schwierigkeiten geraten sind und wegen Kohlenmangel und zu großer Kosten zum Teil nur noch an gewissen Tagen der Woche desinfizieren.

Desinfektionsanstalten bei ihrem Abbau des Betriebes besser zu verwerten, ist von verschiedenen Seiten eine Angliederung des Transports infektiöser Kranken an die Desinfektionsanstalt warm empfohlen worden. Der Vorschlag hat sein Für und Wider und bedarf ernster Prüfung. Auch kann eine Waschanstalt, insbesondere für Wäsche von Infektionskrankheiten und Infektionsabteilungen mit der Desinfektionsanstalt vorteilhaft verbunden werden. Mir selbst schwebt als sehr wünschenswert vor die Angliederung einer Ausleihanstalt für Krankenpflegeartikel.)

Bei der Ausführung und strengen Durchführung der Desinfektionsmaßnahmen ist es m. E. unbedingtes Erfordernis, einen zuverlässigen und gut ausgebildeten Desinfektorenstand zur Verfügung zu haben. Wir müssen daher, glaube ich, dahin streben, grundsätzlich nur amtlich geprüfte Desinfektoren im Hauptamt und möglichst überhaupt keine Desinfektoren im Nebenamt (höchstens als Hilfspersonal) bei Seuchenausbruch zu haben. (Das ist zum Teil eine reine Geldfrage. Jedenfalls müssen die im Hauptamt angestellten Desinfektoren ein ausreichendes, auch der jeweiligen Teuerung angepaßtes Einkommen haben. Man darf nicht vergessen, daß es für die Leute, wenn sie in anderen Berufen als Arbeiter besser bezahlt werden, gar keinen Anreiz hat, als Desinfektor zu arbeiten — um Not zu leiden! Wenn die Desinfektoren z. B. in Gruppe 4, die Oberdesinfektoren in 5 [dazu ohne Aufrückungsmöglichkeit] stehen, so ist das offenbar zu wenig. Sie klagen m. E. auch mit Recht über eine Bevorzugung der weiblichen Kräfte, welche zum Teil besser gestellt sind [Fürsorgerinnen in Gruppe 5 mit Aufrückung nach 6].) Es hat da, namentlich aus Anlaß der neuen Desinfektionsordnung in Desinfektorenkreisen eine lebhaftere Beunruhigung und die Befürchtung Platz gegriffen, daß sie durch die Fürsorgeschwestern (von denen vielleicht eine gewisse Ueberproduktion stattfand, und welche immer mehr untergebracht werden mußten) an die Wand gedrückt bzw. gar aus ihren Stellungen verdrängt, mit einem Wort, um ihr Brot gebracht werden sollten. Diese Befürchtungen erscheinen mir auch nicht ganz unbegründet, wenn man freilich auch schon sehr stark gebremst hat, bzw. zurückgegangen ist. Es hat sich eben beim Versuch zur Durchführung nicht alles praktisch so durchführbar erwiesen. (Jedenfalls hat man, meine ich, und das muß rückhaltlos offen ausgesprochen werden, wenn man die amtlich geprüften und angestellten Desinfektoren zur Aufgabe ihres früheren Berufes zur Ausbildung und Prüfung veranlaßt und sie anstellte, ihnen gegenüber auch die Verpflichtung, für sie weiter zu sorgen. Bei der Zusammenarbeit der Desinfektoren mit den Fürsorgeschwestern haben sich mitunter Schwierigkeiten dadurch ergeben, daß die Schwestern die vielfach älteren und erfahreneren Desinfektoren kommandieren wollten. Bezüglich der Zuverlässigkeit und Sicherheit des Arbeitens gebe ich nach meinen Erfahrungen einem gut ausgebildeten Desinfektor unbedingt den Vorzug.)

Auf eine möglichst gute Ausbildung des Desinfektionspersonals — nur in den Desinfektionsschulen — lege ich natürlich auch den allergrößten Wert. Die auch von mir befürwortete Verlängerung der Arbeitszeit bedingt aber für die Auszubildenden, weil die Ausbildung intensiv betrieben werden muß, eine enorme berufliche Störung, auch im Betrieb der Desinfektionsanstalt, und erfordert eine recht anstrengende Mehrarbeit. Demgegenüber ist da aber auch — und da möchte ich zum Fenster hinausprechen — eine entsprechende Honorierung der Auszubildenden notwendig und Pflicht. Die geistige Arbeit muß unzweifelhaft besser bezahlt werden als die körperliche, zumal sie noch viel mehr Ausbildung erfordert. Hier fehlt es seinerzeit noch vollkommen. Die jetzigen Honorare sind ganz unzureichend (zumal wenn man sie entsprechend der Entwertung der Mark zurzeit durch 100 dividieren muß). Eine Erhöhung der Gebühren der Prüflinge für Ausbildung und Prüfung erscheint kaum möglich. Es wäre daher ein entsprechender Zuschuß von seiten des Staates im öffentlich gesundheitslichen Interesse notwendig, der aber sofort und nicht erst nach 2 Jahren zur Auszahlung käme, wenn die Mark noch weiter entwertet ist. Die Gemeinden würden bei Erhöhung der Gebühren die weitere Ausbildung unzweifelhaft zu vermeiden suchen, und die Gemeinde, welche die Desinfektorenschule unterhält, hat an der Ausbildung fremder Desinfektoren doch wohl recht wenig Interesse. Daher wäre die Verwendung von Staatsmitteln für diese Zwecke durchaus berechtigt.

(Wenn man, wie das immer mehr gewünscht wird, das Desinfektionswesen abzubauen sucht, so wird dadurch die Frage der Weiterbeschäftigung der vorhandenen Desinfektoren, gegen die man, wie ich oben anführte, unzweifelhaft auch Verpflichtungen hat, eine dringende. Und da ist uns durch die Entwicklung der ganzen Verhältnisse während des Krieges und nach demselben eine, wie ich glaube, recht glückliche Lösung gegeben: Die Umstellung des gesamten Desinfektionsbetriebes nach der Richtung der Schädlingbekämpfung. Im Krieg wurde die Bekämpfung einer ganzen Reihe von Schädlingen, insbesondere der Läuse, modern. Namentlich die Bekämpfung der Kleiderlaus hat bekanntlich einen ganz gewaltigen

Umfang angenommen. Ueberall wurden wegen Ueberhandnehmens der Läuseplage Entlausungsanstalten gebaut, so nach dem Kriege auch in Köln zur Entlausung der heimkehrenden Krieger. Die an das Kaiser Wilhelmsbad angeschlossene Anstalt ist inzwischen bereits wieder geschlossen, weil wir die Kleiderläuse praktisch so gut wie vollkommen vertilgt haben, so daß der Betrieb keine Arbeit mehr hatte. Eine kleinere Entlausungsanlage ist im Anschluß an die Desinfektionsanstalt auf der Stadt. Krankenanstalt Lindenburg unter meiner Oberleitung beibehalten zur Bekämpfung der leider, namentlich in den Volksschulen noch weit verbreiteten Kopfläuse. Wir arbeiten dabei nach einem besonderen Verfahren. Wässerige Flüssigkeiten wirken auf Läuse, wie ich beobachtet hatte, schlecht, weil die Läuse davon nicht benetzt werden. Dünner Alkohol benetzt sie gut und dringt durch die Tracheen ins Innere (auch durch die Luftlöcher in die Nissen) ein, so daß dieselben wie geronnen aussehen. Wir benutzten dazu denaturierten Spiritus, der auch noch mit ca.  $\frac{1}{2}$  Aqua verdünnt werden kann, mit 1 Proz. Peruol oder Perugen. Der Spiritus muß methylalkoholfrei sein! (Erblindungs- und Vergiftungsgefahr!) Die Haare werden mittels Zellstoffwatte mit der Lösung stark befeuchtet und 20–30 Min. unter einer Haube von Billrothbattist gehalten. Das genügt meist auch zur Abtötung der Nissen. Daß dabei die Haare erhalten bleiben, erwirbt uns den Dank der Mütter. Meist schließen wir ein Brausebad an. Zum Abkammen der Nissen empfehlen wir den sehr brauchbaren Nisskakamm (aus Nürnberg).

Gegen Wanzen haben wir bisher in Köln Salforkose verwendet und sind mit dem Erfolg im ganzen zufrieden. Auch bei der Salforkose ist durchaus Vorsicht geboten, da das Mittel in der Hauptsache aus Schwefelkohlenstoff besteht und daher sehr giftig, feuergefährlich und eventuell explosiv ist. Auch bei der Vergasung muß man bez. Einatmens der Dämpfe der beim Abbrennen reichlich entwickelten Schwefligen Säure vorsichtig sein. Ein Desinfektor hat im Felde infolge unvorsichtigen Einatmens schwere Bronchitis-Pneumonie-Pleuritis mit Emphysem bekommen und hat infolgedessen seinen Beruf als Desinfektor aufgeben müssen.

Die Einführung des Blausäureverfahrens haben wir wegen seiner enormen Gefährlichkeit grund-ärztlich abgelehnt. Dagegen haben wir uns zur vorläufig bedingten Einführung des Cyklonverfahrens entschlossen. Dasselbe soll zunächst in Desinfektionskammern, dann eventuell zur Durchgasung ganzer leerstehender und freistehender Gebäude, Baracken etc. verwendet werden. Cyklon ist zwar auch sehr giftig, aber in der Anwendung, namentlich infolge des als Warnung wirkenden, zugesetzten intensiven Reizstoffes bedeutend weniger gefährlich als Blausäure und besser zu kontrollieren. Ständige Ueberwachung und geschultes, zuverlässiges Personal sind natürlich Grundbedingung.

Im vergangenen Herbst trat in einigen Notbaracken plötzlich eine große Schabenplage auf, die aber wieder, namentlich wohl mit Einsetzen der kalten Witterung, beseitigt ist. Gegen Cyklon sind die Schaben auffallenderweise sehr wenig empfindlich, wie ich glaube wegen ihrer versteckten Lebensweise und weil die Eier doppelt verpackt sind.

Gegen Flöhe, deren Brut bekanntlich im Dielenschmutz nistet, hat sich uns in einigen Fällen Ausgießen der Dielenritzen mit Sublimatspiritus (1 Sublimatpastille à 1,0, denat. Spiritus 500,0, Aqua 500,0 in Flasche mit Spitzkorken) sehr bewährt, ein Verfahren, das ich hier zum ersten Male öffentlich bekannt gebe und das sonst unbekannt scheint.

Bei Mauseplage haben wir mehrfach mit Mäusetyphus mit selbstgezüchteten flüssigen Kulturen nach besonderem Verfahren sehr gute Resultate sowohl gegen Feldmäuse als Hausmäuse gehabt. Gegen Rattenplage haben wir aber gegen Verwendung eines der rattopathogenen Bakterien Bedenken getragen wegen der Uebertragungsfahr (auf Menschen) insbesondere in der Markthalle. (In letzterer haben wir mit Phosphorlatwerge [Auslegen durch Desinfektoren] zufriedenstellende Resultate gehabt. Leider haben alle Rattenbekämpfungsmaßnahmen wegen schneller Vermehrung überlebender Exemplare und fremden Zugugs, namentlich vom Schiff und von Kanälen aus, immer nur beschränkte Dauer.)

(Durch die immer größere Ausdehnung der Schädlingsbekämpfung [auch mit Mückenbekämpfung haben wir uns mehrfach erfolgreich zu beschäftigen gehabt] ist das Desinfektionswesen gezwungen, sich auf das Gebiet der Kammerjägererei auszudehnen. Es soll nicht geleugnet werden, daß es unter den Kammerjägern ganz erfahrene und tüchtige Leute gibt. Andererseits darf nicht unerwähnt bleiben, daß sie doch vielfach ganz kritiklos arbeiten und zum Teil gefährliche Mittel ohne genügende Kenntnis und Vorsichtsmaßregeln benutzen und empfehlen. Nachdem die außerordentliche Wichtigkeit der Schädlingsbekämpfung erkannt ist und namentlich in Rücksicht auf die Erkenntnis, daß durch gewisse Schädlinge [wie Kleiderläuse, Moskitos, Zecken usw.] menschliche und Tierkrankheiten übertragen werden, erscheint es auch mir durch-

aus geboten, daß Staat und Gemeinden die Schädlingsbekämpfung selbst in die Hand nehmen und organisieren. Meines Erachtens müßte die Kammerjägererei, welche geradezu unberechenbaren Schaden stiften kann, und vielfach doch nichts anderes als eine ungeheuerliche Ausnutzung des dummen Publikums ist, nicht bloß konzessionspflichtig sein, sondern rundweg verboten werden, zumal sie ausgerechnet mit Arsen, Blausäure und anderen stärksten Giften gearbeitet und Unheil angerichtet hat. Zum wenigstens wäre eine strenge Beaufsichtigung und Kontrolle der Kammerjäger, aber auch der Drogerien (und auch Apotheken und Fabriken, welche die entsprechenden Kammerjägerartikel liefern) seitens der Kreisärzte sehr notwendig. Ganz besondere Beachtung verdienen dabei die vielen zur Schädlingsbekämpfung auf den Markt geworfenen Geheimmittel. Geheimmittel müßten auch für diesen Zweck überhaupt verboten und genaue Angabe der Rezepte und aller Bestandteile verlangt werden. Ich erinnere an die Gefahr der Vergiftung durch arsenhaltige Präparate [auch Arsenwasserstoffvergiftungen!], nitrobenzolhaltige Läusemittel etc. etc.)

Zum Schlusse möchte ich bezüglich der Schädlingsbekämpfung und Ausnutzung der Desinfektionsanstalten auf einen Vorschlag zurückkommen, den ich schon früher gemacht: man solle bei der Bekämpfung der menschlichen Seuchen und Schädlinge Hand in Hand gehen mit der Landwirtschaft, d. h. Verwendung der Desinfektionsanstalten (insbesondere der Kreisdesinfektionsanstalten) auch zur Bekämpfung der Tierseuchen auf dem Lande. (Dann wäre auch genügende Beschäftigung für hauptamtlich angestellte Desinfektoren vorhanden. Und das ganze System der Seuchenbekämpfung würde an Einheitlichkeit und Durchschlagskraft gewinnen, zumal ja vielfach tierische Infektion auf den Menschen übertragbar sind [cf. Milzbrand, Rotz, Lyssa, Maul- und Klauenseuche, Tuberkulose, Paratyphus, Gärtner, Kapselbazilleninfektionen, eitrige Infektionen etc.] Denen aber, die jetzt das mühsam aufgebaute stolze Gebäude der Desinfektion leichten Herzens einreißen wollen, möchte ich zu erwägen bitten, ob die Tierärzte z. B. auf die Desinfektion bei Tierseuchen ebenso leicht und gern verzichten würden. Ich gebe ohne weiteres zu, daß in vielen Fällen auch ohne Desinfektion alles gut geht. Das geht eine Zeitlang ungestraft. Dann kommen aber die unausbleiblichen üblen Folgen! Würden unsere Chirurgen auch auf ihre Sterilisation, Asepsis und Antisepsis verzichten können? Niemals! Ich bin daher gewiß für Beschränkung der Desinfektion auf das notwendigste Maß, muß aber jeden Versuch dieselbe beseitigen zu wollen, als schweren und unheilvollen Fehler betrachten.)

(Abschließend muß ich betonen, daß die Diskussion zu den Referaten über Desinfektion wohl kein richtiges Bild der tatsächlichen Verhältnisse ergeben konnte, weil aus Zeitmangel die Zeit für die Diskussionsbemerkungen ungemein beschränkt werden mußte. Dadurch konnte vieles nicht vorgebracht werden, was zur Klärung der praktisch eminent wichtigen Frage doch absolut notwendig war. Auch weiß ich, daß verschiedene Herren, z. B. aus Oesterreich, lediglich wegen der Kürze der Zeit sich nicht geäußert haben.)

(Zum Referate von Hailer möchte ich bemerken, daß ich mich mit einer völligen Verurteilung der Suspensionen zur Prüfung von Desinfektionsmitteln nicht einverstanden erklären kann. Meiner Meinung nach soll man das eine tun, das andere nicht lassen, d. h. man soll die Desinfektionsmittel zuerst gegen Bakteriensuspensionen, danach gegen Keimträger unter verschiedensten Bedingungen prüfen. Ich verweise dabei bez. Prüfung mit Suspensionen auf die anscheinend in Vergessenheit geratenen Arbeiten von mir<sup>1)</sup> und Scheible<sup>2)</sup>, da die benutzte Technik, wie ich glaube, manche Vorteile bietet und eine schnelle Orientierung gestattet.)

Seligmann (Berlin): Die praktischen Auswirkungen der neuen Desinfektionsanweisungen in Berlin dürfen schon deshalb besonderes Interesse beanspruchen, weil die Reichshauptstadt mit ihren 20 Verwaltungsbezirken sowohl rein städtische wie rein ländliche Gebiete aufweist. In allen diesen Bezirken ist das Desinfektionswesen nach bestimmten Richtlinien, die Interessenten gern zur Verfügung stehen, einheitlich geregelt. Jeder Bezirk hat seinen Obmann, der täglich auf der polizeilichen Meldestelle die einlaufenden Meldungen und die Totenscheine einsieht und zur Bearbeitung an die anderen Desinfektoren weiterleitet. Diese begeben sich nun in die Familie, sorgen für ärztliche Behandlung, wo sie noch fehlen sollte, und stellen den Arzt vor die Frage,

1) Czaplowski, Beiträge zur bakteriologischen Prüfung von Desinfektionsmitteln. (Desinfektion. Bd. 4. 1911. H. 9. S. 417—429.)

2) Scheible, Untersuchungen über die Desinfektionskraft des Sauerstoffwaschmittels Persil etc. (Ebenda. Bd. 4. 1911. H. 9.)

ob er selbst die Ueberwachung der Desinfektionsmaßnahmen leiten oder sie der Gesundheitsbehörde überlassen will. In 99 Proz. lehnen die Aerzte die Uebernahme ab, zum Teil durch Pauschalerklärungen ärztlicher Vereine; und da auch sachkundiges Schwesternpersonal fast immer fehlt, tritt der Desinfektor in Funktion. In häufig wiederholten Besuchen sorgt er für Belehrung und Bereitstellung der Desinfektionslösungen usw. Auf jeden Fall akuter Krankheit kommen durchschnittlich 7 Besuche; bei der Tuberkulose versagt dagegen die laufende Desinfektion vollkommen. — Ist der Desinfektor einmal angesetzt, so ist er wie der Hund hinter dem Wilde her. Er verliert die Spur nicht mehr und sorgt für rechtzeitige Vornahme der Schlußdesinfektion. (Nur dort, wo die Aerzte schlecht oder zu spät melden, kommen noch die früher so häufigen, unsinnigen Verzögerungen vor.) Wenn irgend möglich, lassen wir die vereinfachte Schlußdesinfektion durchführen, ohne Dampf oder Formaldehyd; zurzeit sind das etwa 30 Proz. aller Schlußdesinfektionen. Wenn diese Zahl niedriger ist, als wir wünschten, so liegt das daran, daß akute Infektionskrankheiten so wenig vorhanden sind, wie seit Jahrzehnten nicht, daß dagegen die Tuberkulose beherrschend überwiegt. Und hier sind wir in der Zuhilfenahme der Dampfdesinfektion etwas weitherziger, als die Desinfektionsanweisung verlangt. Bei Tuberkulose beträgt die Zahl der vereinfachten Schlußdesinfektionen 28 Proz., bei Scharlach 77 Proz. Der teure Preis für Fuhrwerk und Löhne veranlaßt uns auch, die vereinfachten Desinfektionen vorzuziehen, trotz der oft unbewußten Gegenarbeit der Leiter von Desinfektionsanstalten, die den Abbau ihres Gebietes fürchten und die größere Selbständigkeit der Desinfektoren noch nicht recht vertragen können. Eine straffe Kontrolle der Desinfektoren und die rücksichtslose Ausmerzung ungeeigneter Elemente ist allerdings erforderlich. Mit brauchbarem Personal funktioniert die Neuordnung nach unseren Berliner Erfahrungen ausgezeichnet, ohne Reibung mit Arzt, Kreisarzt und Publikum. — Ein Wort noch über die Sublimat- gefahr. In den bisher übersehbaren 5 Monaten sind 2 Fälle von Sublimatexzem zur Beobachtung gekommen. Beide heilten nach Aussetzen des Sublimats schnell und ohne Schaden zu hinterlassen ab.

Freymuth (Berlin): M. D. u. H.! Als einem aus der nicht kleinen Zahl derer, denen die Blausäure beinahe einen frühzeitigen Lebensabschluß bereitet hätte, sei es mir gestattet, diesem zweifelhaften Wohltäter der Menschheit in Ihrem Kreise die Grabrede zu halten, die mir vorläufig noch erspart geblieben ist.

Wie wir am 15. Juni 1921 aus berufenem Munde gehört haben, waren der Blausäure bei ihrer Anwendung als Ungeziefer- und Schädlingbekämpfungsmittel bis zu diesem Tage rund 50 Menschenleben zum Opfer gefallen. Dieser Zahl sind noch die vielen Fälle von mehr oder weniger schweren Gesundheitsschädigungen hinzuzurechnen, die auf das Schuldkonto der freien Blausäure bzw. diese abgebender Stoffe und Zubereitungen gesetzt werden müssen. Ich war naiv genug anzunehmen, daß die staatlichen Aufsichtsbehörden angesichts dieser Vorfälle ex officio eingreifen würden. Aber erst meine Weigerung, als Organisator und späterer Leiter der Berliner Seuchenschutzdienststelle mit Blausäure weiterzuarbeiten, brachte den Stein ins Rollen und veranlaßte meine vorgesetzte Behörde, das Reichswehrministerium, Erhebungen über die Berechtigung meiner Argumente anzustellen. Das Resultat war erstens die Feststellung, daß „einige Todesfälle dem Blausäureverfahren als solchem zur Last gelegt werden müssen“, zweitens eine Verfügung vom 12. Dez. 1919, daß „eine Durchgasung von einzelnen Räumen in einem bewohnten Hause mit Blausäure überhaupt nicht erfolgen darf. Hier ist schweflige Säure vorzuziehen“. Ich war weiter naiv genug zu erwarten, daß zum Schutze der Zivilbevölkerung eine gleiche Verordnung erlassen werden würde. Aber weit gefehlt! Ich sah mich daher genötigt, am 26. April 1920 folgenden Antrag der Reichsregierung zu unterbreiten:

1) Blausäure darf in bewohnten geschlossenen Räumen (Gebäuden) und in unmittelbarer Nähe derselben — 20 m im Umkreise — zum Zwecke der Schädlings- und Ungezieferbekämpfung nicht verwendet werden.

2) Blausäure darf zur Durchgasung von unbewohnten geschlossenen Räumen nur dann verwendet werden, wenn bei Heranziehung eines anderen Stoffes eine Schädigung der darin lagernden Waren zu erwarten steht und eine Räumung nicht angängig ist.

3) Die Anwendung von Blausäure wird auch in den unter 2) aufgeführten Fällen so lange verboten, bis eine einwandfreie Methode zum Gebrauche der Blausäure gefunden ist.

Als Antwort auf diesen wohlbegründeten Antrag erfolgte unter dem 24. April 1921 eine glatte Ablehnung durch das zur Entscheidung angerufene Reichsgesundheitsamt. Aber es bedurfte nur einer kurzen Unterredung (23. Mai 1921) mit dem Präsidenten dieses Amtes, um meinem Vorschlage Geltung zu verschaffen. Eine ad hoc einberufene Konferenz, die am 15. Juni 1921 im Reichsgesundheitsamte unter dem Vorsitz des Herrn



Präsidenten stattfand, fällt das von mir in Absatz 1 erbetene Todesurteil über die Blausäure. An die Stelle der Blausäure sollte nach dem Vorschlage zweier Männer der Wissenschaft ein Derivat, der Cyankohlensäuremethyl(äthyl)ester, früher Cyklon, jetzt Ventox benannt, treten. Bei Anwendung dieses sollte nach Ansicht seiner Prorektoren jeder Unglücksfall ausgeschlossen sein; er enthielte einen starken Reizstoff, der ein Ueberschreiten der Gefahrenzone unmöglich mache.

Einen Tag nach dieser Besprechung, am 16. Juni, überbrachte mir die Post die Korrektur einer Arbeit, in der Klostermann-Halle einen durch Cyklon herbeigeführten Todesfall beschrieb. Wie der Fall möglich war? Der Reizstoff war, wie ich schon in der Konferenz hervorhob, schneller verflüchtigt, als der giftige Blausäureester. Inzwischen habe ich von einem zweiten Unglücksfalle durch Cyklon Kenntnis erhalten, den ich, da mir die Akten noch nicht vorgelegen haben, unter Vorbehalt referiere. Der Inhaber einer mit Cyklon durchgasten Wohnung soll, nach Freigabe derselben, beim Öffnen seines Zigarrenschrankes bzw. beim Anzünden einer diesem entnommenen Zigarre unter der Einwirkung von Blausäureresten umgefallen sein.

Heute haben wir bald wieder den 15. Juni, aber das in Aussicht gestellte Gesetz ist noch immer nicht in Kraft getreten. Ebenso ist mir noch nicht eine Verordnung bekannt geworden, die den uneingeschränkten Verkauf von Cyklon verbietet. Zur Begründung meines darauf abzielenden Antrages machte ich die Konferenzteilnehmer auch auf zahlreiche durch Cyklon verursachte Körperschädigungen, speziell in der Genitalgegend, aufmerksam, eine Tatsache, die durch die von Seligmann in der Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 45 beschriebenen, im September 1921 eingetretenen Unglücksfälle erhärtet wurde. M. D. u. H.! Trotz dieser Vorkommnisse hat sich die Reichsregierung noch nicht zu einem sofortigen Verbote entschließen können. Ein gewöhnlicher Sterblicher kann nicht 1 g Bittermandelwasser mit 0,1 Proz. Blausäure freihändig kaufen, aber Cyklon bzw. Ventox mit einem Blausäuregehalt von 30 Proz. kann er in jeder beliebigen Menge erwerben.

Zum Schlusse noch einige Worte über die Preisfrage! Das Blausäureverfahren ist sehr kostspielig, es übertrifft andere ausgezeichnete, gleiche Dienste leistende Stoffe um ein Vielfaches. Zur Illustration der Cyklonfrage sei noch angeführt, daß das aus Heeresbeständen stammende, der „gemeinnützigen“ Gesellschaft für Schädlingsbekämpfung zum Preise von 0,75 M. für 1 kg überlassene Cyklon an deutsche Staatsbürger zu 40 M. für die gleiche Menge weiterveräußert worden ist. Sapienti sat!

Lentz (Berlin): Herrn Neufeld möchte ich darauf hinweisen, daß die alte Desinfektionsanweisung von einer Kommission ausgearbeitet wurde, deren hervorragendste Mitglieder R. Koch, Flügge und Kirchner waren. Sie ist, wie auch die neue Anweisung, eben ein Produkt der jeweils geltenden Anschauungen. Wie sich die neue Anweisung bewähren wird, muß abgewartet werden. Die bisher vorliegenden Kritiken sind für ihre Beurteilung nicht maßgebend, sie beruhen noch nicht auf persönlichen Erfahrungen.

Daß die neue Anweisung nicht eher erschienen ist, liegt daran, daß der Verwaltungsbeamte sehr genau prüfen muß, ob er die Verantwortung für eine so grundlegende Neuordnung übernehmen kann. Kirchner und ich glaubten dies erst zu können, nachdem wir den Vorversuch bei der Ruhr mit gutem Erfolge ausgeführt hatten.

Wichtig für die Durchführung der neuen Anweisung ist nun die Ausbildung der Desinfektoren und Schwestern in der Desinfektion. Ich wäre allen Herren, die hier als Lehrer mitwirken, für eine Mitteilung ihrer Erfahrungen und der auf sie gegründeten Vorschläge für eine etwaige Aenderung der Ausbildung sehr dankbar. Aber ich bitte Sie, dabei zu bedenken, daß jede Verlängerung der Ausbildungszeit den ohnehin schon stark belasteten Kommunen erhebliche Kosten auferlegt.

Tjaden (Bremen): Herr Neufeld hat darauf hingewiesen, daß die Desinfektion nur im Rahmen der Gesamtseuchenbekämpfung beurteilt werden dürfe. Das ist richtig. Dann aber wäre es wünschenswert gewesen, die Frage zu beantworten, was hat die seitherige Art der Desinfektion und die Desinfektion überhaupt bis dahin bei der Seuchenbekämpfung geleistet. Es ist zuzugeben, daß es nicht leicht ist, die Wertigkeit eines Faktors allein bei der Zurückdrängung der ansteckenden Krankheiten, die in Deutschland unstreitig erreicht worden ist, herauszuschälen und zu beurteilen. Immerhin hätten sich aus der Nebeneinanderstellung von Masern und Keuchhusten auf der einen Seite und von Scharlach und Diphtherie auf der anderen allerlei Anhaltspunkte gewinnen lassen. Vielleicht hätten sich auch Städte gefunden, in denen wenig oder gar nicht desinfiziert worden ist, die in Vergleich zu stellen gewesen wären mit solchen, welche in umfangreicher Weise die Desinfektion durchgeführt haben. Die Zurück-

drängung der Zweifel an der Berechtigung der seitherigen Desinfektionsvorschriften und auch der neueren Desinfektionsordnung würde leichter sein, wenn das ganze bei der Seuchenbekämpfung geübte Desinfektionswesen nicht erhebliche Nachteile hätte. Diese bestehen darin, daß sie geeignet sind die Aufmerksamkeit von wichtigeren und dabei einfacheren Dingen abzulenken, daß sie wegen ihrer Belästigungen zur Verheimlichung einzelner Krankheitsfälle führen, und daß sie recht viel Geld und Arbeit kosten. Das letztere kann von ausschlaggebender Bedeutung sein, zumal in einer Zeit, in der die Mittel, wie es jetzt der Fall ist, beschränkt sind. Zum Krankwerden gehören zwei, einer, der infiziert und einer, der sich infizieren läßt. Wendet man Arbeit, die ja auch Geld bedeutet, und die vorhandenen Mittel dazu an, die Bevölkerung widerstandsfähig zu machen, so lassen sich auf diesem Wege die Seuchen wahrscheinlich noch besser zurückdrängen, als mit Desinfektionsmitteln. In Bremen sind den Gesundheitsbehörden 100 000 M. zur Verfügung gestellt, um an Diphtherie oder Scharlach oder Ruhr oder Typhus erkrankte Kinder sofort und ohne armenrechtliche Formalitäten in die Krankenhäuser zu bringen. 650 000 M. stehen für dieses Jahr zur Verfügung, um bei tuberkulösen Erkrankten und Tuberkulose-Bedrohten vorbeugende Maßnahmen durchzuführen. Wir haben in dieser Art schon seit Jahren in der Seuchenbekämpfung gearbeitet und die Desinfektionsmaßnahmen nach und nach in den Hintergrund treten lassen, und anscheinend nicht ohne Erfolg. Es wird auf diesem Wege weiter gegangen werden, nach einer Reihe von Jahren wird sich dann zeigen, wie man am weitesten kommt. Ergibt sich, daß die Ansicht mancher Praktiker, der Nutzen der Desinfektion stehe bei der Seuchenbekämpfung nicht im richtigen Verhältnis zu den Nachteilen, zutrifft, so muß sie fallen oder wenigstens so weit abgebaut werden, bis das Gleichgewicht erreicht ist, denn die Desinfektion darf niemals Selbstzweck werden. Auch vor den besten und folgerichtig durchdachten Sätzen der Desinfektionstheorie darf die Praxis mit ihrer Kritik nicht halt machen, da wir alle nur dem Einen dienen, das Würzburg an seinem neuen Universitätsgebäude mit dem Worte „Veritas“, wir aber als Hygieniker als „realer gesundheitlicher Nutzen“ für unser Volk bezeichnen.

Gegenbauer (Wien): Meine Versuche zur Klarstellung der chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Sublimat und den hauptsächlich in den Zellen vorhandenen Stoffen — den Eiweißkörpern und Lipoiden —, als deren Vertreter koaguliertes Rindereiweiß und Rüböl genommen wurde, haben ergeben, daß das Sublimat mit dem Eiweiß zwei Arten von Beziehungen, nämlich Lösungsbeziehungen und chemische Bindungen, mit dem Oel nur Lösungsbeziehungen eingeht.

Das Sublimat verteilt sich zwischen Eiweiß und Wasser, sowie Oel und Wasser wie zwischen 2 Lösungsmitteln, wobei das Molekulargewicht des verteilten Stoffes in beiden Phasen dasselbe ist. Ein Teil der in das Eiweiß übergegangenen Sublimatmoleküle geht eine chemische Bindung mit dem Eiweiß ein, indem durch Spaltung dieser Moleküle Protein-Hg und offenbar durch Austausch der Quecksilberatome dieser Sublimatmoleküle gegen Wasserstoffatome des Eiweiß freie Salzsäure entsteht, die sich mit dem Eiweiß zu Protein-HCl verbindet. Die Entstehung einer Verbindung von der Form Protein-HgCl ist nicht anzunehmen, da im gewaschenen Koagulum die einem einwertigen Hg äquivalente Chlormenge niemals gefunden wurde.

Versuche über das Salzsäurebindungsvermögen des verwendeten Rinderserums und über das Verhalten des Quecksilbercyanides zu koaguliertem Rinderserum machen es wahrscheinlich, daß beim Sublimat die Größe des Salzsäurebindungsvermögens für Eiweißkörper maßgebend für die Menge des an Eiweiß gebundenen Quecksilbers ist. Durch diese Annahme wird auch die Zunahme des gebundenen Quecksilbers mit der Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung verständlich. Die gebundene Salzsäure spaltet offenbar das an sie gebundene Eiweiß hydrolytisch auf, wobei Eiweißspaltprodukte mit höherem Salzsäurebindungsvermögen entstehen, die dann entsprechend dem gerade Ausgeführten eine Zunahme des gebundenen Quecksilbers bewirken.

Versuche mit Hefe als Vertreter der Mikroorganismen ergaben, daß hier dieselben Beziehungen vorliegen, wie beim Rinderserumkoagulum.

Nach den Ergebnissen weiterer Versuche ist anzunehmen, daß die Quecksilberverbindung mit dem Eiweiß der Keime durch Schwefelwasserstoff bzw. Sulfide gesprengt wird, wodurch die Stoffe der Keime, die an das Quecksilber gebunden waren, wieder funktionsfähig werden können, sofern sie nicht ihre Funktionsfähigkeit durch die Dauer der Bindung eingebüßt haben.

Die ausgeführten Desinfektionsversuche ergaben, daß die Desinfektionswirkung bei Nachbehandlung der desinfizierten Keime mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden von verschiedenen Faktoren bedingt ist, je nachdem es sich um Staphylokokken oder Milzbrandsporen handelt. Bei Staphylokokken stellt sich dieselbe als ein Effekt des im Protoplasma gelösten Sublimates dar. Denn hier ergab sich ein Zusammenhang zwischen

Abtötungszeit und Konzentration der Desinfektionslösung. Die höchsten Anwachsungszeiten betragen bei 0,01-proz. Lösungen 10 Tage, bei 1-proz. Lösungen 24 Std., bei 2-proz. Lösungen 7 Std. Für Milzbrandsporen muß man aber annehmen, daß das Bestehen der Bindungen den wirksamen Faktor darstellt, da hier die Abtötungszeit für die einzelnen untersuchten Konzentrationen im Ueberschlag dieselbe war (105 Tage). Das Ausbleiben des Wachstums nach bloßem Waschen der andesinfizierten Keime, dem in vielen Fällen, in denen die Möglichkeit ausgeschlossen ist, daß die Keime hinterher mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden in Berührung kommen, die praktische Bedeutung einer Abtötung zukommt, wäre theoretisch im strengen Wortsinn nicht als erreichte Desinfektion zu betrachten, da nach Sprengung der Proteinquecksilberverbindung durch Schwefelwasserstoff oder Sulfide noch höhere Anwachsungszeiten zu erzielen sind. Es handelt sich hier um eine Art Scheintod oder relativen Tod, relativ zu dem nachträglichen Schicksal. Die Erreichung dieses relativen Todes erweist sich sowohl für Staphylokokken wie Milzbrandsporen als allein vom Bestehen der Proteinquecksilberverbindung abhängig, da sich hier bei keiner der beiden Keimarten eine Abhängigkeit dieser Wirkung von der Sublimatkonzentration der Desinfektionslösung erkennen läßt. Eine Beteiligung der Salzsäurewirkung am Zustande dieser relativen Abtötung kann nach den Versuchsergebnissen ausgeschlossen werden. Würde nämlich die Salzsäureverbindung den Haupt- oder wenigstens einen wesentlichen Faktor darstellen, könnte kein so bedeutender zeitlicher Unterschied in den gefundenen Abtötungszeiten zwischen den Waschversuchen und den Versuchen mit Schwefelwasserstoffnachbehandlung bestehen, da ja doch die Salzsäurebindung durch Schwefelwasserstoff nicht gesprengt wird und durch hydrolytische Aufspaltung entstandene irreversible Zustandsänderungen, wie sie nach dem früher Ausgeführten durch die Einwirkung der gebundenen Salzsäure auf das Eiweiß entstehen, der Natur der Sache nach durch keinen Prozeß reversibel gemacht werden können. Als Abtötungszeiten wurden hier für Staphylokokken 3 Std., für Milzbrandsporen 10 Tage ermittelt.

Meine Versuche mit Formaldehyd ergaben, daß dieser Körper mit den Eiweißkörpern chemische Bindungen, mit den Lipoiden Lösungsbeziehungen eingeht, wobei das Molekulargewicht in beiden Phasen dasselbe ist. Die volle Bindungsgröße der Proteinformaldehydverbindung wird erst nach längerer Zeit der Berührung (bei Hefe 2 Tage) erreicht. Bei kurzer Berührungszeit zeigt sich eine Abhängigkeit der Bindungsgröße von der Konzentration der Formaldehydlösung, was offenbar durch Nichterreichen des Gleichgewichtszustandes bedingt ist. Hier wurde bei höherer Konzentration der Flotte von der gleichen Menge Eiweiß mehr Formaldehyd gebunden als bei niederer. Es ist also die Bindungsreaktion zunächst von der Diffusionsgeschwindigkeit abhängig. Diese Tatsache macht den Gang der Desinfektionszeit mit der Konzentration der Desinfektionslösung für die desinfizierende Formaldehydwirkung, bei der nach den chemischen Versuchen die Desinfektionswirkung nur auf chemischer Bindung beruht, erklärlich. Die Desinfektionsversuche ergaben, daß beim Formaldehyd die Konzentration von weit größerem Einfluß ist, als gewöhnlich angenommen wird. Die Beziehungen zwischen Desinfektionszeit (T) und Konzentration der Formaldehydlösung (P) lassen sich durch die Formel der gleichseitigen Hyperbel bezogen auf die Asymptoten als Koordinatenachsen ausdrücken ( $T \cdot P = \text{Konst.}$ ). Die Konstante ergab für den verwendeten Staphylokokkenstamm bei methylalkoholhaltigem Formalin 130, bei methylalkoholfreiem Formaldehyd 100, für den verwendeten Milzbrandstamm sowohl bei methylalkoholhaltigem Formalin wie bei methylalkoholfreiem Formaldehyd 500, wobei die Desinfektionszeit in Minuten ausgedrückt wird. Für die in der Desinfektionspraxis verwendeten beiläufig 1-proz. Formaldehydlösungen (3 Proz. Formalin) ergibt sich somit bei Staphylokokken eine Desinfektionszeit von 130 Min. Es erscheint daher die in den Desinfektionsanweisungen angegebene Vorschrift, 3-proz. Formalinlösungen 1—2 Std. einwirken zu lassen, unzulänglich. Es muß entweder die Konzentration erhöht oder die Zeit verlängert werden.

Messerschmidt (Hannover).

Schnabel (Berlin): Zu den Ausführungen des Herrn Reichenbach möchte ich bemerken, daß beim Studium der Abtötungsverhältnisse bei Bakterien bisher ein wichtiger Faktor gar keine oder nur eine geringe Berücksichtigung gefunden hat; es ist dies die Tatsache, daß unter gewissen Bedingungen Bakterien schon innerhalb weniger Stunden sich an Gifte gewöhnen können. Unsere bisherigen Anschauungen über den Abtötungsverlauf bei Bakterien finden ihren Ausdruck in den bekannten Abtötungskurven, aus denen hervorgeht, daß unter dem Einfluß von Desinfektionsmitteln die Keimzahl einer Kultur anfangs rapid abnimmt und dann allmählich zum Nullpunkt herabsinkt. Dem ist aber nicht immer so. Bei Anwendung entsprechender Giftkonzentrationen und Abimpfungszeiten kann man in manchen Fällen beobachten, daß

auf das Absinken der Keimzahl ein neuerlicher Anstieg derselben erfolgt. Diesem sonderbaren Verhalten entspricht dann in der Regel eine mehr oder weniger stark ausgebildete Gifffestigkeit der zur Entwicklung gelangenden Individuen.

Schumacher (Berlin): Wenn man Hefezellen in größeren Mengen mit Silbernitrat oder Sublimat desinfiziert, so kann man alsdann in den Zellen nukleinsaures Ag oder Hg nachweisen. Es wird dabei ein Säurewasserstoff der Nukleinsäure des Zellkerns durch das Metall ersetzt, während Gegenbaur, dem meine Arbeiten aus dem Jahre 1917 entgangen waren, in seiner letzten Arbeit (Arch. f. Hyg. 1921) noch von einem Proteinwasserstoff spricht. In dem durch Pukallfilter erhaltenen Desinfektionsfiltrat findet man Bruchstücke des Nukleinsäuremoleküls u. a. anorganische  $H_3PO_4$ . (S. Berlin. Med. Ges. 11. Jan. 1922, Med. Klin. 1922. S. 159.) Für die Abtötung der Zellen bestehen nun zwei Möglichkeiten: Die Zelle wird durch die Metalle primär auf chemischem oder physikalisch-chemischem Wege geschädigt und die Metalle dringen in die abgetötete Zelle ein. Die Spaltung des Nukleinsäuremoleküls erfolgt also sekundär und kann für die Abtötung nicht verantwortlich gemacht werden, oder die Metalle dringen auch in die lebende Zelle, und die Substitution des Nukleinsäurewasserstoffs durch das Metall ist für die Desinfektion verantwortlich zu machen, während die weiteren Nukleinsäurespaltprodukte ebenfalls sekundärer Natur sind. Ich stehe auf dem Ehrlich'schen Standpunkt: Corpora non agunt, nisi fixata. Folgende Gründe veranlassen mich, diesen Standpunkt einzunehmen. Bereits an abgetöteten Zellen ist folgende Beobachtung zu machen. Die Metallsalzlösungen dringen hier fast momentan in die vegetativen Formen ein, wie die Silber- und Osmiumbilder zeigen, nicht dagegen in die ausgebildeten Sporen. Dort gebrauchen sie hierzu sehr lange Zeit, und nur durch Verwendung ammoniakalischer Lösungen, die beim Silber möglich sind, vermag man die Eindringungszeit für die Sporen herabzusetzen. Metallsalzlösungen verhalten sich also wie Lösungen basischer Farbstoffe. Dem entspricht auch der Desinfektionsbefund: rasches Absterben der vegetativen Formen, langsames der Sporen.

Ferner sprechen für die obige Ansicht die Befunde der Hitzedesinfektion. In Bakterien suspensionen, die im Wasserbad einige Zeit sterilisiert wurden, findet man dieselben Stoffe im Filtrat wie bei der Schwermetallsalzesinfektion oben beschrieben. Die Koagulation des Eiweißes kann für die Abtötung allein nicht verantwortlich gemacht werden, denn das Sporeneiß koaguliert ebenfalls und die Spore wird bekanntlich sehr viel schwerer und erst nach längerer Zeit hierbei abgetötet. Fassen wir aber die Abtötung chemisch wie oben als einen hydrolytischen Vorgang auf, lassen wir diese Hydrolyse unter Druck im Autoklaven verlaufen, dann werden auch die Sporen rascher abgetötet. Bakterien, bei denen sich die Hydrolyse des Nukleinsäuremoleküls bei Temperaturen unterhalb der Siedehitze bereits vollzieht, müssen demnach weniger widerstandsfähig sein. Das ist der Fall. Beim Gonococcus genügen hierzu schon Temperaturen von 70–80°, bei längerer Einwirkung sogar schon solche von 60°, und die besondere Empfindlichkeit des Gonococcus gegen Hitze ist ja bekannt. (S. auch Dermat. Wochenschr. 1922. H. 10. S. 239 240.) Ferner sprechen für die Hydrolyse des Nukleinsäuremoleküls als Ursache der Abtötung auch die Befunde der Bestrahlung, worauf ich in meinem zitierten Vortrag schon hingewiesen habe, und wie dies auch aus den Arbeiten von Neuberg und Pincussen und Momferratos-Floros (Biochem. Zeitschr. Bd. 126. H. 1,4. S. 86) hervorgeht, indem Röntgenstrahlen desinfektorisch weniger wirksam sind als ultraviolette Strahlen, und nur letztere makrochemisch nachweisbar das Nukleinsäuremolekül abzubauen vermögen. Auf den Zusammenhang zwischen der Lichtspaltung der Nukleinsäure und der Desinfektionswirkung der ultravioletten Strahlen sei hiermit besonders hingewiesen. Die Hydrolyse des Nukleinsäuremoleküls ist jedoch nicht die alleinige Ursache der Desinfektion, sondern als Desinfektionsmittel müssen wir alle Substanzen betrachten, die auf chemischem oder physikalisch-chemischem Wege eine Veränderung der Nukleoproteide, der Kernsubstanzen der Zelle herbeiführen. Diese kann stofflicher Natur sein (Hydrolyse, Additionsverbindungen etc.) bei den chemisch wirkenden Desinfektionsmitteln (Metalle, Mineralsäuren etc.), oder auf einer Zustandsänderung (Koagulation etc.) beruhen (Alkohol, Essigsäure etc.); meist gehen jedoch beide Prozesse nebeneinander her (Metalle, Mineralsäuren, feuchte Hitze). Bei den Nukleinsäure-freien Erregern können die hydrolytischen Spaltprodukte natürlich keine Nukleinsäurebruchstücke enthalten. Auch hier dürften die Kernhydrolyse und -koagulation als Ursache der Abtötung in Frage kommen und bei ersterer zu Bausteinen der basischen Protamine führen, die beispielsweise den Protozoenkern aufbauen (Unna). Die basischen Eiweiße der Spirochäten sind ihrer Natur nach noch nicht bestimmt. Da wir indessen bis jetzt nicht genügend große Mengen dieser Mikroorganismen herstellen können zur makrochemischen Durchführung dieser Versuche, so sind wir über die Natur der Hydrolysenprodukte hierbei auf Vermutungen angewiesen. Es kommen Polypeptide oder auch Aminosäuren in Frage, die der Frei-

werden von Mineralsäuren bei Einwirkung von Metallsalzlösungen auf die Zelle bewiesen ist und erstere andererseits die basischen Eiweiße ebenfalls zu hydrolysieren vermögen.

**Morgenroth (Berlin):** Der Tierversuch bildet nicht unter allen Umständen das feinere Reagens für die völlige Abtötung pathogener Keime gegenüber dem Plattenversuch, nämlich dann nicht, wenn durch die Einwirkung des Desinfiziens eine Virulenzabschwächung eingetreten ist. Ein charakteristisches Beispiel hierfür an Streptokokken und Eucupin habe ich seinerzeit mit Tugendreich beschrieben.

Bezüglich praktischer Desinfektionsfragen möchte ich auf die erbärmliche Beschaffenheit mancher Klosettpapiere hinweisen. Berufene amtliche Stellen sollten der Papierindustrie, die in dieser Hinsicht schon viel geleistet hat, Anregung zu einer Normierung geben.

**Jos. Koch (Berlin):** Für Arbeiten auf dem Gebiete der Mundhöhlendesinfektion ist es notwendig, die Keimverhältnisse der gesunden und kranken Mundhöhle, das Vorkommen der spezifischen Erreger bei den verschiedenen Infektionskrankheiten systematisch zu studieren. Ich habe durch die Firma Lautenschläger-Berlin einen Plattenhalter konstruieren lassen, der es ermöglicht, in bequemer Weise eine Agar-, Löffler-Serum-, Blutplatte usw. eine beliebige Zeit vor der Mundhöhle zu tragen, so daß alles, was aus dem Munde des Betreffenden beim Sprechen, Niesen, Husten an Tröpfchen herausgeschleudert, auf der Platte aufgefangen wird. Auf diese Weise gelingt es z. B. leicht, den Tuberkelbazillenstamm eines an offener Lungenschwindsucht leidenden Patienten zu gewinnen. Mehrere Hustenstöße im Verlauf von 20—30 Min. genügen, um bazillenhaltige Tröpfchen auf der Platte zu erhalten. Diese wird dann durch einige Tropfen Kochsalzlösung abgeschwemmt, und die Abschwemmung Meer-schweinchen subkutan einverleibt. Ich habe eine größere Zahl von Versuchen anstellen lassen, die fast ausnahmslos positiv verliefen. Der Plattenhalter wird im Centralblatt für Bakteriologie genauer beschrieben werden.

**Lehmann (Würzburg).**

**Bruno Heymann (Berlin)** warnt vor Ueberschätzung der von Seiffert empfohlenen Methode zur Prüfung der Tröpfchenverstreung bei Phthisikern, da sie zu irrthümlichen Vorstellungen über die Tröpfchengröße führen könne und über ihren Gehalt an Tuberkelbazillen nichts besage.

Bezüglich der Anregungen Morgenroths zur Einführung von Normalien für Toilettenpapiere erinnert B. Heymann an einschlägige, zum Teil in seiner während des Krieges erschienenen Arbeit „Ueber die Verbreitungsweise der übertragbaren Darmkrankheiten“ enthaltene Untersuchungen.

**Hailer (Schlußwort):** Das auch hier gegen die Brauchbarkeit der Keimträgermethode für die Desinfektionswertprüfung erhobene Bedenken, daß die Antrocknung der Keime an eine Unterlage in vielen Fällen ihre Resistenz beeinträchtigt, ist kein zutreffender Einwand. Denn es ist bei der Keimträgermethode keineswegs nötig, mit angetrockneten Bakterien zu arbeiten; es ist sowohl bei Geweben (Batist, Wolle usw.) und Filtrierpapier, als auch bei glatten Keimträgern (Glas, Granaten) sehr wohl zulässig, sie unmittelbar nach ihrer Beschickung mit der Keimsuspension, während also die Keime noch feucht und durch Wasserentziehung nicht geschädigt sind, in die zu prüfenden desinfizierenden Lösungen einzubringen. Wie die Versuche mit der Paul und Krönigschen Auszählmethode zeigen, sind die von Granaten dabei abgegebenen Keimmengen mindestens ebenso gleichmäßig groß, wie bei Granaten mit angetrockneten Bakterien. Und wie diese Bemerkung schon zeigt, hat der Suspensionsversuch vor der Verwendung von Keimträgern auch keineswegs das voraus, daß durch Verimpfung auf feste Nährmedien ein zahlenmäßiger Vergleich der Ergebnisse paralleler Reihen möglich ist; vielmehr ist es bei der Paul und Krönigschen Granatenmethode in mindestens ebenso exakter Weise möglich, den Desinfektionserfolg durch Plattenzählung vergleichend zu ermitteln.

Zu den Ausführungen über die Wirkung des Sublimats möchte ich bemerken, daß gerade die neueren besonders ungünstigen Angaben über diese Wirkung mir deswegen nicht sehr beweisend erscheinen, weil die Versuche mit viel zu dichten Suspensionen angestellt wurden. Man kann bei Mitteln, die stark von der Bakterienzelle durch Lösung oder chemische Bindung aufgenommen werden, je nach der Dichte der Suspension bei jeder Konzentration jede beliebige Abtötungszeit finden; z. B. kann man Abtötung durch Kresole je nach der Dichte der angewandten Bakteriensuspension bei

0,2-proz. Lösung in 5 Min. bis 24 Stunden und durch 1-proz. Lösung sofortige Desinfektion und Wirkung nicht in 4 Std. finden, je nachdem man sehr dünne oder ganz dichte Keimsuspensionen der Kresolwirkung aussetzt. Zu diesen Mitteln, die durch die Zellen der Lösung entzogen werden und erst bei einer gewissen Konzentration in der Zelle wirken, gehört nun auch das Sublimat. Die Konzentration an Sublimat in der Zelle und damit die bakterizide Wirkung wird natürlich um so kleiner ausfallen, je größer die Zahl der Zellen ist, auf die die gleiche Menge des Mittels sich verteilen muß.

In solchen Fällen kann nur die Keimträgermethode verwertbare Ergebnisse liefern, zumal sie auch gestattet, festzustellen, wie viele Keime in der Tat die betreffende Behandlung überleben und es für die Wertung eines Mittels nicht gleichgültig ist, ob unter 100 000 ein Keim oder Tausende lebensfähig geblieben sind. Es wird wohl un schwer gelingen, die Ottolenghische Methode für die Verwendung auch fester, eine Zählung zulassender Nährböden zu modifizieren.

Dann ist hier gleich gesetzt worden, ob man das Sublimat durch Sulfide oder nach Ottolenghi durch dem Nährmedium zugesetzten Schwefelwasserstoff ausfällt. Das sind aber ganz verschiedene Umstände. Bei einer kurz dauernden Einwirkung von Schwefelammon, wie sie Geppert, Paul und Krönig u. a. anwandten, fällt man das in der Lösung und am Keimträger vorhandene Quecksilbersalz aus, bei der langdauernden Behandlung mit dem lipoidlöslichen Schwefelwasserstoff aber auch das Sublimat, das schon in lockere Bindung an die Bakteriensubstanz getreten ist. In der Tat erhält man, wenn man die Ergebnisse von Paul in seinen Versuchen mit Krönig und mit Prall an Milzbrandsporen und Staphylokokken mit denen der Autoren, die nach Ottolenghi arbeiteten, vergleicht, ein ganz verschiedenes Bild: eine immerhin scheinbar beträchtliche Wirkung bei Anwendung von Schwefelammon und nur geringe keimtötende Kraft des Sublimats bei der letzteren Methode. Ob die Möglichkeit, durch so raffinierte Methoden, wie es die Anwendung von Schwefelwasserstoff-Serumbouillon ist, die Keime nach Sublimatbehandlung wieder lebensfähig zu machen, in der Tat so sehr gegen die praktische Anwendung dieses Mittels in der hygienischen Desinfektion spricht, möchte ich doch bezweifeln. Das Sublimat hat aber auch dann, wenn man nur die Versuche mit der Schwefelammonanwendung zu seiner Beurteilung heranzieht, noch genügend viele Nachteile, um seinen Ersatz durch ein anderes, gutes Desinfektionsmittel wünschenswert erscheinen zu lassen.

Was die Ausführungen Reichels anlangt, so erscheint es unwahrscheinlich, daß nicht allein die Verteilung eines Mittels zwischen Lösung und Bakterienzelle maßgebend für seinen schädigenden Einfluß ist, sondern auch die Wirkung, die es nach der Aufnahme auf die Zellbestandteile ausübt. Es wäre sonst nicht einzusehen, warum z. B. der Essigsäureester, der in den Zelllipoiden besser löslich ist, als der Ameisensäureester, doch schlechter bakterizid wirkt als dieser und warum Lipoidlöslichkeit allein noch keineswegs eine bakterizide Wirkung verbürgt.

Reichenbach (Schlußwort): Ich freue mich, daß, wie es scheint, meine Ausführungen allgemeine Zustimmung gefunden haben, und besonders darüber, daß auch zwischen den Anschauungen des Herrn Süpfle und den meinigen kein so großer Widerspruch besteht, wie es anfangs scheinen konnte.

Herrn Reichel gegenüber möchte ich, um jedes Mißverständnis zu vermeiden, noch besonders betonen, daß ich sein Verdienst um die Aufklärung der mißbräuchlichen Anwendung der Absterbeordnung voll anerkenne.

Die Mitteilungen von Herrn Schnabel haben mich sehr interessiert. Auch mir sind solche Vorkommnisse, wo die Bakterien unter dem Einflusse eines Mittels zunächst auf ein Minimum abnehmen und sich dann wieder vermehren, wohlbekannt. Die auf diese Weise gewachsenen Bakterien sind dann gegen das Mittel gefestigt: das Wachstum unter dem Einflusse des Mittels scheint sogar eine unerläßliche Vorbedingung für die Festigung zu sein. Nach meinen Erfahrungen, die sich allerdings zunächst nur auf Malachitgrün erstrecken, gelingt die Festigung durch einfache Auslese ohne Vermehrung nicht.

Neufeld (Schlußwort): Die von Süpfle zur Erzielung optimaler Nährböden empfohlenen Zusätze haben auch in Versuchen meines Mitarbeiters Bruno Lange sich bewährt, besonders allerdings dann, wenn die Nährböden an sich nicht ganz gut waren. Bedenken habe ich gegen die Verwendung ungeheurer großer Mengen von Bakterien im Vergleich zu geringen Mengen des Desinfiziers in Süpfles Versuchen: sollten derartige Aufgaben gelegentlich in der Praxis z. B. bei Desinfektion von Stuhlgang vorkommen, so müßte man doch dann die Versuche mit dem betreffenden Substrat, also z. B. mit Fäeces machen.

Die von Herrn Czaplewski erwähnten Unglücksfälle durch 0,5-proz. Sublimatlösung bestärken die von mir bereits geäußerten Bedenken gegen den dauernden Gebrauch dieser Lösungen.

Daß Koch als Mitarbeiter bei den alten Desinfektionsanweisungen genannt ist wie Herr Lentz hervorhob, war mir bekannt; aus Kochs eigenem Munde habe ich aber wiederholt sehr skeptische Aeußerungen über die dort vorgeschriebenen rigorosen Maßnahmen gehört. Ich glaube, daß wir bei den Neuerungen durchaus in seinem Sinne weiter arbeiten.

Auch ich habe mir wie Herr Tjaden die Frage vorgelegt, ob der Nutzen der Desinfektion unmittelbar zu erweisen ist. Auch ich glaube, daß das kaum der Fall ist; eine auf Loefflers Anregung entstandene Arbeit von Walter (in der Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl.), die sich mit dieser Frage beschäftigt, kommt zu keinem ganz eindeutigen Ergebnis.

Mit Bezug auf das von Herrn Messerschmidt Gesagte bemerke ich, daß die Belehrung der Familienangehörigen meines Erachtens in der Regel nicht durch den Arzt, sondern durch die Hilfsorgane, insbesondere Schwestern, vorgenommen werden sollte. Wenn weiter hier gesagt wurde, daß eine wirksame Belehrung nicht überall durchzuführen sei, so ist das zweifellos zutreffend, gilt aber in noch höherem Grade für die Desinfektion.

Bezüglich der Schädlingsbekämpfung möchte ich bemerken, daß bei der Propaganda für Blausäure und ihrer Derivate leider mit großen Uebertreibungen gearbeitet worden ist; wenn man diese bekämpft, so sollte man aber auch nicht selbst in Uebertreibungen verfallen, wie das, glaube ich, Herrn Freymuth passiert ist.

Nöller (Schlußwort) betont, daß die Blausäure an Gefährlichkeit das Zyklon weit überragt; daß die Zahl der Zyklonopfer trotzdem schon 17 beträgt, wie Herr Geheimrat Lehmann mitgeteilt hat, war ihm vorher nicht bekannt. Gerade diese Opfer erfordern von uns bei der Auswahl der Mittel, daß wir nicht nur auf hohe Wirksamkeit gegenüber den Schädlingen Wert legen, sondern daß die Ungefährlichkeit gegenüber dem Menschen, wie bereits im Vortrage betont wurde, ebenso sehr für ein gutes praktisch brauchbares Mittel von grundlegender Bedeutung ist.

2. Tag. 9. Juni 1922.

Vorsitzender: v. Gruber (München).

Sitzung im Anatomischen Institut:

1. **Mikrokinematographische Demonstration.** Bresslau (Frankfurt a. M.):

**Die Ausscheidung entgiftender Schutzstoffe bei Ciliaten.**

Zu den Faktoren, die bei Beurteilung des Ausfalls von Versuchen, mit chemischen Mitteln in vitro Mikroben abzutöten, nicht vernachlässigt werden dürfen, gehört die Ausscheidung entgiftender Schutzstoffe durch die abzutötenden Organismen. Die Annahme, daß solche Substanzen vorhanden sein müssen, ergibt sich u. a. aus der verschiedenen Lebensdauer, die man beobachtet, wenn man Kulturen von verschiedener Dichte unter sonst gleichen Bedingungen mit den gleichen Agentien behandelt<sup>1</sup>).

Während diese Verhältnisse den Bakteriologen geläufig sind, hat man bei entsprechenden Versuchen mit tierischen Organismen m. W. bisher noch kaum darauf geachtet<sup>2</sup>). Und doch liegen die Dinge hier

1) Vgl. z. B. das Referat von Reichenbach auf dieser Tagung.

2) Einen Hinweis hierauf habe ich nur bei v. Prowazek (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. S. 424—426) gefunden, doch handelt es sich auch hier nur um eine ganz beiläufige Angabe, ohne Mitteilung näherer Einzelheiten.

ganz ähnlich. So haben vor kurzem Bohn und Drzewina<sup>1)</sup> in mehreren kleinen Publikationen auf Grund von Versuchen an Infusorien, Würmern und Froschlärven festgestellt, daß, wenn man in parallelen Versuchsserien a) zahlreiche, b) wenige oder einzelne Individuen der gleichen Organismenart in derselben Kollargollösung exponiert, erstere regelmäßig bedeutend länger leben als letztere. Die einzige Möglichkeit zur Erklärung dieser Erscheinung sehen die französischen Autoren in der Annahme, daß von den Tieren Schutzstoffe ausgeschieden werden, die die Kollargollösung um so stärker entgiften, je größer ihre Menge ist. Unmittelbar beobachtet haben aber Bohn und Drzewina die Ausscheidung dieser Stoffe ebenso wenig, wie dies bisher den Bakteriologen möglich war.

Etwa um die gleiche Zeit wie die französischen Autoren und ohne Kenntnis ihrer Arbeiten konnte auch ich bei meinen Hüllsubstanzuntersuchungen<sup>2)</sup> feststellen, daß zahlreiche tierische Organismen entgiftende Schutzstoffe auszuschcheiden vermögen. Darüber hinaus konnte ich aber gleichzeitig in der Hüllsubstanz (= Tektin)<sup>3)</sup> den Schutzstoff selbst ermitteln und seine Ausscheidung und Wirkungsweise der unmittelbaren Beobachtung zugänglich machen.

Der Nachweis ist am einfachsten so zu führen, daß man verschiedene Individuenmengen eines Paramäcien- oder Colpidienstammes in dem gleichen Quantum Kulturflüssigkeit<sup>4)</sup> mit dem gleichen Quantum einer für die Tiere giftigen Lösung eines basischen Farbstoffes (Methylenblau, Viktoriablau, Neutralrot, Trypaflavin usw.) behandelt. Bei geeigneter Konzentration wird man dann stets beobachten, daß in den Schälchen mit vielen Individuen die Tiere wesentlich länger leben als in den Parallelschälchen mit geringerer Individuenzahl (vgl. Tab. I), genau wie bei den Kollargolversuchen von Bohn und Drzewina.

Zugleich kann man aber — und das ist das Schöne bei den Farbstoffexperimenten — unmittelbar erkennen, wie dieses Versuchsergebnis zustandekommt. Der Zusatz der Farbblösung bewirkt nämlich, daß die Ciliaten ihr Tektin ausscheiden und, falls die Konzentration des Farbstoffes nicht zu hoch ist, alsbald aus den Tektinhüllen wieder ausschlüpfen. Die Tiere selbst färben sich dabei zunächst nicht, wohl aber die von

1) Bohn, G., und A. Drzewina, C. R. Séances Acad. Sci. Paris. T. 171. 1920. p. 1023/25; ebenda T. 172. 1921. p. 485/87 und p. 779/81, ferner C. R. Soc. de Biol. T. 84. 1921. S. 917/20.

2) Vgl. E. Bresslau, Naturwissenschaften. Bd. 9. 1921. S. 57/60, ferner: Verhandl. Dtsch. Zool. Ges. Bd. 26. 1921. S. 35/36.

3) Von tegere. bedecken, schützen.

4) Bestimmte Mengenverhältnisse der Versuchstiere in dem gleichen Quantum derselben Versuchsflüssigkeit lassen sich leicht unter Benutzung der geotaktischen Eigenschaften der Ciliaten herstellen. Füllt man in ein Reagenzröhrchen etwa 20 ccm einer guten Paramäcien- oder Colpidienkultur, so werden sich oft nach einiger Zeit, je nach dem Ueberwiegen negativer oder positiver Geotaxis, die meisten Tiere oben oder unten in dem Röhrchen ansammeln. Durch rasches Abgießen kann man dann die Kulturflüssigkeit in 2 Portionen trennen, von denen die eine (a) die überwiegende Mehrzahl, die andere (b) fast keine oder nur ganz wenig Tiere enthält. Verdünnt man dann z. B. 1 Teil a mit 19 Teilen b, so erhält man eine Aufschwemmung der Tiere (c) in der gleichen Kulturflüssigkeit, deren Individuenzahl sich praktisch zu der von a wie 1:20 verhält. Ebenso läßt sich jedes beliebige andere Verhältnis der Individuenmengen herstellen. Besonders wichtig ist, daß auf diese Weise eine Verschiedenheit der Wasserstoffionenkonzentration in den Parallelkulturen a und c vermieden wird, die unter Umständen infolge des Einflusses der [H<sup>+</sup>] auf die Giftwirkung von Farbblösungen zu unliebsamen Täuschungen Anlaß geben könnte (vgl. E. Bresslau, Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für zoologische Versuche. Verhdl. Dtsch. Zool. Ges. 27. Würzburg. 1922).



Tabelle I.

Methylenblau 1:10 000	Kultur		Verhältnis der Individuenzahl	Lebensdauer in Minuten
	Art	Menge		
1 ccm	Paramecium caudatum	1 ccm	1	25
"	"	"	20	68,5
1 ccm	Paramecium caudatum	2 ccm	1	138
"	"	"	20	>1200
1 ccm	Colpidium campylum	2 ccm	1	99
"	"	"	20	>1200

ihnen ausgeschiedenen Hüllen. Bringt man nun etwa 30—40 Sek. nach Versuchsbeginn die Flüssigkeit durch Rotieren der Uhrschildchen in kreisende Bewegung, so verkleben die ausgeschiedenen Tektinmassen zu stark gefärbten Flocken, deren Masse der Anzahl der vorhandenen Individuen entspricht. Scheidet 1 Individuum das Tektinquantum  $t$  aus, so liefern  $n$  Individuen  $nt$  und  $20n$  Individuen  $20nt$  Tektin. Infolge der intensiven Färbung der Tektinflocken tritt der quantitative Verlauf der Reaktion ohne weiteres makroskopisch zutage. Der Farbton, den die Tektinflocken dank ihrem hohen Adsorptionsvermögen binnen kurzer Zeit annehmen, ist im allgemeinen dunkler als der der Farblösung selbst zu Beginn des Versuchs. Bei genügend großer Individuenzahl (bzw. Tektinmenge) kann man sogar u. U., parallel mit der Farbspeicherung im Tektin, eine Aufhellung der Farblösung beobachten. Zugleich ist klar, daß, ebenso wie die Konzentration der Farblösung, auch ihre Giftigkeit um einen dem von dem Tektin adsorbierten Farbstoffquantum entsprechenden Betrag vermindert sein muß. Dieser Betrag wird noch dadurch verhältnismäßig gesteigert, daß die Hüllsubstanz gerade die besonders giftige Farbbase selektiv speichert, eine Eigenschaft, die sich bei Verwendung geeigneter Farbstoffe (z. B. Viktoriablau) in der metachromatischen Färbung des Tektins zu erkennen gibt<sup>1)</sup>.

Damit darf als bewiesen gelten, daß das Tektin einen entgiftenden Schutzstoff darstellt. Voraussetzung für die Entgiftung ist, daß das Tektin das in Frage kommende Gift zu adsorbieren vermag. Ist dieser Fall gegeben (wie z. B. bei Kollargol oder bei basischen Farbstoffen), so wird die Entgiftung um so beträchtlicher ausfallen, je größer die Tektinmenge, d. h. also je größer die Zahl der in der Giftlösung exponierten Tiere ist.

Werden die Versuche mit Paramecien angestellt, so zeigt sich bei mikroskopischer Untersuchung, daß die Tektinflocken nichts anderes darstellen, als die von den Tieren ausgeschleuderten, miteinander verfilzten und verklebten Trichozysten. Wählt man Colpidien als Versuchstiere, so bestehen die Flocken aus typischer Hüllsubstanz, deren Homologie mit den Trichozysten damit aufs neue bewiesen wird<sup>2)</sup>. Für die Technik

1) Vgl. Naturwissenschaften. Bd. 9. 1921. S. 58.

2) Vgl. E. Bresslau, Naturwissenschaften. Bd. 9. 1921, u. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Bd. 26. 1921.

und den Ausfall der Versuche ist diese Verschiedenheit in der Ausbildung des Tektins nicht ganz ohne Bedeutung. Bei *Paramaecium* mit seinen präformierten Trichozyten gelingen die geschilderten Versuche so gut wie ausnahmslos. Bei *Colpidium* dagegen erfolgt die Entmischung und das Ausflocken des Tektins in gut demonstrierbarer Weise nur innerhalb eines bestimmten Bereichs der Wasserstoffionenkonzentration ( $p_H = 5,5 - 7$ ).

Im Anschluß an den Vortrag wurde ein Film vorgeführt, dessen erster Teil den vom Verfasser im Zeißwerk Jena mit freundlicher Unterstützung von Prof. Siedentopf mikrokinematographisch aufgenommenen Vorgang der Tektinausscheidung und das Ausschlüpfen der Colpidien aus den Tektinhüllen bei schwächerer und stärkerer Vergrößerung zur Darstellung brachte, während der zweite Teil die Entstehung und das starke Farbstoffadsorptionsvermögen der Tektinflocken bei Behandlung von Paramäcien mit Methylenblau in makroskopischer Aufnahme (von Dr. Paul Wolff, Idealfilmges. m. b.H.) zeigte.

Sitzung im Hygienischen Institut:

V. Referat. A. Schittenhelm (Kiel):

#### Ueber Theorie und Praxis der Proteinkörperwirkung<sup>1)</sup>.

Nach einer kurzen historischen Einleitung über die Vorläufer der Proteinkörpertherapie in Gestalt von Transfusionen von Tierblut und Milch und Hinweisen auf die Klärung der Proteinkörperwirkung durch die Fortschritte der Bakteriologie und Immunitätslehre einerseits, die Chemie und Physiologie und die sich an das Problem der Anaphylaxie anschließenden Fortschritte andererseits geht Sch. auf einige Wirkungen von isolierten Eiweißkörpern und deren Abbauprodukten ein, um dann auf Weichardts Arbeiten über Ermüdungsstoffe und eigene, gemeinsam mit Weichardt ausgeführte Arbeiten über biologische Differenzierung verschiedener Eiweiße und Eiweißspaltprodukte auch von Bakterien hinzuweisen, sowie auf den darauf basierenden Weichardtschen Begriff der Protoplasmaaktivierung durch leistungssteigernde Stoffe.

Die von R. Schmidt „Proteinkörpertherapie“ benannte Behandlungsmethode, zunächst als parenterale Milchtherapie begonnen, faßt neuerdings allerhand therapeutische Methoden zusammen, welche nichts mit Eiweißinjektionen zu tun haben, wie Behandlung mit Terpentin, Yatren, hypertonen Kochsalz- und Zuckerlösungen, Glüh-eisen, Stauungsbinde, Röntgenbestrahlung, Badeskuren usw. Sch. betont, daß ganz heterogene Vorgänge durcheinandergeworfen werden, bei denen nur der therapeutische Endeffekt oft ähnlich ist, und daß es sich um vage Hypothesen handelt, wenn alle diese Methoden in gleicher Weise zu erklären versucht werden. Er geht im weiteren auf die einzelnen Behandlungsmethoden bei den verschiedenen Krankheitsgruppen und ihre Wirkungsweise und Wirkungseffekte ein.

Bei den Hautkrankheiten wird auf die von Linser inaugurierte Behandlung mit parenteraler Verabreichung von menschlichem Serum eingegangen, sodann auf die Erfahrungen mit parenteralen Milchinjektionen. Es handelt sich darum, daß mit den letzteren vor allem infektiöse Prozesse günstig beeinflußt werden, so staphylogene Erkrankungen der Haut, Erysipel, Trichophytie, ferner gonorrhoeische Komplikationen, Bubo usw. Dabei wird der Umfang des Entzündungsherdes meist deutlich meßbar größer, es kommt zu ver-

1) Autoreferat, vgl. Abhandlung in der Med. Klinik. 1922. Nr. 30.

mehrter Transsudation und Hyperämie und zu vermehrter Eitersekretion als Ausdruck der Herdreaktion. Aehnliche Resultate gibt Kaseosan. Die Klingmüllerschen Terpetininjektionen wirken günstig bei den verschiedenartigsten Formen bakterieller oder toxischer Gewebsveränderungen, besonders bei allen Staphylomykosen, auch bei gonorrhöischen Affektionen. Oertliche Herdreaktionen sollen streng vermieden werden. Bei genügender Dosis versiegt die Eiterung nach mehreren Stunden, oft für mehrere Tage völlig und die Entzündung geht zurück. Die Bakterien werden nicht abgetötet, aber unfähig gemacht, die gewebsschädigende Wirkung auszuüben, solange das Terpentin in genügender Menge kreist. Man kann die örtliche Wirkung von Tuberkulin und den Reiz der Lichtstrahlen abschwächen, wenn man vorher oder gleichzeitig Terpentin spritzt. Es macht kein Fieber und die Einwirkung auf das Blutbild ist bei kleinen Dosen sehr gering. Intravenöse Injektionen von Traubenzucker in 25—30-proz. Lösungen geben nach Scholz günstige Wirkungen bei frischen, mit Exsudaten einhergehenden Entzündungen der Haut, die meist deutlich zurückgehen und bei einfacher äußerer Behandlung auffallend rasche Heilung zeigen.

Bei den Augenkrankheiten ergeben sich nach Müller und Thanner, Heine u. a. mit der Milchtherapie viele günstige Resultate, wobei das Anwendungsgebiet wie bei der Haut die toxischen und bakteriotoxischen Erkrankungen, vor allem alle exsudativen Prozesse, also Iritis, Iridocyclitis, gonorrhöische Conjunctivitis, Retinitis albuminurica, infizierte Fremdkörperverletzungen u. a. m. sind. Am besten wirkt Milch, weniger Kaseosan, Aolan und die anderen Ersatzmittel. Terpentin hat nicht dieselbe Wirkung. Yatren-Kasein kann oft unerwünscht starke Reaktionen geben. Sehr deutlich sind in der Regel die Herdreaktionen. Es kommt zunächst zu vermehrter Schwellung und Sekretion, vorher dickflüssiger Eiter wird dünnflüssig, Hyperämie und Vascularisation der oberflächlichen und tieferen Schichten stellen sich ein und können sehr hohe Grade annehmen. Die Wirkung ist keine einheitliche und sichere. Hypertonische Lösungen geben zuweilen ähnliche therapeutische Effekte.

In der Gynäkologie wird von Jaschcke, Windig, Zill u. a. über rasche Rückbildung und Heilung entzündlicher Adnextumoren durch Kaseosan und Milch berichtet. Terpentin hat ähnliche Effekte. Yatren gibt Erfolge, die denen mit kolloidalem Silber gleichen (Bauereisen). Nach Yatren werden aber zuweilen Nephritiden, mehr oder weniger schwere Störungen des Magen-Darmkanals und der Leber, einige Male sogar tödlich verlaufende akute gelbe Leberatrophie beschrieben.

Bei inneren Erkrankungen sind das wichtigste Anwendungsgebiet der Proteinkörper die Arthritiden und die Neuralgien, sowohl akute als auch chronische Fälle. Es gibt solche, die völlig refraktär sind, andere bessern sich, oft aber nur vorübergehend, es lindern sich die Schmerzen und die Gelenke werden beweglicher. Milchinjektionen wirken am besten, Kaseosan und Aolan weniger ausgesprochen. Die Wirkung des Heilnerschen Sanarthrits gleicht derjenigen der Milch. Nach Zimmer geben Yatren und Yatren-Kasein dieselben günstigen Erfolge. Das Döllkensche Vakzineurin hat keinen Einfluß auf Arthritiden; dagegen beeinflußt es häufig günstig Neuralgien aller Art, wie Ischias, Trigeminusneuralgie, welche oft auch durch Milchinjektionen gebessert werden. Guten Resultaten stehen Versager gegenüber.

Sch. streift weiter die Behandlung der sogenannten Abbaukrankheiten des Nervensystems mit Xifalmlch nach Döllken, die Behandlung des Ulcus ventriculi mit Vakzineurin nach Holler, die Behandlung von Blutkrankheiten nach Schmidt, die Behandlung akuter Infektionskrankheiten mit Proteinkörpern, spezifischen und unspezifischen Vakzinepräparaten. Bei den ersteren sind die berichteten therapeutischen Erfolge vorerst mit Vorsicht zu bewerten und müssen erst an einem großen Material nachgeprüft werden. Die bei akuten Infektionskrankheiten angegebenen Erfolge kann Sch. nicht bestätigen. Die einzige Ausnahme bildet vielleicht die Serumtherapie des Scharlachs. Sch. berührt kurz die Proteinkörpertherapie der chronischen Infektionen, Tuberkulose und Lues, die hierher zu rechnende Fiebertherapie der Paralytiker (artifizielle Malaria- und Recurrensinfektionen) und die von Kinderärzten beobachteten erstaunlichen Gewichtszunahmen anergischer atrophischer Säuglinge nach Injektionen von Pferdeserum. Er weist ferner auf die Osmotherapie mit Hilfe hochprozentiger Kochsalz- und Traubenzuckerlösungen hin, wie sie häufig in der Klinik Verwendung findet.

Alles in allem sind in allen Disziplinen die lokalisierten toxischen und bakteriotoxischen Entzündungen der Proteinkörpertherapie am zugänglichsten.

Sch. beschäftigt sich in weiterem mit der theoretischen Erklärung der Wirkungsweise der einzelnen angewandten Mittel und Methoden.

Er steht auf dem Standpunkt, daß die klinischen Erfahrungen beim Yatren gegen die Anschauung zu sprechen scheinen, daß es ein direkt zellaktivierendes Mittel sei. Es wirkt sicher zellschädigend und es muß vielleicht eine Zellschädigung der fraglichen therapeutischen Wirkung vorausgehen. Bei Yatren-Kasein dürfte der Eiweißkomponente die wichtigste Rolle zuzuschreiben sein, wobei das Yatren in irgendeiner Weise unterstützend wirkt.

Die Osmotherapie mit hypertonen Lösungen beruht auf der erheblichen lymphstromfördernden Wirkung und auf ihrem Einfluß auf den intermediären Wasser- und Salzstrom, die Resorption wird dadurch angeregt. Wirkungen leistungssteigernder Art kommen erst in zweiter Linie in Betracht. Eine Herdreaktion ist, wenn sie überhaupt auftritt, anders zu erklären, wie bei den Proteinkörpern.

Hydro- und Balneotherapie haben mit der Proteinkörperwirkung kaum etwas gemein.

Terpentin wirkt anders als die Proteinkörper. Die letzteren machen starke Herdreaktionen, bringen Entzündungen zum Aufblähen, erhöhen vorübergehend die Eiterabsonderung, machen Fieber und Leukozytose. Terpentin macht keine Herdreaktionen im gewöhnlichen Sinne, es hemmt die Entzündung, bringt die Sekretion akut zum Stillstand, macht kein Fieber und hat keinen wesentlichen Einfluß auf das Blutbild. Man hat den Eindruck, als ob eine primäre Einwirkung des Terpentins die Hauptsache sei, die sekundären indirekten aber mindestens sehr in den Hintergrund treten. Jedenfalls ist die Terpentinterapie nicht ohne weiteres der Proteinkörperwirkung gleichzustellen.

Durch die parenterale Einverleibung von Eiweißkörpern und Eiweißabkömmlingen geschieht ein grundlegender Eingriff in den Or-

ganismus, der sich nach den verschiedensten Richtungen hin bemerkbar macht, der humorale und zelluläre Wirkungen auslöst, der den Stoffwechsel beeinflusst und durch die Wirkung auf bestimmte Organsysteme Reaktionsänderungen gegenüber pharmakologischen Mitteln hervorbringt. Diese Vielseitigkeit ist das besondere Charakteristikum der Proteinkörpertherapie. Der Ausdruck der leistungssteigernden Therapie ist durchaus glücklich.

Man erkennt eine allgemein aktivierende Wirkung parenteraler Protein-substanzen bei der raschen Besserung mancher Pädatrophen, bei dem auffallenden Wechsel des Allgemeinbefindens nach Blut- und Milchapplikationen, vor allem der subjektiven Besserung und Hebung des Appetits. Es handelt sich hierbei um eine Allgemeinreaktion ohne Herdreaktion und ohne Fieber, um eine Umstimmung der Gesamtkonstitution. Die einen reagieren auf den Reiz mit Besserung, bei den anderen bleibt die Reaktion aus oder es tritt sogar eine schädigende Wirkung hervor. Sch. geht etwas ausführlicher auf die Konstitution als Ausdruck der Reaktionsfähigkeit des Körpers auf exogene und endogene Reize ein und auf den Begriff der Konstitutionsstörung, ferner auf den Reizbegriff, vor allem im Sinne Verworn's. Bei der Proteinkörpertherapie zeigt sich die Reizschwelle scheinbar verschieden für die einzelnen Zellsysteme. Die Fieberreaktion ist nicht unbedingt notwendig zur Erzielung eines Heileffektes.

Es werden eingehend die humoralen Veränderungen nach Proteinkörperinfektionen diskutiert, wie sie nach den Untersuchungen von H. Sachs und von Oettingen, von W. und H. Löhr, von Starlinger, Dörr und Berger gefunden wurden, und wie sie durch Aenderungen der Senkungsbeschleunigung der roten Blutkörperchen, der Viskosität und Oberflächenspannung des Plasmas im Serum, durch eine vermehrte Labilität der Plasma-eiweißkörper, durch eine Verschiebung der Bluteiweißkörper nach der grobdispersen Seite zum Ausdruck kommen. Es liegt hier, wie Berger mit Recht ausspricht, ein elementares Reaktionsgesetz der Zellulärpathologie vor, wonach eine große Reihe von pathologischen Vorgängen in der Zelle eine Verschiebung des Eiweißbestandes nach der Globulinseite zustande bringt, eine Verschiebung, die sich dann sekundär im umgebenden Medium der Körperflüssigkeit äußern kann. Am intensivsten finden sich die humoralen Veränderungen nach W. und H. Löhr nach sterilen operativen Eingriffen. Die humoralen Faktoren, die Aenderung der physikalisch-chemischen Struktur des Blutes erklären nicht allein die therapeutische Wirkung der Proteinkörper, der Hauptangriffspunkt ist vielmehr die Zelle selbst.

Sch. zählt eine Reihe von Beobachtungen auf, welche die gesteigerte Funktion verschiedener Zellsysteme teils im Tierexperiment, teils beim Menschen, augenfällig machen, z. B. die vermehrte Milchsekretion, die vermehrte Speichel-, Magensaft-, Pankreas- und Tränensekretion, die vermehrte Lymphbildung, die Aenderungen des Blutbildes infolge Funktionssteigerung des myeloiden und erythroblastischen, die vermehrte Tätigkeit des reticulo-endothelialen Systems durch Proteinkörper u. a. Hierher gehören ferner die Beobachtungen über Leistungssteigerung von Skelettmuskeln und des Herzens unter der Einwirkung von Proteinsubstanzen und Serum, die Reizungen des Temperaturzentrums und die öfter beobachteten schlafmachenden Wir-

kungen, ferner die Steigerung der Antikörperbildung. Zahlreiche Zellfunktionen der verschiedensten Arten erfahren also eine nachweisbare Steigerung.

Von besonderer Bedeutung sind die lokalen Wirkungen am Entzündungsherd, welche die Herdreaktion veranlassen und welche Bier mit dem Ausdruck „Heilentzündung“ bezeichnet. Es handelt sich dabei um völlig unspezifische Reaktionen. Die Proteinkörperwirkung faßt an der entzündeten Stelle besonders an, weil sich hier die Zellen in einem veränderten Reizzustand befinden oder überhaupt Bedingungen vorliegen, die die klinische Aeußerung der Reizwirkung deutlich erkennbar machen. Bei erhaltener Reaktionsfähigkeit steigern sich die entzündlichen Abwehrprozesse, und diese Steigerung vermag als heilender Faktor zu wirken; wahrscheinlich handelt es sich um einen komplizierten Prozeß, an dem chemische, physikalische und physikalisch-chemische Vorgänge beteiligt sind. Die Abwehrreaktion läßt sich nicht mit Sicherheit mindern und steigern. Manche entzündlichen Prozesse scheinen ganz unbeeinflusst zu bleiben, andere reagieren sehr heftig. Auch hier zeigt sich eine ganz differente Reaktionsfähigkeit im einzelnen System, wie es auch vom gesamten Organismus bekannt ist. Die Ursache dieser Verschiedenheit ist noch durchaus unübersichtlich.

Sch. erwähnt die Weichardtschen Feststellungen über die Wachstumsförderung eingedrungener Krankheitserreger durch im Körper entstehende Spaltprodukte, die zur Vorstellung führen, daß auf diese Weise infektiöse Prozesse eine Steigerung erfahren können, ferner die Anregung einer Zellvermehrung bei Mäusen durch intraperitoneale Injektion von Menschenserum (Dustin), die Beziehungen zu den Vitaminen und den Abderhaldenschen Optonen, die Steigerung katalytischer Prozesse u. a. m.

Sch. referiert endlich die vielseitige Beeinflussung pharmakologischer Reaktionen durch Proteinkörpervorbehandlung, wie sie vor allem durch Gottlieb und Freund, durch Starkenstein, Storm van Leeuwen, Kirste, Döllken und Herzger u. a. beschrieben sind. Es handelt sich hier um eine Umstimmung der Erregbarkeit der Endapparate des autonomen Nervensystems durch Eiweißspaltprodukte. Es können also im Blut kreisende wirksame Substanzen ein Teilsystem umstimmen und dessen Reaktionsfähigkeit verändern (Abänderung der Wirkung von Adrenalin, Pilocarpin, Digitalis, Atropin, Strychnin u. a.).

Aus allem geht hervor, wie vielseitig der Einfluß von Proteinkörpern sein kann und wie verschieden der Wirkungsmechanismus. Das Problem der Proteinkörperwirkung ist ein sehr kompliziertes und noch keineswegs exakt zu formulieren. Eine einseitige Erklärung ist vorerst durchaus unrichtig, ebenso die Gleichstellung andersartiger Heilmethoden, wie Hydrotherapie, Aderlaß, Röntgenbestrahlungen, Yatren- und Terpentinjektionen mit der Proteinkörperwirkung. Es werden sich sicherlich auch beim Menschen Unterschiede in der Wirkungsweise einzelner Eiweißstoffe und ihrer Abbauprodukte feststellen lassen, da von vornherein einleuchtend ist, daß die verschiedene chemische Konstitution und die differierenden physikalischen Eigenschaften für die Wirkungsweise nicht gleichgültig sind. Die praktischen Resultate der Proteinkörpertherapie sprechen in diesem Sinne. Es muß hier noch viele Detailarbeit geleistet werden.

**Diskussion:**

Weichardt (Erlangen).

W. Seiffert (Marburg): Die eine entscheidende Frage, die sich im Rahmen der Proteinkörpertherapie insbesondere vom Standpunkte der Praxis aus erhebt, geht dahin, ob man eine allgemeine Leistungssteigerung des Gesamtorganismus, also in erster Linie die gesunden Körperzellen, oder ob man den Krankheitsprozeß direkt zum Ausgangspunkt der Behandlung nehmen soll; in Anbetracht der verschiedenen Reaktionsfähigkeit der gesunden und der kranken Zellen ist diese Frage sowohl für die Dosierung wie für die Indikation von größter Bedeutung.

Als Beispiele für die unspezifische Anregung der normalen Zellen gelten nach Weichardt: 1) die erhöhte Laktation; hierbei handelt es sich aber nicht um eine normale Funktion, sondern um die Verstärkung eines durch spezifische Hormone ausgelösten Reizzustandes. 2) Die Vermehrung der Normalagglutinine; diese Vermehrung ist nach meinen früheren Versuchen nicht eindeutig. 3) Die Anregung des isolierten Froschherzens durch Zusatz von Deuteroalbumose usw. zur Durchspülungsflüssigkeit; diese Versuche haben keine Beweiskraft, da die verwendeten Präparate nach den Untersuchungen von Fruböse und mir Kalzium enthalten. 4) Die unspezifische Resistenzsteigerung des Meerschweinchens nach Pfeiffer und Issaëff; diese Resistenzsteigerung beruht jedoch offenbar zum größten Teil auf Phagozytose; die Resistenz gegen ein nicht phagozytierbares Antigen wird durch unspezifische Vorbehandlung nicht erhöht; bei intraperitonealer Vorbehandlung sterben die Tiere zum Teil sogar eher als die Kontrollen. — Läßt es sich nun selbstverständlich auch nicht leugnen, daß auch der normale Organismus auf unspezifische Reaktionen hin reagiert, so bleibt doch eine allgemeine Aktivierung aller Körperzellen mit dem Effekt der Leistungssteigerung durchaus unbewiesen. Es darf also nicht der vage Begriff der allgemeinen Vitalität, sondern es muß die kranke Zelle selbst unmittelbarer Ausgangspunkt aller Betrachtungen sein.

Damit erhebt sich zweitens die Frage, ob sich alle Einwirkungen, die ein Krankheitsprozeß durch unspezifische Injektionen erfährt, unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zusammenfassen lassen. Offensichtlich ist das nicht der Fall. Von den Erscheinungen, die sich an eine unspezifische Injektion anschließen, kann der Krankheitsherd beeinflußt werden: 1) direkt im Sinne einer Verstärkung eines bereits bestehenden spezifischen Reizzustandes; 2) rein passiv durch Veränderungen kolloid-chemischer Natur im Sinne einer Veränderung der Arbeitsbedingungen; 3) durch Leukozytose (Leukozytenablenkung, Phagozytose usw.); 4) über den Sympathicus und Parasympathicus; 5) durch pharmakologische Vorgänge nach Starkenstein und Döllken. Alle diese Einwirkungen setzen an den verschiedensten Punkten an und sind sich auch in ihrem Prinzip durchaus wesensfremd; zwar mag der Erfolg der verschiedenen Wirkungen vielfach ähnlich sein, es ist aber pharmakologisch unhaltbar, den äußeren Erfolg zur Grundlage einer Einteilung und Zusammenfassung zu nehmen, wenn der Mechanismus so offensichtlich differiert.

Das wichtigste Moment in der Proteinkörpertherapie scheint mir die bereits erwähnte unspezifische Steigerung eines bestehenden oder gleichzeitig gesetzten spezifischen Reizzustandes zu sein, und in der Kombination eines spezifischen Reizes mit einem unspezifischen Stimulans scheint mir der bedeutungsvollste Weg der unspezifischen Therapie zu liegen (Reiztherapie). Aber auch hier muß man sich einer Einschränkung bewußt sein. Eine Zelle, die dem spezifischen Reiz schwer zugänglich ist, widersetzt sich auch der unspezifischen Verstärkung dieses Reizes. Bei einem schlechten Antitoxinbildner wie dem Meerschweinchen ist es nicht möglich, durch Kombination kleiner Mengen Diphtherietoxin mit Eiweißpräparaten aller Art die Antitoxinbildung zu fördern.

Der Effekt der Proteinkörpertherapie hängt demnach in erster Linie von der kranken Zelle ab, von ihrer Reizbarkeit, ihrer Leistungsfähigkeit, ihrer kolloid-chemischen Einstellung usw. Nach der kranken Zelle richten sich Indikation und Dosierung. Nach ihrem Bedürfnis muß man sich bald mehr an die eine, bald mehr an die andere der parenteral auslösbaren Reaktionen wenden und danach die Präparate auswählen. Die unspezifische Therapie ist also eine unspezifische Zellulartherapie.

A. Zimmer (Berlin): Ungenaue Begriffsbestimmung ist in vielen Fällen die Ursache von Meinungsverschiedenheiten. Aus diesem Grunde ist auch die Bezeichnung Reiztherapie umstritten und wird unter sehr wechselndem Inhalte gebraucht.

Jede Lebenstätigkeit setzt nach Virchow einen Reiz voraus. Reiz ist nach Verworn jede Veränderung der äußeren Lebensbedingungen. Sowohl die Vermehrung

wie die Verminderung bestehender äußerer Einwirkungen auf das Lebelement wirkt als Reiz. Die Königischen Versuche geben einen wertvollen Beitrag zu diesem Verhalten. Sowohl einzelne Gaben von narkotischen oder antipyretischen Mitteln, wie auch das plötzliche Aufhören nach längerer Darreichung erzeugen neben ihren organspezifischen Wirkungen im Körper Reaktionen, wie wir sie von der parenteralen Proteinkörpertherapie her kennen.

Reizablauf ist keine Erklärung, aber einer der vielen Gesichtspunkte, von denen aus wir alles lebendige Geschehen, also auch die Therapie betrachten müssen.

Ob wir bei der Therapie Reizqualitäten hinzufügen, ob wir den Körper von lähmenden Reizwirkungen befreien, wir ändern damit für das Lebelement die äußeren Bedingungen, d. h. wir reizen. Unter Umständen können wir dadurch eine Leistungssteigerung hervorrufen.

Zu beachten ist dabei, daß nicht nur diejenigen Reizqualitäten, die wir von außen an den Körper heranbringen, als Reiz auf das Lebelement oder das Organ wirken, sondern auch alle Reizenergien, die durch die Reizung erst sekundär im Gesamtorganismus ausgelöst werden.

Wie der Begriff des Reizes, so wird auch der Begriff der Entzündung und des Fiebers mit verschiedenem Inhalte gebraucht.

Virchow schon bezeichnete unter Fieber und Entzündung die Gesamtheit aller derjenigen gesteigerten Lebenstätigkeiten, die Schädlichkeiten abwehren und Schaden ausbessern. Nur der Charakter der Akuität und der Gefahr grenzt sie von den normalen Erscheinungen ab. Jede Entzündung setzt einen Entzündungsreiz voraus.

Bier ist stets für diese Definition eingetreten und spricht deshalb von Heilentzündung und Heilfieber. Es ist eine Tat von weittragender Bedeutung, daß Bier dadurch auch in der Praxis mit der Antiphlogistik gebrochen und den Beweis erbracht hat, daß unter Umständen Steigerung von Entzündung und Fieber wertvolle therapeutische Maßnahmen sein können.

Sprechen wir bei der Reiztherapie von Heilentzündung und Heilfieber, so umschließen wir damit auch hier die Gesamtheit aller aktiven, defensiven, reparativen und regenerativen Tätigkeiten des Körpers.

Die Tatsache, daß Mittel zur Reizung geeignet sind, und leistungssteigernd wirken können, genügt noch nicht, um unser therapeutisches Handeln damit eindeutig zu bestimmen. Für uns Praktiker ist es das Wichtigste, zu wissen, unter welchen Bedingungen wir eine Leistungssteigerung, eine Heilwirkung erzielen können.

Hier ist Bier seit Jahren eingetreten für das Arndt-Schulz'sche Gesetz: „Schwache Reize fachen die Lebenstätigkeit an, mittelstarke fördern sie, starke hemmen sie, stärkste heben sie auf.“ Aber durchaus individuell ist es, was sich als schwacher, mittelstarker, starker oder sogenannter stärkster Reiz wirksam erweist.

Ob wir hierin ein biologisches Grundgesetz zu sehen haben, oder ob es die Regel aller komplizierten Reaktionen darstellt (Schade), ist dabei belanglos. Für unser therapeutisches Handeln erweist es sich als richtig.

Jede Reiztherapie ist keineswegs harmlos. Nur die Beachtung der richtigen Dosierung und der richtigen Zeitintervalle, wie sie für jeden einzelnen Fall angepaßt sein müssen, kann zu einer Heilwirkung führen. Die Vernachlässigung dieser Regeln muß schweren Schaden stiften und die ganze Therapie in Mißkredit bringen.

Ich berichtete früher über Erfahrungen, daß selbst mit kleinen Dosen von Proteinkörpern, Terpentin oder Yatren, wenn sie längere Zeit gegeben, jedesmal deutliche Herdreaktionen erzeugen, starke kachektische Erscheinungen hervorgerufen werden können. Daß wir auch Todesfälle durch zu große Dosen und zu geringe Intervalle zu erzielen imstande sind, haben kürzlich erst Zieler und Birnbaum beschrieben. Solche Fälle sollten mehr veröffentlicht werden, um als Warnung vor ungeeigneter Reiztherapie zu dienen, wie sie leider noch sehr häufig geübt wird.

Nachdem Herr Schittenhelm näher auf Yatren und die Arbeit von Herrn Zieler eingegangen ist, möchte ich kurz folgendes hinzufügen: Es handelt sich hier einerseits zweifellos um starke Ueberdosierungen, wenn er 2mal tägl. Dosen von 20 ccm einer 5-proz. Lösung von Yatren und mehr injiziert hat und die Injektionen noch fortsetzte, als schon sehr starke Reaktionserscheinungen eingetreten waren. Ich habe mir selbst 20 ccm Yatren intravenös injizieren lassen und danach nicht die geringste Veränderung an mir verspüren können. Bei einem Kollegen löste die gleiche Dosis eine starke Herdreaktion an einer alten Schußverletzung in der Wirbelsäule aus. Ich habe aber auch Patienten, die bereits auf eine Dosis von  $\frac{1}{2}$  ccm Yatrenlösung 1:500 deutlich mit Temperatursteigerung und Herderscheinungen reagieren, während sie bei Verdünnungen von 1:1000—1:10000 keine Steigerung der Temperatur mehr aufweisen und günstig damit beeinflußt werden können. Diese Patienten verhalten sich Proteinkörpern und anderen Reizenergien gegenüber in gleicher Weise und reagieren auch dort auf fast homöopathische Dosen. Die Reaktionen treten im allgemeinen erst nach 6—8 Std.



auf, erreichen häufig am folgenden Tag ihren Höhepunkt und klingen im Laufe des 2. und 3. Tages langsam ab. Das muß bei der Wahl des Intervalles berücksichtigt werden. Man sollte deshalb vor dem 3. bis 4. Tage keine neue Reizbehandlung einleiten.

Andererseits geht aus der Arbeit hervor, daß Herr Zieler mit Yatrenabkochungen gearbeitet hat, in denen sich freies Jod gebildet hat. Das gibt an sich schon andere Bedingungen, als eine Lösung, die nur das reine Yatrenmolekül und kein freies Jod enthält oder im Körper abspaltet.

Als richtungsgebenden Gesichtspunkt für die richtige Anwendung der Reiztherapie habe ich den Begriff **Schwellenreiztherapie** geprägt. Er soll den Hinweis geben, daß zu einer günstigen Heilwirkung Dosis und Intervall des Reizmittels so gewählt werden muß, daß der Körper dadurch gerade bis zu seiner höchsten Leistungsfähigkeit angeregt wird. Die Erfahrung muß lehren, unter welchen objektiven und subjektiven Erscheinungen wir in jedem Einzelfalle die Schwellenreizdosis und das günstigste Intervall zu suchen haben.

Wir kommen zum Schluß zu der Frage, wie sich die Reiztherapie zur Proteinkörpertherapie verhält.

Die Proteinkörper stellen eine Gruppe von Mitteln dar, mit denen man Reiztherapie träben kann. Neben den Proteinkörpern wirken aber auch alle anderen Energiearten, sowohl chemische wie physikalische, auf den Körper als Reizmittel ein und werden als solche in der Therapie gebraucht. Zur Erzeugung von Heilfieber und Heilentzündung hat Bier bereits vor über 20 Jahren die verschiedensten Energiearten verwendet und untereinander verglichen. Auch Weichardt hat darauf hingewiesen und als zweckmäßig empfohlen, die Proteinkörper wegen ihrer unkontrollierbaren Zusammensetzung in der Therapie durch wohldefinierbare chemische Mittel zu ersetzen.

Es ist zweifellos berechtigt und nötig, die Proteinkörper in ihrer Besonderheit anderen Reizenergien gegenüber zu studieren. Unberechtigt dagegen ist es, darüber die anderen Reizmittel zu vernachlässigen. Zweifellos gehören gewisse Proteine zu den Mitteln von stärkester Reizwirkung. Ob aber in der Eigenart der Proteinkörper stets ein therapeutischer Vorteil liegt, ob diese Eigenart nicht häufig eine sehr lästige Nebenerscheinung bedeutet, ist bisher noch nicht gesichert.

Bei dieser allgemein noch ganz einseitigen Einstellung der Reiztherapie auf die Proteinkörper ringen zurzeit noch sehr wichtige Tatsachen um ihre Anerkennung.

Ich erinnere an den Gesichtspunkt des Reizablaufes, z. B. bei der Röntgentherapie, bei der Balneologie, insbesondere aber auch bei der Antisepsis.

Bier spricht schon in seinem Buch über Hyperämie über die Reizwirkung der Antiseptika und sieht darin ihre größte Bedeutung. Hierher gehören aber auch die fast vergessenen Arbeiten von Herrn Uhlenhuth, in denen er im Gegensatz zu Ehrlich die parasitizide Eigenschaft der organischen Arsenpräparate auf eine indirekte Zellwirkung zurückführt.

Genauere Kenntnisse des Reizablaufes ist das Hauptanfordernis der Proteinkörpertherapie und zugleich das Band, das sie verbindet mit den gleichartigen therapeutischen Bestrebungen, die wir mit allen übrigen, sowohl physikalischen wie chemischen Reizqualitäten zu erzielen suchen.

**Süpfle (München):** Nach der herrschenden Ausdrucksweise kommt es im Gefolge der parenteralen Proteinkörperzufuhr zu einer Steigerung aller Zellfunktionen, es werden omnizelluläre Wirkungen, wie man sagt, ausgelöst. Trifft diese Vorstellung zu, so muß erwartet werden, daß nach Proteinkörperzufuhr u. a. auch die Zellen, die normalerweise Abwehrstoffe produzieren, zu erhöhter Tätigkeit schreiten; im Experiment muß also eine Veränderung im Gehalte des Blutes an Abwehrstoffen nachweisbar sein. Nach Versuchen, die Herr Otto Pfeiler unter meiner Leitung anstellte, ist hiervon aber nichts zu bemerken. Wir haben gesunden Kaninchen und Pferden Caseosan bzw. Albumol injiziert; die Kaninchen erhielten Dosen zwischen 0,01 und 1,0 ccm, die Pferde 4–12 ccm Caseosan; selbst bei der niedrigsten Dosis trat 8–15 Stunden nach der Injektion eine geringe Temperatursteigerung (0,7–1,8°) ein; einen Temperaturabfall beobachteten wir auch bei den größten von uns gewählten Dosen nicht. Vor der Caseosan-einverleibung sowie 1–10 Tage danach wurde den Tieren Blut entnommen, jedoch dem einzelnen Tier nicht öfter als 3–4 mal in 3–4-tägigen Pausen. Von jeder Blutprobe wurde das Serum in aktivem Zustande sowohl unverdünnt als auch in steigenden Verdünnungen (bis 1:20) in den Versuch gesetzt, ebenso nach Inaktivierung bei 56° und nach Inaktivierung bei 65 bzw. 63°. Die Bakterizidie aller dieser Proben wurde gleichzeitig gegenüber dem alexinempfindlichen *Bact. coli* geprüft (Einsaat 180 000–200 000 Keime in 1 ccm), dem leukinempfindlichen, aber alexinfesten *Staphylococcus* (8000 bis 10000 Keime) und dem plakinempfindlichen Milzbrandbazillus (85 000–120 000 Keime). Sofort nach der Einsaat sowie nach 4, 7, 24 ev. 48 Stunden wurde die Keimzahl durch Ausstreichen von 1,15 mg Serum-Bakteriengemisch auf Agarplatten er-

mittelt. Das Gesamtergebnis unserer Versuche läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß wir keine wesentliche Aenderung in der Bakterizidie des Normalserums beobachten konnten. Der Gehalt des Serums an Alexinen, an thermostabilen Stoffen leukinartigen Charakters, ebenso an Plakinen zeigte unter dem Einfluß der Proteinkörperzufuhr weder eine auffällige noch eine regelmäßige Abweichung von der Norm. Entweder reichen unsere Methoden nicht aus, um die in Betracht kommenden Veränderungen in der Bakterizidie zu erkennen — oder aber die Wirkung der Proteinkörper, die nicht prinzipiell angezweifelt werden soll, ist nicht „omnizellulär“; jedenfalls erscheint die Formulierung „omnizelluläre Wirkung“ vorläufig als ein leerer Begriff.

Herzberg (Dahlem): Siehe Vortrag S. 238\*. Bakteriologische und physiologisch-chemische Untersuchungen mit o-oxy-jod-sulfonbenzopyridin (Yatren).

Dresel (Heidelberg): Siehe Vortrag S. 240\*. Dresel und Keller: Bakterien-tötende Kräfte im Serum von Gesunden und Kranken.

W. Caspari (Frankfurt a. Main): Zum Studium der Proteinkörperwirkung und ihrer therapeutischen Bedeutung eignet sich die Methode der experimentellen Tumorforschung in ausgezeichneter Weise, wenn man sich erst einmal darüber klar geworden ist, in welcher Weise die Wirkung derartiger Vorgänge im Organismus in dem Verhalten der Tumoren zum Ausdruck kommt. Es liegt von vornherein nahe, anzunehmen, daß der unspezifischen Therapie bei den Tumoren eine größere Bedeutung zukommt als bei den Infektionskrankheiten. Bei der großen Verschiedenheit des Körperaufbaues und des Stoffwechsels der Infektionserreger einerseits, der Körperzellen andererseits, ist es wohl verständlich, daß den Infektionserregern gegenüber die spezifischen Immunitätsvorgänge im Vordergrund stehen und infolgedessen auch die spezifische Immunitäts-therapie. Anders verhält es sich bei den Zellen der bösartigen Geschwülste, die wir ja als abgeartete Zellen des Körpers selbst auffassen müssen. Hier ist es von vornherein wahrscheinlich, daß der unspezifischen Immunität und der unspezifischen Therapie die wesentliche Bedeutung zufallen wird.

Betreffs der Wirkungsweise der unspezifischen Therapie stehe ich auf dem Standpunkte, daß letzten Endes alles auf Proteinkörperwirkung herauskommt. Auf Grund von experimentellen Untersuchungen an Tumormäusen, die mich und meine Mitarbeiter über 2½ Jahre beschäftigt haben, bin ich zu dem Ergebnis gelangt, daß die Wirkung aller dieser Maßnahmen in einem Untergang von Körperzellen oder auch von Tumorzellen und dadurch freierwerdenden hormonartigen Substanzen zu sehen ist, die den allgemeinen Immunitätsspiegel heben und sich dort in erster Linie auswirken, wo der Krankheitsherd seinen Sitz hat. Letzteres ist wohl verständlich, wenn man sich klar macht, daß Tumor und Organismus, worüber ja heute ein Zweifel nicht mehr bestehen kann, gleichsam einen erbitterten Kampf miteinander führen, und die Abwehrkräfte am Orte des Krankheitsherdes selbst am stärksten gereizt sind. Ich bin zu der Anschauung der Existenz derartiger Zellerfallshormone, wie Freund diese Substanzen, wie mir scheint, sehr treffend bezeichnet hat, auf folgendem Wege gelangt. Wir legten uns die Frage vor, was denn die Wirkung des nekrotischen Materials sein möge, das bei der Tumorpflanzung stets in mehr oder weniger starkem Ausmaße entsteht, und das andererseits sich bildet, wenn der Impftumor ein gewisses Alter erreicht hat.

Zum Studium solcher unspezifischen Vorgänge eignet sich nicht die Prüfung auf den ausgewachsenen Tumor. Der Grund dafür ist folgender: der primäre Zellerfall, der der Hebung der Immunität vorausgeht, bedingt eine negative Phase, wie sie auch bereits bei der Proteinkörperwirkung auf Bakterien beobachtet wurde, in der der Immunitätsspiegel des Organismus sinkt und die Krankheit zunächst eine Steigerung, eine Verschärfung erfährt. Dieser Zustand kann sich sowohl in einer Allgemeinschädigung des Organismus, als auch in einer vorübergehenden Steigerung des speziellen Krankheitsbildes auswirken. Das ist der Vorgang, der vielfach als Heilkrise, Heilfieber bezeichnet worden ist, und ich glaube, daß auch der bekannte Röntgenkater in diese Kategorie zu rechnen ist. Bei den Tumoren prägt sich diese Phase darin aus, daß die derartig wirksamen Substanzen und Eingriffe auf einen bestehenden Tumor zunächst mehr oder weniger stark wachstumsbeschleunigend wirken. Nun sind unsere Mäusetumoren, die durch Hunderte von Generationen gezüchtet worden sind, mit kolossaler Wuchsenenergie begabt, und töten die Tiere in 3—4 Wochen. So kommt es, daß die Versuchstiere die negative Phase meist kaum überleben. Im Blutbilde gibt sich die negative Phase meist durch einen Leukozytensturz zu erkennen, doch ist dieser manchmal ein sehr schnell vorübergehender, und es dauert die negative Phase weit länger an als der Leukozytensturz währt. Auf diesen Leukozytensturz folgt dann eine oft sehr ausgesprochene Leukozytose. Bei der Maus ist ja bekanntlich das Zahlenverhältnis

zwischen Lymphozyten und Polynukleären ungefähr das umgekehrte wie beim Menschen. Dies kommt auch im Effekt dieser Eingriffe zum Ausdruck. Denn während beim Menschen in erster Linie die polynukleären Zellen sich vermehren, steigen bei der Maus die Lymphozyten in gleicher Weise an. Man könnte vielleicht daraus schließen, daß die Lymphozyten bei der Maus auch empfindlicher sind als beim Menschen und in erster Linie zerfallen. Denn ich glaube nicht, wie viele andere Autoren, daß es diese Blutzellen sind, die direkt die Immunität hervorrufen, sondern ich glaube, daß es sich hier um einen Kompensationsvorgang für die zerfallenen Elemente handelt, der mit den Immunitätsvorgängen einigermaßen parallel geht. Aber auch nur einigermaßen! Unsere bisherigen Versuche sprechen dafür, daß, wie die Senkung der Immunität durch den Zellzerfall sich nur allmählich auswirkt und weit länger andauert als der Zellzerfall, so auch die Höhe des gesteigerten Immunitätsspiegels erst dann erreicht ist, wenn die Leukozytose bereits längere Zeit besteht. In dieser negativen Phase scheint es mir auch begründet zu sein, daß die Proteinkörpertherapie bei akuten Infektionskrankheiten so häufig versagt.

Zum Studium dieser Vorgänge an Tumoren eignen sich daher die Immunisierungsversuche in besonders hohem Maße, und wir werden folgerichtig den Schluß ziehen dürfen, daß all die Maßnahmen, die imstande sind, eine Immunität hervorzurufen, bei langsamerem Verlauf des Tumorstadiums, wie es beim Menschen statthat, auch mehr oder weniger therapeutisch verwertbar sind.

Ueber Immunitätsversuche gegen Tumoren liegt ein außerordentlich großes experimentelles Material vor, auf das ich hier nicht näher eingehen kann.

Wenn wir uns die Substanzen ansehen, die im Tierversuch eine derartige Immunität hervorgerufen haben, so handelt es sich fast durchgängig um Eiweißsubstanzen, die Zellzerfall im Organismus bewirken, oder aber darum, daß wir das hormonhaltige Material selbst in den Organismus hineinbringen, indem wir entweder Tumornekrose verwenden, wie es zuerst Königsfeld mit gutem Erfolge getan hat, oder aber zelliges Material, das im Organismus zum Zerfall gelangt. In letzterem Falle hat man die Kombination beider Vorgänge. Es werden die Hormone direkt in den Körper eingeführt, und es entstehen andererseits neue Zellzerfallshormone im Organismus.

Wir konnten dies besonders schön vergleichend prüfen durch folgende Versuchsanordnung. Herr Geheimrat Kollé hatte in Gemeinschaft mit Herrn Caan Versuche gemacht über die intravenöse Einspritzung von Tumormaterial. Dabei ergab sich die merkwürdige Tatsache, daß unser Karzinom und unser Chondrom und unser Sarkom in 80—100 Proz. der Fälle angingen. Unser Sarkom jedoch geht auf diese Weise nicht an. Wenn man nun die Immunitäten vergleicht, die durch das Angehen der Tumoren in der Lunge und das im Organismus nicht zum Angehen kommende Sarkomgewebe auf einen nachgeimpften Tumor, gleichgültig welcher Art, ausgeübt werden, so zeigt sich, daß die Immunität, die durch das Sarkom bewirkt wird, unverhältnismäßig viel größer ist als die durch Vorbehandlung mit Karzinom oder Chondrom erzielte.

Einen derartigen Zellzerfall, also wenn Sie wollen, eine indirekte Proteinkörperwirkung, können wir auch erreichen durch geringe strahlende Energie, die wir auf den Gesamtorganismus einwirken lassen. Wir können dies bewirken sowohl durch Behandlung in Emanatorien, als auch durch Bestrahlung des gesamten Organismus mit Röntgenstrahlen. Und zwar genügt hier für die Maus eine einmalige Bestrahlung von 15 Sek. Dauer nach den Methoden der Röntgentiefentherapie. Der Effekt am Orte des Tumors ist eine ausgesprochen starke Bindegewebswucherung, derselbe Vorgang also, den wir sowohl bei der intensiven lokalen Bestrahlung mit starken Dosen, als auch nach den Versuchen von Bashford, Murray und Cramer bei der Spontanheilung der Mäusetumoren vor uns haben.

Wie ich einleitend bemerkt habe, glaube ich, daß der unspezifischen Therapie für die Behandlung des Karzinoms eine viel höhere Bedeutung zukommt als für die Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Der kurze Ueberblick, den ich gegeben habe, genügt ja schon um zu zeigen, wie mannigfaltig die Substanzen sind, die hier verwandt werden können. Sie sind faktisch bereits vielfach, wenn auch meist nicht in sehr systematischer Weise angewandt worden. Ich erinnere an die Autolysatbehandlung von Blumenthal und Fichera, an die Bluttransfusionen von Bier und von Warne-croß, an die glänzenden Erfolge, die Wetterer kürzlich berichtet hat, bei Kombination von lokaler Röntgentiefenbehandlung und intravenösen Serumeinspritzungen. Auch die Tumorrückgänge bei Erysipel und Gravidität gehören zweifellos in dieses Gebiet. Für die lokale Strahlentherapie gilt meines Erachtens, daß es sich hier um einen komplizierten Vorgang handelt, bei dem lokale, Tumor zerstörende Wirkung und allgemeine unspezifische Therapie zu gleicher Zeit wirksam sind. Ich zweifle nicht daran, daß noch viele andere Substanzen in gleichem Sinne verwertbar sind, so die große Gruppe der Protoplasmgifte, wie z. B. auch Metallsalze. Andererseits wissen wir bereits aus

der unspezifischen Therapie der Infektionskrankheiten, daß diese Eingriffe und Substanzen zwar im Prinzip wohl auf denselben Effekt, meines Erachtens die Entstehung von Zellzerfallsgiften, zurückgehen, im einzelnen aber hinsichtlich Energie und Art der Wirkung sowie Unschädlichkeit für den Organismus sehr erheblich differieren. Ich glaube, daß die systematische Durchprüfung und Kombination dieser Vorgänge mit anderen bewährten Heilmethoden vielleicht auch für die Bekämpfung der Krebskrankheit beim Menschen nicht ganz ohne Bedeutung ist.

Uhlenhuth (Marburg): Beim Eindringen in das Wesen der Reizwirkung, wie sie ja auch mit chemischen Präparaten erzielt wird, muß ich mich lebhaft der Vorstellung erinnern, die ich mir bezüglich der Heilung der Trypanosomen- und Spirochätenkrankheiten durch Atoxyl gebildet habe<sup>1)</sup>.

Es wirkt im höchsten Maße überraschend, wie prompt Unmassen von Trypanosomen und Spirochäten abgetötet werden, wenn man einem kranken Tier Atoxyl einspritzt. Noch mehr überraschend ist die Feststellung, daß das im Körper so außerordentlich stark parasitizid wirkende Mittel die Parasiten im Reagenzglas nicht beeinflußt.

Auf Grund der chemisch-pharmakologischen Untersuchungen ergibt es sich, daß bei toleranten Tieren (Mäuse, Ratten, Kaninchen) der größte Teil des Atoxyls als komplexe Verbindung den Organismus unverändert passiert. Wir spritzen also Atoxyl ein und erhalten Atoxyl. Danach muß man wohl auch ein Kreisen größerer Mengen unveränderten Atoxyls im Blut während der Zwischenzeit annehmen.

Dafür sprechen auch die charakteristischen — nur dem Atoxyl, nicht dem Arsen zukommenden — Vergiftungserscheinungen, wie wir sie in den Gleichgewichtsstörungen der „Tanzmäuse“ sehen.

Atoxyl schädigt aber wie gesagt *in vitro* die Trypanosomen nicht, mag man es einwirken lassen, in welchem Medium man es will. Da aber eine Wirkung zustande kommt, so kann das nur auf dem Umwege über die Körperzelle, also indirekt der Fall sein.

Mit der Annahme einer direkten Wirkung des im Körper reduzierten Atoxyls auf die Parasiten (Ehrlich) können wir uns nicht abfinden, sondern sind der Ansicht, daß die indirekte Wirkung, bei welcher zwischen Atoxyl und Parasiten keine unmittelbare Beziehungen bestehen, so zustande kommt, daß das Mittel die Körperzellen im Sinne einer starken Produktion von protozoenschädigenden Stoffen beeinflußt.

Mit der Einwirkung des Atoxyls auf die Zellen ist die Bildung solcher Substanzen aber noch nicht gewährleistet. Der Vorgang der Parasitenabtötung dürfte noch komplizierter sein. Es scheint nämlich, als ob für das Zustandekommen des trypanoziden Effektes die Knüpfung gewisser Beziehungen zwischen Parasiten- und Körperzellen eine unerläßliche Vorbedingung bildet, denn eine der Impfung mit pathogenen Trypanosomen einige Stunden vorangehende Atoxyleinspritzung bleibt in der Regel ohne Einfluß auf die Infektion, und selbst eine gleichzeitige Injektion ist oft nicht imstande, den Ausbruch der Krankheit zu verhindern.

Wenn im Körper aus dem eingeführten Atoxyl ein stark parasitizides Reduktionsprodukt hervorginge, das direkt auf die Protozoen einwirkte, so wären doch für den therapeutischen Effekt die besten Vorbedingungen gegeben, wenn das Mittel kurz vor der Impfung verabreicht würde. Unter diesen Umständen könnte das reduzierte Atoxyl sich zunächst in aller Ruhe bilden und dann die in relativ geringer Zahl eingeführten Parasiten bei ihrem Eintritt in den Körper abfangen.

Selbst bei schneller Ausscheidung dürfte der wirksame Stoff wenigstens zum Teil doch einige Stunden mit dem Blute kreisen; 5—8 Std. nach der Atoxylinjektion kann er unmöglich schon ausgeschieden sein; das beweisen ja auch die chemischen Untersuchungen von Blumenthal, Wedemann und anderen.

Substituiert man den Modus — direkte Wirkung reduzierten Atoxyls auf die Parasiten — so muß man sich auch wundern, daß das Serum normaler, mit Atoxyl behandelter Tiere zu keiner Zeit nach der Injektion in höherem Grade protozoenschädigende Eigenschaften besitzt, was nach unseren Erfahrungen auch von dem Atoxylserum kranker bzw. in Heilung begriffener oder dem geheilter Tiere gesagt werden muß.

Mit unserer Auffassung einer indirekten Wirkung lassen sich diese Erfahrungen sehr wohl in Einklang bringen; wenn der trypanozide Effekt nämlich durch enges (auch räumlich zu verstehen) Zusammenwirken von Parasiten, Zellen und Atoxyl zustande kommt; so braucht von den schädigenden bzw. parasitiziden Stoffen nichts in den Kreislauf zu gelangen. Sie werden vermutlich nur nach Maßgabe des Bedarfs pro-

1) Arbeiten aus dem R.-G.-A. Bd. 27, 2 u. Bd. 29, 2.

duziert und sofort am Ort der Entstehung zur Auflösung oder nachhaltigen Schädigung der Trypanosomen verbraucht.

Für den Erfolg der therapeutischen Wirkung ist also Voraussetzung, daß die Parasiten zu den Körperzellen vorher in gewisse Beziehungen getreten sein müssen, sie müssen also wie bei der Proteinkörperwirkung irgendwie gereizt oder geschädigt sein, damit sie durch das Chemotherapeuticum veranlaßt werden, auf eine längere Zeit parasitizide Stoffe zu produzieren, so daß Heilung erzielt wird. Welcher Art diese Stoffe sind, die die Zelle bildet, darüber herrscht noch Dunkel. Für unsere Auffassung sprechen auch die interessanten Versuche von Agazzi, der durch Atoxyl eine Steigerung der Agglutinine gegen Typhus feststellen konnte.

Eine Steigerung der Zelltätigkeit ergibt sich auch aus unseren Beobachtungen beim Mäusecarcinom und Rattensarkom, wo ich eine Wachstum befördernde Wirkung durch Atoxyl feststellen konnte<sup>1)</sup>.

Das Gleiche gilt, wie ich mit Dold und Bindseil feststellen konnte<sup>2)</sup>, für verschiedene Farbstoffe wie Neutralrot und Eosin ebenso für ein dem Atoxyl ähnliches Antimonpräparat (Stibenyl) sowie für einige Jodpräparate, unter denen ich das Natrium sozodolicum, Jodipin sowie auch Griserin (Jodoxychinolinsulfonsäure), das dem Yatren ähnlich ist, nennen möchte. Hier sieht man also gerade eine formative Reizwirkung der Zelle in eklatanter Weise.

Sicherlich spielt die Dosierung bei der Proteinkörpertherapie eine große Rolle und ist für den Erfolg von ausschlaggebender Bedeutung. Dazu kommen aber noch viele andere Faktoren, die wir noch gar nicht kennen und die in der Natur des Krankheitsprozesses und in der Natur des zu behandelnden Individuums gelegen sind. So ist jedenfalls zu erklären, daß ein Arzt auf die Therapie schwört, während sie von anderen abgelehnt wird. Die Indikationsstellung ist sehr schwierig, jedenfalls liegt ein guter Kern in der Sache, den herauszuschälen die Aufgabe der Zusammenarbeit von Mikrobiologen und Klinikern sein muß.

J. Koch (Berlin): Siehe Vortrag S. 243\*. Die Tätigkeit und die Bedeutung der Kapillarendothelien bei der hämatogenen Allgemeininfektion.

Messerschmidt (Hannover) erklärt sich die zweifellos günstigen Erfolge der Ponndorfschen perkutanen Tuberkulineinreibungen bei den verschiedensten chronischen Stoffwechselkrankheiten (Migräne, Rheumatismus, Asthma, Neuritiden usw.) im Sinne der Reizkörpertherapie. Die Ponndorfschen Theorien, nach denen diese Krankheiten als eine Folge der Tuberkulinvergiftung aufzufassen wären, lehnt er ab. Auch mit anderen „Reizkörpern“ lassen sich ähnliche Heilerfolge erzielen, so z. B. mit Pockenlymphe, die in gleicher Weise wie das Tuberkulin Anwendung findet. Bei kreuzweiser Anwendung von Tuberkulin und Pockenlymphe kommt es jedesmal zu einem erneuten Aufflammen der früheren Impfstelle mit dem nunmehr anderen Impfstoff.

M. unterscheidet: 1) eine völlig unspezifische Reizkörpertherapie (Vaccineurin, Milch, Schwefel, Terpentin); 2) eine für den Gesamtorganismus spezifische, jedoch für die Krankheit unspezifische (Ponndorf mit Tuberkulin oder Pockenlymphe); 3) eine krankheitsspezifische (Vaccine, Autovaccine). Ihre Anwendung empfiehlt er in umgekehrter Reihenfolge, soweit die innere Medizin in Frage kommt.

Die Alttuberkuline verschiedener Herkunft (Höchst, Behringwerke, zächs. Serums-  
werk) wirken bei der Impfung nach Ponndorf meist gleichartig; gelegentliche Unterschiede kommen vor, konnten bislang nicht erklärt werden. Schädigungen durch Ponndorf, insbesondere Mobilisierung einer Tuberkulose, wurden nicht beobachtet.

Bei schweren Lungentuberkulosen sah M. keine Erfolge, über leichte reichen die Erfahrungen nicht zu einem Urteil aus.

Neufeld (Berlin): In der Praxis hat die sogenannte Proteinkörpertherapie, die ja an uralte Maßnahmen der volkstümlichen Medizin anknüpft, anscheinend hauptsächlich bei solchen akuten Erkrankungen Erfolge erzielt, die auch sonst durch einfache Mittel zu beeinflussen sind, wie das ja bekanntlich sehr ausgesprochen bei manchen Augenerkrankungen der Fall ist, die z. B. auch auf warme oder kalte Umschläge ausgezeichnet reagieren. Von der Begeisterung, mit der diese Behandlung bei Typhus, Ruhr usw. zuerst aufgenommen wurde, scheint man ziemlich allgemein zurückgekommen zu sein; bei chronischen Infektionen dauert es wohl länger, bis man die Erfolge endgültig beurteilen kann, hoffen wir, daß sie hier besser sind.

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1907, 30 (V. f. innere Med.).

2) Med. Klin. 1912, 37.

Das Hauptinteresse liegt wohl vorläufig auf physiologischem Gebiet, wo wir sehr merkwürdige Veränderungen im Blutbild, in der Viskosität des Blutes, im Gehalt des Blutes an verschiedenen Eiweißstoffen usw. kennen gelernt haben. Der weitere Ausbau dieser Forschungen im Tierexperiment wird hoffentlich dazu führen, daß wir am Menschen nicht mehr therapeutische Versuche zu machen brauchen, die zu Todesfällen führen, wie das soeben berichtet wurde.

Nun sind unter den Veränderungen des Blutes nach Einspritzung von Proteinkörpern auch vermehrte Bildung von Agglutinin und gesteigerte Tätigkeit der Phagozyten beobachtet worden, also Wirkungen, die eine erhöhte Widerstandsfähigkeit des Körpers als möglich erscheinen lassen. Es scheint mir aber nicht ganz sicher, ob man bei den Bemühungen, Schutz- und Heilwirkungen solcher unspezifischer Reize nachzuweisen, wesentlich über das hinausgekommen ist, was aus Pfeiffers klassischen Versuchen über unspezifische Resistenzsteigerung, die heute hier leider bisher nicht erwähnt worden sind, bereits seit langem bekannt ist. Auch Goldscheider hat übrigens schon 1895 (Fortschritte d. Med. S. 357) versucht, im Tierexperiment durch unspezifische Reize eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Toxine oder Infektionen zu erzielen, jedoch ohne Erfolg. Ich glaube, wir sind auch jetzt noch nicht viel weiter gekommen. Wenn man uns hier ein einziges Meerschweinchen oder eine einzige Maus gezeigt hätte, die von einer sicher tödlichen Infektion durch eine unspezifische Reiztherapie geheilt worden ist, so hätte das auf mich einen größeren Eindruck gemacht als alle schönen Theorien, die wir gehört haben. Ich bemerke ausdrücklich, daß ich solche Erfolge keineswegs für unmöglich halte, ich halte es für sehr zweckmäßig, wenn man sich z. B. bei der Tuberkulose, wo wir mit der spezifischen Immunität nicht weiter zu kommen scheinen, darum bemüht, die auf Mitwirkung der natürlichen Abwehrstoffe beruhenden Spontanheilungen künstlich nachzuahmen oder zu unterstützen, und ich glaube, daß auch die chronischen Infektionen z. B. durch Streptokokken, Mäusetyphus usw., die in letzter Zeit vielfach studiert worden sind, ein geeignetes Objekt für Heilversuche mittels unspezifischer Reize abgeben können; ich möchte nur mich dahin aussprechen, daß es richtiger wäre, zuerst solche Erfolge im Experiment festzustellen und dann theoretische Erörterungen daran zu knüpfen, während man bisher, wie mir scheint, den umgekehrten Weg eingeschlagen hat.

Ich selbst habe mich in letzter Zeit mit meinen Mitarbeitern Reinhardt und Schiemann viel mit Wunddesinfektion beschäftigt. Nun sollen Wundinfektionen nach Ansicht vieler Kliniker gerade ein besonders dankbares Gebiet für die sogenannte Reiztherapie darstellen. Uns ist es bisher in keinem Falle gelungen, durch unspezifische Mittel eine Maus, die von einer Wunde aus mit Streptokokken infiziert war, zu retten, während wir mit Desinfektionsmitteln vielfach ausgezeichnete Erfolge hatten.

Prausnitz (Breslau) bemerkt, daß als Faktor im komplizierten Bilde der Proteinkörperwirkung die von ihm und Bender gemachte Feststellung in Betracht kommen könne, daß bei künstlicher Erhöhung der Temperatur von Menschen und Kaninchen (angestrenzte Bewegung, Heizkasten) mit der Temperatur auch der Komplementgehalt des Blutes steigt.

H. Freund (Heidelberg): Der Herr Referent hat sich dahin ausgesprochen, daß man sich hüten solle, die „Proteinkörpertherapie“ mit den übrigen ihr nahestehenden Behandlungsmethoden ohne weiteres gleichzusetzen. Dagegen ist zunächst zu bemerken, daß ja auch die grundverschiedensten Krankheiten — Allgemein- und Organerkrankungen — Gegenstand dieser Therapie sind, so daß man von eigentlichen „Angriffspunkten“ kaum mehr spricht und gerade die Allgemeinwirkung in den Vordergrund stellt. Ferner haben alle die verschiedenen Behandlungsmethoden das Gemeinsame, daß sie gleichartige Veränderungen im Blute auslösen, die mit physikalisch-chemischer, pharmakologischer oder bakteriologisch-serologischer Methodik objektiv nachweisbar sind. Für die Beurteilung der ganzen Frage ist es nun von größter Bedeutung, daß die gleichen Veränderungen auch ohne Vorbehandlung bei einer großen Zahl pathologischer Zustände gefunden worden sind; H. Schittenhelm selbst sprach, glaube ich, von einer „elementaren Reaktionsform“ des Organismus.

Sie müssen wohl teleologisch als Abwehrreaktionen betrachtet werden — in Erweiterung der Bierschen Auffassung vom „Heilfieber“ und der „Heilentzündung“. Wir haben also gleichsinnige Veränderungen als Krankheitsfolge und als Folge der „Reiztherapie“. Deshalb sind die Versuche Herrn Dresels besonders wichtig, weil sie zeigen, daß bei schon bestehenden Veränderungen im Blute eine Behandlung unter Umständen den umgekehrten Effekt (gemessen an der Anthrakozidie) haben kann, als bei normalen Verhältnissen. Hier dürfte der Schlüssel zu der schweren Frage der Dosierung liegen, deren Lösung für die praktische Verwertbarkeit der „Proteinkörpertherapie“ Vorbedingung ist.

**Bieling (Höchst a. Main):** Seit den Untersuchungen von Pfeiffer und Isaeff ist es bekannt, daß durch unspezifische Immunisierung eine allerdings geringgradige Resistenzerhöhung gegen eine nachfolgende Infektion erzielt werden kann.

Es war aber weiterhin die Frage zu beantworten, ob nicht der früher schon einmal immunisierte Körper auf einen unspezifischen Reiz hin in einer Art anamnestischen Reaktion mit einem neuen Anstieg seiner Immunität reagiert. Dazu wurden rund 100 graue Mäuse gegen Rotlauf immunisiert, so daß sie 10000 und mehr tödliche Kultur-mengen vertrugen. Als diese Immunität abgesunken war, konnte sie durch unspezifische Reize mit Normalpferdeserum nicht mehr gesteigert werden. Weiterhin wird auf Untersuchungen über die Steigerung des intravitalen Eiweißabbaues insbesondere in der Leber von Meerschweinchen durch unspezifische Reize hingewiesen (siehe Bieling, Gottschalk und Isaac, Klin. Wochenschr. 1922, S. 1560), sowie auf Befunde Weichbrodts über das Auftreten von Mäusegiften im Serum von Menschen und Tieren, welche mit größeren Mengen von Impfstoff behandelt wurden (Monatsschr. f. Psychiatr. und Neurol. 1922. 51. S. 364).

Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang an den erwähnten Versuchsreihen, daß sie eine Methode aufzeigen, um die Wirkung unspezifischer Reize im Tierversuch in objektiver Weise vergleichend zu messen. Weiterhin geht aus den Versuchen hervor, daß man das Wesen der unspezifischen Reizwirkung verkennen würde, wenn man sich allzusehr auf die Betrachtung der Beziehungen der Reizkörperwirkung zu den Immunitätsfragen beschränken wollte, denn hier liegt zumindest nicht die Hauptbedeutung der sogenannten Proteinkörpertherapie.

**A. Gottschalk (Würzburg):** In gemeinschaftlich mit Isaac an der Medizinischen Poliklinik Frankfurt a. M. angestellten Versuchen wurde der Einfluß subkutaner und intraperitonealer Injektionen von Kasein und Bakterieneiweiß auf den intravitalen Eiweißabbau in der Leber von Meerschweinchen untersucht. Dabei ergibt sich, daß sowohl die Injektion von Kaseosan wie von Typhusvakzine in der Mehrzahl der Fälle eine in der 12. Stunde beginnende und am 2. Tage abklingende Steigerung des nicht koagulablen Eiweißes in der Leber, und in schwächerem Maße in der Muskulatur, auf Kosten des Zelleiweißes bewirkt.

In weiteren Versuchen konnte ich dann gemeinsam mit Bieling nachweisen, daß diese Steigerung des Eiweißabbaues in der Leber noch ausgeprägter ist bei solchen Meerschweinchen, die mit einer sensibilisierenden Injektion von Pferdeserum vorbehandelt wurden. Hier genügen auf dem Höhepunkt der Sensibilisierung winzige, bei nicht vorbehandelten Tieren unwirksame Serummengen, um noch eine bedeutsame Steigerung des Reststickstoffes in der Leber (70—90 Proz.) herbeizuführen. Notwendig ist allerdings, daß man die schockauslösende Injektion so dosiert, daß das Tier den Schock überlebt; denn die Ausbildung des vermehrten Eiweißzerfalles braucht Zeit. Stirbt das Tier im Schock innerhalb weniger Minuten, so hat sich die Umstellung des intermediären Eiweißstoffwechsels in der Leber noch nicht vollziehen können, wie aus den negativen Versuchsergebnissen von Pick und Hashimoto hervorgeht.

Ueber den genetischen Zusammenhang der Produkte des vermehrten Eiweißabbaues mit den übrigen Wirkungen parenteraler Eiweißzufuhr kann noch nichts Begründetes ausgesagt werden. Vorab ist der Nachdruck auf die quantitativ meßbare Beeinflussung spezifischer Zellfunktionen durch parenterale Zufuhr körperfremder Stoffe zu legen.

**Mießner (Hannover):** Auch in der Veterinärmedizin erschien nach dem ersten Bekanntwerden der guten Erfolge mit der Reiztherapie in der Humanmedizin eine Hochflut von Arbeiten, in denen über eine zum Teil bessere Wirkung als mit spezifischen Präparaten berichtet wurde. Den Nachprüfungen haben aber diese Beobachtungen in der Mehrzahl der Fälle nicht standgehalten. Es mehren sich weiterhin die Stimmen, welche der parenteralen Applikation aspezifischer Eiweißkörper eine besondere Bedeutung nicht beimessen. Eigene, in Gemeinschaft mit Baars ausgeführte Untersuchungen haben ergeben, daß die Reizkörper bei akuten Infektionskrankheiten, wie Rotlauf, hämorrhagische Septikämie, Paratyphus auch nicht die Spur einer Wirkung erkennen lassen, trotzdem die verschiedensten Eiweißkörper prä- und postinfektionell in größeren und kleineren Mengen gegeben wurden. Die weiteren Beobachtungen in den Kliniken der Tierärztlichen Hochschule ließen auch bei anderen akuten Infektionskrankheiten jede Wirkung vermissen. Dagegen konnte in der Hundeklinik (Direktor: Prof. Dr. Künemann) ein gewisser Erfolg bei Behandlung von Hunden, welche mit den verschiedensten chronischen Hautausschlägen behaftet waren, nicht abgesprochen werden.

Weleminsky (Prag): Früher galt für die Einführung einer neuen Therapie als erste Forderung die Aufstellung einer Theorie oder mindestens Hypothese, als zweite der Tierversuch, und als dritte erst der Nachweis der entsprechenden Wirkung beim Menschen. Gegenwärtig sehen wir die Reihenfolge oft umgekehrt: Zuerst wird irgendeine neue Substanz oder Anwendungsart beim erkrankten Menschen geprüft, dann erst kommt das Tierexperiment, und zum Schluß wird dann eine einigermaßen befriedigende Erklärung der Wirkungsweise gesucht. Auf den ersten Blick erscheint diese Methode als ein Rückfall in längs vergangene Zeiten, aber wir müssen uns fragen, ob nicht doch etwas zur Entschuldigung dieser speziell bei der Proteinkörpertherapie jetzt so oft gesehenen Reihenfolge angeführt werden kann. Ich glaube, daß neben der Schwierigkeit, gewisse Symptomenkomplexe im Tierversuch zu erzeugen und neben der Möglichkeit einer genaueren Beobachtung beim Menschen, es der Unterschied im Verhalten der Haut des Menschen gegenüber der Haut der Versuchstiere ist, welcher dazu geführt hat. Die menschliche Haut mußte infolge der durch die Bekleidung im Laufe der Zeiten erworbenen Zartheit und Verletzbarkeit auch eine im Gegensatz zum behaarten, harten Felle der Tiere wesentlich erhöhte Fähigkeit der Antikörperbildung erlangen, sofern nicht die unzähligen Verletzungen und Infektionen derselben, besonders bei Kindern, zum Aussterben des Menschengeschlechtes führen sollten. Ganz unbegründet dagegen ist die Deutung zweifellos spezifischer Wirkungen als unspezifische seitens mancher Autoren (Kaznelson, Claus) und es ist Herrn Schittenhelm und Neufeld durchaus beizustimmen, daß sie dem entgegengetreten sind. Ganz abgesehen davon, daß meist gar keine Beweise dafür angeführt werden, so spricht auch das wesentlich verschiedene Verhalten des Blutes (Auftreten spezifischer Antikörper) gegen ein solches Zusammenwerfen.

E. Keining (Marburg): Bericht über therapeutische Erfolge mit der spezifisch-unspezifischen Behandlung der Staphylokokkenerkrankungen der Haut. Mit unspezifischen Reizstoffen, wie Aolan, Kaseosan, Terpentinöl u. a. werden bei Furunkulose im allgemeinen recht gute Erfolge erzielt, weil die Furunkulose sich in vielen Fällen als durchaus zugänglich für die verschiedenen unspezifischen Maßnahmen erweist. Aber auch mit den spezifischen Vakzinen lassen sich gute Erfolge erzielen, so mit Opsonogen, Leukogen und insbesondere mit Staphar. Rezidivfreiheit scheint mit spezifischen Mitteln etwas regelmäßiger erzielt zu werden, als mit unspezifischen, in dessen ist der Prozentsatz refraktärer Fälle immer noch recht groß, so daß Verbesserungen angestrebt werden müssen. Die Erfolge mit Yatren-Kasein sind gut, oft in die Augen springend. Eine gleichzeitige Immunisierung des Organismus läßt sich dadurch ermöglichen, daß man das Kasein des Yatren-Kaseins durch Staphylokokken ersetzt. Ein derartiges Staphylo-Yatren hat den Vorzug, daß die Staphylokokken nicht mit Hitze, Karbol oder anderen Desinfizientien in wenig schonender Weise abgetötet zu werden brauchen, was zweifellos nach neueren Forschungsergebnissen nicht ohne Beeinträchtigung der Vakzine geschehen kann, vielmehr tötet Yatren selbst in geeigneter Konzentration Staphylokokken sicher ab, wie es scheint, ohne nennenswerte Verletzung antigenfähiger Stoffe. Staphylo-Yatren kann deshalb auch anstandslos intravenös injiziert werden, weil es sicher steril ist. Die Abtötung der Staphylokokken mit Yatren bedeutet für die Reiztherapie die Kombination eines Reizstoffes mit spezifischem Bakterieneiweiß, also eine Verbindung der spezifischen mit der unspezifischen Behandlungsmethode. Einen anderen Reizstoff wie Yatren, welcher die Verbindung der spezifischen mit der unspezifischen Therapie ermöglicht, gibt es zurzeit nicht. Es empfiehlt sich nicht, einen beliebigen Proteinkörper mit spezifischem Eiweiß zu verbinden, einmal, weil die Hitzeabtötung usw. der Keime nicht zu umgehen wäre und keine unbedingte Garantie für Sterilität des Impfstoffes geleistet werden könnte, dann aber auch, weil die Eiweißquote in unerwünschter Weise gesteigert werden müßte. Eine Toxizität des Yatrens bei intravenöser Applikation kommt, zumal für Impfstoffe, nicht in Frage, weil die Yatrenmengen weit unterhalb der Dosen liegen, bei denen überhaupt Schädigungen gesehen worden sind, außerdem ist überflüssiges Erhitzen der Yatrenlösungen vermieden worden. Jodabspaltung kommt nur vor, wenn Yatrenlösungen mehr minder lang gekocht werden. Die Dosierung der Yatrenkomponente des Staphylo-Yatrens richtet sich nach der Zimmerschen Schwellenreiztheorie, die Dosierung der Bakterienkomponente, speziell der Staphylokokken, richtet sich nach den Regeln der aktiven Immunisierung. Die Behandlung ist eine intermittierende nach den Gesichtspunkten Königers. Die Behandlungsmethode wird als spezifisch-unspezifische oder kombinierte Schwellenreizvakzinetherapie bezeichnet. Die Erfolge, die mit Staphylo-Yatren bei Furunkulose, Folliculitis, Akne und anderen Staphylokokkenerkrankungen der Haut erzielt wurden, waren auffällig. Näheres vergleiche Keining, München, med. Wochenschr. 1922. Nr. 26. und Ruete, ebenda Nr. 27.



E. Fr. Müller (Hamburg) weist im Anschluß an die Bemerkungen von Neufeld und Mießner darauf hin, daß die Beobachtungen der Klinik den großen Unterschied zwischen Versuchen an gesunden oder künstlich infizierten Laboratoriumstier und denen an natürlich erkrankten Menschen zeigen. Aus diesen Gründen müssen Untersuchungen an letzteren angestellt und Laboratoriumsversuchen vorgezogen werden.

Auch bei akuten Erkrankungen ist eine Beeinflussung durch unspezifische Therapie möglich, wie ausgedehnte Versuche an Maul- und Klauenseuche, sowie an Grippekranken zeigen.

Auch der Reizweg läßt sich am kranken Menschen, besonders bei intrakutanen Einspritzungen studieren, die zu mikroskopisch nachweisbaren Veränderungen an den Gefäßen und zu Fernwirkungen, z. B. an der gonorrhöisch infizierten Harnröhre führen.

Neue Untersuchungen von M. haben eine durch Intrakutaninjektionen von Aolan auslösbare, nach wenigen Minuten einsetzende Leukozytensenkung gezeigt, die bei subkutanen und intramuskulären Injektionen fehlt, und erbringen den Beweis, daß der Einspritzungsort, hier die Haut und die in der Haut durch die Aolaninjektion ausgelösten Funktionsänderungen wesentlich an der Wirkung der Proteinkörpertherapie beteiligt sind.

Hans Schmidt (Hamburg): Omnadin ein Präparat, das Eiweiß, Fette und Lipide aus nicht pathogenen Bakterien und animalischem Gewebe enthält, ist auf Grund theoretischer Erwägungen von Much geschaffen worden, um als Reiz zur Hebung der unspezifischen Immunkräfte zu dienen. Es soll also in akuten Erkrankungen wirken, wo der Körper mit seinen abgestimmten Kräften versagt hat, und wird nicht intravenös gegeben.

In der Praxis hat sich das Mittel (von Kalle & Co.-Biebrich erhältlich) in erster Linie bei Fällen von Sepsis, Puerperalfieber, fieberhaften Aborten bewährt, oft ist eine einzige Einspritzung genügend zu dauerndem Temperaturabfall. Desgleichen bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen der Atemwege sowie bei anderen pyogenen Prozessen aller Art.

Bei chronischen Arthritiden scheinen die biologischen Verhältnisse im Organismus anders zu liegen. Es scheint hier weniger auf die Hebung der unspezifischen Immunität anzukommen, was ja schon in der chronischen Natur des Leidens liegt, sondern auf eine Umstimmung des daniederliegenden Vermögens gewisser Zellgruppen, auf den chronischen Reiz zu antworten. Demzufolge kann zwar Omnadin hier auch wirken, aber nur bei öfteren und größeren Dosen und auch nur in vereinzelten Fällen, wohingegen hier Yaten sehr gut wirkt, andererseits aber in der Regel bei akuten fieberhaften Prozessen versagt. Also gewissermaßen entgegengesetzte Wirkungen wahrscheinlich bedingt durch Reizwirkung auf verschiedene Zellen. Das Omnadin scheint bisherigen Erfahrungen nach spezifisch auf akut fieberhafte Erkrankungen eingestellt zu sein.

Die Proteinverschiebung des Plasma nach der größeren Dispersität hin kann bei sog. sterilen Operationen die Folge der allgemeinen oder lokalen Anaesthetika sein. Jedenfalls scheint mir die Annahme, daß dies eine Folge der Gewebszertrümmerung ist, noch nicht zwingend. Beachtenswert ist in diesem Zusammenhang das Auftreten einer vorübergehenden positiven Wa.-R. nach unspezifischer Milcheinverleibung.

Den skeptischen Ausführungen des Herrn Neufeld gegenüber möchte ich auf frühere Versuche von E. Fraenkel und H. Much hinweisen, wonach es in der Tat gelingt, durch unspezifische Mittel, wie z. B. die intraperitoneale Einverleibung steriler Meerschweinchen- und Menschengalle, Dextrin usw., Meerchweinchen mit Sicherheit gegen eine die Kontrolltiere in wenigen Tagen sicher tödende Dose gewisser Meerchweinchen-pathogener Paratyphus B-Bazillen zu schützen.

Selter (Königsberg) warnt vor der Aufstellung fester Begriffe, solange die Anschauungen nicht geklärt sind. Für Proteinkörper wäre besser der Name Reizstoff oder Reizkörper zu wählen, für Protoplasmaaktivierung Leistungssteigerung, Heilfieber, der Name „Reizwirkung“. Die wichtigste Erscheinung ist die Einwirkung auf die Zelle, die in einen anderen Zustand der Lebenstätigkeit versetzt wird. Bei der normalen Zelle kommt es unter dem Einfluß des Reizkörpers zu einer Entzündung, bei der bereits entzündeten Zelle zu einer Steigerung der Entzündung, die zu einer Heilung, unter Umständen zu einer Schädigung des Organismus führen kann. Von Bedeutung ist der augenblickliche Zustand der Zelle, der unter der Einwirkung bestimmter chronischer Infektionen vom Normalen abweichen kann. So lassen sich z. B. die Zellen eines durch eine Tuberkuloseinfektion allergisch gewordenen Körpers leichter reizen (nicht nur durch spezifische Reizstoffe, wie Tuberkulin, sondern auch durch andere, wie Pepton), als die eines völlig normalen Organismus. Die Zellen eines allergischen Körpers befinden sich im Zustand einer erhöhten Entzündungsbereitschaft.

Zieler (Würzburg).

Fr. Peemöller (Hamburg-Eppendorf) teilt mit, daß er zusammen mit Prof. Schumm die 5-proz. Yatrenlösung und das Yatrenkasein auf den Gehalt an freiem Jod und auf Jodabspaltung nach längerem Aufkochen untersucht hat. Dabei konnte in den von der Fabrik in Ampullen gelieferten Präparaten kein freies Jod nachgewiesen werden. Auch sah P. bei intravenöser Injektion dieser in Ampullen von der Fabrik gelieferten 5-proz. Yatrenlösung bei etwa 3—400 Einspritzungen mittlerer Dosen (3—4 ccm) nie eine Körperschädigung auftreten. Beim Aufkochen verschiedener selbst hergestellter 5-proz. Yatrenlösungen stellte sich jedoch eine Ungleichmäßigkeit der bisher gelieferten Präparate heraus, und zwar trat z. B. bei einem älteren Präparat bereits nach  $2\frac{1}{2}$  Min. langem Aufkochen starke Jodabspaltung ein. Bei zwei weiteren Präparaten konnte erst nach  $9\frac{1}{2}$  resp. 15 Min. langem Aufkochen freies Jod nachgewiesen werden. P. warnt daher vor Verwendung solcher durch Aufkochen selbst hergestellter Yatrenlösungen wegen der eventuell stattgefundenen Zersetzung dieser Präparate und empfiehlt, die von der Fabrik in Ampullen gelieferten, sicher einwandfreien Lösungen zu verwenden.

Im selben Sinne sprechen auch die von Michael aus der Göttinger Universitäts-Frauenklinik kürzlich mitgeteilten Fälle. P. glaubt also, die bisher mitgeteilten Körperschädigungen nach intravenöser Yatrenmedikation auf die schädlichen Wirkungen des durch längeres Aufkochen zersetzten Präparates zurückführen zu müssen. Bei dem einen von Zieler und Birnbaum mitgeteilten Fall von Lues, der von den Autoren kombiniert mit Neosalvarsan, Novosurol und sehr großen Yatrendosen (täglich 25—40 ccm einer 5-proz. Lösung) intravenös behandelt wurde, besteht, da die Autoren sich die Yatrenlösung selbst durch Aufkochen herstellten, die Möglichkeit der Bildung von giftigem Quecksilberjodür. Zum Schluß teilt P. mit, daß es ihm bei zahlreichen Versuchen nicht gelungen ist, mit ultraviolettem Licht (Höhensonne) auf 50 cm Abstand bei halbstündiger Bestrahlung aus 5-proz. Yatrenlösungen Jod abzuspalten.

v. Gruber (München): Bei der Erforschung der Heilwirkung der Proteinkörper einspritzungen wird die „spezifisch-dynamische“ Wirkung der Eiweißkörper nicht außer acht gelassen werden dürfen. Die Aufnahme von Eiweiß vermag den Energieverbrauch des Organismus, die Intensität des Verbrennungsprozesses gegenüber dem Umsatz bei völligem Hunger um 10 und 25 und mehr Hundertel zu steigern. Da in einem ausreichend ernährten Organismus alles überschüssig dem Blutstrom zugeführte Eiweiß zerlegt wird, lag es nahe, auch die stickstoffhaltigen Spaltungsprodukte des Eiweißes auf ihre Fähigkeit, die Intensität des Stoffwechsels zu steigern, zu prüfen. In der Tat haben Versuche gezeigt, daß gewisse Spaltungsprodukte diese Fähigkeit besitzen; so hat das insbesondere Lusk für Aminosäuren erwiesen.

Weichardt (Erlangen): Das kritische Referat Schittenhelms enthält alles Wesentliche, das auf diesem Gebiete jetzt in Betracht kommt. Ich habe ihm deshalb nicht viel zuzufügen und möchte mich nur darauf beschränken, zunächst einige mir prinzipiell wichtig erscheinende Punkte kurz hervorzuheben:

Wie aus dem Referat hervorgeht, stehen wir noch recht im Anfang einer interessanten Forschung. Das Eine ist aber sicher: Es ist prinzipiell falsch, das vielgestaltige Gebiet der Proteinkörpertherapie von einem Symptom aus zu beurteilen, wie das vielfach noch geschieht, oder aber man muß ein solches Symptom begrifflich außerordentlich weit fassen.

Nun ist es ja stets so, wird eine Theorie oder ein Symptombegriff zu weit gefaßt, so läßt sich zwar nicht viel mehr direkt dagegen sagen, sie verlieren aber die Prägnanz und damit für uns an Wert.

Ferner ist es meines Erachtens durchaus falsch, für die vielgestaltigen Erscheinungen der Proteinkörperwirkung eine Ursache heranzuziehen, es sind sicher mehrere beteiligt.

Was nun die Erfolge anbetrifft, so sehen wir bei gewissen chronischen Infektionen recht beachtenswerte Erfolge; bei akuten sind dieselben meist schlecht. Das Gleiche kann man im Tierversuch zeigen: Mit akuten Infektionen infizierte Tiere gingen oft eher zugrunde, wenn sie mit Proteinkörpern behandelt wurden, als die Kontrollen.

Ein Hinweis auf die Erklärung ergibt sich aus dem Studium der sekundär im Körper entstehenden aktivierenden Spaltprodukte.

Man kann ja in der Tat, wie ich zeigte, aus dem Körper Alkohol-wasserlösliche abiurete Spaltprodukte gewinnen, die bei Milchsäurebehandlung, Mischinfektion und

anderen Eingriffen vermehrt sind. Diese regen in geringer Menge das Wachstum der Mikroorganismen an; vor allem der Parasiten, die in bezug auf ihren Fermenthaushalt ganz dem lebenden Körper angepaßt sind; und zwar kann man bei richtiger Versuchsanordnung die Beeinflussung der einzelnen Fermentfunktionen isoliert messend verfolgen.

Man weiß also bei unspezifischer Therapie von vornherein nicht, ob man die Schutzrichtungen des Körpers oder aber noch viel mehr die Parasiten anregt.

Die unspezifische Therapie hat deshalb immer etwas Unsicheres und Unbefriedigendes, und auch wir streben von der unspezifischen Beeinflussung zur spezifischen, die besser zu dosieren und deshalb befriedigender ist.

Aber der Weg, von der unspezifischen Therapie zur spezifischen zu gelangen, scheint mir in vielen Fällen gründlicher als der umgekehrte. Denn erst, wenn wir die physiologischen und pathologischen Grundlagen der unspezifischen Leistungssteigerungen im Organismus voll beherrschen, werden wir auch alle Verhältnisse der spezifischen Beeinflussungen im Tierkörper kennen. Es dient also das Studium der unspezifischen Therapie auch den Fortschritten auf dem Gebiete der spezifischen.

Nachdem ich kurz einige mir allgemein wichtig erscheinende Gesichtspunkte berührt habe, möchte ich zu den einzelnen Ausführungen der Diskussionsredner noch Stellung nehmen, wobei ich natürlich nur einen Teil berücksichtigen kann:

Daß sensibilisierte Zellen und Organe auf unspezifische Beeinflussung anders reagieren als normale, habe ich mit Schrader gezeigt. Dies geht ja auch aus den Untersuchungen vieler anderer Autoren hervor.

Daß man aber auch normale Zellen durch Eiweißspaltprodukte reizen kann, wird wohl niemand im Ernst leugnen wollen. Können wir hier eine Leistungssteigerung nicht nachweisen, so liegt dies eben an der Methodik. Die Agglutinine sind hierfür nicht besonders geeignet. Die Ausschläge damit sind freilich gering. Ich möchte aber auf meine Untersuchungen mit den verschiedensten physiologischen Maßmethoden, auf die interessanten Untersuchungen von Dresel mit Anthrakozidinen, auf die von Löhner und endlich auf die von Bieling hinweisen. Ueberhaupt müssen wir auf diesem Gebiete noch viel weitgehender physiologische Methoden anwenden.

Die Entwicklung dieser Forschung wurde erwähnt. Grundlegend waren die Arbeiten R. Pfeiffers über Resistenz und Immunität. Als nun die Proteinkörpertherapie aktuell wurde, suchten eine ganze Reihe Autoren die Beziehungen ihrer früheren Arbeiten zu diesem Gebiet heraus. Das ist ja natürlich. Tatsächlich liegen viele wertvolle Auffindungen gerade hier schon seit langem vor. Auch schon von den alten Ärzten, die als Transfusoren oft eine erstaunlich richtige Einstellung auf die Erfordernisse der Proteinkörpertherapie hatten.

Das eine aber kann man behaupten: Von einem einheitlichen Standpunkte aus wurde das äußerlich so verschiedenartig erscheinende, innerlich zusammenhängende Gebiet der Proteinkörpertherapie und der unspezifischen Therapie bewußt früher nie aufgefaßt. Die einheitliche Auffassung ist, wie man an der Hand der Literatur nachweisen kann, das wesentlich Fördernde auf diesem Gebiete und hat es allgemein diskutabel gemacht. Früher beurteilte es ein jeder von den Symptomen aus, die ihm, seiner Beschäftigung entsprechend, am nächsten lagen. Der Begriff der Aktivierung durch unspezifische Therapie, der von mir eingeführt wurde, hat sich als vereinheitlichendes Moment praktisch sehr bewährt. Hierunter darf, wie ich früher ausführte, nicht nur eine einfache Reizung verstanden werden. Wir sehen bei Proteinkörpertherapie lediglich eine Reaktionsänderung des Organismus und wollen in den meisten Fällen eine Leistungssteigerung nach einer bestimmten oder nach den verschiedensten Richtungen hin erreichen.

Wenn z. B. Bier und andere scharfe Beobachter früher sagten, auf das „Heilfieber“, auf die „Heilentzündung“ kommt es an, so ist es doch wesentlich etwas anderes, wenn wir jetzt aktivierende Spaltprodukte aus dem Körper isolieren und sie quantitativ experimentell verfolgen. Das hat man eben nicht „alles schon gemacht“, wenn es jetzt auch naheliegend scheint.

Auf das Studium dieser Spaltprodukte kommt es jetzt in erster Linie an. Es darf nicht bei der bloßen Annahme bleiben, sondern wir müssen verlangen, daß dieselben qualitativ und quantitativ irgendwie gefaßt werden. Sehr interessant und durchaus nicht gegensätzlich sind nach dieser Richtung auch die Ausführungen von Caspary, wenn die Karzinommasse sich zur Messung und Charakterisierung derartiger Substanzen eignet.

Wie ich schon ausführte, sind Parasiten, die in bezug auf ihren Fermenthaushalt dem lebenden Körper angepaßt sind, und deren Fermentfunktionen man isoliert messen kann, ebenfalls sehr gute Objekte, an denen man derartige Messungen ausführen kann.

Herrn Geheimrat Gruber stimme ich vollkommen bei. Physiologische Methoden bringen uns auf diesem Gebiete vielfach weiter als die bisher gebräuchlichen Methoden der Bakteriologie und Immunitätsforschung. Auch ich bin kein Freund des Ausdruckes „Reiztherapie“, besonders aus dem Grunde, weil es einseitig ist, nun alles unter dem Begriffe des Reizes zusammenzufassen. Ich verweise da auf meine früheren Ausführungen in der München. med. Wochenschr. 1922.

Die Proteinkörpertherapie wird stets eine Sonderstellung einnehmen. 1. deshalb, weil wir es bei der Aufspaltung der Eiweißkörper mit einer Reihe wirksamer Gruppen zu tun haben und so eine Komplexwirkung vorliegt; 2. aber, weil bei der Aufspaltung des kolloidalen Komplexes in niedermolekulare Bestandteile auch physikalische Zustandsänderungen mit in Frage kommen, die mir besonders wichtig zu sein scheinen.

Zuletzt noch einige Worte über das sogenannte Arndt-Schulz'sche Gesetz, welches jetzt vielfach in der Literatur in einer unberechtigten Verallgemeinerung verwendet wird.

Bei Versuchen an isolierten Organen finden sich leicht solche, die bei der geringsten Zustandsänderung bereits mit Lähmung reagieren. Ebenso gibt es Eiweißspaltprodukte, die durchaus nur lähmen, und bei denen man wenigstens experimentell anregende Wirkung nicht feststellen kann. Allgemeingültig ist das sogenannte Arndt-Schulz'sche Gesetz also nicht.

Das eine ist sicher, wird auf dem Gebiete der Proteinkörpertherapie und unspezifischen Therapie so weiter gearbeitet wie in den letzten Jahren, so muß es gelingen, immer sicherere Unterlagen zum Nutzen der praktischen Medizin zu gewinnen. Hoffentlich geht die einheitliche Auffassung, welche jetzt als gemeinsames Band die vielen bereits vorliegenden wertvollen Befunde umfaßt, nicht wieder verloren.

Schittenhelm (Schlußwort): Auch in der Diskussion kam bei den einzelnen Rednern immer wieder das Bestreben zum Ausdruck, die Wirkung der verschiedenen therapeutischen Maßnahmen sich gleich zu setzen. Ich halte das für durchaus verfehlt, sowohl aus der praktischen Erfahrung heraus, wie nach den experimentellen Resultaten. Es handelt sich vielmehr um wesensverschiedene Eingriffe, die auf verschiedenen Wirkungswegen oft zu einem ähnlichen Endresultat kommen. Zur Behandlung einer Kreislaufstörung kann man Digitalis, Strophanthin, Koffein, Theobromin, Kampher, Adrenalin, hypertonische Zuckerlösung, Balneotherapie u. a. m. anwenden. Niemand wird aber behaupten wollen, daß sämtliche Maßnahmen denselben Wirkungsmechanismus haben. Vielmehr ist dieser für jede einzelne erforscht und festgelegt, und so ergibt sich die therapeutische Indikation im Einzelfall. Auf den verschiedensten Wegen wird derselbe Endeffekt erreicht. Auch bei der Reizkörpertherapie wird die weitere Forschung die verschiedenen Wirkungsweisen immer mehr erkennen lassen.

Bei der Proteinkörpertherapie spielen sicherlich spezielle Wirkungen des Eiweißes und seiner Abbauprodukte eine wesentliche Rolle. Gruber hat mit Recht auf die Sonderstellung des Eiweißes im Stoffwechsel und dessen spezifisch dynamische Wirkung hingewiesen. Die besondere Reizwirkung des Eiweißes beim Diabetiker, die Erfahrungen bei der hämoklasischen Krise Widals sprechen im selben Sinne. Auch daraus geht hervor, daß die Proteinkörperwirkung nicht ohne weiteres derjenigen von Yatren, hypertonischen Lösungen etc. gleichgestellt werden kann.

Ich muß nochmals vor voreiligen Schlüssen warnen, sowie vor skrupelloser, vor allem intravenöser Anwendung nicht genügend in ihrem Wirkungsmechanismus geklärter Substanzen. Die Reizkörpertherapie ist ein gefährliches Gebiet der praktischen Betätigung für unkritische und ungehemmte Therapeuten. Die angegebenen vielseitigen Erfolge werden zusammenschrumpfen. Dann wird sich hoffentlich ein gesicherter Indikationsbereich herausheben, der ein dauernder therapeutischer Fortschritt bleibt.

## 2. Vortrag. Kolle und Schloßberger (Frankfurt a. M.):

### Chemotherapeutische Versuche bei Tuberkulose, sowie über Experimente mit Abortivbehandlung der Kaninchensyphilis.

(Erscheint in der Deutschen medizinischen Wochenschrift.)

### Diskussion.

**Uhlenhuth (Marburg):** Es ist zu berücksichtigen, daß die „Infektionsimmunität“ bei syphilitischen Kaninchen durch eine Nachimpfung nicht selten durchbrochen werden kann. Bei bestehender Syphilis, z. B. des einen Hodens, kann durch Nachimpfung des anderen Hodens unter Umständen eine Neuinfektion erzielt werden. Auch spontan geheilte Tiere lassen sich häufig neu infizieren.

Die spontane Kaninchensyphilis (besser Kaninchenspirillose genannt), ist sicher keine Syphilis. Wir haben in Marburg diese Seuche in 30 Proz. aller vom Lande angekauften Tiere gefunden (Dr. Demnitz). Wer die experimentelle Kaninchensyphilis kennt, kann nicht im Zweifel sein, daß die Krankheiten auch klinisch verschieden sind. Bei der experimentellen Kaninchensyphilis ist uns eine Uebertragung durch Coitus trotz zahlreicher Versuche (mit Mulzer) nicht gelungen, während das bei der Kaninchenspirillose leicht gelingt. Mit Blut von solchen Tieren haben wir nie eine Hodensyphilis erzielen können, was bei der echten Syphilis fast regelmäßig gelingt. Ueberhaupt bekam man bei intratestikulärer Impfung keine der echten Syphilis ähnliche Erscheinungen<sup>1)</sup> (Hodentumoren usw.) Die Seuche wirkt sehr nachteilig auf die Zucht, da Muttertiere häufig abortieren und auch die Jungen eingehen.

Bei Hasen haben auf unsere Veranlassung vorgenommene Nachforschungen keine der Kaninchenspirillose ähnliche Erscheinungen feststellen können; bei wilden Kaninchen, die uns noch nicht zur Verfügung standen, wäre darauf zu achten.

Wir haben auch beobachtet, daß die Kaninchenspirillose durch Salvarsan schwerer zu beeinflussen ist, wie die echte Syphilis.

Die Chemotherapie der Tuberkulose ist, wie ich auf den Kongreß für innere Medizin in Wiesbaden 1921 bereits hervorhob, vielleicht der einzige Weg, auf dem wir bei der Behandlung der menschlichen Tuberkulose vorwärts kommen können. Wenn auch die bisherigen Versuche am Meerschweinchen — ich habe mit kolloid. Kupfer, Gold, Arsen, Bayer 205, Trypaflavin usw. (mit Jötten) gearbeitet — nur negativ verliefen, so sollten die Versuche fortgesetzt werden. Die Fettwachshülle des Tuberkelbazillus, die für therapeutische Eingriffe hinderlich erscheint, hat vielleicht gerade eine Verwandtschaft zu bestimmten therapeutischen Mitteln. Solche Versuche können nur an großen Reihen von Tieren angestellt werden, da auch bei Kontrolltieren die Tuberkulose nicht selten spontan zurückgeht.

**Schumacher (Berlin):** Die Befunde des Herrn Vortragenden sind für den Dermatologen von der allergrößten Bedeutung, da hier zum erstenmal auf rein experimentellem Weg die längst erkannte Tatsache bewiesen wird, daß sich das spätere Schicksal des Syphilitikers in den ersten 30—45 Tagen entscheidet.

Die Aussichten einer reinen Chemotherapie der Tuberkulose sind sehr schlechte, denn auch die abgetöteten Tuberkelbazillen nehmen nur äußerst schwer und langsam Metallsalze, Neosalvarsan u. a. Körper auf, wie man an histochemischen Bildern zeigen kann. Die optimistischere Auffassung von Herrn Uhlenhuth teile ich deshalb nicht. Die negativen Resultate der zahlreichen von Herrn Kollé untersuchten Verbindungen beweisen dies ja bereits zum Teil. Dennoch werden wir auf diesem Gebiete weiter forschen und den Versuch über die Theorie stellen müssen. Mit Herrn Kollé stimme ich darin überein, daß die Wirkung der Metalle bei der Tuberkulose, soweit sie beobachtet sind, auf indirektem Wege zustande kommt.

### Kollé (Schlußwort).

1) Die Behauptung von Klarenbeek, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922, Nr 23, daß die Ergebnisse der experimentellen Syphilis bei Kaninchen wegen des Vorkommens der spontanen Kaninchenspirillose zweifelhaft seien, muß entschieden zurückgewiesen werden. Für einen Kenner sind Irrtümer so gut wie ausgeschlossen.

3. Vortrag. Morgenroth (Berlin):

**Zur Kenntnis der Arzneifestigkeit.**

Die strenge Spezifität der Arzneifestigkeit, als deren ordnendes Prinzip Ehrlich entweder bestimmte Verknüpfungen des Kohlenstoffs (Triphenylmethan, Benzidiazogruppe usw.) oder das Vorhandensein gewisser Elemente (Arsen, Antimon) ansah, besteht in der ursprünglich angenommenen Weise nicht. Es sei hier nur an die Beziehungen zwischen der Arsenfestigkeit der Trypanosomen und der Festigkeit gegen gewisse Farbstoffe, deren Kern Ehrlich eine orthochinoide Konstitution zuschrieb, erinnert.

Die Optochinfestigkeit der Pneumokokken zeigt, nach gemeinsam mit Tugendreich durchgeführten Versuchen, eine ganz besondere Art der Spezifität. Ein gegen Optochin hochgefestigter Pneumokokkenstamm bewahrt gegenüber dem Aethylapohydrochinidin, dem optischen Isomeren des Optochin, die Empfindlichkeit des Normalstammes. Das Gleiche ist gegenüber Optochin und Vuzin, dem höheren Homologen des Optochin von gleicher sterischer Konfiguration, der Fall. Eine Festigung des Normalstammes, sowie des optochinfesten Stammes durch Behandlung mit Eucupin gelang nicht.

Es ist also die Festigkeit gegen Optochin, analog seiner spezifischen Pneumokokkenwirkung, einerseits an die Anordnung des Moleküls im Raum, andererseits an eine bestimmte Seitenkette gebunden.

Durch systematische Festigungsversuche an Trypanosomen wurde versucht, die Stellung der 9-Aminoacridine gegenüber den Chinaalkaloiden einerseits, den 3.6-Aminoacridin- resp. Acridiniumverbindungen andererseits zu bestimmen. Durch Behandlung mit Arsacetin und Salvarsan wurde ein Stamm gegen Trypaflavin und Proflavin gefestigt, ferner wurde ein optochinfester Stamm und ein gegen eine 9-Aethanolaminoacridinverbindung fester Stamm hergestellt. Die wechselseitige Prüfung der Stämme zeigte, daß in bezug auf die Festigung keinerlei Beziehung zwischen den Chinaalkaloiden, den 3.6-Aminoacridinverbindungen und den 9-Aminoacridinverbindungen besteht. Der biologische Versuch weist den letzteren eine Sonderstellung zu.

Die üblichen chemischen Formelbilder geben also über die durch die Festigkeit zum Ausdruck kommenden Beziehungen keinen Aufschluß. Den Seitenketten kommt biologisch eine Bedeutung zu, die sich in der chemischen Formel nicht ausdrücken kann. Differenzen der Kerne, auf die das biologische Verhalten der Acridinverbindungen vielleicht hinweist, finden in unseren Formeln keinen Ausdruck. Die gesuchten Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung sind bisher nur in höchst unvollkommener Weise und innerhalb beschränkter Kreise aufzustellen, und es ist wahrscheinlich, daß viele biologische Wirkungen mit Eigenschaften der organischen Verbindungen zusammenhängen, über die gerade unsere Formelbilder nichts aussagen.

4. Vortrag. Schnabel (Berlin):

**Ueberempfindlichkeitsversuche an Bakterien.**

Die Versuche, über die hier berichtet werden soll, bilden die Fortsetzung der in einer früher erschienenen Mitteilung niedergelegten Befunde und betreffen die Frage der Häufigkeit und der Spezifität der bei Bakterien experimentell erzeugbaren Erscheinung der Ueberempfindlichkeit, ferner das Verhalten der überempfindlichen Bakterien bei der Kultur im toxischen Medium und die Beziehungen zwischen der Ueberempfindlichkeit und Giftgewöhnung. Wie an erwähnter Stelle ausgeführt wurde, ist es möglich, Bakterien durch Züchtung in relativ sehr dünnen Konzentrationen einer keim-schädigenden Substanz gegen letztere überempfindlich zu machen. Der Nachweis der Ueberempfindlichkeit erfolgte mittels des früher beschriebenen Methylenblauverfahrens, welches gestattet, den momentanen Empfindlichkeitszustand einer Kultur festzustellen. Als Kriterium für die Auffassung der Erscheinung als echte Ueberempfindlichkeit erschien die Tatsache der Spezifität derselben, die darin zum Ausdruck kam, daß gegen Optochin z. B. überempfindliche Pneumokokken Phenol gegenüber keine erhöhte Empfindlichkeit zeigten, wobei das Verhalten der Kontrollkultur im giftfreien Medium als Standard diente.

Die in dieser Richtung ausgeführten weiteren Versuche ergaben aber, daß die Spezifität keine absolute ist. Vor allem resultierte eine Einschränkung aus dem Umstand, daß nicht selten chemisch verwandte Substanzen, wenn auch in weit schwächerem Grade, ein analoges Verhalten zeigten. So waren Pneumokokken, die gegen Optochin überempfindlich gemacht wurden, bis zu einem gewissen Grade auch gegen Chinin überempfindlich. Auch zwischen manchen, zu einer Gruppe gehörenden Substanzen war hinsichtlich der Spezifität die Grenze keine scharfe. Staphylokokken, die z. B. gegen Sublimat überempfindlich wurden, waren in schwächerem Maße auch gegen *Argentum nitricum*, nicht aber gegen Phenol oder Chinin überempfindlich. Da hier eine chemische Verwandtschaft nicht in Betracht kommt, so wäre vielleicht die Aehnlichkeit des Wirkungsmodus der Metallsalze als Ursache für diese Erscheinung anzusehen. Schließlich war manchmal auch bei vollkommen verschiedenen Substanzen die Spezifität keine absolute; denn in einzelnen Versuchen waren z. B. gegen Optochin überempfindlich gewordene Pneumokokken auch gegen Formaldehyd überempfindlich und umgekehrt. Möglicherweise besteht in letztgenanntem Falle ein Zusammenhang mit Beobachtungen, die andere Autoren unter anderen Versuchsbedingungen gemacht haben. Es sei in dieser Beziehung an die Mitteilung von Morgenroth und Rosenthal erinnert, daß chininfeste Trypanosomen durch Behandlung mit Salvarsan chininempfindlich wurden.

Der Nachweis der Ueberempfindlichkeit bei Bakterien durch Prüfung ihres momentanen Zustandes mittels des Methylenblauverfahrens gelingt nicht immer. Es mag dies — abgesehen von den durch die Eigenart des Bakterienstammes und die wirksame Substanz bedingten Schwankungen — zum Teil an der durch technische Hindernisse beschränkten Zahl der Giftkonzentrationen liegen, die zu einem Versuch genommen werden können. Es wäre ja denkbar, daß unter den gegebenen Versuchs-

bedingungen nur bestimmte Konzentrationen der toxischen Substanz eine Ueberempfindlichkeit erzeugen können, und zwar jene, die zur Erzeugung einer Giftfestigkeit noch nicht ausreichen oder deren überempfindlichmachender Effekt durch die Erscheinung der Giftgewöhnung nicht vollkommen kompensiert wird. Wahrscheinlich spielen aber noch andere Faktoren eine Rolle. In dieser Beziehung wäre an die Bedeutung der  $pH$ -Zahl des Nährmediums zu denken.

Noch seltener gelingt der Nachweis der Ueberempfindlichkeit mittels Kultur im toxischen Medium. Impft man von den mittels des Methylenblaus als überempfindlich erkannten Kulturen in Nährmedien mit fallenden Mengen der toxischen Substanz, gegen welche die Kultur überempfindlich gemacht wurde, ab, so ist entweder in den günstigeren Fällen die Ueberempfindlichkeit in der ausgewachsenen 24stünd. Kultur noch sichtbar, indem die wachstumshemmende Giftkonzentration geringer ist als bei der unbehandelten Kontrollkultur, oder die Ueberempfindlichkeit kommt nur in den ersten Stunden der Keimvermehrung in einem Zurückbleiben der überempfindlichen Kultur zum Ausdruck oder schließlich eine Differenz ist nicht nachweisbar. Allem Anschein nach besteht hier ein inniger Zusammenhang zwischen Ueberempfindlichkeit und Giftgewöhnung, was auch daraus hervorgeht, daß die im toxischen Medium fortgezüchtete überempfindliche Kultur schon nach der ersten Passage nicht nur ein normales Verhalten, sondern nicht selten sogar eine Giftgewöhnung aufweisen kann. Auf Grund dieses Verhaltens und in Berücksichtigung der Analogie mit den aus der experimentellen Pathologie höherer Lebewesen bekannten Tatsachen wäre die Annahme, daß die Ueberempfindlichkeit ein Vorstadium der Giftigkeit bei Bakterien darstellt, nicht von der Hand zu weisen.

Aus allen bis jetzt angestellten Versuchen erhellt eindeutig, daß unter sonst gleichen Bedingungen die Ueberempfindlichkeit der Bakterien eine Funktion zweier Hauptfaktoren ist: der Zeit und der Giftkonzentration. Während hohe Konzentrationen ziemlich rasch, unter Umständen schon nach wenigen Std., eine Giftfestigkeit herbeiführen können, bedingen die schwächeren nach relativ längeren Perioden eine Ueberempfindlichkeit der Bakterien.

Im Anschluß an die Reagenzglasversuche mit Bakterien wurden aus naheliegenden Gründen Versuche zur Erzielung einer Ueberempfindlichkeit an Protozoen, ferner an Bakterien im infizierten Organismus angestellt. Da die Versuche noch im Gange sind, sollen keine Detailangaben gemacht werden. So viel sei aber angeführt, daß es möglich ist, auch im infizierten Organismus Bakterien gegen wirksame Substanzen überempfindlich zu machen.

##### 5. Vortrag. Süpfle (München):

##### Ueber das sogenannte Arndt-Schulz'sche biologische Grundgesetz.

Gelegentlich von Untersuchungen über die oligodynamischen Metallwirkungen auf Bakterien, die in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren angestellt wurden, machte Löhner auf die Erscheinung des „Randwulstes“ aufmerksam: versenkt man in eine frisch ausgegossene



Agarplatte eine Silbermünze, so macht der sich nach passender Beimpfung auf der Agaroberfläche einstellende Bakterienbelag in einer gewissen Entfernung von der Münze Halt; betrachtet man die an den keimfreien Hof grenzende Randpartie der Bakterienvegetation genauer, so nimmt man einen Reif besonders üppigen Wachstums wahr. Diese Beobachtung wurde mehrfach bestätigt (Süpfle, W. Seiffert, Friedberger) und mit Löhner aufgefaßt als Ausdruck dafür, daß bestimmte Giftkonzentrationen die Bakterienvermehrung befördern. Nach anderer Meinung (Cobet und van der Reis) kommt der Randwulst hierbei jedoch lediglich durch Nährstoffbegünstigung zustande.

Ich habe Versuche mit Herrn Paul Hofmann durchgeführt, die zeigen, daß tatsächlich bestimmte Konzentrationen mancher Bakteriengifte die Bakterienvermehrung begünstigen. Wir versetzten Agar mit abgestuften Giftmengen und säten auf die Oberfläche der gifthaltigen und giftfreien Nährböden eine so verdünnte Bakterienaufschwemmung aus, daß isolierte Kolonien entstehen mußten. Sämtliche Platten einer Versuchsserie wurden stets mit der gleichen Keimmenge beimpft.

Bei solchen Versuchen fiel die Zahl der Kolonien verschieden aus, je nach dem Giftgehalt der Platten. Auf den Platten mit größeren Giftmengen gingen überhaupt keine Kolonien auf; je weiter die Dosis gesenkt wurde, desto höher wurde die Zahl der entstandenen Kolonien; bei einer bestimmten Konzentration war die Zahl der Kolonien wesentlich größer, als auf den giftfreien Kontrollplatten; sobald die optimale Konzentration unterschritten wurde, sank die Kolonienzahl und es gingen schließlich nur so viele Kolonien auf, wie auf den giftfreien Kontrollnährböden.

Warum größere Giftdosen die Entwicklung von Kolonien ganz hinderten bzw. einschränkten, bedarf keiner Erläuterung. Dagegen erscheint es zunächst unverständlich, daß auf den Platten mit bestimmtem Giftgehalt mehr Kolonien auftreten, als auf den Kontrollnährböden, obwohl doch alle Platten mit den gleichen Keimmengen besät wurden. Hier muß man sich erinnern, daß unsere üblichen Nährböden zwar lebenskräftigen Bakterienexemplaren eine rege Zellteilung ermöglichen, aber vielfach nicht ausreichen, um empfindlichere Individuen zur Vermehrung zu bringen. Es gehen im allgemeinen durchaus nicht alle lebensfähigen Keime, die wir auf einen Nährboden aussäen, quantitativ als Kolonien auf, sondern nur ein gewisser Teil (etwa 30—50 Proz.), um so mehr, je besser der Nährboden ist. Bringen wir die gleiche Keimmenge nebeneinander auf verschieden zusammengesetzte Nährböden, auf gewöhnlichen Agar z. B. und auf Agar mit besonders guten Nährstoffen, etwa Traubenzucker oder Serum, so bekommen wir verschieden viel Kolonien. Ganz ähnlich ist es mit unseren Versuchen; hier wirken manche Stoffe in bestimmter Konzentration begünstigend auf die Vermehrungsfähigkeit.

Es ist vielfach erstaunlich, wie viel mehr Keime trotz gleicher Aussaat sich auf den Platten mit optimalem Giftgehalt zu Kolonien entwickeln, als auf den giftfreien Nährböden; der Unterschied macht mindestens etwa 50 Proz. aus, kann aber Werte von 120 Proz. und mehr erreichen.

Aber nicht nur mehr Kolonien gingen auf den Platten mit optimalem Giftgehalt auf, sondern die sich entwickelnden Kolonien wurden auch größer, als auf gewöhnlichem Agar. Da die Größe der Kolonien einer bestimmten Bakterienart auf ein und demselben Nährboden ganz wesentlich von dem Spielraum abhängt, der den Keimen auf der Platte

zur Verfügung steht, mußten wir, wenn wir den Einfluß verschiedener Giftkonzentrationen auf die Größe der Kolonien genauer studieren wollten, mit relativ kleinen Keimmengen arbeiten. In derart angelegten Versuchsreihen blieben die Kolonien sehr klein bei den höheren Giftkonzentrationen, die auch die Koloniezahl herunterdrückten; dagegen wuchsen sehr umfangreiche und saftige Kolonien bei den optimalen Giftmengen, die die Kolonienzahl auf ihr Maximum herauftrieben. Nach unseren Messungen wurden die Kolonien hierbei um 16—43 Proz. größer, als auf den giftfreien Nährböden.

Solche Bakteriengifte, die in bestimmten Mengen die Bakterienvermehrung in künstlichen Nährböden fördern, sind nach unseren Versuchsergebnissen folgende: Chlorkalk, Arsenrioxyd, Zinkchlorid, Kupferchlorid, Silbernitrat, Quecksilberchlorid, Quecksilberjodid, Chromsäure, Formaldehyd, Ameisensäure, Essigsäure, Zitronensäure, Phenol, Lysol, Grotan, Thymol, Resorcin, Benzoesäure, Salizylsäure, Malachitgrün, Gentianaviolett, Methylviolett, Kristallviolett, Methylorange, Safranin.

Aber durchaus nicht alle von uns geprüften Bakteriengifte verhielten sich in dieser Weise; bei einer Reihe von Stoffen konnten wir uns mit Hilfe unserer Versuchsanordnung überzeugen, daß gewisse größere Dosen die Bakterienvermehrung in künstlichen Nährböden unmöglich machen, bzw. hemmen; kleinere Dosen ließen aber keinerlei Wirkung erkennen, eine Förderung des Bakterienwachstums war nicht festzustellen. Solche Stoffe sind: Kaliumchlorat, Kaliumbromid, Jod-Jodkalilösung, Borsäure, Bas. Aluminiumacetat, Bas. Bleikarbonat, Bleiessig, Kaliumpermanganat, Eisenchlorid, Ferrosulfat, Nickelacetat, Fluorescein, Eosin.

Es ist üblich, die begünstigende Wirkung, die kleinste Mengen bestimmter Gifte auf die Bakterienvermehrung ausüben, mit dem sogenannten Arndt-Schulz'schen biologischen Grundgesetz zu erklären, bzw. diese Beobachtung als Stütze dieses Gesetzes anzusehen.

Was besagt und bedeutet nun das Arndt'sche Gesetz? Dieses in den letzten 2 Jahren mehrfach zitierte Gesetz geht zurück auf den Psychiater Arndt, der 1883 aus Betrachtungen über das Pflügersche Zuckungsgesetz den Satz ableitete: „Alle mittelstarken Reize wirken beschleunigend, alle starken Reize hemmend auf die Tätigkeit eines Nerven ein.“ Diesem „Nervenerregungsgesetz“ gab Arndt 1885 einen allgemeineren Ausdruck und erweiterte es zum „Lebenserregungsgesetz“ oder „biologischen Grundgesetz“: „Schwache Reize fachen die Lebens-tätigkeit an, mittelstarke fördern sie, starke hemmen sie und stärkste heben sie auf.“ Es ist für Arndt „das Gesetz, nach dem sich alle Lebensvorgänge regeln und vollziehen“.

Arndt hat sein Gesetz auf rein spekulative Erwägungen aufgebaut. Experimentelle Grundlagen hat er selbst keine geschaffen; sie sind nachträglich geliefert worden durch die Versuche des Pharmakologen Schulz: er fand, daß bestimmte Mengen von Zellgiften die Vergärung von Zuckerslösungen durch Hefe begünstigen. Unabhängig von Schulz, teilweise schon lange vor ihm, sind von botanischer Seite ähnliche Versuche mit Schimmelpilzen, Hefen, auch Phanerogamen angestellt worden; 1895 sprach der Botaniker Pfeffer den allgemeinen Satz aus, daß verschiedene Tätigkeiten des Kraft- und Stoffwechsels durch kleine Mengen anorganischer und organischer Gifte in regulatorischer Weise beschleunigt werden. Hueppe formulierte 1896 diese Erfahrung als ein biologisches Gesetz: „Jeder Körper, der in bestimmten Konzentrationen Protoplasma tötet, hebt in geringerer Menge die Entwicklungsfähigkeit auf; in noch

geringeren Mengen wirkt er umgekehrt als Reiz und erhöht die Lebenseigenschaften.“

Die Gedankengänge, die dem Arndt-Schulz'schen Gesetz zugrunde liegen, sind also von verschiedenen Forschern, bald in vorsichtiger, bald in apodiktischer Form ausgesprochen worden.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß gewisse, aber durchaus nicht unterschiedslos alle Bakteriengifte sich so verhalten, wie es das Arndt'sche Gesetz verlangt. Kann sonach keine Rede davon sein, daß der Formulierung von Arndt-Schulz die Bedeutung eines allgemeingültigen, gar eines biologischen „Grundgesetzes“ zukommt, so müssen wir uns fragen, ob denn für unser Verständnis etwas gewonnen wird, wenn wir die begünstigende Wirkung kleinster Giftmengen mit dem Hinweis auf das Arndt'sche Gesetz erklären. Das Arndt-Schulz'sche Gesetz erklärt ja überhaupt nichts, sondern es formuliert lediglich eine Erscheinung, die auf den ersten Blick unserem Verständnis Schwierigkeiten macht. Sollte man doch erwarten, daß die gleiche Einwirkung stets den gleichsinnigen Effekt hat, bei schwacher Intensität einen zwar geringeren, aber doch gleichsinnigen Effekt wie bei starker Intensität — so wie z. B. die Temperatur entsprechend ihrem Ansteigen stets einen beschleunigenden Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit eines chemischen Vorgangs hat — ganz ebenso, wie manche Bakteriengifte nur eine einzige, mit der Konzentration steigende (Gift-)Wirkung zeigen.

Wie ist es nun zu verstehen, daß bestimmte Bakteriengifte in kleinen Mengen eine andere Wirkung haben, als in großen Dosen?

Czapek meint in seiner „Biochemie der Pflanzen“, man müsse sich stets vergegenwärtigen, daß ein äußerer Reiz eine Gegenaktion im selbstregulatorischen Sinne erzeugt, um das Gift womöglich unschädlich zu machen. Czapek sieht in den stimulierenden Effekten verdünnter Giftlösungen Entgiftungsaktionen der Zelle. Ist die Giftwirkung schwächer als die Entgiftungsaktion, so resultieren Stimulationseffekte; ist dagegen die Giftwirkung stärker als die Entgiftungsaktion, so tritt Lähmung (Entwicklungshemmung) bzw. Tod ein.

Zu einer weiterführenden Erklärung kommen wir, wenn wir uns nach Analogien unter möglichst durchsichtigen Verhältnissen umsehen. Einen willkommenen Vergleich bietet uns die verschiedene Wirkungsweise der Temperatur auf den Verlauf einer Fermentreaktion. Bestimmte Temperaturen steigern bekanntlich eine Fermentreaktion; wird die Temperatur weiter erhöht, so verläuft die Reaktion besonders stürmisch; noch höhere Temperaturen dagegen vermindern und sistieren schließlich die Reaktion. Auch hier wirken „kleine Dosen“ umgekehrt wie „große“. Es ist aber sehr verständlich, warum hohe Temperaturen anders wirken als niedrige; sind hier doch zwei ganz verschiedene Wirkungen der Temperatur im Spiele: die steigende Temperatur wirkt einerseits beschleunigend auf die Fermentreaktion, wie auf die Geschwindigkeit jeder chemischen Reaktion; andererseits schädigen höhere Temperaturen das Ferment, vermindern durch zunehmende Ausfällung die aktive Fermentoberfläche und setzen dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit herab. Bestünde jede Wirkung der Wärme für sich allein, so könnten wir den Verlauf der Reaktion unter dem Einfluß steigender Temperatur in Form einer stetig steigenden bzw. fallenden Kurve verfolgen; da aber beide Wirkungen zusammentreffen, so verläuft die Fermentreaktion nach einer Kurve, die die Resultante aus beiden Kurven darstellt, d. h. bis zu einem Optimum steigt, dann wieder fällt.

Eine solche Optimumwirkung tritt immer auf, wenn zwei entgegengesetzt einwirkende Vorgänge vorhanden sind, von denen der eine die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht, der andere vermindert. Den Physiologen ist, worauf mich Herr Geh. Rat Frank aufmerksam machte, die Optimumwirkung die Erklärung für die verschiedensten Reaktionen, auch für das von Arndt angezogene Pflügersche Zuckungsgesetz. Um eine Optimumwirkung handelt es sich offenbar auch bei der fördernden Wirkung kleinster Giftdosen. Wir brauchen nur anzunehmen, daß die betreffenden Gifte nicht eine einzige, sondern zweierlei Wirkungen haben, eine fördernde und eine schädigende. Am einfachsten stellen wir uns vor, daß diese Gifte gleichzeitig an 2 verschiedenen Stellen oder chemischen Verbindungen im Protoplasma angreifen, erstens an einer, simpel ausgedrückt, lebensfördernden, zweitens an einer lebenshemmenden. Bei der Fülle der Substanzen, die das Protoplasma aufbauen, macht diese Annahme keine Schwierigkeiten. Wenn nun beide Stellen, was plausibel wäre, eine verschiedene Abhängigkeit von der Gifkonzentration haben, so muß bei einer bestimmten Konzentration eine Optimumwirkung eintreten.

Im Sinne dieser Auffassung wird es verständlich, warum kleine Dosen mancher Gifte entgegengesetzt wirken wie große; es wird aber auch die geheimnisvoll anmutende Formulierung von Arndt-Schulz und das ganze sogenannte biologische Grundgesetz entbehrlich, und damit wird die Literatur von einem Schlagwort befreit, das nichts Besonderes besagt und doch den Schimmer einer tiefen wissenschaftlichen Erkenntnis um sich verbreitet.

#### Diskussion zu Vortrag 3—5.

Reichenbach (Göttingen): Bei dem Begriff der Arzneifestigkeit muß man, glaube ich, 2 Dinge mehr auseinander halten, als es bisher geschehen ist; nämlich die Festigkeit gegen die entwicklungshemmende und gegen die abtötende Kraft des Mittels. Diese beiden Eigenschaften brauchen keineswegs parallel zu gehen. Man kann ja Bakterien sehr leicht dazu bringen, daß sie auf einem Nährboden wachsen, der an Malachitgrün das Mehrhundertfache der ursprünglich vertragenen Dosis enthält. Trotzdem brauchen diese so angepaßten Bakterien der abtötenden Kraft des Malachitgrüns gegenüber nicht wesentlich resistenter zu sein, als der Ausgangsstamm, wenn man nur den Desinfektionsversuch so anstellt, daß keine Möglichkeit des Wachstums der Bakterien vorhanden ist, also bei sehr niedriger Temperatur oder in destilliertem Wasser.

Schumacher (Berlin): Die Wachstumsförderung an der Randzone bei den Versuchen zur Demonstration der oligodynamischen Wirkung der Metalle scheint auf folgenden Tatsachen zu beruhen. In der sterilen Zone um die Metallmünze ist der Ionengehalt ein zu großer, als daß es zu einer Entwicklung von Bakterien kommen könnte. Mit progressiv abnehmender Verdünnung wird eine Grenze erreicht, wo der Ionengehalt so gering wird, daß er zur Abtötung oder Entwicklungshemmung nicht mehr ausreicht (Zone des beförderten Wachstums). Wo aber Metallionen vorhanden sind, wirken sie auf katalytischem Wege äußerst stark Sauerstoffübertragend. Dadurch werden alle Oxydationsprozesse in der Zelle enorm gesteigert, was sich bei der Zellteilung ebenfalls bemerkbar machen muß. Deshalb ist der Hauptwert der Beweisführung auch darauf zu legen, daß nicht nur die Zahl der Kolonien vermehrt ist, sondern hauptsächlich die einzelnen Kolonien vergrößert sind, was wohl eine raschere Zellteilung beweist. Ähnliche Beobachtungen sind ja bereits gemacht worden, ohne daß aber auf den ursächlichen Zusammenhang: Wachstumsbeförderung — Metallanwesenheit — Sauerstoffübertragung bisher hingewiesen wurde und lediglich eine katalytische Wirkung den Metallen bei gewissen Prozessen zuerkannt wurde, deren eigentliche Natur aber bisher unbekannt war. Biernacki zeigte schon, daß  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{CuSO}_4$  in sehr starken Verdünnungen sowohl auf das Wachstum als auch auf das Gärvermögen der Hefe eine nicht unerhebliche Reizwirkung ausübten. Da alle Oxydationsprozesse durch die Metall-Sauerstoffüber-

tragung in der Zelle gesteigert sein müssen, muß sich diese Wirkung auch bei einer etwa vorhandenen Toxinproduktion u. a. Vorgängen zeigen. Hüne zeigte schon, daß sehr geringe Mengen von  $\text{HgCl}_2$ , die Gärungen der Colibazillen günstig beeinflussen, nach Richet und Duclaux fördern  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{CuSO}_4$  noch in Verdünnungen von 1:200000 die Milchsäurebildung in Kulturen von Milchsäurebakterien, nach Walbum (Bioch. Zeitschr., Bd. 129, Heft 3/4, S. 425, dort auch andere Lit.) veranlaßt die Anwesenheit von  $\text{MgSO}_4$ , Staphylokokken zu größerer Giftproduktion; ähnlich wirkten Schwermetallsalze.

Die Sauerstoff übertragende Wirkung der Metallionen läßt sich makrochemisch sehr schön an einer Leukomethylenblaulösung (Unnas RW.) nachweisen, die durch Gold- und Silbersalze sofort, durch Quecksilbersalze nach kurzer Zeit gebläut wird, während die dem Luftsauerstoff ausgesetzte Kontrollösung bis zu 4 Tagen farblos bleibt. Auch nukleinsäure Schwermetallsalze wirken ebenso, nicht dagegen die komplexen Metallsalze, die auch bei der Luetherapie unwirksam sind, sofern sie nicht noch in corpore in ihre Ionen gespalten werden. Auch an der Zelle läßt sich diese Wirkung der Metallsalze demonstrieren: sofortige Bläuung der Kerne bei Vorbehandlung mit Gold- und Silbersalzlösungen und Nachbehandlung mit Leukomethylenblau, Ausbleiben der Bläuung bei Vorbehandlung mit Metallsalzlösungen und Entfernung des Metalls durch Chloride und Nachbehandlung mit Leukomethylenblau. Die Wirkung des Hg bei der Luetherapie beruht ebenfalls auf einer katalytisch beschleunigten Oxydation der Zellprozesse durch das Hg. Die stärkere Oxydation führt daher bei Hg-Behandlung auch meist zu Abmagerung im Gegensatz zu einer Gewichtszunahme bei Arsenbehandlung, das bekanntlich ein Katalysatortoxin ist und die Oxydationsprozesse herabsetzt. Die weitere Beweisführung für diese Ansichten und für die spezifische Wirkung des Hg bei der Luetherapie, die ihren Grund in der Nukleinsäureabwesenheit in der *Spirochaeta pallida* und der ionisierten Hg-Serumverbindung hat, wird an anderer Stelle publiziert (Berl. Derm. Ges., Juni 1922).

Pause.

Vorsitzender: Lehmann (Würzburg).

6. Vortrag. Zeißler (Altona/Elbe):

### Die Diagnostik der anaëroben Sporenbildner.

M. H.! Die Klasse der anaëroben Sporenbildner umfaßt stäbchenförmige Mikroorganismen, welche sich durch mehr oder weniger große Empfindlichkeit gegen Sauerstoff und durch die Fähigkeit auszeichnen, unter geeigneten Umständen Sporen zu bilden. Dieser Klasse von Bazillen gehören als Erreger weit verbreiteter und wirtschaftlich bedeutungsvoller Tierseuchen die Rauschbrandbazillen und der Bradsotbazillus an, ferner als Erreger von Einzelerkrankungen des Menschen und anderer Tiere die Bazillen des malignen Oedems und der Gasbazillus, die alle einschließlich der erstgenannten unter der Bezeichnung „Gasödembazillen“ zweckmäßig zusammengefaßt werden. Eine 2. Gruppe der anaëroben Sporenbildner umfaßt den Tetanus- und den Botulinusbazillus, welche Arten beide, ohne Gewebsveränderungen zu erzeugen, Nervengifte absondern. Eine 3. Gruppe bilden die apathogenen, fäulnis-erregenden, eine 4. Gruppe die gleichfalls apathogenen, jedoch nicht fäulnis-erregenden anaëroben Sporenbildner. Die Ihnen vorliegende Uebersichtstabelle zeigt Ihnen die Einordnung der einzelnen Bazillenarten in das eben skizzierte System.

Als erster hat der 1911 in Innsbruck verstorbene Emanuel v. Hibler vergleichende Untersuchungen an einer größeren Zahl verschiedener Anaërobenstämmen ausgeführt, die einzelnen Stämme nach einheitlichen Gesichtspunkten in verschiedene Arten eingeordnet und neue, zum Teil ganz eigenartige Untersuchungsmethoden empfohlen.

Obwohl also das ganze Gebiet der Anaërobenbakteriologie durch Hiblers umfassende Untersuchungen gründlich durchgearbeitet und in ein übersichtliches und festes, wenn auch nicht ganz einfaches System gebracht zu sein schien, enthält der größte Teil der überaus zahlreichen, die Anaërobier behandelnden humanmedizinischen Kriegspublikationen so viele Unstimmigkeiten und oft krasse Widersprüche, wie kaum ein anderer Zweig der naturwissenschaftlichen Literatur des letzten Jahrzehntes. Die große Zahl dieser aus Anlaß des Weltkrieges erschienenen Mitteilungen über Wundinfektionen durch anaërobe Sporenbildner beweist einerseits die große Bedeutung, welche die genannten Keime unter gewissen Umständen auch für die Humanpathologie gewinnen können, und läßt andererseits keinen maßgebenden Einfluß der Hiblerschen Arbeiten und der von ihm aufgestellten Richtlinien erkennen. Auch läßt die Kriegsliteratur über die Anaërobier die Frage unentschieden, ob die große in ihr zutage tretende Verwirrung in sachlichen Schwierigkeiten der Materie begründet ist und das von ihr meist wenig oder vielfach gar nicht berücksichtigte Hiblersche System, die „Feuerprobe“, im Kriege in sachlicher und methodischer Hinsicht nicht bestanden hat, oder ob gerade diese geringe Berücksichtigung der Hiblerschen Lehre die Ursache der divergierenden Ergebnisse der Anaërobenkriegsliteratur gewesen ist.

Im Laufe von anderthalb Jahrzehnten hat Hibler 89 verschiedene Anaërobenstämme studiert und sie in 15 streng geschiedene Arten eingeordnet. Für die Unterscheidung und Artbestimmung der anaëroben Sporenbildner waren ihm folgende Kriterien maßgebend:

- 1) die Gestalt der Bakterien, Blähformen, Granuloseeinlagerung,
- 2) Vorhandensein oder Fehlen von Geißeln und deren Anordnung,
- 3) Sporenbildung, deren Bedingungen, Gestalt und Anordnung der Sporen, ihre Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze, 4) die Form der Bakterienkolonien in hochgeschichtetem Agar und hochgeschichteter Gelatine,
- 5) die Bildung von Säure oder Alkali und Schwefelwasserstoff (Schwärzung durch Schwefeleisen) in Hirnbrei, 6) die Ausflockung des Kaseins an sich und nach der Art ihres Verlaufs sowie dessen etwaige Peptonisierung in Milch, 7) die etwaige Peptonisierung von Gelatine, 8) die etwaige Peptonisierung erstarrten Serums, 9) die Pathogenität für gewisse Tierarten, 10) die Art der durch die Bazillen erzeugten anatomischen bzw. histologischen Veränderungen, 11) die Gestalt und Anordnung der Bazillen in den Geweben und den serösen Höhlen.

Die für die Artbestimmung sonst in der Bakteriologie vielfach üblichen serologischen Methoden lehnt er als für die anaëroben Sporenbildner unbrauchbar ab, desgleichen die Oberflächenkultur auf in Platten ausgegossenen festen Nährböden.

Mit dieser Ablehnung der serologischen Methoden und des Plattenkulturverfahrens setzt sich Hibler in Gegensatz zu der, wenigstens in der Aërobenbakteriologie, allgemein anerkannten und geübten Technik, welcher die moderne Seuchenbekämpfung ihre hohe Leistungsfähigkeit verdankt. Ein Verzicht auf solche in jahrzehntelanger allgemeinsten praktischer Erprobung bewährte Methoden ist aber nur dann gerechtfertigt, wenn sie sich für das in Frage kommende Spezialgebiet wirklich unbrauchbar erwiesen haben, oder wenn sie, im Falle ihrer Brauchbarkeit, durch andere leistungsfähigere oder wenigstens einfachere Methoden

Obligat anaerobe Sporenbildner.

Nach eigenen Untersuchungen	Be- geißel- ung	Gram- fär- bung	Trau- ben- zucker- blut- agar- platte	Milch	Gelatine	Hirnbrei	Resi- stanz der Sporen gegen Siede- hitze	Einfacher Tier- versuch (Meerschweinchen)
<b>Pathogene anaerobe Sporenbildner.</b>								
<b>Gasödembazillen.</b>								
a) Die Erreger verbreiteter Tierseuchen (Rauschbrand, Bradsot).								
Bac. sarcophysematos (Rauschbrandbazillus) . . . . . (69 Stämme)	+++	++	IV	+	×	□	+	II (blutig-seröses od. blutiges Oedem)
Bac. Chauveaui. Fothsche Rauschbrandbazillus								
Bac. parasarcophysematos. Para-Rauschbrandbaz. (74 Stämme)	+++	++	III(IIa)	+	×	□	+	II (blutig-seröses od. blutiges Oedem)
Vibrio septique Pasteur. Bazillus des malignen Oedems Koch u. Gaffky. Kittscher Rauschbrandbazillus. Bradsotbazillus Jensen. Bazillus des malignen Oedems v. Hibler. Bazillus d. malignen Oedems Ficker.								
b) Die Bazillen des malignen Oedems (im engeren Sinne).								
Novysche Bazillus des malignen Oedems . . . . . (3 Stämme)	+++	++	IIa	+	×	□	+++	III (sulzig-glasiges Oedem),
Bacillus sporogenes Metschnikoff (10 Stämme)	+++	++	IIb	×	×	▲	+++	II (blutig-seröses od. blutiges Oedem)
v. Hiblers Art XI. II. Art des malignen Oedems Eug. Fraenkel u. Zeißler.								
Kleinsche Enteritisbazillus (2 Stämme)	+++	++	IIc u. V	+++	×	□	+	II (blutig-seröses od. blutiges Oedem)
v. Hiblers Art VI . . . . (1 Stamm)	+++	++	IIc u. V	○	○	□	+	II (blutig seröses od. blutiges Oedem)
Walfisch-Septikämiebazillus (1 Stamm)	○	++	IIa	+	×	□	+	II (blutig-seröses od. blutiges Oedem)
c) Der Erreger des klassischen Gasbrandes.								
Fraenkelsche Gasbazillus (ca. 250 Stämme)	○	+++	I	+++	×	□	.	I (klassischer Gasbrand)
Bacill. phlegmones emphysematosae Eug. Fraenkel. Bacill. aërogenes capulatus Welch. Bacill. perfringens Veill. et Zuber. Bacillus saccharobutyricus immobilis Schattenfroh u. Graßberger.								
<b>Giftbildner, welche keine lokalen Gewebsveränderungen erzeugen.</b>								
Tetanusbazillus . . . . . (9 Stämme)	+++	++	III(IIa)	×	×	■	+++	IV (Tetanus)
Botulinusbazillus . . . . (14 Stämme)	+++	++	IIa	×	×	■	+++	V (Botulismus)

Nach eigenen Untersuchungen	Begeißelung	Gramfärbung	Traubenzuckerblutagarplatte	Milch	Gelatine	Hirnbrei	Resistenz der Sporen gegen Siedehitze	Einfacher Tierversuch (Meerschweinchen)
<b>II. Apathogene anaerobe Sporenbildner.</b>								
<b>A. Apathogene Putrificusbazillen.</b>								
11 Der Bac. putrific. Bienstock (36 Stämme) Bac. cadaveris sporogenes Klein.	+++	++	V	×	×	■	+++	apathogen
12 Der Bacillus putrificus tenuis (35 Stämme)	+++	++	IIa(III)	×	×	■	+++	apathogen
13 Der Bacillus putrificus verrucosus (ca. 100 Stämme) Paraplectrum foetidum Weigmann.	+++	++	VI	×	×	■	+++	apathogen
<b>B. Apathogene, nicht putrifizierende anaerobe Sporenbildner.</b>								
14 Der Bacillus amylobacter van Tieghem (4 Stämme) Clostridium butyric. Prazmowski. Bacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens Schattenfroh u. Graßberger.	+++	++	IIc u. V	+++	○	□	+	apathogen
15 v. Hiblers Art IX . . . . (1 Stamm)	+++	++	IIc u. V	○	○	□	+	apathogen
16 Der Bacillus macrono-filiformis (1 Stamm)	+++	++	VII	+	○	□	+	apathogen

## Zeichenerklärung.

Begeißelung: ○ = unbegeißelt; +++ = peritrich begeißelt. Gramfärbung: ++ = grampositiv bis gramlabil; +++ = streng grampositiv. Traubenzuckerblutagarplatte: Die Zahlen entsprechen den verschiedenen Wuchsformen. Milch: ○ = keine Veränderung; + = langsame Gerinnung usw.; +++ = stürmische Gerinnung usw.; × = Peptonisierung, vorher eventuell Gerinnung. Gelatine: ○ = keine Verflüssigung; × = Verflüssigung. Hirnbrei: □ = keine Schwärzung usw.; ▲ = 1–2 cm unter der Oberfläche leichte Schwärzung usw.; ■ = intensive Schwärzung der ganzen Masse usw. Resistenz der Sporen gegen Siedehitze: + = weniger als 40 Min. aushaltend; +++ = über 40 Min. aushaltend. Einfacher Tierversuch: Die Zahlen entsprechen den verschiedenen Krankheitsbildern.

ersetzt werden können. Den Eindruck großer Einfachheit der Hiblerschen Methodik wird wohl noch kein Leser seines Anaerobenwerkes gewonnen haben, und Einfachheit seiner Technik kann darum für Hibler nicht die Ursache für seine Ablehnung der serologischen Methoden und des Plattenkulturverfahrens gewesen sein. Vielmehr gibt er selbst ausdrücklich an, daß sich die serologischen Methoden und die Oberflächenkultur auf Platten bei seinen Anaerobenstudien als unbrauchbar erwiesen haben. Als Mißstände der Plattenkultur führt er an Konfluieren von Oberflächenkolonien wegen „des fast unvermeidlichen Fließens des Kondensations- und Preßwassers auf den Oberflächen der Platten“ und infolge davon „Ueberwucherungen beweglicher Keime“, ferner „Entwicklungsschädigung der Keime und Kolonien durch die zur Luftveränderung benutzten Gase“ und durch die zur Besichtigung der Kolonien notwendigen „Lüftungen“ der Platten. Doch scheint er nicht geprüft zu haben, ob die von ihm beobachteten Mißstände des Plattenkulturverfahrens durch die Eigenart des Materials (der anaeroben Sporenbildner) bedingt waren und demzufolge als unvermeidbar hingenommen werden müssen,



oder ob sie nur seiner von ihm nicht näher beschriebenen Technik anhafteten, derart, daß eine technische Aenderung des von ihm geübten Plattenkulturverfahrens die Beseitigung der vorgenannten Mißstände ermöglicht, denn auf S. 44 seines Buches teilt er mit, daß er das Plattenverfahren nicht systematisch durchgearbeitet hat.

Im Gegensatz zu Hibler glaube ich jedoch, wegen der überragenden Bedeutung, welche seit Robert Koch dem Plattenkulturverfahren auf allen Gebieten der Bakteriologie zukommt, dieses Verfahren auch beim Studium der Anaerobier nicht entbehren zu können und alles versuchen zu müssen, um die von Hibler als dabei störend empfundenen Mißstände durch Ausarbeitung einer geeigneten Technik auszuschalten. Ob und wie weit mir das gelungen ist, mögen Sie den folgenden Ausführungen entnehmen.

Vorversuche mit Kulturplatten verschiedener Zusammensetzung ergaben als günstigsten Nährboden für Gedeihen und charakteristisches Aussehen der Oberflächenkolonien der anaeroben Sporenbildner den von mir 1917 zur Züchtung und Artbestimmung des *Meningococcus* Weichselbaum empfohlenen Traubenzucker-Blut-Agar. Auf ihm sind die von mir bis jetzt untersuchten anaeroben Sporenbildner in 9 verschiedenen Wuchsformen gewachsen. Das Studium eines halben Jahrzehntes an reichlich 600 verschiedenen Anaerobenstämmen lehrt, daß gewisse Wuchsformen auf der mittels Drigalski-Spatels oder Platinöse beimpften Oberfläche der Traubenzucker-Blut-Agarplatte für ganz bestimmte Anaerobenarten charakteristisch oder spezifisch sind. Umzüchtungen von Reinkulturen von einer Wuchsform zu einer ihr nicht verwandten anderen sind in systematischen Versuchen nicht gelungen. Ebenso wenig haben jahrelang durch wiederholte Prüfungen in größeren Zwischenräumen beobachtete Reinkulturen ihre Wuchsform gewechselt. Vielmehr hat sich in allen Fällen, wo eine Kultur ihre Wuchsform auf der Traubenzucker-Blut-Agarplatte gewechselt zu haben schien, die betreffende Kultur bei weiterer Prüfung als Mischkultur erwiesen. Mir ist darum „Mutation“ und „Umwandlung“ von Anaerobiern gleichbedeutend mit Mischkultur.

#### Diapositive I.

Die Kombination der Traubenzucker-Blut-Agarplattenkultur mit der Hiblerschen Methodik hat den großen Wert, den Hibler der Hirnbrei-, der Milch- und der Gelatinekultur der Resistenzprüfung der Sporen gegen Siedehitze, der Begeißelung und der Gramfärbung beilegt, voll bestätigt, dagegen die Kultur in hochgeschichtetem Agar (mit oder ohne Zucker), in erstarrtem Serum und anderen Nährmedien, die Gestalt und Anordnung der Sporen, die Bildung von Blähformen, die Granuloseeinlagerung, die Fadenbildung als unwesentlich, zum Teil sogar als irreführend erscheinen lassen.

#### Diapositive II.

Im Tierversuch hat sich die von Hibler u. a. empfohlene intramuskuläre Einspritzung am Hinterschenkel bezüglich Eindeutigkeit der erzeugten pathologischen Veränderungen weniger bewährt, als die von E. Fraenkel und Kitt angegebene subkutane Injektion am Bauch, welche am Meerschweinchen zu 3 verschiedenen und für bestimmte Anaerobenarten charakteristischen bzw. spezifischen Gasödemen führt.

### Diapositive III.!

Die Möglichkeit der Unterscheidung zwischen Rauschbrand und malignen Oedem durch den einfachen Tierversuch am Meerschweinchen (beides Krankheitsbild II) auf Grund der Fadenbildung im Peritoneum habe ich von Becker systematisch bearbeiten lassen. Sie muß im Gegensatz zu Foth verneint werden. Schon die von Foth u. a. dabei gemachte Voraussetzung, daß kurz nach dem Tode des Versuchstieres Fadenbildner aus dem Darne in das Peritoneum überwandern können, hat Becker als irrig erwiesen.

### Diapositive IV.

Mit Rücksicht auf die in den vorangegangenen Ausführungen nur eben angedeuteten Gesichtspunkte hat sich für die Differenzierung und Artbestimmung der anaëroben Sporenbildner das in der Ihnen vorliegenden Tabelle zusammengestellte System ergeben. Das 1920 von mir publizierte System ist seit 1919 in dieser Gestalt konsequent angewendet worden und hat zur Einordnung der reichlich 600 bis jetzt von mir bearbeiteten Anaërobenstämme in 16 verschiedene Bazillenarten geführt. Zeitmangel verbietet mir an dieser Stelle Eingehen auf Einzelheiten. Sie müssen in meiner 1920 erschienenen Arbeit: Menschliche Wundinfektionen und Tierseuchen und in dem neu erscheinenden Handbuch der mikrobiologischen Technik von Uhlenhuth und Kraus nachgelesen werden.

Ob bzw. wieweit die Differenzierung der anaëroben Sporenbildner durch Anwendung serologischer Methoden mehr gesichert oder weitergetrieben werden kann, kann heute noch nicht endgültig entschieden werden. Die Agglutination ist nicht nur Hibler, sondern auch Klose, Gaetgens, E. Fraenkel und mir und anderen auf Grund eigener Untersuchungen bis jetzt unzulänglich erschienen, ebenso die Komplementbindung. Dagegen berichten Aschoff, Foth, Kitt, Klose, Wassermann, Kolle, Schloßberger u. a. über brauchbare Ergebnisse mit dem komplizierten Tierversuch. Den 4 letztgenannten Autoren habe ich schon früher arge Unstimmigkeiten in ihren diesbezüglichen Ergebnissen nachgewiesen, ohne daß sie bis heute meinem Urteil haben widersprechen können. Joseph glaubte im vorigen Jahre Schloßbergers unrichtige Befunde bestätigen zu müssen. Innerhalb  $\frac{5}{4}$  Jahren ist es mir nach wiederholtem Bitten und Drängen nur gelungen, 2 seiner „atypischen Fraenkel-Stämme“ von ihm zur Nachprüfung zu erhalten. Der eine zeigte keinerlei Besonderheiten, der andere war eine Mischkultur zu etwa gleichen Teilen aus Fraenkelschen Gasbazillen und Warzenbazillen. Das muß mir bei Josephs Zurückhaltung in der Uebersendung seiner „atypischen Kulturen“ als Kriterium für die Reinheit dieser Kulturen und den Wert der auf sie begründeten Josephschen Arbeit genügen. Somit sind die Fehlresultate der 5 letztgenannten Autoren durch falsch diagnostizierte oder unreine Ausgangskulturen bedingt, genau so, wie es Hibler bei den entsprechenden Untersuchungen von Graßberger und Schattenfroh festgestellt hat, und darum der serologischen Methode an sich nicht zur Last zu legen. Ob der komplizierte Tierversuch, ausgehend von Reinkulturen, die Differenzierung und Artbestimmung der anaëroben Sporenbildner weiter fördern kann als die bis jetzt von mir angewandte Methodik, muß erst noch versucht werden. Beim *Bacillus botulinus*

haben die Untersuchungen von Leuchs und K. F. Meyer eine Trennung der nach meinem System einheitlichen Art *Botulinus* in 2 serologisch verschiedene Rassen (A und B) ergeben.

Ueber die Bedeutung der Ihnen von mir kurz skizzierten Ergebnisse für die Tierpathologie wird Ihnen Herr Prof. Mießner berichten.

#### 7. Vortrag. Mießner (Hannover):

##### **Rauschbrand und Pararauschbrand.**

Der eigentliche echte Rauschbrand der Tiere kommt in Deutschland in der Hauptsache auf der Weide und nur beim Rinde als sogenannter spontaner oder Weiderauschbrand vor. Die Seuche ist an bestimmte Gegenden — Rauschbranddistrikte — gebunden, in denen ihr alljährlich zahlreiche Rinder zum Opfer fallen, und wird verursacht durch den 1876 von Bollinger und Feser entdeckten Rauschbrandbazillus *B. sarkophysematos* (s. Chauveau). In Deutschland gehen jährlich 1600–2000 Rinder an Rauschbrand ein. Es handelt sich hierbei um eine Bodenkrankheit; die Sporen der Rauschbrandbazillen dringen wahrscheinlich von der Schleimhaut des Digestionstraktus in den Körper ein und führen meist innerhalb 24 Std. zum Tode der Tiere. Außer beim Rinde sind dann gelegentlich auch bei den übrigen Haustieren, insbesondere beim Schafe, seltener beim Schweine und ganz vereinzelt beim Pferde Todesfälle mit rauschbrandig veränderter Muskulatur (Foth, Schmitt-Cleve u. a.) vorgekommen, deren Erreger aber in seltenen Fällen genauer identifiziert worden waren.

In 2. Linie waren ödemartige Erkrankungen bei den Haustieren im Anschluß an Verletzungen bekannt. So wurden beim Schafe nach der Schur, nach Kastrationen oder Geburten infolge der dabei stattgehabten Verletzungen häufig Todesfälle beobachtet, die meist mit einem entzündlichen Oedem in der Unterhaut verliefen. Aehnliche Todesfälle wurden auch beim Pferde im Gefolge von Operationen, wie Kastrationen oder ausgedehnten Verletzungen beschrieben. Endlich kam beim Rinde eine ödematöse Erkrankung vor, die von der Gebärmutter im Anschluß an die Geburt ihren Ausgang nahm und als Geburtsrauschbrand bezeichnet wurde. In den meisten Fällen wurde ein putrifzierender, fälschlicherweise meist als *Bacillus oedematis maligni* Koch bezeichneter Mikroorganismus als Ursache angenommen.

Schon 1897 war durch den dänischen Tierarzt Ivar Nielsen auf Island eine eigentümliche Erkrankung, welcher die Schafe schlagartig in großen Mengen erlagen, beschrieben worden. Die Seuche ging unter dem Namen Bradsot, Braxy — schnelle Seuche — wegen ihres rapiden tödlichen Verlaufes. Sie war gekennzeichnet durch eine schwere hämorrhagische Entzündung der Magenschleimhaut — *Gastromykosis ovis*. Nielsen fand daselbst ebenso wie in den übrigen Organen einen als *Bradsotbazillus* bezeichneten Anaërobier.

Jensen hat sich dann vornehmlich mit der Biologie des Erregers und der Bekämpfung der Seuche erfolgreich beschäftigt. Durch den von ihm geführten Nachweis des massenhaften Vorkommens der Bazillen in Schnittpräparaten der Magenschleimhaut frisch gefallener Schafe wurde die ätiologische Bedeutung der Bradsotbazillen bekräftigt.

1914 fand Köves, ein Schüler Hutyras, eine Krankheit bei Schweinen, die in zweierlei Formen auftrat; einmal bestand eine brandige, poröse, schwammartige Veränderung der Muskulatur, genau wie beim Rauschbrande (Muskelrauschbrand), in anderen Fällen wurde eine der Bradsot der Schafe gleichende Gastromykosis (Magenrauschbrand) beobachtet. Beide Formen sollen durch den Ghon-Sachsschen Bazillus, den Köves mit dem Bradsotbazillus identifizierte, veranlaßt werden. Bei Wildschweinen hatten Marek, Ratz, Kitt und K. F. Meyer schon früher rauschbrandähnliche Erkrankungen festgestellt.

Während in Deutschland verschiedentlich bradsotähnliche Erkrankungen bei Schafen beobachtet wurden, ohne daß es gelang, deren Ursache einwandfrei zu klären, beobachtete Witt in der Provinz Sachsen (1919) rauschbrandige Erkrankungen unter den Schafen im Anschluß an die Schur, Geburt etc. Es handelte sich um Krankheiten, die man bisher in der Regel als malignes Oedem angesprochen hatte. Kaumuskeln oder Schenkelmuskeln zeigten eine dunkelrote, poröse, trockene Beschaffenheit, knisterten beim Betasten und hatten den typischen Butter säuregeruch. Durch Stieckdorn, Zeißler, Spiegl und das Hygienische Institut Hannover wurden Rauschbrandbazillen ermittelt.

Angeregt durch die rauschbrandähnlichen Befunde, die beim Menschen während des Krieges gemacht wurden und auf die zuerst Stabsveterinär Dr. Steinbrück 1915 an der Westfront hingewiesen hatte, wandten auch wir unsere Aufmerksamkeit, insbesondere dem bisher vielfach unter dem Namen des malignen Oedems gehenden Krankheiten der Haustiere zu.

Nachdem Dr. Zeißler-Altona die Liebenswürdigkeit hatte, meinen 1. Assistenten, Dr. Albrecht, mit seiner Untersuchungsmethode vertraut zu machen, bedienten wir uns der von ihm empfohlenen Traubenzuckerblutagarplatte und seines Plattenkulturmikroskopes. Da letzteres infolge Verzögerung in der Herstellung erst vor wenigen Wochen in unseren Besitz gelangte, so konnten die Arbeiten leider bis jetzt nicht in der wünschenswerten Weise gefördert werden. Immerhin läßt sich schon so viel sagen, daß die Untersuchung durch die Zeißlersche Technik besonders erleichtert wurde und das Plattenkulturmikroskop zur Identifizierung der Kulturen sich als unentbehrlich erwiesen hat. Zu beachten ist, daß sich der Tierversuch in der Regel erübrigt, ein Vorteil, der bei dem heutigen Mangel und den gewaltig gestiegenen Kosten für Versuchstiere nicht zu unterschätzen ist. Der Meerschweinchenversuch erscheint auch nach neueren Untersuchungen nicht absolut zuverlässig, weil nach Kitt das von Hibler und Foth beschriebene konstante Merkmal des echten Rauschbrandbazillus, niemals auf der Zwerchfellfläche der Meerschweinchenleber zu Fäden auszuwachsen, im Gegensatz zum *vibrio septique* nicht für alle Fälle zutrifft, ebenso wie der *vibrio septique* nach Carl und Zeißler unter gleichen Verhältnissen auch einmal nur einzelne oder wenig zusammenhängende Glieder aufweist.

Aus Mangel an Zeit konnten bisher die älteren noch im Institute vorliegenden getrockneten Fleischproben nicht durchgemustert werden; wir beschränkten uns deswegen in der Hauptsache auf die im letzten Jahre eingelaufenen Fälle. Es fanden sich darunter 9 Fälle von sogenanntem Geburtsrauschbrand des Rindes und 10 Fälle von Stallrauschbrand des Rindes ohne Zusammenhang mit der Geburt, je 1 Fall von Geburtsrauschbrand beim Schaf und Wunderauschbrand beim Pferde.

Hierunter seien einige besonders charakteristische Fälle geschildert: In den Fällen von Geburtsrauschbrand der Kuh war die Hinterschenkel-

muskulatur in größerer Ausdehnung schwarz verfärbt, trocken, puffig, porös, knisterte beim Betasten und entwickelte den typischen Geruch nach ranziger Butter. Aehnliche Beobachtungen konnten wir auch beim Schafe machen. Besonderes Interesse erheischt folgender Fall einer rauschbrandähnlichen Erkrankung eines Pferdes, dem an den Seitennerven der Zehe des linken Hinterschenkels und 2 Std. später an dem N. peroneus prof. und dem N. tibialis je 20,0 Kokainlösung zu diagnostischen Zwecken injiziert worden war. Am folgenden Morgen lag das Tier in seinem Stalle und war trotz Bemühens nicht zum Aufstehen zu bewegen. Die Mastdarmtemperatur betrug 39,8° C. Die kranke Extremität zeigte diffuse Schwellungen und an ihren muskulösen Teilen puffy Beschaffenheit. Um 2 Uhr nachmittags trat der Tod ein. Schon nach kurzer Zeit schwoll der Körper infolge Gasbildung unförmig an. In der schwarzroten, porösen, trockenen Muskulatur des Hinterschenkels wurden sporenhaltige Bazillen nachgewiesen, die durch das Plattenverfahren als *Vibrion septique* identifiziert werden konnten. Der geplante Tierversuch mußte aus Mangel an Meerschweinchen unterbleiben.

In den 22 bisher unter Anwendung der Zeißlerschen Methode untersuchten Fällen, in denen es sich allerdings stets um sogenannten Stall- oder Wundrauschbrand handelte, wurde ausschließlich der *Vibrion septique Pasteur* (Kitt, Ghon-Sachs) ermittelt. Denselben Typ hat Zeißler beim Weiderauschbrand des Rindes in 25 Proz., dagegen den Fothschen Rauschbrandbazillus (Chauveau) in 70 Proz. der Fälle festgestellt. Alle 5 Fälle von Geburtsrauschbrand beim Rinde wurden durch den Kittschen Rauschbrandbazillus erzeugt. In 18 Proz. der Schafrauschbrandfälle stellte Zeißler gleichfalls Typus Kitt und in 82 Proz. den Typus Foth fest. Ein Fall beim Pferde wurde durch den Fothschen Rauschbrandbazillus hervorgerufen.

Kitt vertritt die Anschauung, daß eine ganze Gruppe von Erdbazillen anatomisch nicht unterscheidbare Gasödemerkrankungen verursacht.

Hilda Hempl-Heller teilt in einer neuen Veröffentlichung mit, daß in Amerika die als blackleg bezeichnete Krankheit beim Rinde meistens durch *B. Chauveauxi*, seltener durch *Vibrion septique* veranlaßt wird, während die Verhältnisse beim blackleg oder braxy oder malignant edema der Schafe gerade umgekehrt liegen. Bei Pferden und Schweinen hat man indes nur den *Vibrion septique* gefunden.

Durch den zurzeit an der Tierärztlichen Hochschule Hannover tätigen Kollegen Quinlan der Universität Pretoria in S.-W.-Afrika wurde mir ferner mitgeteilt, daß man bei der blackleg des Rindes in Afrika gleichfalls zwischen *B. Chauveauxi* und *Vibrion septique* unterscheidet.

Foth und Uchimura vertreten auf Grund ihrer praktischen Erfahrungen und experimentellen Untersuchungen den gegenteiligen Standpunkt. Foth kommt in seiner neuen Arbeit auf S. 3 zur folgenden Auffassung: „Ich habe den Rauschbrand nunmehr fast zwei Jahrzehnte lang mitten in Rauschbrandgebieten (Schleswig-Holstein 1902–1912 und Westfalen 1912 bis jetzt) unmittelbar an einem sehr großen Material klinisch, pathologisch-anatomisch und bakteriologisch verfolgt, auch Rauschbrandfleischsendungen aus anderen Gebieten und anderen Ländern, seit 1 Jahre z. B. aus Bayern, untersucht und bisher keinen Anhalt für die Annahme finden können, daß auch Bazillen der Gruppe des *Pasteurischen Vibrion septique* oder des Kochschen *Bac. oedemat. maligni* — und die meint Zeißler mit dem 2. Rauschbranderreger, den von

ihm ‚Kittscher Rauschbrandbazillus‘ genannten Erreger — des Krankheitsbildes des Rauschbrandes der Rinder hervorrufen können, es sei denn, daß man den Begriff des Rauschbrandes der Rinder erweitert.“

In ähnlicher Weise äußert sich Uchimura: „Unsere bisherigen Erfahrungen haben keinen sicheren Anhaltspunkt dafür ergeben, daß als Erreger des spontanen Rinderrauschbrandes neben dem typischen Rauschbrandbazillus noch andere Anaerobier in Betracht kommen. Vieles spricht dafür, daß die sonst aus Rauschbrandmaterial gewonnenen Anaerobier nur eine sekundäre Rolle als Begleitbakterien oder Mischinfektionserreger spielen.“

Beachtet man ferner, daß mit echten Rauschbrandbazillen (Chauveau, Foth) hergestellte Impfstoffe und Sera nicht gegen den vibriion septique (Kitt, Ghon-Sachs) wirken, so hat die Anschauung der beiden Autoren vom wissenschaftlichen Standpunkt aus zweifellos ihre volle Berechtigung.

Bei den von Zeißler und Hempl-Heller angeführten Untersuchungen fehlen genaue Angaben über die Befunde der Tiere, deren Muskulatur untersucht worden ist, wenn man auch nach Zeit und Ort der Erkrankung der Rinder wohl an echten Rauschbrand denken kann. Es besteht aber die Möglichkeit, daß auch auf der Weide Fälle von Wundrauschbrand nach Geburten oder Verletzungen (besonders im Gebirge) vorkommen können. Deshalb erscheint es unbedingt notwendig, die Frage des Vorkommens der beiden Typen des Rauschbrandes unter Beachtung der vorstehenden Einwände noch weiter zu prüfen und dabei gleichzeitig das Vorkommen und die Lebensbedingungen inner- und außerhalb des Tierkörpers zu studieren.

Aus den bisherigen Beobachtungen und Untersuchungen geht hervor, daß wir zwischen 2 verschiedenen Erregern rauschbrandartiger Erkrankungen zu unterscheiden haben; beide sehen im Muskelausstrich sich sehr ähnlich, dagegen pflegt der eine auf der Zwerchfellfläche infizierter Meerschweinchen zu Fäden auszuwachsen, der andere nicht. Endlich zeigen beide auf der Zeißlerschen Blutagarplatte ein ganz differentes Wachstum, auch besteht kein gegenseitiges Immunisierungsverhältnis.

Historisch ist der klassische und durch den *Bac. sarkophysematos* (Chauveau, Foth) veranlaßte Weiderrauschbrand der ältere, und es soll deswegen auch an seiner Benennung nichts geändert werden. Dagegen möchte ich mir den Vorschlag erlauben, um künftigen weiteren Unstimmigkeiten vorzubeugen und zum besseren Verständnis im In- und Auslande die zweite rauschbrandähnliche Erkrankung, die nach unseren bisherigen Erfahrungen meist im Anschluß an Verletzungen beobachtet und in Deutschland fälschlicherweise als malignes Oedem bezeichnet wurde, mit dem Namen Pararauschbrand zu belegen und den Erreger als *Bac. parasarkophysematos* (*vibriion septique* Kitt, Ghon-Sachs) zu benennen. Diese Nomenklatur lehnt sich sinngemäß an die Bezeichnung Typhus-Paratyphus, Tuberkulose-Paratuberkulose an.

8. Vortrag. Carl Prausnitz (Breslau):

### Der *Bacillus mucosus anaërobicus*.

(Mit 4 Abbildungen.)

In einem eitrigem Pleuraempyem wurde als Erreger ein anscheinend noch nicht beschriebener Bazillus gefunden, der infolge seiner Eigen-

tümlichkeiten Interesse beansprucht. Eine 36-jährige Pflegerin der chirurgischen Universitätsklinik hatte als Kind an Scharlach, Masern und Lungenentzündung gelitten; sie erkrankte 1911 an rheumatischen Beschwerden und Pericarditis und hatte bereits im Frühjahr 1921 eine linksseitige „Rippenfellreizung“. Sonst scheint sie gesund gewesen zu sein. Sie erkrankte ziemlich akut mit Fieber und starken Stichen in der linken Seite am 17. Nov. 1921: eine linksseitige exsudative Pleuritis wurde diagnostiziert. Schon bei der ersten Punktion am 25. Nov. 1921 wurde 350 ccm trüb-seröser Flüssigkeit entleert, die nicht untersucht zu sein scheint. Da das Exsudat zunahm und Lungenödem auftrat, erfolgte am 28. Nov. 1921 die zweite Punktion, die serös-eitrig Flüssigkeit ergab. Mikroskopisch enthielt diese Flüssigkeit reichlich polymorphkernige

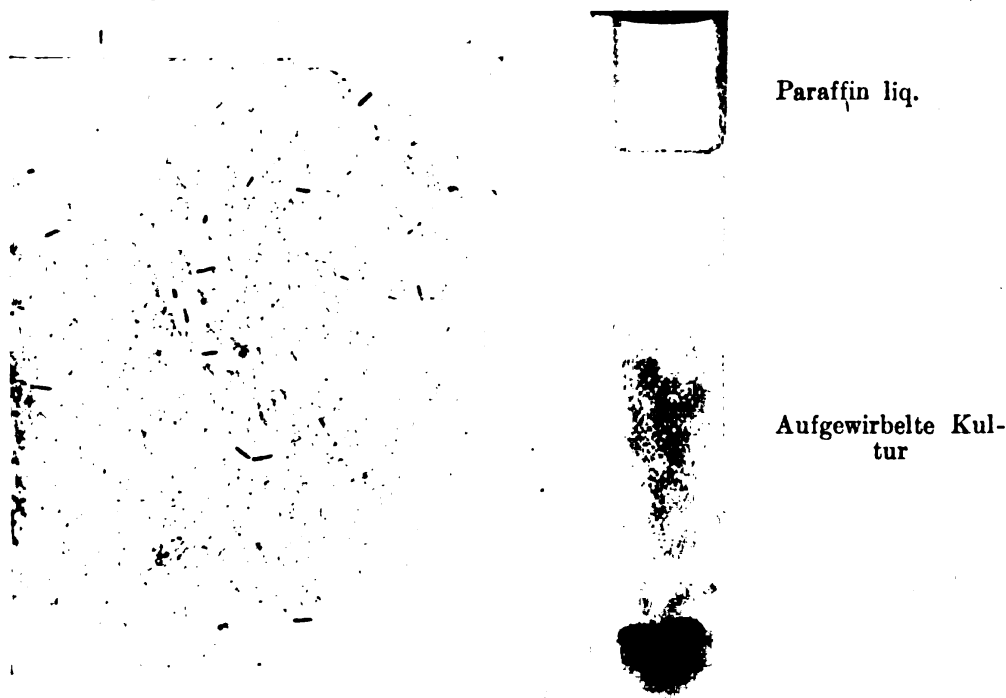


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 1. *Bac. mucos. anaërob.* Präp. von Asc. Tarozzi-Kultur. Fuchsin.

Fig. 2. *Bac. mucos. anaërob.* Asc. Tarozzi-Bouillon.

Leukozyten, vereinzelte grampositive Diplokokken (wahrscheinlich Pneumokokken) und massenhaft zarte, ziemlich lange gramnegative Stäbchen. Bei wiederholten Punktionen, die infolge erneuter Zunahme des Exsudats nötig wurden, fanden sich später neben den Leukozyten nur diese Bazillen. Am 5. Dez. 1921 wurde die Rippenresektion ausgeführt und drainiert. Die Temperatur blieb noch bis Anfang Februar 1922 subfebril, die Eiterung ließ nur sehr langsam nach; die Bazillen wurden dauernd, wenn auch in abnehmender Zahl, gefunden. Erst Mitte Februar konnte der Drain entfernt werden. Bei gutem Allgemeinbefinden erfolgte Anfang April die Entlassung mit ganz schwach sezernierender Fistel. Im Mai heilte die Wunde zu.

Schon nach dem mikroskopischen Bilde der ersten untersuchten Probe erschienen die Bazillen höchst ungewöhnlich. Es waren zarte

schlanke, gramnegative Stäbchen von etwa  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$   $\mu$  Dicke, deren Länge zwischen 5 und 14  $\mu$  schwankte. Die längeren Stäbchen waren deutlich gekrümmt. Die Bazillen waren nicht einheitlich gefärbt, sondern enthielten, besonders die längeren Formen, ungefärbte Lücken, die aber jedenfalls keine Sporen darstellten. Die Anordnung der Bazillen wies keine Besonderheiten auf. Sie waren in großen Mengen bis zu 50 oder mehr im Gesichtsfelde vorhanden. Sie lagen durchweg frei, waren nicht phagozytiert. Man hätte zunächst an abnorme Wuchsformen von Influenzabazillen denken können, wie wir sie in den letzten Jahren zuweilen gesehen haben; aber die Aehnlichkeit mit solchen Formen war nicht überzeugend. Mit keinem anderen pathogenen Bakterium bestand die geringste Aehnlichkeit (Fig. 1).

Die Züchtung bereitete die größten Schwierigkeiten<sup>1)</sup> und gelang erst nach mehreren vergeblichen Versuchen unter streng anaëroben Bedingungen bei Zusatz von nativem Eiweiß, und auch da nur nach mehrtägiger Bebrütung bei 37° in einem kleinen Teil der angesetzten Kulturen.

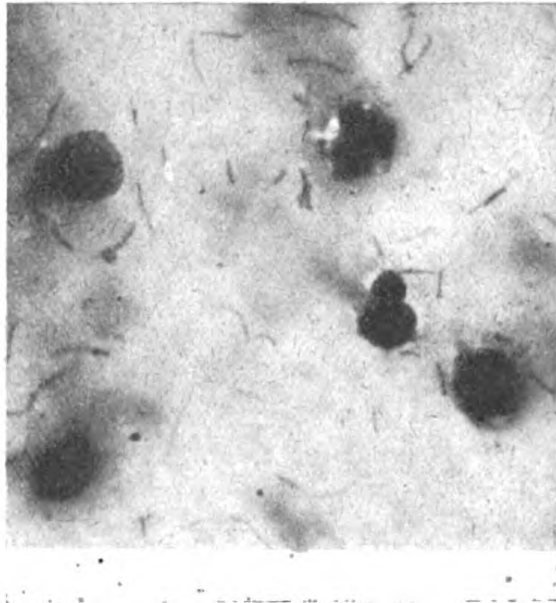


Fig. 3. Bac. mucos. anaërob. Originalausstrich.

Verwendet wurden der Noguchische Nährboden (Pferdeserum mit frischer Kaninchenniere, vorsichtig bei 60—65° koaguliert) und Kaninchennieren-Aszitesbouillon, beide Nährböden mit Paraffinum liquidum überschichtet. In späteren Generationen gelang die Züchtung auf diesen Nährböden stets. Sie ist aber niemals gelungen, wenn kein natives Eiweiß vorhanden war, noch wenn die Anaërobiose unvollständig war. Das Wachstum erfolgte bisher nur bei 37°, nie bei Zimmertemperatur.

In den positiven Aszitesbouillonkulturen sieht man über dem Nierenstück nach 2 Tagen bei 37° eine zarte wolkige Trübung von etwa 1 cm Höhe, die allmählich an Dichtigkeit zunimmt und im Röhrchen langsam bis etwa 2 cm unter der Oberfläche emporsteigt. Nach etwa einer Woche sinkt sie wieder zum Boden hinab. Nach etwa 2 Wochen sind die meisten Bazillen abgestorben, so daß die Ueberimpfungen zunächst alle Wochen erfolgen mußten. Bewegt man die Röhrchen, so wird der Bodensatz zwar aufgewirbelt, trübt aber die Flüssigkeit nicht gleichmäßig, sondern scheint eine zusammenhängende Zoogloea zu bilden (Fig. 2).

Im Noguchischen Serum Nährboden sieht man am 2.—3. Tag im untersten Teil des Impfstiches, nahe über der Niere etwa kirschkerne-große, unscharf gegen die Umgebung abgesetzte, zarte hauchige Trübungen,

1) Die Mehrzahl dieser Untersuchungen erfolgte durch die Hilfsassistentin Fr. Edith Firle.



die allmählich wachsen und schließlich den größten Teil des Röhrchens bis etwa 2 cm unter der Oberfläche gleichmäßig einnehmen.

Wenn das Bakterienmaterial aus der Aszitesbouillonkultur mit einer Kapillare entnommen wird, so stellt es eine glasige, zähe, schleimige Masse dar. Im mikroskopischen Bild sieht man die gleichen Bakterien wie im Originalausstrich des Eiters: schlanke, zum Teil ein wenig gekrümmte Stäbchen, mit etwas zugespitzten Enden und etwas kleiner als im Originalausstrich (Dicke unter  $\frac{1}{2} \mu$ , Länge 4–12  $\mu$ ), (Fig. 3). Die Bazillen sind unbeweglich, gramnegativ, aber mit allen Anilinfarben gut färbbar, wobei sie ebenso wie im Originalausstrich eine Neigung zu unterbrochener Färbung aufweisen. Sie sind von einer mächtigen Schleimhülle umgeben, die sich am besten im Tuschepräparat mit nachfolgender vorsichtiger Fuchsinfärbung des eigentlichen Bazillenkörpers darstellen läßt (Fig. 4).

Um die biochemische Wirkung zu prüfen, wurden Röhrchen von Kanincheniere-Aszitesbouillon und von Kanincheniere-Pferdeserumbouillon mit Lackmuslösung gefärbt, mit 1 Proz. verschiedener Kohlehydrate versetzt und mit dem Bazillus beimpft. In den unbeimpften Kontrollen tritt dicht über dem Nierenstück eine, durch das Blut der Niere bedingte schmale, dunkelrote Zone auf und darüber — infolge der Reduktionswirkung der Niere — eine etwa 1 cm hohe entfärbte Partie der Bouillon. In den beimpften Röhrchen aber sieht man bei den meisten Kohlehy-

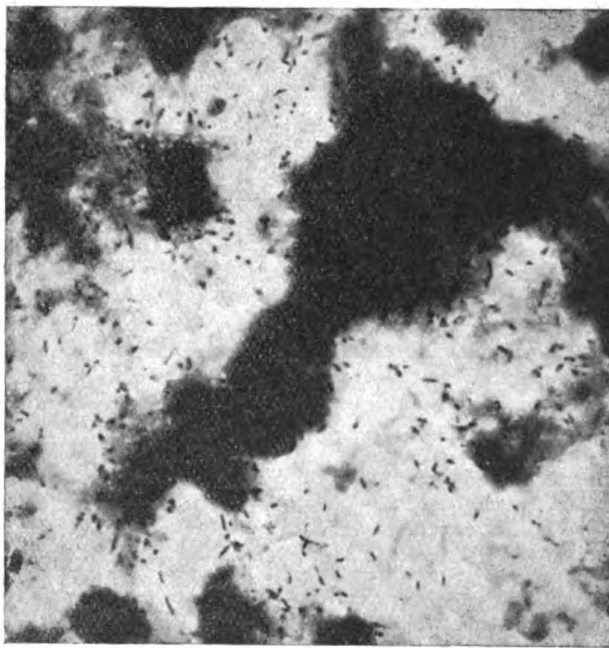


Fig. 4. *Bac. mucos. anaërob.* Pröp. von Asc. Tarozzi-Kultur. Schleimmassen und einzelne Bazillen.

draten außerdem eine mehr oder weniger deutliche Säurebildung, die im Laufe von 6 Tagen die Lackmusbouillon fast bis zur Oberfläche hinauf rötet. Die Säurebildung tritt in dem Serum- und Aszitesröhrchen in etwa gleicher Stärke auf. Kräftig vergoren werden Traubenzucker und Maltose, etwas schwächer Galaktosé, Lävulose, Rohrzucker und Milchzucker, gar nicht vergoren wurde auffallenderweise Mannit. In keinem Röhrchen trat auch nur eine Spur von Gasbildung auf. Keine Kultur weist Geruch auf.

Sämtliche mit dem Originalmaterial sowie mit den Kulturen ausgeführte Tierversuche waren ohne Erfolg (Impfungen von Kaninchen, auch ganz jungen Tieren, intravenös, intrapleurale, intraperitoneal, subkutan, Meerschweinchen intraperitoneal und subkutan, Mäuse subkutan). Menschenversuche sind mit den lebenden Kulturen nicht ausgeführt worden. Trotzdem dürfte an der ätiologischen Bedeutung der Bakterien nicht zu zweifeln sein; nur ein einziges Mal haben wir außer den Bazillen noch vereinzelte Pneumokokken gefunden — ein Befund, wie er ja auch

beim Influenzabazillenempyem gelegentlich gesehen und der wohl allgemein als Nebenbefund angesprochen wird. — Sonst waren die Bazillen stets in großen Mengen und in Reinkultur vorhanden und wurden wochenlang regelmäßig im Eiter gefunden.

Daß der Bazillus an der Erkrankung der Patientin wesentlich beteiligt war, scheint durch zwei positive Immunitätsreaktionen erwiesen. Das am 1. Juni 1922 entnommene Serum der Patientin ergab mit einem Antigen aus der Bazillenkultur eine stark positive Komplementbindung, während 2 Kontrollsera vollkommen negativ reagierten; alle 3 Sera waren Wassermann-negativ.

Die Patientin gab am 2. Juni 1922 eine deutlich positive Intra-kutanreaktion mit einem Antigen, das aus der Bazillenkultur durch Abtöten bei 56° hergestellt war; auch hier war der Befund bei einer Kontrollperson vollkommen negativ.

Als Namen des neu entdeckten Bazillus schlage ich vor *Bacillus mucosus anaërobicus*.

#### Diskussion zu den Vorträgen 6—8.

F. Silberstein (Wien): Im Anschlusse an unsere Untersuchungen über das Gasödem haben wir im Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie in Wien festzustellen versucht, welche Bakterienarten als Erreger des Rauschbrandes der Rinder in unseren Alpenländern in Betracht kommen. Zu diesem Zwecke prüften wir Stämme, die wir aus Muskelstücken von an Rauschbrand gefallenen Rindern kultiviert hatten. Andere Stämme, die auch aus typischen Rauschbrandfällen stammten, verdankten wir der Liebenswürdigkeit von Dozent Dr. Gerlach, Direktor der staatlichen Tierimpfstoff-Gewinnungsanstalt in Mödling bei Wien. Endlich wurden aus Erdproben, die von sogenannten Rauschbrandweisen stammten, Anaëroben kultiviert. Die Bearbeitung dieser Stämme ergab, daß die Erreger des Rauschbrandes in unseren Gegenden nicht einheitlich sind. Sie zerfallen vielmehr in drei Gruppen: 1) *Bac. phlegmones-empysematosae* (Fränkel-Welch). 2) Bewegliche Bakterien, welche übereinstimmen mit dem, was wir „toxische“ Oedembazillen genannt haben, was Pfeiffer und Bessau in ihrem Schema als „Oedembazillen“ bezeichnen. 3) Bewegliche Bakterien, welche in vitro kein Toxin bilden. Ob und inwieweit diese Stämme identisch sind mit unseren „atoxischen“ Oedembazillen, resp. mit Pfeiffer und Bessaus „Paraödem-bazillen“, können wir derzeit noch nicht sagen. Jedenfalls läßt sich gegen die 2. Art, die bei uns am häufigsten vorzukommen scheint, leicht immunisieren. Die Methode der Wahl wird hierbei die Serovakzination sein, die ohne Beschwerden und mit gutem Erfolg versucht worden ist. Schwer läßt sich dagegen eine Immunisierung gegen die atoxische 1. und 3. Gruppe durchführen. Wir glauben, daß uns dies durch die Verwendung abgeschwächten, wenig virulenten Kulturmaterials gelungen ist. Jedenfalls sei hervorgehoben, daß in unseren Alpenländern der Weiderauschbrand der Rinder durch 3 verschiedene anaëroben Arten hervorgerufen wird. Darauf muß selbstredend bei jeder Schutzimpfung Rücksicht genommen werden.

Lang (Innsbruck): M. H.! Ich habe 1921 die Anaërobensammlung aus dem Nachlasse des 1911 verstorbenen E. v. Hibler-Innsbruck übernommen und eine größere Anzahl in Altona nach der Zeißlerschen Methode untersucht.

Soweit nicht einige Kulturproben abgestorben waren, ergab die Nachprüfung eine völlige Übereinstimmung mit den seinerzeit von v. Hibler gegebenen Beschreibungen. Nur die 2 noch lebenden Stämme seiner Art X (des Kochschen malignen Oedems) enthielten entsprechend einer schon vor 2 Jahren von Zeißler geäußerten Vermutung ein Gemisch des Kittschen Rauschbrandbazillus mit dem *Bac. sporogenes* Metschnikoff, bzw. mit dem nicht pathogenen *Bac. putrificus verrucosus*.

In der durch diese Untersuchungen festgestellten, fast restlosen Übereinstimmung der seinerzeit von v. Hibler gegebenen Beschreibung mit meinen jetzigen, im Zeißlerschen Institut erhobenen Befunden sehe ich einen glänzenden Beweis für die Richtigkeit und Zuverlässigkeit des von v. Hibler und Zeißler befolgten Arbeitsprinzips.

Die Beachtung der v. Hiblierschen Arbeiten und Methoden bei den Anaërobenuntersuchungen des Weltkrieges hätte die Literatur dieses Spezialgebietes weit über dem Niveau halten müssen, auf welches einerseits Unkenntnis der v. Hiblierschen Arbeiten, andererseits ihre bewußte Nichtbeachtung sie hat herabsinken lassen.

Jos. Koch (Berlin): Ich habe in dem bakteriologischen Kursus, den das Institut jedes Jahr vom 1. Okt. bis Ende Dez. abhält, eine Reihe von Jahren das Kapitel Anaeroben gelesen und dabei die Erfahrung gemacht, daß den Kursteilnehmern es recht schwer fällt, eine Reinkultur, z. B. des Tetanusbazillus, aus geeignetem Material zu gewinnen. Den Symptomkomplex des Wundstarrkrampfes bei der weißen Maus und dem Meerschweinchen hervorzurufen, gelingt mit gut gedüngter Gartenerde verhältnismäßig leicht. Schwierig ist die Isolierung des Tetanusbazillus aus dem Bakterien-gemisch an der Impfstelle. Ich habe die Infektion dadurch reiner gestalten können, daß ich ein kleines Stückchen ödematöser Muskulatur von der Peripherie der Impfstelle der der Tetanusinfektion erlegenen Maus exzidierte und einer 2. Maus unter die Rückenhaut schob. Impft man nach dem Tode dieses Tieres von dem äußersten Rande der Impfstelle, die natürlich möglichst aseptisch freigelegt werden muß, auf eine Pferdeblutagarplatte ab, so wird dadurch die Reinkultur vereinfacht. Der Tetanus-bazillus kriecht in der Form eines feinen, zarten, grauen Ueberzuges über die Blut-platte, die an der Stelle des Wachstums eine Spur von Hämolyse zeigt. Die Züchtung geschieht bei 37° unter Wasserstoffatmosphäre im Botkinschen Apparat.

E. Jacobsthal (Hamburg): Die Differenzierung der Anaeroben nach Zeißler ist ohne Zweifel von größtem Werte. So ist wenigstens, besonders wo doch die sero-logischen Methoden ziemlich versagen, ein beträchtlicher Schritt weiter gemacht.

Ich möchte Ihnen kurz über einen seltenen Fall einer Anaerobeninfektion berichten, wie er bisher noch nicht beschrieben ist. Bei einem Manne, der ohne einen besonderen Zwischenfall eine Beinamputation wegen diabetischer Gangrän durchgemacht hatte und bei dem die Wunde primär zu heilen schien, entwickelte sich nach 3 Tagen plötzlich innerhalb weniger Stunden ein knisterndes Oedem an der Absetzungsstelle; sehr schnell verschlechterte sich das Allgemeinbefinden, und es traten fern von der Wunde, z. B. am Halse, an der Brust, metastatische Oedemstellen auf. Tod etwa 5 Std. nach Beginn der 1. Erscheinungen. In den Ausstrichen und kulturell fand sich in Reinkultur der Kittsche Rauschbrandbazillus (Pararauschbrand). Herr Zeißler hat die Kulturen freundlicherweise mitgeprüft.

Ich möchte Ihnen bei dieser Gelegenheit über eine neue, einfache Methode zur Anaerobenzüchtung in flüssigen Kulturen berichten.

Von französischer Seite ist vor Jahren eine in Deutschland ziemlich unbekannt gebliebene Methode der Anaerobenzüchtung mitgeteilt worden, bei der das betreffende Bouillonröhrchen nach der Beimpfung durch einen Schlauch, der oben mit Watte versehen ist, geschlossen wird. Es wird nun ähnlich, wie wir es von der Trommerschen Zuckerprobe her gewohnt sind, die obere Schicht der Flüssigkeit in dem schräg gehaltenen Röhrchen über der Flamme so gekocht, daß zwar der untere Teil der Nährbouillon kühl bleibt, durch die entweichenden Dämpfe aber die Luft vertrieben und durch Wasserdampf ersetzt wird. Jetzt wird durch einen schraubbaren Quetschhahn der Schlauch verschlossen, indem man gleichzeitig die Erhitzung unterbricht, und das Röhrchen in kaltes Wasser stellt. Nachdem ich schon früher den Abschluß mit einer Arterienklemme gemacht habe, unterhalb deren man ganz in Ruhe den endgültigen Abschluß mit der Schraubklemme bewerkstelligen kann, habe ich nunmehr den ganzen Verschluß automatisch gestaltet. Ich benutze dazu das Prinzip des Fahrradventils (s. Fig. 1). Der Schlauch wird hierbei durch einen sich verjüngenden, oben geschlossenen Glaszylinder abgeschlossen, der ein feines Loch zum Durchtritt des Wasserdampfes hat. Ueber dieses Loch ist ringförmig ein Stückchen elastischen Gummischlauches gezogen. So kann zwar Dampf austreten, aber keine Luft eintreten.

Man kann derartige flüssige Kulturen nun nicht nur mit Nährbouillon, sondern auch mit Blutbouillon und Aszitesbouillon ansetzen, ohne daß beim Kochen eine Ge-

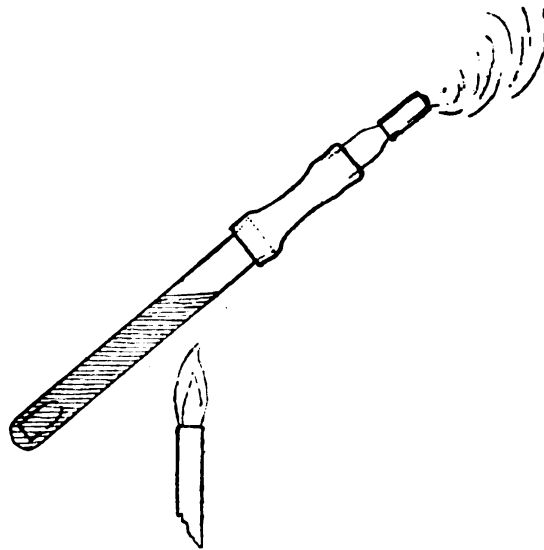


Fig. 1.

rinnung eintritt. Hierzu füllt man, nach Beimpfung der Bouillon mit einer feinen lang ausgezogenen Kugelpipette, in den untersten Teil des Reagenzglases den Aszites oder das Blut, so daß es also von der Bouillon überschichtet wird. Man kann auch, um die Strömungen in der Flüssigkeit zu verhindern, auf den Boden des Reagenzglases ein siebartig durchlöchertes Röhrchen von der Form einer umgekehrten Reagenzglas-kuppe hineingeben und in deren oberstes Loch die Spitze der Kugelpipette einführen. Nach der Herstellung des Vakuums in der oben beschriebenen Weise mischt man dann den gesamten Inhalt des Röhrchens durch Umschwenken.

Elkeles (Charlottenburg): Ich habe in 2 Fällen von Pleuraempyem einen Bazillus gefunden, der alle Kriterien des von Herrn Prausnitz beobachteten Bazillus aufweist. Alle 3 Stämme sind offenbar identisch mit dem von ungarischer Seite beschriebenen *Bac. pyogenes anaërobius*<sup>1)</sup>. In meinen Fällen konnte ich Schleimbildung nicht wahrnehmen, was aber nicht wesentlich sein dürfte, da Herr Prausnitz die Schleimbildung nur in künstlichen, bestimmt zusammengesetzten Nährböden beobachten konnte.

Lehmann (Würzburg).

v. Angerer (Erlangen).

Zeißler (Schlußwort): M. H.! Herr Prof. Mießner schloß seinen Vortrag mit dem Vorschlage, den *Bac. Chauveaui* nicht, wie ich es in der Ihnen vorliegenden Tabelle getan habe, als Fothschen Rauschbrandbazillus, sondern ohne weiteren Zusatz einfach als Rauschbrandbazillus (*Bacillus sarcophysematos*) zu bezeichnen, den von mir Kittschen Rauschbrandbazillus benannten Anaërobier dagegen als Pararauschbrandbazillus (*Bacillus parasarcophysematos*). Er begründete seinen Vorschlag mit der Analogie des Verhältnisses der beiden Rauschbrandbazillenarten zueinander mit dem des Typhusbazillus zum Paratyphus-(B-)Bazillus. Dieser Vergleich ist in jeder Hinsicht treffend, und den Mießnerschen Vorschlag der Artbezeichnung der beiden Keime als Rauschbrandbazillus (für den Fothschen B.) und als Pararauschbrandbazillus (für den Kittschen B.) halte ich für den besten Ausweg, aus der großen in dieser Frage herrschenden Verwirrung und Unsicherheit endlich und definitiv herauszukommen. Ich bitte Sie, in der Ihnen von mir vorgelegten Uebersichtstabelle die Namensänderung im Sinne Mießners sogleich vorzunehmen.

Prausnitz (Schlußwort).

### 9. Vortrag. W. Levinthal (Berlin):

#### Morphologie der hämoglobinophilen Bazillen und die Influenzafrage.

Der Rückblick auf die gesamte Influenzaforschung seit 1918 ergibt 2 Thesen über die Bedeutung des Pfeifferschen Bazillus: einmal ist bei den Fällen epidemischer Grippe der Influenzabazillus so gut wie regelmäßig am Sitz des Krankheitsprozesses nachzuweisen; andererseits aber wird der Mikrobe auch bei Nichtinfluenzakranken und Gesunden seit dem Beginn der Pandemie von Jahr zu Jahr häufiger gefunden. Den Beweis für die 1. Behauptung gibt auf Grund des ganzen internationalen Materials das Referat, das ich in Gemeinschaft mit K u c z y n s k i und Wolff im Lubarsch-Ostertag und als Buchausgabe veröffentlicht habe. Zur 2. These sei aus einer Arbeit von F e r n b a c h und mir in der Zeitschr. f. Hyg., die sich im Druck befindet, die Zusammenfassung zitiert:

In den Jahren 1919—1922 wurden Influenzabazillen von 4 verschiedenen morphologischen Typen (s. unten) insgesamt gefunden: bei Masern von 30 Fällen in 53,3 Proz., Keuchhusten von 27 Fällen in 55,6 Proz., Scharlach von 20 Fällen in 55,0 Proz., Diphtherie von 21 Fällen in 61,9 Proz., Tuberkulose von 25 Fällen in 48,0 Proz., bei Gesunden im Jahre 1921 von 28 Fällen in 71,4 Proz.

Werden zum Vergleich mit anderen Untersuchern nur die Typen I

1) Béla, Johan, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. H. 4.

und II, die charakteristischen Kurzstäbchen, berücksichtigt, so bleibt z. B. bei den Gesunden immer noch eine Ausbeute von 32,1 Proz. Bazillenträgern.

Die Lösung dieses Widerspruches ist auf zwei Wegen versucht worden: Die einen haben die Pfeiffersche Lehre von der ätiologischen Bedeutung des Influenzabazillus aufgegeben und einen Ausweg in der Annahme eines filtrierbaren Virus gesucht, während dann dem Grippebazillus nur die Rolle eines Mischinfizienten, des vielleicht wichtigsten Trabanten des Primärerregers, zukäme. Die zahlreichen Untersuchungen in dieser Richtung haben, wie das zitierte Referat zeigt, der Kritik und Nachprüfung nicht standgehalten; einzig die noch nicht abgeschlossenen Mitteilungen von Olitsky und Gates am Rockefeller-Institut über das *Bacterium pneumosintes* scheinen an Bedeutung und Exaktheit über die älteren Publikationen weit hinauszugehen.

Die andere Gruppe von Forschern betrachtet auch weiterhin im Sinne der Pfeifferschen Lehre den Influenzabazillus als das bakterielle Substrat der Krankheit, das jedoch nur in einer hochvirulenten Mutation jenen Grad von Pathogenität und Infektiosität besitzt, der für die Senche charakteristisch ist.

Diese Anschauung arbeitet also mit der Annahme einer weitgehenden Variabilität des Bakters, einer starken Labilität, besonders hinsichtlich seiner Virulenz. Serologische und biochemische Studien, vor allem amerikanischer Untersucher, haben nun in der Tat eine weitgehende Vielgestaltigkeit der Pfeifferschen Bazillen ergeben; und einzelne Befunde beweisen klar, daß es sich bei diesen differenten serologischen und biochemischen Merkmalen nicht um Eigenschaften heterogener Stämme, sondern um Erscheinungen eines Umwandlungsprozesses im Organismus der Infizierten handelt. Unsere eigenen Studien haben nun auch in morphologischer Beziehung eine Stütze für die Annahme einer ungewöhnlichen Labilität der hämoglobinophilen Bazillen geliefert. Wie die angekündigte ausführliche Darstellung in der Zeitschrift für Hygiene zeigen wird, konnten 4 verschiedene Typen unterschieden werden:

Typ I wird von uns als die Grundform der Pfeifferschen Bazillen betrachtet; er erscheint sowohl auf optimalen Nährböden wie in den Taupföpfchenkolonien der gewöhnlichen Blutplatte als winziges Kurzstäbchen von großer Gleichmäßigkeit, vergleichbar dem Bilde einer Melitensiskultur. Dieser „coccobacille de Pfeiffer“ der Franzosen wäre also als der echte Influenzabazillus aufzufassen.

Demgegenüber zeigt der Typ II bereits die Merkmale der Pleomorphie; zwar überwiegen auf Kochblutplatten (Levinthal-Agar) noch die Kurzstäbchenformen, aber schon diese besitzen eine Längsausdehnung, die die Breite merklich übertrifft. Der Stäbchencharakter ist also deutlich ausgeprägt, ja einzelne Exemplare erreichen beträchtliche Länge und wachsen zu schlanken, fädigen Gebilden aus. Noch intensiver wird diese Gesamtvergrößerung auf der gewöhnlichen Blutplatte, noch zahlreichere Scheinfäden steigern hier den Eindruck der Pleomorphie. Von jeher haben diese Scheinfäden als das Charakteristikum der Pseudo-Influenzabazillen gegolten.

Und diese Vielgestaltigkeit nimmt geradezu groteske Formen bei dem Typ III an und rechtfertigt die Bezeichnung als extreme Pseudiform, die sich mir schon vor der Pandemie aufgedrängt hat. Von winzigen kokkoiden Gebilden bis zu phantastischen dicken Schlingen und Schleifen finden sich sämtliche irgend denkbaren Uebergänge. Die Fäden können zu Knäueln verfilzt sein. Daneben erscheinen rundliche

Gebilde von Granulumgröße und geblähte Kugeln. Zwischen intensiv gefärbten Formen liegen bei allen Färbungsmethoden ganz blasse Exemplare, so daß also der extremen Pleomorphie eine gleiche Polychromasie parallel geht. Dabei ist bemerkenswert, daß der verschiedene Grad der Färbbarkeit nicht für bestimmte Formen charakteristisch ist; d. h. nicht die kurzen Stäbchen sind stark, die Fäden schwach tingiert oder umgekehrt, vielmehr erscheinen intensiv gefärbte und blasse Gebilde jeder Gestaltung bunt durcheinander gewürfelt. Auch hier geht die Intensität der Vielgestaltigkeit auf der Blutplatte oft noch erheblich weiter als auf optimalem Nährboden. Schon das mikroskopische Bild solcher Stämme drängt dem Beobachter den Eindruck auf, daß es sich hier um Degenerationsprozesse handelt; und diesem Eindruck entspricht die ganz regelmäßige Feststellung einer erheblichen Hinfälligkeit solcher Kulturen, die bei der Weiterzucht entweder sehr bald abreißen oder sich nach dem Typ I hin umwandeln.

Während Aussehen und Verhalten der Typen I—III auf den festen Nährmedien keinerlei makroskopischen Unterschied erkennen lassen, wird der Geübte schon auf der Kochblutplatte die Kolonien des Typ IV wenigstens in der Ausgangskultur zu diagnostizieren vermögen. Die großen Kolonien sind deutlich opaker, dichter strukturiert, Merkmale, die bei der Weiterzucht sehr bald der ganz klaren, strukturlosen Wuchsform echter Influenzabazillen Platz machen. Entscheidend wird aber das Verhalten auf Blutmischplatten; hier zeigen alle frisch gezüchteten Kulturen intensive Hämolyse, die wie bei stark hämolytischen Streptokokken den Blutfarbstoff komplett auflöst und zu vollständiger Aufhellung des Nährbodens führt. Für die Beobachtung dieser Hämolyse erweist sich Kaninchenblut dem Pferdeblut als erheblich überlegen. Bei Weiterzucht über Monate hin verhalten sich die Stämme recht verschieden; während die einen keinerlei Verminderung in der Produktion ihres Hämolsins erkennen lassen — wenigstens bisher —, besitzen wir Stämme, die nach etwa 3 Monaten Fortzucht bei zweitägiger Weiterimpfung ihre hämolytische Fähigkeit mehr und mehr einbüßen und schließlich fast völlig verloren haben. Das mikroskopische Bild dieses von Pritchett und Stillman im Jahre 1918 zuerst aus Rachensekret isolierten „Bazillus X“, dem ich in der deutschen Literatur noch nirgends begegnet bin, entspricht etwa dem der extremen Pseudof orm mit recht verschieden starker Fäden- und Kugelbildung der einzelnen Stämme. Der Grundstock wird von derben, geraden oder leicht gekrümmten Bazillen gebildet, die nicht selten an einem oder beiden Enden konidienähnliche Knöpfchen tragen; neben dieser Hauptform finden sich einerseits wieder Granula, Stäbchensplitter und geblähte Kugelgebilde, andererseits lange, schlanke, stark oder blaß gefärbte Scheinfäden oder dicke Schleifen und Schlingen jeden Farbgrades. Monatelange Fortzucht führt auch beim Typ IV zu einer Vereinheitlichung und Verfeinerung der Kulturen. Auch dem Typ IV eignet, wie schon Pritchett und Stillman bemerken, große Hinfälligkeit; die Kulturen müssen etwa alle zwei Tage abgeimpft werden. Gemeinsam allen vier Typen ist die Wuchsform in Influenzabuillon, in der reines Bodensatzwachstum ohne Trübung der überstehenden Flüssigkeit auftritt; die Morphologie der Bazillenkulturen entspricht dem Bilde der Stämme auf Agar.

Beobachtet man Kulturen der verschiedenen Typen über längere Zeiträume hin, so läßt sich die enge Zusammengehörigkeit der Typen I bis III leicht erweisen. Auf optimalen Nährböden gelingt mühelos die Umzüchtung der Pseudo- und extremen Pseudoformen zum Typ I.

Nicht so eindeutig sind die Beziehungen des Typ IV zur Gruppe der Influenzabazillen. Seine Umwandlung bis zur echten Grundform ist bisher noch nicht geglückt. Doch konnte durch serologische Untersuchungen und vor allem durch das Studium des Phänomens der Symbiose auf Blutplatten, des sogenannten „Satellitismus“, der Beobachtung von Riesenkolonien durch Ammenbakterien, im Sinne der Feststellungen von Davis die Zugehörigkeit auch des Bazillus X zur Gruppe der Influenzabazillen sichergestellt werden. Auch hier muß auf die ausführliche Publikation verwiesen werden.

Die vom Grundtyp abweichenden Typen II—IV deuten wir also als Varianten einer einzigen Spezies, die unter dem Einfluß von Immunitätsvorgängen im Organismus der Infizierten entstehen. Der Typ IV im besonderen muß nach unseren Untersuchungen als die für den Rachen charakteristische Standortsvarietät aufgefaßt werden.

So beweisen diese morphologischen Feststellungen die außerordentliche Labilität der hämophilen Bakterien und stützen die Annahme einer besonderen Variabilität auch des Virulenzgrades. Die oben formulierte ätiologische Anschauung im Sinne der Lehre Richard Pfeiffers gewinnt so eine festere Grundlage.

---

#### 10. Vortrag. Seitz (Leipzig):

##### **Die Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle.**

Die Vielgestaltigkeit der Streptokokken der Mundhöhle hat trotzdem im Laufe der Zeit die Festlegung einiger Typen gestattet. Ebenso wie schon Lingelsheim feststellte, daß der Formenkreis der gewöhnlichen Streptokokken im Munde, die man als *Streptoc. longissimus*, *conglomeratus* usw. getrennt hatte, sich als Modifikationen des *Streptoc. longus* präsentieren, sind auch die zugespitzten Formen der Streptokokken, die Lanzettkokken, als *Streptococcus lacticus* von Kruse zusammengefaßt worden. Eine ziemliche Pleomorphie ist auch diesen eigen; Uebergänge sowohl zu dem einfachen runden *Streptoc. pyogenes*, wie auch zu dem *Diploc. pneumoniae* lassen sich nicht selten nachweisen.

Wenn man sich eingehender mit der Bakteriologie der Zähne und des Mundes befaßt, drängen sich einem dennoch morphologische und biologische Differenzen gerade innerhalb der zugespitzten Kokken auf, welche, mehr als Zufallsbefunde, eine gewisse Einteilung dieser Streptokokken gestatten. Schon was die morphologischen und kulturellen Punkte angeht, machten wir bei mehreren Dutzend Stämmen von Lanzettkokken, welche wir isolierten (30 aus der Mundhöhle und 20 aus der Tiefe aseptisch aufgesprengter und an der Oberfläche desinfizierter Zähne mit kariösen Defekten), die Beobachtung, daß sich durchweg in der freien Mundhöhle und Schleimhaut ein Typ von Lanzettkokken findet, den man in den tiefen kariösen Prozessen nicht wieder antrifft. Es ist der Typus desjenigen *Streptoc. lacticus* Kruse, der sich nähert dem Hauptmilchsäureerreger in Milchprodukten: ein dicker grampositiver zugespitzter *Diplococcus*, der im primären Ausstrich keine oder nur ganz kurze Ketten bildet, bis zu 6 Gliedern, eine Eigenart, die er bei längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden allerdings aufgibt.

Hier zeigt er große Variabilität in Größe und Form; in Traubenzuckerbouillon bringt er lange Ketten von 10, manchmal von 12—16 Gliedern hervor, und auch das einzelne Korn der Kette ist nicht mehr von der Kerzenflammengestalt, kann vielmehr absolut die Form runder Kokken annehmen. Das Wachstum der einzelnen Kolonien auf der Traubenzucker-Agarplatte ist üppig, die Farbe gelblich, die Kolonie nicht durchscheinend, vielmehr, besonders im Zentrum, opak und leicht gekörnt. Neben dieser kulturellen Verschiedenheit kommt diesen, dem Typus der Lanzettkokken in Milch angehörenden Formen, welche wir als H-Typus des *Streptoc. lactic.* bezeichnen möchten, eine weitere Eigenschaft

Tabelle 1.

Stämme	Hämolyse auf Oxyhämoglobinplatte Kaninchen- oder Hammelblut 7,5 Proz.			Hämolyse auf Methämoglobinplatte wie nebenan		Stämme	Hämolyse auf Oxyhämoglobinplatte 7,5 Proz.		Hämolyse auf Methämoglobinplatte	
	nach 12 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup> 2×	nach 12 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup>		nach 12 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup> 2×	nach 12 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup> 2×
H <sub>1</sub>	0	0	+	+	++	Zs	0	0	0	+
H <sub>2</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	ZK	0	0	0	0
H <sub>3</sub>	0	0	+	+	++	ZF <sub>1</sub>	0	0	0	0
H <sub>4</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	ZF <sub>2</sub>	0	0	0	0
H <sub>5</sub>	0	+	+	+	++	ZR	0	0	0	0
H <sub>6</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	ZS <sub>1</sub>	0	+	+	+
H <sub>7</sub>	0	0	+	+	++	ZKu	0	0	0	0
H <sub>8</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	Z <sub>42</sub>	0	+	+	+
H <sub>9</sub>	0	0	0	+	++	ZH	0	0	0	0
H <sub>10</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	Zgr	0	0	0	0
H <sub>11</sub>	0	0	0	+	++	SS <sub>2</sub>	0	+	+	0
H <sub>12</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	ZS <sub>2</sub>	0	0	0	0
H <sub>13</sub>	0	0	+	+	++	ZS <sub>4</sub>	0	0	0	0
H <sub>14</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	ZS <sub>5</sub>	0	0	0	0
H <sub>15</sub>	0	0	+	+	++	ZS <sub>6</sub>	0	0	0	0
H <sub>16</sub>	0	0	0	+	Braungelbe Aufhellung	Zschr	0	0	0	0
H <sub>17</sub>	0	0	0	+	++	Z <sub>17</sub>	0	0	0	0
H <sub>18</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	Z <sub>18</sub>	0	0	0	0
H <sub>19</sub>	0	0	+	+	++	Z <sub>19</sub>	0	0	0	0
H <sub>20</sub>	0	0	+	+	Braungelbe Aufhellung	Z <sub>20</sub>	0	0	0	0



zu, das ist ihr abweichendes Verhalten bei der modifizierten Gramfärbung. Bei Hunderten von Präparaten stellten wir immer wieder fest, daß diese großen Lacticus-Typen das gleiche Verhalten zeigen, wie etwa die Pseudodiphtheriebazillen verglichen mit den Diphtheriebazillen, d. h. sie vertragen die protrahierte Alkoholeinwirkung viel länger, entfärben sich nicht, als die übrigen Lacticus-Formen, die wir in der Mundhöhle antreffen. Ein weiteres abweichendes Verhalten, aber kultureller Art, zeigt dieser H-Typus ferner in seinem hämolytischen Verhalten, wie aus vorstehender Tabelle 1 hervorgeht.

Während er auf gewöhnlicher Blutplatte keine oder kaum Hämolyse zeigt, weder bei Kaninchen- noch Hammelblutanwendung in der üblichen 7,5-proz. Konzentration, änderte sich das Bild erheblich bei der Verwendung der Methämoglobinplatte. Hier wurde schon nach 12 Std. eine beginnende Aufhellung konstatiert, die nach 24 Std. zu einer kompletten hellbraungelben Verfärbung der vorher dunkelbraunen Methämoglobinplatte führte.

Wesentlich anders nun der Typus, der aus der Tiefe von kariösen Zähnen isoliert wird. Verglichen mit dem Lacticus-Typ der freien Mundhöhle sind es fast immer schlanke zugespitzte Diplokokkenformen, die hier vorherrschen, die bereits im primären Ausstrich reichlichere Kettenbildung verraten. In Traubenzuckerbouillon bildet dieser Typ — den wir als Z-Typ des Lacticus bezeichnen möchten — ganz lange Ketten von manchmal 16—20 Gliedern; kommen auch Uebergänge vor, so sind es doch durchweg zahlreichere Elemente die eine Kette ausmachen, als bei dem H-Typ aus dem freien Halsrachenraum und der Mundhöhle. Einzelne Diplokokken werden hier kaum beobachtet. Das Wachstum der Kolonie auf der Traubenzucker-Agarplatte war langsamer, als beim H-Typ, die Kolonie selbst glatt, glänzend und durchscheinend. Weitere Eigenheiten des Wachstums in den verschiedenen Kulturmedien, die zu einer Differenzierung hätten herangezogen werden können, ergaben sich nicht.

Das Wachstum auf Traubenzucker-Agarplatte war viel üppiger als auf gewöhnlicher Agarplatte, keine Gasbildung, keine Verflüssigung der Gelatine. Manche Stämme bildeten den bekannten krümeligen Bodensatz in Bouillon; wieder andere, morphologisch sich im übrigen genau so verhaltend, trübten gleichmäßig die Fleischbrühe, die Milch gerann stets in den ersten 24 Std. Die Säurebildung (Rechtsmilchsäure) war bei allen ausgeprägt, sie schwankte quantitativ nur in geringen Grenzen.

Wir suchten daher auch hier nach anderen differenzierenden Unterscheidungsmerkmalen und fanden diese in dem Verhalten auf der Blutplatte, resp. Methämoglobinplatte. Wie aus der Tabelle hervorgeht, besitzen hämolytisches Vermögen die Z-Stämme Lacticus aus Zähnen so gut wie gar nicht. Bis auf 3 Stämme ( $Z_s$ ,  $Z_{s_1}$ ,  $Z_{s_2}$ ), welche nur in geringfügiger Weise die Oxyhämoglobinplatte hämolysierten und auch die empfindlichere Methämoglobinplatte kaum angriffen, besitzen die Z-Stämme im Gegensatz zu den H-Stämmen (aus der freien Mundhöhle gezüchteten) kein hämolysierendes Vermögen. Wir besitzen also in der Anwendung dieses empfindlicheren Blutdifferentialnährbodens eine weitere Möglichkeit, eine Trennung zwischen den Lacticus-Typen H und Z vorzunehmen.

Eine bequeme und sichere Unterscheidung der Pneumokokken von Streptokokken gibt die Probe mit taurocholsaurem Natrium nach Händel und Neufeld. Die Pneumokokken werden sofort aufgelöst, während die Streptokokken noch lange gut sichtbar sind. Es lag nahe, diese

Methode auch anzuwenden auf die Differenzierung unserer Lacticus-Streptokokken. Aus Tab. 2 ist das Resultat einiger Auflösungsversuche

Tabelle 2.

++ = Komplette Auflösung im häng. Tropfen. + = Auflösung. Klarwerden der Bouillon. 0 = keine Auflösung.

	Zeit	HII	H <sub>19</sub> <sup>a</sup>	H <sub>19</sub> <sup>b</sup>	H <sub>9</sub> <sup>a</sup>	H <sub>15</sub>	H <sub>9</sub> <sup>b</sup>	Z <sub>18</sub>	Z <sub>20</sub>	Z <sub>19</sub>	Z <sub>17</sub>	Spv	Spvi	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>	M <sub>6</sub>	M <sub>7</sub>	M <sub>8</sub>	M <sub>9</sub>	
Taurochols. Natr.	10'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	60'	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	0
	24 <sup>b</sup>	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+
	2×24 <sup>b</sup>	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+
3×24 <sup>b</sup>							0	0	0	0	0	0			0		0	0	0				
Salzsaure Pepsinlös.	10'	0	0	0	0	0	0							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30'	0	0	0	0	0	0							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	60'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12 <sup>b</sup>	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	24 <sup>b</sup>	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0										
	2×24 <sup>b</sup>							0	0	0	0	0	0										
3×24 <sup>b</sup>																							

Taurochols. Natrium: 1 ccm einer 10-proz. Lösung + 1 Tropfen frischer, 24-stünd. Bouillonkultur, bei 37°.

Salzsaure Pepsinlösung: { Salzsäure 2 Proz. } 1 ccm der 2-proz. Lösung + 1 ccm 24-stünd. Pepsin 2 Proz. } Bouillonkultur, bei 37°.

ersichtlich: die Z-Stämme zeigten keine Beeinflussung, auch nicht nach 3mal 24 Std., während die Lacticus-Stämme aus Mund, Rachen und Halshöhle (H-Stämme) schon nach 24 Std. eine beginnende Auflösung zeigten, die nach 2mal 24 Std. die Aufschwemmung vollständig geklärt hatte. Verwandt wurden nur frisch isolierte Kulturen. Vergleichsweise zogen wir auch aus Milch isolierte Streptoc. lacticus-Stämme heran, in der Tabelle als M-Stämme bezeichnet. Bei diesen durchweg äußerst plumpen Lanzettkokken war im allgemeinen eine weit geringere Festigkeit gegen auflösende Agentien festzustellen, was sie auch in dieser Beziehung den Pneumokokken zu nähern scheint; manche Stämme zeigten Auflösung nach 12 Std., während andere noch nach der 3-fachen Zeit unbeeinflusst sich zeigten. Als wir 2-proz. salzsaure Pepsinlösung mit in den Bereich der Untersuchung zogen, stellten sich ähnliche Unterschiede im Auflösungsvermögen heraus. Stets zeigten sich die aus der Tiefe kariöser Zähne isolierten Lacticus-Formen unbeeinflusst, während die Halsrachenraum-Lacticus-Formen nach 12 Std. aufgelöst waren. Rascher verfielen übrigens bei Pepsinprüfung noch die aus Milch isolierten Lacticus-Stämme der Auflösung, hier war nach einer Stunde durch die salzsaure Pepsinlösung die Auflösung vollkommen.

Alle Untersucher, welche sich an der Trennung der verschiedenen Lanzettkokken des Mundes versuchten, wie Nieter, Jähle, Hilgers, betonen mit Recht, wie die Agglutination hier versagt. Der übliche Weg ist hier nicht gangbar wegen der schlechten Verreibbarkeit der Stämme und der Quellungserscheinungen, welche sie den Pneumokokken in dieser Hinsicht nähern. Kommt hinzu, daß die Spontanagglutination

der Stämme eine äußerst große ist. Wir versuchten durch Milch- und Tierpassage dieselbe aufzuheben, jedoch ohne Erfolg. Offenbar hängt die mangelhafte Agglutininbildung und Agglutinabilität mit der geringen Pathogenität der Lacticus-Streptokokken zusammen und herrschen hier ähnliche Verhältnisse wie bei den Pneumokokken, wo — wie wir hauptsächlich durch die Untersuchungen von Neufeld wissen — avirulente Kulturen kaum beeinflußt werden, virulente dagegen wohl, im Gegensatz zu dem, was wir von den gewöhnlichen Streptokokken wissen, wo ja das umgekehrte Verhältnis herrscht.

Wir versuchten daher, ob nicht auf dem Wege der komplementbindenden Antikörper eine weitere Trennung der in Frage kommenden Streptoc. lacticus-Arten sich ermöglichen ließe. Die Gewinnung des Antiserums erfolgte durch langsame Immunisierung mit schließlich massiven Dosen von Kaninchen mit ursprünglich 6 verschiedenen Stämmen unserer Z- und H-Lacticus-Rassen. Leider gingen uns durch interkurrente Krankheiten einige Kaninchen ein, so daß uns verblieben 4 Antisera jeder Spezies, die wir mit Streptococcus lacticus-Kulturaufschwemmungen H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>8</sub>, H<sub>9</sub>, sowie Z<sub>17</sub>, Z<sub>18</sub>, Z<sub>19</sub>, Z<sub>20</sub> als Antigen in Verdünnung 1:500 prüften. Nähere Anordnung ergibt sich aus dem Protokoll (Tab. 3). Es ergibt sich also eine deutliche Hemmung bei Prüfung der Seren nicht nur mit ihren homologen Stämmen, sondern auch mit allen Stämmen, die sich vorher als artverwandt gezeigt hatten. Ein geringes Uebergreifen auf die anderen Sera war nur gelegentlich, und dann nur bei den ganz schwachen Verdünnungen zu beobachten. Konnten wir auch nicht alle 20 Stämme durchprüfen, so gestatten die erzielten Resultate mit den herangezogenen Stämmen doch immerhin den Schluß, daß hier offenbar eine Trennung in Verwandtschaftsgruppen möglich ist durch die Komplementbindung. Weitere Aufklärung hierüber erhofften wir von dem Leukinversuch. Vor kurzem berichtete Bogen-dörfer aus dem Schottmüllerschen Laboratorium (München. med. Wochenschr. 1921. Nr. 35) von interessanten Versuchen, die einzelnen Streptokokkenarten auf Grund ihres Verhaltens gegenüber den bakteriziden Leukozytenkräften zu trennen. Wir hielten uns wesentlich an die Versuchsanordnung Schneiders (Arch. f. Hyg. Bd. 75), verwendeten aber Meerschweinchenleukozyten. Die Leukozyten wurden gewonnen durch Injektion von 20 ccm Bouillon-Aleuronat in die Meerschweinchenbauchhöhle. Zu je 150 mg mehrfach gewaschener Leukozyten kommen 0,25 Kochsalz und 0,25 Traubenzuckerbouillon. 0,5 ccm wurden mit 1 ccm Kochsalz versetzt und auf 4 Röhrchen verteilt. In jedes Röhrchen kommen dann 1 Tropfen normalen Meerschweinchen-serums, ferner 1 Tropfen einer Kulturaufschwemmung, gewonnen durch Beimpfung von 10 ccm Bouillon mit einem Tropfen einer 2mal 24-stünd. Kultur. Bebrütung für 6 und 12 Std. bei 37°, darauf Traubenzuckeragar-Plattenguß, Zählung nach 24 Std. (Tab. 4).

Wir glauben, den Schluß aus den Versuchen in Tab. 4 ziehen zu dürfen, daß sich die aus den Zähnen isolierten Lacticus (Z)-Stämme offenbar wesentlich resistenter verhalten gegen die Leukozytenstoffe, als die gleichartig geprüften H-Stämme aus der Mundhöhle. Bei diesen letzteren ist eine Einwirkung der Leukine unverkennbar, die Abnahme der Keimzahl nach 6 Std. sehr deutlich, während die entsprechend geprüften Z-Stämme beträchtlich höhere Keimzahlen aufweisen.

Der Versuch, auf Grund der Tierpathogenität eine Trennung zwischen den beiden Lacticus-Typen vorzunehmen, ergab keine eindeutigen

Tabelle

Immunserum- kontr. 1 : 10 Ambozeptor- dosis 0,5, 1 : 4000 Komplement- dosis 0,5, 1 : 10	Antigen H <sub>4</sub> (1 : 500)						Antigen H <sub>6</sub> (1 : 500)						Antigen H <sub>9</sub> (1 : 500)						Antigen H <sub>10</sub> (1 : 500)											
	Serum	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000					
Serum Z <sub>20</sub>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	H <sub>4</sub> K.	N.S. K.	E.K.	Im.S. K.			H <sub>6</sub> K.	N.S. K.	E.K.	Im.S. K.			H <sub>9</sub> K.	N.S. K.	E.K.	Im.S. K.			H <sub>10</sub> K.	N.S. K.	E.K.									
Serum Z <sub>19</sub>	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Serum Z <sub>18</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Serum Z <sub>17</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Serum H <sub>9</sub>	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Serum H <sub>8</sub>	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Serum H <sub>5</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Serum H <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Serum H <sub>5</sub> mit M - Stamm- Antigen (= Milchstäm.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ser. Z <sub>18</sub> (mit 6 H-Antig.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ser. H <sub>9</sub> (mit 6 M-Antig.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Milchstämme M <sub>1</sub> , M <sub>4</sub> , M <sub>8</sub> , M <sub>6</sub> , M <sub>7</sub> , M <sub>9</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Resultate. Sämtliche im Mäuseversuch geprüften H- und Z-Stämme erwiesen sich überhaupt nur in ganz großen, 3 ccm 8-täg. Bouillon-Kultur Dosen intraperitoneal, für Mäuse virulent. Etwas größere Virulenz scheinen die Z-Stämme zu besitzen, wenigstens war hier eine Mortalität von 30 Proz., gegen 25 Proz. bei den mit den H-Stämmen injizierten Tieren, festzustellen. Auch eine einwandfreie Steigerung der Virulenz durch Mäusepassagen war mit keinem der beiden Lacticus-Typen zu erzielen.

Wir möchten hier noch über Resultate berichten, welche wir erzielten mit dem Versuch, durch Milchsäurezusatz zu den beschriebenen

Antigen Z <sub>17</sub> (1 : 500)						Antigen Z <sub>18</sub> (1 : 500)						Antigen Z <sub>19</sub> (1 : 500)						Antigen Z <sub>20</sub> (1 : 500)										
1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000					
+	N.S.	E.K.	Im.S. K.	-	-	Z <sub>17</sub> K.	N.S.	E.K.	Im.S. K.	-	-	Z <sub>18</sub> K.	N.S.	E.K.	Im.S. K.	-	-	Z <sub>19</sub> K.	N.S.	E.K.	Im.S. K.	-	-	Z <sub>20</sub> K.	N.S.	Im.S. K.	-	-
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Tabelle 4.

Stamm H <sub>4</sub> Keime in 0,5 ccm			Stamm H <sub>5</sub> Keime in 0,5 ccm			Stamm H <sub>6</sub> Keime in 0,5 ccm			Stamm H <sub>7</sub> Keime in 0,5 ccm			Stamm H <sub>8</sub> Keime in 0,5 ccm				
Kontrolle (ohne Leukozyt.)	nach 6 Std.	nach 13 Std.	Kontrolle (ohne Leukozyt.)	nach 6 Std.	nach 12 Std.	Kontrolle (ohne Leukozyt.)	nach 6 Std.	nach 12 Std.	Kontrolle (ohne Leukozyt.)	nach 6 Std.	nach 12 Std.	Kontrolle (ohne Leukozyt.)	nach 6 Std.	nach 12 Std.		
	Einwirkung			Einwirkung			Einwirkung			Einwirkung			Einwirkung			
∞	4000 Keime	1800 Keime	∞	2000 Keime	1500 Keime	∞	13000 Keime	8000 Keime	7950 Keime	∞	10000 Keime	5800 Keime	5000 Keime	∞	4000 Keime	1500 Keime
	sofort 100 Keime				sofort 180 Keime			sofort 90 Keime			sofort 240 Keime			sofort 190 Keime		
Stamm Z <sub>17</sub>			Stamm Z <sub>18</sub>			Stamm Z <sub>19</sub>			Stamm Z <sub>20</sub>			Stamm Z Groß				
∞	15000 Keime	9000 Keime	∞	500 Keime	12000 Keime	∞	8000 Keime	5000 Keime	5500 Keime	∞	16000 Keime	9000 Keime	∞	25000 Keime	7000 Keime	1200 Keime
	sofort 400 Keime				sofort 250 Keime			sofort 300 Keime			sofort 100 Keime			sofort 120 Keime		

Tabelle 5. Milchsäureversuche. Je 4,5 ccm Bouillon + 0,5 Milchsäure beimpft, und 24 Std. bei 37°. Injiziert je 0,5 ccm ip.

	I. 10-proz. Milchsäure	II. 1-proz. Milchsäure	III. 0,1-proz. Milchsäure	IV. 0,01-proz. Milchsäure	Kontrollat 0,5 ccm ip. 24-stünd. Boh Milchsäure
Z <sub>14</sub>	† nach 12 Std. Netz injiziert. Im Herzblut u. Periton. Z <sub>14</sub>	† nach 12 Std. Geringes Exsud. Im Herzblut Z <sub>14</sub>	† nach 3 Tagen. Exsudat ohne Befund	† nach 12 Std. In Herzbl. u. Periton. Z <sub>14</sub>	† nach 4 Tagen Im Exsud.
Z <sub>20</sub>	† nach 12 Std. Etwas Exsud. Aus Herzblut Z <sub>20</sub>	† nach 12 Std. Ohne Befund		† nach 24 Std. Exsudat Z <sub>20</sub>	lebt!
Spv	† nach 12 Std. Netz injiziert. Exsudat. Im Bauchr. Spv	lebt!	† nach 12 Std. Exsudat im Periton. ohne Befund	lebt!	† nach 6 Tagen Ohne Befund
Z <sub>17</sub>	† nach 48 Std. Im Herzbl. u. Periton. Z <sub>17</sub>	† nach 48 Std. Im Herzbl. u. Periton. Z <sub>17</sub>	† nach 4 Tagen. Exsudat gering Z <sub>17</sub> rein	† nach 3 Tagen. Im Herzblut Z <sub>17</sub>	lebt!
SpVI	† nach 3 Tagen. Im Herzblut SpVI	† nach 3 Tagen. Im Exsudat SpVI	lebt!	† nach 6 Tagen. Ohne Befund	† nach 7 Tagen
H <sub>4</sub>	† nach 24 Std. Im Exsudat H <sub>4</sub>	† nach 3 Tagen. Im Herzblut H <sub>4</sub>	† nach 3 Tagen. Ohne Befund	lebt!	lebt!
H <sub>2</sub>	† nach 48 Std. In Herzbl. u. Periton. H <sub>2</sub>	† nach 48 Std. Geringes Exsud. mit H <sub>2</sub>	lebt!	lebt!	lebt!
H <sub>3</sub>	† nach 12 Std. Im Exsud. u. Herz H <sub>3</sub>	† nach 48 Std. In Herzbl. u. Periton. H <sub>3</sub>	lebt!	† nach 3 Tagen. Im Herzblut H <sub>3</sub>	† nach 6 Tagen Ohne Befund Etwas Exs.
H <sub>19</sub>	† nach 48 Std. Im Exsudat H <sub>19</sub>	† nach 48 Std. Im Herzblut H <sub>19</sub>	† n. 3 Tag. In Herzblut u. Exsud. H <sub>19</sub>	† nach 3 Tagen. Ohne Befund	lebt!
H <sub>1</sub>	† nach 12 Std. Im Exsudat H <sub>1</sub>	† nach 48 Std. Im Exsudat H <sub>1</sub>	lebt!	† nach 3 Tagen. Im Herzblut H <sub>1</sub>	lebt!

Kontrollen Milchsäure allein: Je einer Maus ip. 0,5 ccm einer 10-proz. und 1-proz. Milchsäurelösung, werden vertragen!

Stämmen auffiel, war ihre veränderte Gestalt, und zwar waren es vor allem die aus der Tiefe kariöser Zähne isolierten „Z“-Stämme, welche diese Eigentümlichkeit zeigten. Im mikroskopischen Bilde zeigten sich Stäbchen von mittlerer Stärke, mit abgerundeten Enden, einzeln aber auch in Stacketform gelagert, manchmal kommaförmig gekrümmt. Einzelne dieser Stäbchen zeigten die Tendenz, in gewundene Fadenform überzugehen; ab und zu sieht man Einschnürungen an ihnen. Gut erhaltene Lacticus-Formen waren neben ihnen festzustellen.

Außer, daß diese Stäbchen auf allen Nährböden bedeutend spärlicher wuchsen als der *Streptoc. lacticus* und viele von ihnen eine stärkere Milchsäureproduktion zeigten als die zugespitzten Formen, konnten im kulturellen und biologischen Verhalten kaum Unterschiede festgestellt werden zwischen dem typischen *Streptoc. lacticus* und seiner Stäbchenvariation. Daß es sich tatsächlich um eine solche handelt, stellten wir bei Nachprüfungen auch mit den H-Stämmen fest. Bei manchen von diesen gelang es nach 4maliger Passage in 1-proz. Milchsäure-Traubenzuckerbouillon dieselbe Gestaltsvariation zu erzielen. Auf gewöhnlichen Nährboden zurückgebracht, Traubenzuckerplatte oder Bouillon, zeigten sie bei 2-täg. Ueberimpfung schon nach 1 Woche allmählich wieder ihre normale zugespitzte Gestalt. Es ist anzunehmen, daß sich ganz ähnliche Gestaltsvariationen nun auch innerhalb des kariösen Zahngewebes selbst abspielen, wo diese ständige Säureeinwirkung vorwiegend von Milchsäure, gelinder Art, stattfindet; nebenher geht auch eine nicht zu unterschätzende Bildung von Essigsäure und Buttersäure. In der Tat können wir diese grampositiven Stäbchen, die wir in den Dentinkanälchen durch Schliffe, sowie durch Züchtung direkt aus dem Bohrstaub kariöser Zähne mannigfach nachweisen können, auch wieder auf Traubenzuckerplatte in die Lanzettkokkenform überführen, deren sie im Zahngewebe leicht verlustig gehen.

Diese grampositiven schlanken Stäbchen in den Dentinkanälchen sind als Standortsvarietät des *Streptococcus lacticus* anzusprechen.

#### Schlußfolgerungen.

Morphologische und kulturelle Merkmale gestatten es, innerhalb der Lanzettkokken der Mundhöhle Typen zu unterscheiden, deren Trennung auch in Komplementbindung und Leukinversuch Stützen findet.

Neben dem *Streptococcus lacticus* Kruse kommt auch eine stäbchenförmige Standortsvarietät desselben in den Dentinkanälchen vor.

Im Mäuseversuch sind beide Typen nur schwach pathogen.

Durch Milchsäurekultur gelingt es jedoch, den beiden „H“- und „Z“-Typen des *Streptococcus lacticus* des Mundes eine gewisse Virulenz zu verleihen.

#### 11. Vortrag. W. Bieber (Marburg):

##### Neue Versuche über Diphtherie-Schutzimpfung mit einem modifizierten Behringschen TA.

Die aktive Immunisierung gegen Diphtherie hat bisher wenig Eingang in die menschliche Praxis gefunden, trotzdem 2 Tatsachen sie aussichtsvoll erscheinen lassen. Zunächst liegen schon längere Zeit ein-

gehende Untersuchungen aus der Praxis darüber vor, daß mit den alten Behringschen Methoden, die auf dem Kongreß für innere Medizin im Jahre 1913 der Öffentlichkeit übergeben worden waren, in den meisten Fällen ein ausreichender Schutz gegen Erkrankung erzielt wurde. So konnte ich nachweisen, daß im Regierungsbezirk Magdeburg innerhalb von 6 Jahren von 3275 nicht immunisierten 15 Proz., von 633 mit dem Behringschen Vakzin regelrecht geimpften Kindern dagegen nur 3,3 Proz. erkrankten. — Zweitens ist der Mensch nach meinen Erfahrungen im allgemeinen ein ausgezeichnetes Immunisierungsobjekt gegen das Diphtherietoxin. Nach 1—2maliger Behandlung mit einem geeigneten Toxin-Antitoxingemenge ist das Auftreten von 10—20 und noch mehr Antitoxineinheiten in 1 ccm Blut keine Seltenheit. So wies ein junges Mädchen, das  $\frac{1}{100}$ fach normales Serum hatte, 8 Wochen nach der einmaligen Injektion eines neuen TA.-Präparates 100 Antitoxineinheiten in 1 ccm Serum auf. Es fand also eine Titersteigerung um das 10000fache statt. Trotzdem derartige epidemiologische und experimentelle Erfahrungen, die ja zusammen gehören, vorliegen, bedient man sich der TA.-Impfung nur selten im Kampf gegen die Diphtherie. Woran liegt das?

Die therapeutische Serumbehandlung hat die Diphtherie nicht zum Verschwinden gebracht. Auch in prophylaktischer Hinsicht hat die passive Immunisierung mit heterogenem Antitoxin nur beschränkten Wert, da der Schutz nur etwa 3 Wochen dauert. Wo es sich darum handelt, unmittelbar diphtheriegefährdete Personen sofort zu schützen, da wird die Applikation von fertigem Antitoxin stets am Platze sein. Sie muß aber dort versagen, wo es gilt, Kindern eine über längere Zeit anhaltende Diphtherieimmunität zu verleihen. Dieser Mangel der Serumbehandlung dürfte das Bestreben, durch aktive Immunisierung einen Impfschutz zu erlangen, welcher eine ganze Epidemieperiode überdauert, nicht nur rechtfertigen, sondern geradezu als dringend geboten erscheinen lassen.

Die bisher in Deutschland am meisten angewandten Präparate zur aktiven Diphtherieimmunisierung des Menschen waren das Behringsche TA. VI und TA. VII. Beide enthielten einen Toxinüberschuß. Gegen die Präparate war von einer Seite die Möglichkeit ins Feld geführt worden, das überschüssige Toxin könnte dem menschlichen Organismus irgendwie schaden. Nach mehrtausendfacher Erfahrung besteht diese Befürchtung jedoch nicht zu Recht. Niemals ist eine nennenswerte Schädigung der Impflinge beobachtet worden. Was aber der Einführung der Behringschen Methode in die Allgemeinpraxis hinderlich entgegensand, war wohl in erster Linie ihre umständliche Handhabung. Es waren oft 5 Intrakutanimpfungen erforderlich, bis der Impfling als vollimmunisiert gelten konnte, d. h. bis eine ausreichende Bildung von Antitoxinen angenommen werden konnte.

An Versuchen, den Behringschen Impfstoff abzuändern, hat es nicht gefehlt. Ich erinnere nur an die bekannten erfolgversprechenden Arbeiten von Löwenstein und Opitz.

Das Ziel, das ich bei meinen Versuchen verfolgte, war die Herstellung eines Impfstoffes, der erstens durchaus unschädlich, zweitens in einfachster Weise applikabel ist, drittens möglichst schnell nach der Applikation dem Menschen einen längere Zeit anhaltenden Schutz gewährt.

Zur Erreichung dieses Zieles schienen a priori 2 Wege beschreibbar: die Immunisierung mit verdünntem Toxin allein und die Immunisierung mit Toxin-Antitoxingemischen. Ich konnte feststellen, daß die recht



schwierige Immunisierung von Meerschweinchen leichter gelingt, wenn man verschwindend kleine Diphtheriegiftgaben am besten eines alten abgelagerten Toxins für die Erstimpfungen zur Erzielung der Grundimmunität benutzt. Der Impferfolg war derselbe, ob ich subkutan oder intrakutan spritzte. Auch am Menschen wurde die Immunisierung mit schwachen Toxinlösungen versucht. 6 Schulkindern wurden zuerst 5 + M und dann 50 + M subkutan injiziert. Beide Injektionen wurden ohne nennenswerte Beschwerden vertragen. Zwar konnte in jedem Fall eine Antitoxinbildung nachgewiesen werden: der Antitoxintiter war jedoch nie sehr hoch, er schwankte zwischen  $\frac{1}{10}$  und 1 Einheit pro Kubikzentimeter Serum, und es wären bei dieser unschädlichen und an sich gangbaren Methode zu zahlreiche Injektionen notwendig gewesen, um einen solchen Titer zu erreichen, der eine längere Zeit anhaltende Immunität gewährleistet. Deshalb verließ ich diesen Weg und griff den alten Behringschen Gedanken auf, das Diphtheriegift anstatt durch Verdünnungen usw. durch Zusätze von Diphtherieheilserum zu entgiften.

Nachdem durch vergleichende subkutane und intrakutane TA.-Impfungen am Meerschweinchen und Menschen gleich wie bei der Immunisierung mit reinen Toxinen kein wesentlicher Unterschied im Erfolge festgestellt werden konnte, die Intrakutanimpfung dagegen den Nachteil der Schmerzhaftigkeit für den Impfling und der umständlicheren Technik für den Praktiker hat, wurde fortan nur subkutan geimpft. Die folgenden Versuche wurden angestellt teils an Schulkindern, die ich selbst beobachten konnte, zum anderen Teil in mehreren Kliniken und einem Jungsanatorium. Die Beobachtung lag hier in der Hand der behandelnden Aerzte, denen ich für ihre Mitarbeit auch an dieser Stelle meinen Dank aussprechen möchte. Den Antitoxingehalt der eingesandten Blutproben bestimmte ich in unserem Institut für experimentelle Therapie E. v. Behring nach der Römerschen Methode. Als Volumen der Impfdosis wurden 0,3—0,5 ccm gewählt. Bei dieser Injektionsmenge ein für den Menschen gültiges Giftspektrum zu finden, war nun die nächste Aufgabe. Ein Toxin-Antitoxingemenge mit einem im Meerschweinchenversuch noch gerade feststellbaren Giftüberschuß verursachte bei Kindern im schulpflichtigen Alter durchweg kräftige Reaktionen. Jedoch fielen ganz erhebliche individuelle Unterschiede auf. Während bei den meisten Kindern die Reaktionen sich auf lokale Erscheinungen beschränkten, zeigten sich bei einigen anderen deutliche Allgemeinerscheinungen mit Temperaturerhöhung, Drüenschwellung, Kopf- und Rückenschmerzen. Diese individuellen Unterschiede blieben auch bestehen, wenn zur Impfung im Meerschweinchenversuch neutrale Gemenge verwendet wurden. Einige Kinder hatten hier eine kaum erkennbare Lokalreaktion, bei anderen zeigten sich Rötung und Infiltration an der Injektionsstelle, eine kleine weitere Gruppe reagierte mit den vorher beschriebenen Allgemeinsymptomen. Ausdrücklich hervorheben möchte ich, daß es zu bedrohlichen Erscheinungen bei all diesen Impfungen in keinem einzigen Fall kam. Durch weitere Zusätze von Antitoxin kam ich schließlich zu einem Impfstoff, der in der großen Mehrzahl der Fälle überhaupt keine oder nur geringe Lokalreaktionen und nur in wenigen Ausnahmen eine stärkere Rötung und Infiltration ganz selten mit Drüenschwellung hervorruft. Ueberblickt man diese individuellen Reaktionschwankungen, so kommt man zu dem Schluß, daß es ein für alle Menschen ausnahmslos gültiges Giftspektrum nicht gibt. Nach den beschriebenen Versuchsergebnissen, die an über 150 Kindern und Er-

wachsenen im Alter von 2—28 Jahren gewonnen wurden, habe ich jedoch den Eindruck bekommen, daß ein für den Menschen in diesen Altersklassen im allgemeinen neutrales TA.-Gemenge bei gleicher Giftmenge mehr Antitoxin enthalten muß, als ein für Meerschweinchen neutrales Gemenge. Eine Ausnahme bilden in erster Linie tuberkulöse, skrofulöse und nervöse Kinder, welche in jene Gruppe menschlicher Individuen fallen, die eine besonders gesteigerte Reaktionsbereitschaft zeigt. Auch bei der Immunisierung mit Toxinlösungen allein hatte ich individuelle Reaktionsunterschiede beobachten können, die aber bei weitem hinter denen nach TA.-Impfungen zurückstanden. Da dem an sich wohl am nächsten liegenden Gedanken, diesen Unterschied in der Reaktion nach TA.- und reinen Toxingaben auf den Serumgehalt des TA. zurückzuführen, der klinische Befund widerspricht, insbesondere das Fehlen einer Urticaria, so neige ich zu der Auffassung, daß es sich hier um einen beschleunigten Abbau des artfremden Serums und damit des Antitoxins handelt, so daß in der gleichen Zeit mehr freies Toxin zur Wirkung auf die Gewebelemente gelangt, als es bei normal reagierenden Personen der Fall ist. Der Annahme einer besonderen konstitutionellen Empfindlichkeit gegenüber dem einverlebten Toxin steht die Tatsache entgegen, daß sich nach reinen Toxingaben eine so erhebliche Differenz in dem Verhalten gesunder und tuberkulöser usw. Kinder nicht ergab.

Auf Grund dieser Vorversuche stellte ich einen Impfstoff zusammen, der 2 Forderungen erfüllt: er ist unschädlich und infolge der subkutanen Verwendbarkeit leicht applikabel. Toxin und Antitoxin sind in einem solchen Verhältnis gemischt, daß das Präparat für den Menschen atoxisch ist, für das Meerschweinchen jedoch einen Antitoxinüberschuß enthält. Wie steht es nun mit der Wirksamkeit? Die Impfresultate von etwa 80 Impfungen belehrten mich, daß nach einmaliger Impfung nicht in allen Fällen ein ausreichender Schutz erreicht wird. Fast 30 Proz. der Geimpften hatten nach 14 Tagen bis 4 Wochen weniger als  $\frac{1}{20}$  Antitoxineinheit in 1 ccm Serum. Ausnahmslos fand aber auch bei diesen schlechten Antitoxinbildnern eine schnelle, erhebliche Titersteigerung nach einer Zweitimpfung statt, so daß auch sie nach weiteren 10 Tagen über  $\frac{1}{20}$ fach normales Serum hatten. Kinder mit einem solchen Antitoxingehalt kann man ohne Bedenken der Infektion mit dem diphtherischen Virus aussetzen. Nur in verschwindenden Ausnahmefällen kann es zu einer leichten Diphtherieerkrankung kommen; das liegt daran, daß der Antitoxingehalt im Gewebe nicht mit dem des Blutes übereinstimmt. Vor schwerer Intoxikation, die das Leben bedroht, bleiben die Geimpften jedoch bewahrt. Da die Zweitimpfung 10 Tage nach der Erstimpfung zu erfolgen hat, wird also bei allen Geimpften innerhalb von 20 Tagen der gewünschte Impfschutz erreicht. In der Folgezeit findet eine weitere Zunahme der Immunität statt. So habe ich 6—8 Wochen nach der Impfung bis zu 200 AE. in 1 ccm Blut feststellen können, im Durchschnitt waren es bei über 100 Untersuchten 5—10 AE. pro Kubikzentimeter. Einige nach noch längerem Zeitraum untersuchten Fälle lassen vermuten, daß der Höhepunkt auch dann noch nicht immer erreicht ist. Da nach früheren Untersuchungen das autogene Antitoxin im Gegensatz zum heterogenen sich lange Zeit im Organismus hält, ist nach dem hier geschilderten Impfverfahren ein Diphtherieschutz von mehrjähriger Dauer zu erwarten.

Das zur Erstimpfung zu verwendende Präparat heißt TA. I. Ihm

ist ein altes, abgelagertes Toxin zugrunde gelegt, was sich zur Erzielung der Grundimmunität als besonders geeignet gezeigt hat. Zur Zweitimpfung ist TA. II zu verwenden. Es enthält ein frisches Gift zum Hochtreiben des Antitoxintiters.

Zum Schluß möchte ich nur noch kurz eine recht interessante Beobachtung erwähnen, die Herr Dr. Vogel und ich gelegentlich einiger Immunisierungsversuche in der Marburger Ohrenklinik machen konnten: 15 Fälle von Ozäna, die sämtlich einen positiven Diphtheriebazillenbefund aufwiesen, wurden auf meine Veranlassung mit meinem TA-Präparat behandelt und dadurch in überraschend günstiger Weise beeinflusst. Binnen 4 Wochen ließ nach 2 Injektionen der Fötor nach, lösten sich die Borken ab, und auch subjektiv wurde eine auftretende Besserung von den Patienten lebhaft empfunden. Um jedoch ein abschließendes Urteil abgeben zu können, reicht augenblicklich die Beobachtungszeit noch nicht aus.

#### Diskussion zu den Vorträgen 9—11.

Prausnitz (Breslau): In dem von Lubinski angekündigten Vortrag sollten u. a. folgende Beobachtungen, die er am Hygienischen Institut Breslau gemacht hat, berichtet werden. Bei einigen Stämmen war von vornherein das Wachstum auf dem Pfeifferschen Taubenblutagar völlig atypisch — lange Scheinfäden bis 70  $\mu$  Länge und 1  $\mu$  Dicke, Riesenwuchsformen, birnförmige und kugelige Gebilde bis zu 8  $\mu$  Größe; gleichzeitig auf Levinthalagar angelegte Kulturen zeigten völlig normales Wachstum der Influenzabazillen. Bei Umzüchtung vom Levinthalagar auf Taubenblutagar sofortiger Uebergang der typischen in die atypische, bei Rückimpfung auf Levinthalagar Rückschlag in die typische Form (Demonstration von Photogrammen).

Bei serologischen Untersuchungen fand sich häufig verschiedenes agglutinatorisches Verhalten gegenüber mit verschiedenen Stämmen hergestellten Immuneris. Die Agglutination war manchmal besser bei 4-stünd. Bebrütung bei 37°, manchmal bei 60°. Kriterium nur Körnchenbildung; die von Bieling ursprünglich empfohlene Häutchenbildung war nicht zuverlässig. Von 70 untersuchten Stämmen gaben 28 eine positive Agglutination mit Kaninchenimmenserum, 14 wurden durch keins der verwendeten Sera agglutiniert, 28 zeigten Spontanagglutination in der Kontrolle (0,4 Proz. NaCl-Lösung). Von 21 Krankenseris, die bei verdächtigen Fällen in verhältnismäßig seuchenarmer Zeit entnommen waren, agglutinierten 11, und 10 waren negativ.

Während einer Häufung schwerer Fälle im Winter 1921/22 wurden 13 obduzierte Grippepneumonien untersucht: alle enthielten Influenzabazillen, teils in Reinkultur teils in überwiegender Zahl neben Pneumokokken.

Gruber (München): Ich muß der Behauptung des Herrn Levinthal, daß in der ganzen Welt während der letzten Influenzapandemie stets der Influenzabazillus bei Influenza gefunden worden sei, aufs schärfste widersprechen. Zahlreiche erfahrene Bakteriologen haben ihn nicht gefunden. Ich beschränke mich auf das, was ich gesehen habe. Wir haben in der Münchner bakteriol. Untersuchungsanstalt auf der Höhe der Epidemie bei zahlreichen auserlesenen Grippefällen im Sputum und wenige Stunden nach dem Tode in den Organen auf das eifrigste nach den Influenzabazillen gesucht und nichts gefunden; weder mikroskopisch noch kulturell. Wenn man derartige negative Befunde mit den positiven Befunden bei Gesunden und mit den Ergebnissen Olitskys im Rockefeller-Institute zusammenhält, so gibt es nur eine Schlußfolgerung: daß der Influenzabazillus der Erreger der Influenza nicht ist. Olitskys Untersuchungen bestätigen die Angaben Herrn v. Angerers über das Vorhandensein eines unsichtbaren Erregers.

Bieling (Höchst): Es besteht die Frage, ob der Blutfarbstoff für die hämoglobinophilen Stäbchen nur ein lebensnotwendiger Nahrungsstoff oder ein Vitamin oder aber, ob er als Sauerstoffüberträger notwendig ist. Diese letzte Möglichkeit wurde dadurch zugunsten der ersten ausgeschaltet, daß festgestellt werden konnte, daß Influenzabazillen auch in physiol. Kochsalzlösung maximal atmen bzw. gären, einerlei ob Hämoglobin vorhanden ist oder nicht und daß sie aus zugesetzten Nitroverbindungen sich selbständig ihren Sauerstoff freimachen. Die bei diesen Versuchen benutzte Technik

der quantitativen Messung der Atmungsintensität und -geschwindigkeit von Mikroorganismen ist geeignet, eine ganze Reihe verschiedener mikrobiologischer Fragen in Angriff zu nehmen.

Ihr Prinzip ist folgendes: Lipschitz hatte festgestellt, daß die Nitrobenzolvergiftung des Menschen dadurch zustande kommt, daß die lebenden Körperzellen aus der harmlosen Nitroverbindung das giftige Hydroxylamin bilden, und zwar durch ihre Atmungs- bzw. Gärtätigkeit. Dementsprechend gelingt es die Atmung der Gewebszellen dadurch zu bestimmen, daß man ihnen eine abgemessene Menge von m-Dinitrobenzol zusetzt und die Menge des daraus gebildeten Phenylhydroxylamins bestimmt. Die vielfach hervortretende Notwendigkeit bei mikrobiologischen Fragestellungen, in gefärbten Nährböden die Bestimmung auszuführen, führte dazu, die folgende Farbreaktion auszuarbeiten, welche zugleich auch ein einfacheres Arbeiten gestattet.

Einer Aufschwemmung bzw. Kultur von Bakterien oder anderen Organismen bzw. Zellen wird die farblose Lösung eines Nitroanthrachinons zugesetzt. Die lebenden Zellen entreißen der Nitrogruppe den Sauerstoff und es entsteht über das Hydroxylamin die Amidoverbindung, welche tiefrot gefärbt ist und einen echten Wollfarbstoff darstellt. Die Atemstärke entspricht dann der Menge des gebildeten Amidoanthrachinons, d. h. der Rötung. Zur exakten Bestimmung der aus dem Nitrokörper gebildeten Menge von Amidoanthrachinon bedient man sich des Kolorimeters oder noch einfacher des Walpolschen Komparators unter Verwendung von Teströhrchen, welche 0,5—5,0 mg Amidoanthrachinon in 10 ccm enthalten.

Diese Farbstoffreaktion unterscheidet sich von anderen Farbstoffreaktionen dadurch, daß hier eine exquisite Lebensfunktion der Mikroorganismen gemessen wird. Sie stellt keine Reduktionswirkung dar, welche auch von totem Gewebe und Körperflüssigkeiten oder von Fermenten und Bakteriengiften (Tuberkulin, Toxine), ausgeübt werden kann. Darum läßt sich mit der Methode feststellen, ob man überhaupt ein lebendes Virus in Händen hat, auch dann, wenn dieses filtrierbar ist. Als feinstes Virus wurde bisher eine Kultur des Erregers der Lungenseuche geprüft. Man kann weiterhin feststellen, daß ein bakterizides Serum die Atmung der zugehörigen Bakterien hemmt, nicht aber ein antitoxisches Serum. Schließlich kann man auch mit der Methode den Wirkungsmechanismus chemotherapeutischer Körper klären. So fanden Lipschütz und Freund mit der alten Methode, daß die Atemhemmung auf Staphylokokken in der Hydrochininreihe der Entwicklungshemmung parallel geht. Prinzipiell ist jedoch diese Verkopplung der beiden Wirkungen eines inneren Desinfiziens nicht, wie ich mit der Anthrachinonreaktion feststellte. So macht z. B. das Optochin die Atmung, also das Leben der Pneumokokken, nicht unmöglich, verhindert jedoch die betreffenden Individuen sich fortzupflanzen. Eine ähnliche Dissoziation zwischen Atmungshemmung und Entwicklungshemmung besteht auch für das Rivanol bei Streptokokken.

R. Paltauf (Wien): Seit der durch Schick erhobenen Tatsache, daß nur Kinder, die kein Antitoxin in ihrem Blutserum besitzen, an Diphtherie erkranken und daß selbst ein minimaler Antitoxingehalt schützt, trat die Frage der aktiven Immunisierung mit Notwendigkeit an uns heran. Nachdem es nicht gelang — wie z. B. beim Tetanus — ein immunisierendes Toxoid herzustellen, hatten sich Löwenstein in Gemeinschaft mit Busson mit der Prüfung von Diphtherietoxin-Antitoxin-Gemengen auf ihre immunisatorische Wirkung beschäftigt. Sie fanden, daß nicht nur unterneutralisierte sondern auch neutrale, ja sogar überkompensierte Gemenge beim Meerschweinchen nachweisbare Immunität erzeugen. Diese Präparate wurden zunächst von Schick an Kindern geprüft. Nach dem Kriege erwiesen sich bei abermaliger Prüfung die überkompensierten Gemenge als neutral, sie besaßen aber ihre immunisatorische Wirkung im unveränderten Maße und wurden von Kassowitz an einer größeren Anzahl von Kindern geprüft. In ca. 90 Proz. der Fälle ließ sich im Serum das Antitoxin nachweisen, analog wie es die viel weiter vorgeschrittenen Untersuchungen der Amerikaner bereits erwiesen hatten.

## 12. Vorträge Mandelbaum (München).

### Ein neuer Nährboden zur Diphtheriediagnose bzw. zur Differenzierung der echten Diphtheriebazillen.

#### Farbstoffbildende Abkömmlinge der Diphtheriebazillen.

(Die Vorträge erscheinen in der München. med. Wochenschr. und in dem Centralbl. f. Bakt.)

### 13. Vortrag. H. Selter (Königsberg):

#### Ueber Tuberkulose-Schutzimpfung.

(Der Vortrag ist ausführlich in der Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 32 erschienen.)

Eine Immunität gegen Tuberkulose entsteht allein durch eine tuberkulöse Infektion; nur solange sich die Tuberkelbazillen der ersten Infektion lebend im Körper befinden, kann er geschützt sein gegen weitere Infektionen. Am besten wirkt eine Infektion mit arteigenen Bazillen. Die Wirksamkeit anderer als arteigener Tuberkelbazillen hängt davon ab, ob diese in dem fremden Körper haften und eine Infektion erzeugen. Man kann annehmen, daß die Tuberkelbazillen, welche zu einer Infektion und damit zu einer Immunität geführt haben, während des ganzen Lebens des Individuums in diesem lebend verbleiben. — Die Immunität müßte unter günstigen Umständen dann während des ganzen Lebens dem Körper erhalten sein, ohne daß es nötig wäre, sie durch eine neue Infektion wieder aufzufrischen.

Mit Hilfe eines Impfstoffes, der zum größten Teil aus durch Verreiben lebender Tuberkelbazillen aufgeschlossenem Bakterienprotoplasma, zum kleineren Teil aus lebend erhaltenen Tuberkelbazillen besteht, konnten Meerschweinchen so infiziert werden, daß sie keine fortschreitende Tuberkulose bekamen, aber sich vollkommen immun gegen tödliche Reinfektionen erwiesen. Das lebend aufgeschlossene Bakterienprotoplasma wirkt als Aggressin, vermittels dessen die wenigen erhaltenen Tuberkelbazillen zur infizierenden Wirkung kommen. Das Bakterienprotoplasma allein, ebenso die in dem Impfstoff enthaltenen lebenden Tuberkelbazillen rufen keine Infektion und damit auch keine Immunität hervor. Meerschweinchen ließen sich mit einem Impfstoff aus menschlichen und Rindertuberkelbazillen vorbehandeln. Die mit menschlichem Impfstoff vorbehandelten Tiere waren auch immun gegen Reinfektionen mit Rindertuberkelbazillen und umgekehrt. Bei der Schutzimpfung der Rinder wird man aber einen Impfstoff aus Rindertuberkelbazillen verwenden müssen, da die menschlichen Tuberkelbazillen die Rinder im allgemeinen nicht infizieren. Versuche mit Vorbehandlung von Kälbern mit einem Impfstoff aus bovinen Tuberkelbazillen sind im Gange. Ueber diese soll später berichtet werden.

#### Diskussion.

Mießner (Hannover): Die Anschauung, daß die Immunisierung mit lebenden Tuberkelbakterien nicht gelingt, ist unrichtig. Es ist seinerzeit sowohl Koch und seinen Mitarbeitern wie auch v. Behring möglich gewesen, durch Applikation von lebenden Tuberkelbakterien (Typus humanus) eine hochgradige Immunität zu erzielen, ohne daß, abgesehen von einer zuweilen eintretenden Erkrankung der regionären Lymphknoten, durch die Impfung tuberkulöse Prozesse ausgelöst wurden. Die immunisierten Tiere waren derartig immun, daß man ihnen schon nach 4 Wochen Typus bovinus ohne Schaden applizieren konnte, denen zugleich angesetzt Kontrolltiere innerhalb eines Monats an generalisierter Tuberkulose erlagen. Die Ursachen dafür, daß die Impfung sich nicht weiter ausbreiten konnte, sind vor allen Dingen darin zu suchen, daß die bei der Impfung eingespritzten Tuberkelbakterien sich lange Zeit, über ein Jahr, in der Muskulatur erhalten können und bei Milchtieren mit der Milch ausgeschieden werden.

Weleminsky (Prag): Bezüglich der Frage der Immunisierung gegen Tuberkulose erscheinen die Versuche von Karl v. Ruck als nicht genügend gewürdigt. Er hat bereits 1908 aus den gelösten Bestandteilen des Tuberkelbazillus die wasserlöslichen Proteine, die Neutralfette und die Fettsäuren isoliert, in einem bestimmten Mengenverhältnis gemischt und nach seinen Angaben damit Immunität bei Meerschweinchen und Kaninchen gegen nachfolgende Infektion erzielt, wobei das Serum dieser Tiere sowie analog behandelter Menschen starke Bakteriolyse zeigte. Diese Versuche sind zweifellos der Nachprüfung wert.

Uhlenhuth (Marburg): Es gibt zweifellos eine Immunität bei Tuberkulose, d. h. eine „Infektionsimmunität“, die so lange besteht, wie die Tiere mit lebenden Tuberkelbazillen infiziert sind.

Wir können diese Tatsache zur Bekämpfung der Rindertuberkulose verwerten, die wir mit lebenden TB. in abgeschwächtem Zustande zur Schutzimpfung einspritzen können. Beim Menschen möchte ich nicht dazu raten, lebende TB. einzu-

spritzen. Wir haben seit  $\frac{3}{4}$  Jahren mit Dold und Bieber Schutzimpfungsversuche aufgenommen<sup>1)</sup> in Verfolg der Arbeiten von Koch und Behring und haben Rinder allmählich mit steigenden Dosen von lebenden MTB. und lebenden abgeschwächten RTB. vorbehandelt iv. und ip., so daß sie bis zu 10 g (!) intraperitoneal vertragen haben! Das Serum dient zu Heilzwecken auch in der menschlichen Therapie. Die Rinder, die mit 0,5 und 1,0 g RTB. ip. vorbehandelt sind, stehen seit einigen Monaten im Seuchenstall zwischen kranken Tieren. Ueber den Erfolg werden wir später berichten. Auch von Eseln haben wir (mit Lange) Serum gewonnen, das therapeutisch versucht wird. Interessant ist die Tatsache, daß die Esel schon nach wenigen Einspritzungen hochwertige Präzipitine und komplementbindende Substanzen bilden, während die Rinder auch bei den großen Dosen sich in dieser Beziehung refraktär verhielten.

Selter (Schlußwort).

#### 14. Vortrag. L. Lange und M. Fränkel (Dahlem):

##### Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Tuberkelbazillen.

(Erscheint in der Dtsch. med. Wochenschr.)

##### Diskussion.

E. Jacobsthal (Hamburg): In gemeinsam mit Holthusen-Hamburg ausgeführten Versuchen wurde gefunden, daß prinzipiell bei Einwirkung von ultraviolettem Licht und Röntgenstrahlen sowohl auf Hämolyse, als Eiweißausfällung, als Bakterienabtötung kein prinzipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied besteht. Röntgenstrahlen wirken ganz bedeutend viel langsamer. Einwirkung ultravioletter Strahlen auf das Komplement und seine Komponenten fand ich sowohl beim Komplement selbst, als auch bei der Globulin- und Albuminfraktion allein stalagmometrisch eine bedeutende Vermehrung der Tropfenzahl. Es gelang nicht, eine der bestrahlten Komplementfraktionen durch die unbestrahlte andere Fraktion wieder wirksam zu machen. Beide Fraktionen werden also durch ultraviolettes Licht abgetötet.

Lange (Schlußwort).

#### 15. Vortrag. Schnürer (Wien):

##### Ueber Veränderungen säurefester Bakterien in Kulturen auf Saponin-haltigen Nährböden.

1916 veröffentlichte Dr. Dostal-Wien im 19. Bd. der Frankfurter Zeitschr. f. Pathol. unter dem Titel: „Die Glykosidform des Tuberkelbazillus“ das Ergebnis seiner bis auf das Jahr 1910 zurückreichenden Untersuchungen, über welche er bereits früher mehrmals gelegentlich berichtet hatte. (Wien. med. Wochenschr. 1910. Nr. 36; 1913. Nr. 12. 13; Wien. klin. Wochenschr. 1913. Nr. 27.) Dostal züchtete eine größere Anzahl von Warmblütertuberkelbazillen (Typ. hum. bov. und gall.) unter Guttaperchaverschluß in mehreren Durchgangskulturen auf Rindfleisch-Glyzerinagar, welchem er steigende Mengen von Saponinum purissimum Merck (1—10 Proz.) zugesetzt hatte. Während dieser Passagen (2—8) verändern sich die Kulturen, indem sie feuchter, gröber gewulstet und etwas gelber werden. Das Kondenswasser trübt sich. Um die Kulturen bildet sich ein zarter schleiertörmiger Saum. Schließlich wird die Kultur nach mehreren Uebertragungen schmierig wie die einer Sarzine oder

1) Darüber ist kurz berichtet in d. Ges. zur Förderung der Naturwissenschaften zu Marburg im Januar 1922.

**Hefekultur.** Wenn man immer von dem zarten Saume überimpft, wachsen schließlich nur mehr diese zarten Rasen, welche dann auch auf gewöhnlichem Glycerinagar in 24 Std. bei Bruttemperatur ein üppiges Wachstum zeigen. Derartige Einzelkulturen sind äußerst zart, farblos, mit vielfach gelapptem Rande, der lockenförmige Ausläufer aussendet. Die Oberfläche ist mit Furchen versehen, welche bei schwacher Vergrößerung das Aussehen von Hirnwindungen ergeben. Hand in Hand mit diesen Aenderungen der Kultur verlieren die Bakterien allmählich ihre Säurefestigkeit; sie werden gramnegativ, werden auch 2—3 mal so lang als die Tuberkelbazillen, zeigen träge Eigenbewegung (peritriche Geißel) und helle Innenkörper, welche den Eindruck von Sporen machen.

Bisher haben diese Beobachtungen eine eingehende Nachprüfung von anderer Seite anscheinend nicht erfahren. Nur Löwenstein bemerkt in seinen „Vorlesungen über Bakteriologie, spezifische Diagnostik und Therapie der Tuberkulose“ (Jena, Fischer, 1920), daß er den Versuch nachgeprüft und nicht bestätigen könne. Eine eingehende Nachprüfung und Bestätigung dieser Befunde wäre aber nicht nur von hohem wissenschaftlichen Interesse, sondern vor allem auch aus dem Grunde höchst wünschenswert, da Dr. Dostal bereits die praktische Nutzanwendung aus seinen Versuchen gezogen hat und einen Impfstoff herstellen läßt, welcher bereits in größerem Umfange bei tuberkulösen Menschen und Tieren Anwendung findet.

Ich habe nun die Angaben Dostals nachgeprüft und verwendete hierzu 9 Stämme säurefester Bakterien: 3 Typ. humanus, 3 Typ. bovin., 2 Typ. gallin. und 1 Typ. Thimoteebazillus Moeller. Je 2 Stämme von Typ. hum. und bov. sowie 1 Stamm Typ. gall. wurden mir von Dr. Dostal zur Verfügung gestellt, der auch die erste Ueberimpfung vornahm und die restlichen Stämme wurden mir vom Krälschen Institute (Prof. Dr. Příbram) in dankenswerter Weise überlassen.

Als Nährboden wurde einerseits Rindfleischbrühe mit 3 Proz. Agar und 3 Proz. Glycerin, andererseits Glycerin-Rindfleischagar mit 1—8 Proz. Saponinum purissimum Merck verwendet. Zu allen Nährböden wurde auch die übliche Menge Pepton (1 Proz.) und Kochsalz ( $\frac{1}{2}$  Proz.) dazugefügt. Die Herstellung der Nährböden erfolgte so, daß die für jede Passage nötige Menge gleichzeitig bereitet wurde, um dem Einwande der ungleichen Beschaffenheit verschiedener Operationsnummern des Nährbodens zu begegnen. Die Abfüllung erfolgte in großen Proberöhrchen von 20 cm Länge und 18 mm innerer Lichte, um eine größere Oberfläche und eine bessere Beobachtungsmöglichkeit zu gewinnen. Nachdem jede Operationsnummer durch 3 Tage im Brutschrank auf seine Bakterienfreiheit beobachtet worden war, wurde mit dem Platinspatel die Ueberimpfung im Sinne der Angaben Dr. Dostals auf den Schiefagar vorgenommen; wenn die Röhrchen nach 24 Stunden keine makroskopisch sichtbaren fremden Kulturen aufwiesen, wurde der Wattestopfen möglichst tief in die Röhrchen geschoben und bis 2—3 Querfinger vom oberen Rande mit Guttapercha verschlossen. Im allgemeinen erwies sich der Verschuß als wirksam, insofern auch bei mehrwöchigem Aufenthalt im Brutschrank noch immer Kondenswasser am Grunde des Röhrchens wahrnehmbar war. Alle 3—4 Tage wurden die Röhrchen von außen besichtigt und solche mit offensichtlichen Verunreinigungen ausgeschaltet. Insgesamt wurden bisher 5 Durchgangsreihen auf Glycerin- und Saponinagar angelegt.

Nach 2—4 Wochen wurden schließlich die Röhren nach Beschreibung des Wachstums geöffnet, die Ueberimpfung vorgenommen und gleichzeitig Deckglasausstrichpräparate angefertigt. Die Färbung erfolgt nach Ziehl-Neelsen-Günther: 2 Minuten langes Erwärmen der geflammten Präparate im Karbolfuchsin bis zum Aufsteigen von Dämpfen, Entfärbung mit 3-proz. Salzsäurealkohol, bis das Präparat keine Farbe mehr abgibt und 2' lange Gegenfärbung mit Loefflers Methylenblaulösung. In dieser Weise wurden über 300 Kulturen und ebensoviele Deckglaspräparate untersucht.

Hierbei wurde nun folgendes festgestellt:

I. Die wachsenden Kulturen zeigen, solange reichlich Kondenswasser vorhanden ist, und durch wiederholtes Neigen der Röhren über die Kulturfläche laufen gelassen wird, in 6—8 Tagen eine Vergrößerung der Falten und Warzen der Oberfläche; sie erscheinen saftiger, bisweilen fast schleimig. In der Umgebung der Ausgangsbröckel und der zuwachsenden Kolonien bildet sich meist ein dünner hauchartiger Saum. Das Kondenswasser trübt sich in verschiedenem Grade. Die frisch angegangenen Kulturen waren meist heller gelb gefärbt als das Ausgangsmaterial. Alle diese Veränderungen sind in den Saponinröhren, gleichgültig welcher Stärke, bedeutend mehr ausgebildet als in den gleichalterigen Glycerinproben; sie verschwinden aber auf beiden Arten der Nährböden mit zunehmender Austrocknung, also in 5—6 Wochen, und machen der bekannten Wachstumsart der säurefesten Bakterien (trockene, warzige und faltige, gelblich bis bräunliche Belege) Platz. An Stelle des eintrocknenden Kondenswassers zieht sich häufig eine trockene, zarte, faltige Haut an der Glaswand empor. Es unterliegt keinem Zweifel, daß dieser Austrocknungsprozeß im Saponinagar ungleich langsamer verläuft als im Glycerinagar ohne Saponin. Es hat auch den Anschein, daß die Kulturen namentlich auf den niederprozentigen Saponinnährböden üppiger gedeihen als auf dem reinen Glycerinagar. In einer geringen Anzahl von Kulturröhren findet jedoch ein Uebergang von der feuchten in die trockene Kulturform nicht statt, sondern der Belag wird immer schleimiger bis schmierig und bleibt so bis zur völligen Austrocknung. Derartige Röhren zeigen auch im Deckglaspräparate auffallende Befunde. Ein wesentlich anderes Verhalten in der Entwicklung der Kulturen der verschiedenen Typen der säurefesten Stäbchen konnte nicht festgestellt werden; nur die 2 Stämme der Geflügeltuberkulosebakterien wiesen schon in den Ausgangskulturen eine stärkere schleimige Beschaffenheit auf als die Säugetiertuberkulosestämmen und der Thimoteebazillus.

II. Die Deckglaspräparate der 9 Ausgangskulturen wiesen ausnahmslos säurefeste, verschieden lange, zarte, bisweilen etwas dickere, häufig unterbrochen gefärbte Stäbchen auf, in denen vielfach dunkle Körnchen eingelagert erscheinen. Auch die Durchgangskulturen zeigten in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle den gleichen Befund wie die Ausgangskulturen. In einzelnen Röhren, in denen auch das Trockenwerden der Kulturen ausblieb, oder die von vornherein eine auffallend schleimige Beschaffenheit zeigten, wies das Deckglaspräparat neben einer wechselnden Menge säurefester Formen auch solche von vollständig fehlender Säurefestigkeit auf, also licht- und dunkelblau gefärbte Stäbchen öfter auch mit dunkleren Innenkörperchen, die aber insgesamt ein einheitliches Bild vermissen lassen. Neben Formen, die in Größe und Gestalt den Tuberkelbazillen ungefähr entsprechen, finden sich auch wesentlich größere, fast 3—4mal so lange, schlanke oder dickere Stäbchen,



öfter zu langen Fäden aneinandergereiht mit zahlreichen Verzweigungen. In einigen Präparaten sind in den blauen Stäbchen zweifellose end- und mittelständige Sporen zu sehen. Im hängenden Tropfen alle Uebergänge von fast unbeweglichen bis zu äußerst lebhaft beweglichen Formen. Solche Stäbchen finden sich vor allem in den Saponinkulturen, wesentlich seltener, aber unzweifelhaft auch in Glyzerindurchgangskulturen. Die Zeit des Auftretens solcher Formen ist verschieden: in einigen Fällen waren sie schon in der ersten Durchgangskultur, in anderen erst nach der zweiten oder vierten nachzuweisen.

Wenn also auch meine Untersuchungen die Beobachtungen Dostals in gewisser Beziehung bestätigen können, so muß ich doch bei der Deutung der Befunde einen wesentlich anderen Standpunkt als Dostal einnehmen: Ich muß diese nicht säurefesten Formen als gelegentliche Verunreinigungen ansprechen. Als Beweis dieser Behauptung führe ich an:

1) Die blauen Stäbchen finden sich keinesfalls regelmäßig in allen gleichzeitig angelegten und gleichen Saponingehalt aufweisenden Kulturen. Z. B. Stamm A (Typ. hum.) zeigt in der 3. Durchgangskultur auf Saponin, welche gleichzeitig mit 4 Röhrchen angelegt worden war, nur in einem Röhrchen solche nicht säurefeste Formen, die sich dann selbstverständlich in allen Abimpfungskulturen dieses Röhrchens wiederfinden. Alle übrigen Röhrchen derselben Reihe enthalten bis zur 5. Passage nur säurefeste Stäbchen. Von der zweiten Ausgangskultur (B.), gleichfalls ein Typ. hum., enthält von 6 Röhrchen der 2. Durchgangsreihe eines nicht säurefeste Stäbchen; in der 3. Durchgangsreihe (7 Röhrchen) kommen noch 2 weitere dazu, während 4 Röhrchen auch bei weiteren 3 Durchgangsreihen nur säurefeste Mikroben erkennen lassen.

2) Auch Glyzerinagarkulturen ohne Saponin weisen, wenn auch seltener, solche Formen auf. Glyzerinagarkulturen wurden aber bedeutend seltener angelegt, da für jede Saponinreihe, bestehend aus mehreren Proben, immer nur ein reines Glyzerinröhrchen als Kontrolle angelegt wurde, und somit die Wahrscheinlichkeit einer gelegentlichen Verunreinigung weitaus seltener gegeben war.

3) Das mikroskopische Bild, das die blauen Stäbchen darbieten, ist nicht einheitlich. Schon die einfache Gegenfärbung mit Methylenblau weist Formen nach, welche auch den weitgespannten Rahmen der bekannten Abänderlichkeit der Stäbchen nach Form und Gestalt weit überragen. Auch finden sich solche wechselvolle Bilder in einem und demselben Präparate.

4) Uebergangsformen, welche die Abänderungen der säurefesten in die nicht säurefesten Formen erklärlich machen könnten, fehlen, wenn man sich an das zeitlich genau festgelegte Verfahren der Färbung hält.

5) Dem Einwande, daß die Zahl der Durchgänge zu gering ist, und daß nachträglich doch noch aus den Tuberkelbazillen sich andere Bakterien bei weiterer Saponineinwirkung entwickeln könnten, kann ich durch den Hinweis entkräften, daß es mir geglückt ist, unter den verschiedenen Formen der blauen Stäbchen eines ausfindig zu machen und rein zu züchten, das nach der Beschreibung und den Abbildungen in der Frankfurter Zeitschrift der Glykosidform im Sinne Dostals entsprechen dürfte. Es ist ein nicht säurefestes Stäbchen, etwa 3mal so lang als der Tuberkelbazillus im Durchschnitt es ist, gramnegativ, beweglich, sporentragend. Nach den sonstigen Kultureigenschaften wäre das Stäbchen am ehesten in die *Subtilis mesentericus*-Gruppe einzureihen, wenn auch einige Eigenschaften, so namentlich die fehlende Gramfestigkeit, da-

gegen sprechen. Uebrigens werden nichtsdestoweniger die Durchgänge bis zur Erreichung der von Dostal angegebenen Zahl (8—10) fortgesetzt, worüber nach Abschluß berichtet werden wird.

Solange es nicht gelingt, mit einem in alle Einzelheiten genau festgelegten Verfahren die Umwandlung säurefester unbeweglicher, sporenloser Bakterien in nicht säurefeste unter allen Umständen immer und überall zu erzielen, solange die erzielte Neuf orm nicht in jeder Beziehung als eine einheitliche Form bezeichnet werden kann und solange es nicht unzweifelhaft gelingt, diese Neuf orm wieder in die Ausgangsform zurückzuverwandeln, worüber Dr. Dostal außer einer ganz kurzen Andeutung in der Frankfurter Zeitschrift bisher nichts veröffentlicht hat, kann von einer Umwandlung des Tuberkelbazillus im Sinne Dr. Dostals nicht die Rede sein.

#### Diskussion.

E. Gildemeister (Dahlem): Ich züchte seit ungefähr  $1\frac{1}{2}$  Jahren nach den Vorschriften von Dostal auf Saponinagar Tuberkelbazillen und säurefeste Saprophyten (Friedmann-Bazillen, Smegmabazillen, Stamm Petri). Was ich hierbei beobachtet habe, ist folgendes: Die Bazillen haben zum großen Teil ihre Säurefestigkeit verloren (Färbung nach Konrich), ihre Antiforminfestigkeit aber nicht. Im übrigen sind jedoch die Kulturen bisher unverändert geblieben. Allerdings prüfe ich regelmäßig vorher die Sterilität meiner Nährböden, wodurch meine Kulturen vor Verunreinigung bewahrt geblieben sind.

Gins (Berlin): Es gibt ein einfaches Mittel, um einen Ueberblick darüber zu bekommen, welcher Anteil der Tuberkelbazillen in der Kultur säurefest ist. Streicht man eine Kulturaufschwemmung in Tusche aus und färbt vorsichtig nach Ziehl-Neelsen, so findet man nach meinen Erfahrungen immer einen erheblichen Teil der Stäbchen entfärbt.

R. Paltauf (Wien) teilt mit, daß auch im Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie die Angabe Dostals von Dr. Simonovic unter Leitung von Herrn Prof. Löwenstein nachgeprüft worden ist. Auf 5 Proz. und 10 Prof. saponinhaltigem Nährboden wurde bis in die 17. Generation keine Abnahme der Säurefestigkeit gefunden. Da sich die Kulturen Dostals innerhalb 24 Std. entwickeln, kann keine Frage bestehen, daß es sich hierbei um Verunreinigungen handeln muß. Die Angelegenheit hat leider große praktische Bedeutung, da Herr Dostal ein aus seinen Kulturen hergestelltes Präparat, Tebecin, als spezifisches Heilmittel zur Behandlung der Tuberkulose empfiehlt und in den Handel bringt. Trotzdem es keinerlei spezifische Wirkung zeigt, denn diese tritt analog der nach Injektion von bakteriellen Impfstoffen namentlich des Typhusimpfstoffes — handtellergröße lokale Infiltrate mit Erythem und Fieber — sowohl bei Gesunden wie bei tuberkulös Erkrankten auf, wird es von praktischen Aerzten angewendet. Erweichung und Durchbruch von tuberkulösen Drüsen am Halse bei einer mehrwöchentlichen Behandlung werden als Erfolge gedeutet. Auch für die Behandlung der Perlsucht des Rindes wird dieses Präparat empfohlen.

---

### 3. Tag.

10. Juni 1922.

Vorsitzender: Paltauf (Wien).

16. **Demonstration.** Lange (Dahlem):

**Demonstration eines Blutnährbodens.**

(Erscheint in dem Hygien. Centralblatt.)

---

17. Demonstration. Rud. Oehler (Frankfurt a. Main):

**Dictyostelium mucoroides (Brefeld).**

*Dictyostelium mucoroides* wurde 1869 von Brefeld zuerst beschrieben<sup>1)</sup>. Eine eingehende Bearbeitung von Potts<sup>2)</sup> aus dem Jahre 1902 und von Pinoy<sup>3)</sup> 1907 liegt vor. Spätere Abhandlungen über diesen interessanten Pseudomyxomyceten sind mir nicht bekannt<sup>4)</sup>.

Gefunden wird er in Mist, in Kompost und Walderde. Er bildet kleine mucorartige Fruchtsände, welche ihm den Beinamen *mucoroides* gegeben haben. Die Fruchtsände sind 2—4 mm hoch und tragen sporenhaltige Köpfchen von etwa  $\frac{1}{10}$  mm Durchmesser. Die Sporen keimen bei Gegenwart von Bakterien leicht aus; und zwar ist es eine Amöbe, die aus den Sporen auskriecht. Dieselbe nimmt Bakterien als Nahrung auf, vermehrt sich rasch, solange es an Bakteriennahrung nicht fehlt. Wird diese knapp, dann legen sich die Amöben in langgestreckter Form zu Zügen zusammen. Die Züge vereinigen sich zu einem Knoten, aus dem Knoten erhebt sich ein Zapfen in die freie Luft, und der Zapfen bildet sich aus zu einem Stiel, auf dem das Sporenköpfchen sitzt. Dauer des ganzen Entwicklungsumlaufes 2—5 Tage.

Potts vertritt die Meinung, daß die *Dictyostelium* amöben die Bakterien außerhalb der Zelle verdauen und deren Säfte als Nahrung aufnehmen. Schwer verständlich, wie er diese Meinung fassen konnte. Es ist leicht, die Bakterien in den Amöben zu sehen. Am besten bei Fütterung mit grampositiven Bakterien, z. B. Xerosebakterien bei Anwendung von Vitalfärbung mit  $\frac{1}{10\,000}$  Neutralrot. Aber auch am sublimatfixierten Präparat sieht man bei Verwendung von Gram-Färbung die gefressenen Bakterien in den Verdauungslichtungen im Zelleib liegen.

Man kann *Dictyostelium* leicht züchten und die Zucht läßt sich mit einer gewünschten Bakterienart durchführen.  $\frac{1}{100}$  Wasseragar ohne Nährstoffzusatz wird in Petri-Schalen ausgegossen. Ab Reinkultur wird eine Oese Bakterienmasse auf dem Agar ausgestrichen. Dann setzt man ab *Dictyostelium* zucht einige Amöben auf die Mitte der Platte. Die Amöben wandern aus, vermehren sich und überziehen in 2—3 Tagen die ganze Platte. Am Rande können sie rein von Wildbakterien abgefloßen und weiter verimpft werden. Die Zucht im Amöbenstande kann unbegrenzt weitergeführt werden. Solange man Bakterien bietet, bilden sich keine Züge, Knoten und Fruchtsände. Potts meint, Sauerstoffbedürfnis treibe die Amöben zu den Zügen und zur Fruchtbildung. Dem ist nicht so. Die Vermehrung der Amöben wie die Bildung von Zügen und Fruchtsänden geht unter der Stickstoffglocke ebenso vor sich, wie an freier Luft. Der Nahrungsmangel ist es, welcher die Bildung der Züge veranlaßt. Solange die Amöben Nahrung finden, wandern sie von einander weg und verteilen sich auf der Platte. Fehlt die Nahrung, dann wandern sie in Zügen und sammeln sich zum Knoten. Auch in diesem Zustande sind sie noch fähig, Bakterien aufzunehmen. Gibt man auf fertig ausgebildete Züge einen Tropfen Bakterienaufschwemmung, dann ordnen sich die Zugamöben in 1 Std. zu zerstreuten Freß- und Wanderamöben um. Nur was schon anfang, sich zum Zapfen zu erheben, macht diese Rückbildung nicht mit, sondern geht weiter in der Ausbildung eines Fruchtsandes, der dann entsprechend klein und verkümmert ausfällt.

Am besten gedeiht die Zucht mit gramnegativen Bakterien. Langsamer geht das Wachstum und die Besiedelung der Platte vor sich, wenn grampositive Bakterien geboten werden. Am langsamsten bei Verwendung von säurefesten Bakterien und Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft.

Auch auf getöteten Bakterien will das Wachstum nicht gedeihen. Gewinnung einer Zucht ohne lebende Bakterien ist mir nicht gelungen.

Die Keimung der Sporen erfolgt leicht, wenn lebende Bakterien zugegen sind; schlecht oder gar nicht, wenn abgetötete Bakterien oder nur Nährlösungen geboten werden. Man kann auf Bouillonagar manchmal einzelne Sporen auskeimen sehen. Die Amöben kriechen erst eine kleine Strecke weit, bleiben dann liegen und verkommen. Osmotische Ernährung der Amöben ist offenbar nicht möglich.

Auch zur Sporenerweckung sind die lebenden gramnegativen Bakterien am günstigsten. Es gelingt auch, mit Xerosebakterien die Sporen zu erwecken. Schwer

1) Ber. der Senckenbergischen Ges. 1869.

2) Flora. Bd. 11. 1902. S. 281.

3) Ann. Inst. Pasteur. T. 21. 1907. p. 620 u. 686.

4) Die Arbeit von N adson, die Küster, Kultur der Mikroorganismen, erwähnt war mir nicht zugänglich.

und unsicher ist es bei Verwendung von Heubazillen. Mit Hefen mißlingt die Erweckung. Alle diese Versuche mit Sporen lassen sich bei *Dictyostelium* fein und sauber ausführen, wenn man unter der Lupe die Sporenköpfchen mit der haarfein ausgezogenen Pipette aufnimmt. Die Masse des Sporenköpfchens ist flüssig, saugt sich in das Glasrohr ein und läßt sich sauber auf vorbereitete Agarplatten übertragen. Die Sporenköpfchen sind bakterienfrei. Potts verimpfte mit der Nadel und bekam Verunreinigungen. Das läßt sich vermeiden. Es kann deshalb der *Pseudomyxomycet Dictyostelium mucoroides* jedem Forscher empfohlen werden, der die Ernährungs- und Lebensbeziehungen von Bakterien und Amöben prüfen will. Denn es hat doch sein Interesse, daß es Arten gibt, die sowohl zur Ernährung wie zur Sporenerweckung auf die Anwesenheit lebender Bakterien angewiesen sind.

---

18. Vortrag. Olitzki (Breslau):

**Die Unterscheidung des *Bacillus breslaviensis* vom *Paratyphus*bazillus.**

[Vorgetragen durch Prausnitz-Breslau. Erscheint an anderer Stelle unter den Originalien des Centralblattes für Bakteriologie.]

**Diskussion zu Vortrag 18.**

Seligmann (Berlin): Agglutininbindungsversuche in dieser Frage sind mit größter Vorsicht zu bewerten. Einmal hängt der Ausfall vom Grade der Verdünnung ab; dann aber gibt es unzweifelhaft Sera, die sich im Bindungsversuche ganz anders verhalten, als es eben mitgeteilt wurde. Ich verfüge über ein frisch hergestelltes Serum für *Paratyphus* B, aus dem sowohl Fleischvergifter wie echte *Paratyphus* B-Bazillen sämtliche Agglutinine herausnehmen. Andere Sera verhalten sich wieder anders. Es dürfte deshalb bedenklich erscheinen, aus geringen scheinbaren Variationen des Agglutininbindungsvermögens auf Artdifferenzen zu schließen. — Die Schleimwallbildung versagt als Differenzierungsmerkmal bei älteren Kulturen vollkommen. Mit dem Altern nehmen manche Stämme diese Eigenschaft, die sie nie besessen haben, an, andere verlieren sie bis auf den letzten Rest.

---

19. Vortrag. H. Raebiger (Halle a. S.):

**Ueber die rationelle Rattenvertilgung vom hygienischen und ökonomischen Standpunkt.**

Sehr geehrte Damen und Herren!

Gestatten Sie, daß ich Ihnen in Vertretung des Herrn Laboratoriumsvorstehers Dr. Bahr-Kopenhagen, der sich, wie aus der Literatur bekannt ist, seit länger als 16 Jahren mit dem Studium der Rattenbekämpfung befaßt hat, bei der Kürze der zur Verfügung stehenden Zeit das Wichtigste aus seinem Vortrage mitteile.

Die Tatsache, daß nach dem Kriege ganz Europa von einer Rattenplage heimgesucht wird, fordert im Hinblick auf die dadurch bedingten hygienischen Gefahren und die ebenso großen Verluste an Nationalvermögen dazu auf, daß alle Kulturländer umfassende Maßnahmen treffen, und diese auf gesetzlicher Grundlage einheitlich organisieren.

In 1. Linie spielen die Ratten eine bedeutsame Rolle bei der Verbreitung der Pest. Kleinasien, Persien und selbst das europäische Rußland müssen als pestifiziert gelten. Es ist mithin die Gefahr für die übrigen europäischen Länder beträchtlich.

Die Ratten kommen ferner als Träger und Verbreiter der Trichinose in Betracht, sie verschleppen den Ansteckungsstoff der Maul- und Klauen-seuche fraglos mehr als andere in ihrer Bewegungsfreiheit nicht zu beschränkende Tiere, wie Vögel. In Dänemark ist dieses durch das Gesetz von 1920 in der Weise berücksichtigt worden, daß auf verseuchten Gehöften erst die Ratten vertilgt werden müssen, ehe die Desinfektion ausgeführt wird. Aber auch für die Verbreitung anderer, zumal tierischer Infektionskrankheiten fällt die Ratte zweifelsohne mehr ins Gewicht als man bisher noch anzunehmen geneigt ist.

Erheblich sind auch die pekuniären Verluste, die durch die Ratten bedingt werden! Sie werden schätzungsweise in England auf 15 Millionen Pfund Sterling, in Dänemark auf 10 Millionen Kronen und in Deutschland auf 12 Milliarden Papiermark bemessen. Genauere Zahlen gewinnt man durch Fütterungsversuche an eingesperrten Ratten. In England hat man vor Kriegsausbruch berechnet, daß eine Ratte, um sie ohne Abmagerung am Leben zu erhalten, täglich für  $\frac{1}{2}$  Penny frißt, in Deutschland kostete die Futterrations einer jungen Ratte 1914 ca. 0,6 Pfg., einer mittleren Ratte etwas über 1 Pfg., einer ausgewachsenen Ratte ungefähr  $1\frac{1}{4}$  Pfg. Bei Bahrs Versuchen mit Roggenbrot und Wasser betragen die Kosten je Tier und Tag 1 Oer. Ein mit 500 Ratten besetztes Gehöft erleidet demnach einen täglichen Schaden von 5 dänischen Kronen oder 1800 Kronen im Jahre, das sind bei der heutigen Valuta etwa 120 000 M.

Wenn die Ratten in der Freiheit auch wertlose Abfälle verzehren, so töten sie doch andererseits auch wertvolle Objekte, wie z. B. junges Geflügel, machen Speise- und Futtermaterialien unbrauchbar und richten außerdem durch ihre fortgesetzte Wühlarbeit enormen Schaden an.

Bahr hat an mehreren tausend Ratten Wägungen angestellt und ermittelt, daß die ausgewachsene Wanderratte, *Mus decumanus*, durchschnittlich 350 g bis 1 Pfd. wiegt. Derartige Tiere brauchen bei der ihnen eigenen Gefräßigkeit natürlich viel Nahrung und können eine verhältnismäßig große Kraft entfalten. Hierzu kommt ihre starke Vermehrungsfähigkeit! Nach Newton Miller kann ein Rattenpaar und sein Nachwuchs im Laufe eines Jahres bei einer Trächtigkeitszeit von 25 Tagen 862 Individuen hervorbringen. Selbst wenn die Hälfte der Jungen zugrunde geht, bleibt zur Erhaltung der Art noch eine stattliche Zahl übrig!

Für die Großvertilgung empfiehlt Bahr die Organisation auf gesetzlicher Grundlage unter behördlicher Leitung, einheitliches und gleichzeitiges Vorgehen, nachdem der Umfang der Verrattung in den betreffenden Grundstücken festgestellt ist. Privaten Maßnahmen Einzelner darf die Tilgung nicht überlassen werden. Auf die Hauptauslegung müssen im Frühjahr und Herbst jeden Jahres Nachlegungen folgen. Hand in Hand mit den periodisch vorzunehmenden Rattentilgungen sollte auf größte Reinlichkeit auf den Höfen, rattensichere Unterbringung der Küchenabfälle, auf die Schuttabfuhrplätze u. a. m. geachtet und behördlicherseits entsprechende Verordnungen erlassen werden.

Die Mittel zur Durchführung der Rattenbekämpfung sind aufzubringen: 1) durch eine sog. Rattensteuer von den Grundstückbesitzern, 2) durch Zuschüsse der Kommunen und 3) durch Einsammlung freiwilliger Beiträge.

Weder das Prämiensystem noch Fangapparate oder die Heranziehung der natürlichen Feinde der Ratten führen zu einem nachhaltigen Erfolg, Gifte, wie Phosphor, Arsenik, Strychnin ebensowenig, denn sie werden

einerseits nicht gut genug angenommen, andererseits sind sie zu gefährlich für Menschen und Tiere. Mit starken Giften kann bei geschickter Anköderung zwar scheinbar ein großer Teil der Ratten in kurzer Zeit getötet werden, der größere Restbestand meidet aber vermöge seines feinen Instinktes für lange Zeit die erneut ausgelegten Giftköder und vermehrt sich schnell weiter.

Auch Bakterien, die sog. Rattenschädlinge, führen allein nicht zum Ziele, denn erfahrungsgemäß haben durchschnittlich 20 Proz. der Nager, an manchen Stellen auch mehr, infolge der durch ihre Lebensweise bedingten Nahrungsinfektion eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegen diese Bakteriengruppe erworben.

In Berücksichtigung dieser Umstände hat Bahr ein Verfahren ausgearbeitet, das eine Bakterienkultur zur Erstausslegung und 2—3 Wochen später zur Nachlegung ein Pflanzentoxin behufs Vertilgung des immunen Restbestandes vorsieht.

Das Pflanzentoxin wird aus frischen roten Meerzwiebeln gewonnen und durch den Tierversuch sorgfältig ausgewertet, da der Giftgehalt der Meerzwiebeln keineswegs ein konstanter ist. Nach dem dänischen Gesetz über die Rattenvertilgung in den Hafentstädten vom Jahre 1921 haben bis jetzt von 58 Städten 46 das Bahrsche Ratinssystem gewählt. Die bisher vorliegenden Resultate sind auf der angehefteten Tafel verzeichnet<sup>1)</sup>. Aehnliche günstige Berichte liegen aus Schweden, Norwegen und Deutschland vor. Zwei amtliche Erfolgsanzeigen aus neuerer Zeit möchte ich einander gegenüberstellen. In einer schlesischen Stadt sind 3630 Grundstücke mit Ratinpreparaten belegt worden. 3616 wurden völlig rattenfrei, in 6 hatte sich die Zahl der Ratten sehr verringert und nur 8 Grundstückbesitzer haben sich über ihre Beobachtungen nicht geäußert. Verluste an nützlichen Tieren waren nirgends zu verzeichnen.

Demgegenüber hatte die in einer Großstadt Sachsens an 22 131 Stellen ausgelegte Phosphorlatwerge das Ergebnis, daß nur an 5784 Stellen das Gift befressen wurde und nur 1092 Ratten zur Strecke kamen, gleichzeitig aber auch 73 Haustiere, das sind fast 7 Proz. im Verhältnis zu den vergifteten Ratten.

Trotz Verwendung überaus großer Mengen von Ratinpreparaten in den skandinavischen Ländern, Deutschland, England und der Schweiz von 1904—1921 sind unter gewöhnlichen Verhältnissen und bei Beachtung der Gebrauchsanweisung keinerlei schädliche Wirkungen an Menschen und Tieren beobachtet worden.

Die von Wreschner beschriebenen, von Herrn Nöller erwähnten 2 Fälle beziehen sich auf ein russisches Gefangenenlager und eine Konditorei in Quedlinburg.

Die gefangenen Russen waren in außerordentlich schlechtem Gesundheitszustand und haben, vom Hunger getrieben, ungewöhnlich große Mengen von Ratinkodern gegessen. Unter ähnlichen Umständen ist unter gefangenen Russen ein tödlich verlaufener Fall von Gefugelcholerainfektion festgestellt worden, obwohl unter normalen Verhältnissen die Gefugelcholera Bakterien für den Menschen völlig ungefährlich sind. In Quedlinburg sollen aus verbrecherischem Leichtsinne eines Jugendlichen Ratinulturen den Torten und Kuchen beigemischt sein. Bahr hält diesen

1) Betrifft Grovertilgungen der Ratten nach dem Ratinssystem in 18 Städten und auf einer Insel. Der Prozentsatz der von Ratten befreiten Grundstücke beträgt durchschnittlich etwa 97.

Fall für nicht genügend geklärt. Jedenfalls eignen sich diese beiden Fälle nicht dazu, über die Schädlichkeit oder Unschädlichkeit des Ratinbazillus Menschen gegenüber ein allgemeines Urteil abzugeben.

Sie mahnen selbstverständlich zur Vorsicht, und Bahr stimmt völlig mit Wreschner darin überein, daß die bisherigen Vorschriften für den Umgang mit bakterienhaltigen Ratten- und Mäusevertilgungsmitteln dahin verschärft werden sollten, daß derartige Kulturen in Küchen und Aufbewahrungsräumen für Nahrungsmittel weder angerichtet noch ausgelegt werden dürfen, und daß dieses Verbot ausgedehnt werden sollte auf Internate, Krankenhäuser, insbesondere Kinderspitäler, Irrenhäuser und Gefängnisse.

Der ebenfalls von Herrn Nöller erwähnte Fall von Massenerkrankungen durch Ratinkulturen in der Erziehungsanstalt von Straußberg beruhte auf einer Verwechslung mit aus einer Apotheke bezogenen Rattentyphuskulturen. Die Herren Willführ und Wendtland haben bei ihren diesbezüglichen Untersuchungen überhaupt keine Ratinkulturen in der Hand gehabt.

Meine Damen und Herren!

Ich habe das Referat über den Bahrschen Vortrag übernommen, weil ich mich im Dienste der provinziälsächsischen Landwirtschaft selbst seit länger als 20 Jahren mit der Rattenbekämpfung und Nachprüfung fast aller in den Handel gebrachten Vertilgungsmittel beschäftigt habe. Hierbei konnte ich feststellen, daß das Ratinverfahren alle anderen Präparate übertraf. Das Ratin wird gut aufgenommen, gewährleistet einen vollen Erfolg und ist relativ unschädlich für Menschen und nützliche Tiere.

Wären die Ratinkulturen wirklich für Menschen gefährlich, so würden in den Jahren der Unterernährung des deutschen Volkes Massenerkrankungen an der Tagesordnung gewesen sein.

## 20. Vortrag. H. A. Gins (Berlin):

### Neuere Ergebnisse der experimentellen Maul- und Klauenseucheforschung.

M. H.! In dem heutigen kurzen Referat möchte ich über einige neuere Ergebnisse der Maul- und Klauenseucheforschung unter Verwendung des Meerschweinchens als Versuchstier berichten. Die Arbeiten von Waldmann und Pape, Hobmaier, Groth, Ernst, Titze u. a. darf ich als bekannt voraussetzen und ihre Schilderung hier übergehen. Es wird sich ohnedies ergeben, daß die eine oder andere Arbeit erwähnt werden muß, besonders da, wo unsere Resultate abweichen oder über bisher Bekanntes hinausgehen. Die hier mitgeteilten Versuche sind in gemeinschaftlicher Arbeit mit R. Weber und nach dessen Ausscheiden aus dem Institut „Robert Koch“ mit Kurt Krause angestellt worden.

Um das Verständnis für den Ablauf der Maul- und Klauenseuchefektion am Meerschweinchen zu fördern und uns solide Grundlagen für die Bearbeitung der zahlreich vorhandenen Probleme zu schaffen, haben wir den Weg des Virus im Tierkörper von Anfang an große Aufmerksamkeit gewidmet. Es ist Ihnen bekannt, daß nach den bis-

herigen Untersuchungen das Virus ziemlich schnell aus dem strömenden Blut und den Organen verschwinden soll. Mit Ablauf der Fieberreaktion, bei großen Tieren also am 2., spätestens 3. Tag nach der Infektion, war das Virus nicht mehr im Blut nachweisbar. Ähnliche Befunde erhob v. Seigneux bei Meerschweinchen. Er fand das Blut 50—60 Std. nach der Infektion frei vom Virus. Wie ich schon gemeinsam mit R. Weber mitteilen konnte, haben wir positive Blutbefunde weit über diese Zeit hinaus bis zum 7. Tag nach der Infektion erhalten. Neue systematisch durchgeführte Untersuchungen bei infizierten Meerschweinchen haben nicht nur diese Befunde bestätigt, sondern darüber hinaus wichtige Einblicke in die Verteilung des Virus im Körper vermittelt. Ein solcher Versuch hatte folgendes Ergebnis:

Es wurden mehrere gleich große Meerschweinchen mit demselben Virus in der üblichen Weise infiziert. Nach 2mal 24 bis 7mal 24 Std. nach der Infektion wurde je ein Tier getötet und Herzblut sowie Verreibungen von Milz, Leber und Nebenniere auf neue Tiere übertragen. Es fand sich folgendes Bild:

Nach	2mal	24	Std.	Blut	+	Milz	+	Leber	+	Nebenniere	+
"	3	"	24	"	+	"	—	"	+	"	—
"	4	"	24	"	+	"	+	"	—	"	—
"	5	"	24	"	+	"	+	"	+	"	+
"	6	"	24	"	—	"	—	"	—	"	—
"	7	"	24	"	+	"	+	"	+	"	+
"	7	"	24	"	—	"	—	"	—	"	—

Die Unterschiede im Verhalten des Virus in den Organen stehen in gewissem Sinne in Beziehung zum klinischen Verlauf der Infektion. Wir sahen nicht selten einen Verlauf, der von der Norm abwich und wegen seiner Besonderheiten bedeutungsvoll erscheint. Die Tiere zeigen die übliche Rückbildung der Erscheinungen an den Füßen, dagegen weniger derjenigen an der Zunge. Sie magern rapid ab und sterben spontan, wenn wir sie nicht in moribundem Zustand getötet haben. Bei solchen Tieren finden wir das Virus dann reichlichst in allen Organen, auch noch nach 7 Tagen! Wir haben also eine septisch-marantische Form der Maul- und Klauenseucheinfektion vor uns, die auch einen besonderen Obduktionsbefund darbietet. Der Tod der Tiere tritt nicht durch Verhungern ein, wie Weber und ich zuerst annahmen, sondern infolge der Allgemeininfektion. Wir finden regelmäßig Magen-Darm-entzündung, häufig Pneumonien und Lebernekrosen besonderer Art. In einem Fall war das Virus in der Lebernekrose, nicht aber im sonst wenig veränderten Lebergewebe nachweisbar. Die von uns schon beschriebene Vergrößerung der Nebenniere mit Blutung fehlte in den septisch-marantischen Fällen nie.

Es wäre von Bedeutung, in der Praxis zu untersuchen, ob ähnliche Verlaufsarten bei natürlicher Infektion auch gefunden werden. Die bei großen Tieren beschriebenen Veränderungen am Herzmuskel haben wir bei Meerschweinchen nie gefunden.

Von Interesse ist die Feststellung, daß 2mal aus dem Herzblut steril entnommener Föten das Virus nachgewiesen werden konnte, einmal 2 Tage und das andere Mal 5 Tage nach der Infektion. Meine Vermutung wird damit bestätigt, daß die immun geborenen Jungen infiziert gewesener Muttertiere eine intrauterine Infektion durchmachen und aktiv immunisiert werden, und daß es sich nicht um einen Uebergang der im mütterlichen Organismus gebildeten Schutzstoffe auf den



Fötus nach Art einer passiven Immunisierung handelt. Inwiefern dieser Befund auch für andere Infektionskrankheiten wertvoll ist, kann hier nicht erörtert werden.

In gemeinsamer Arbeit mit R. Weber habe ich gefunden, daß das Maul- und Klauenseuchevirus durch Meerschweinchenpassagen eine Modifikation durchmachen kann, derart, daß es seine Virulenz für große Tiere verliert. Trotzdem Waldmann und Tietze annehmen, daß das Virus nach zahlreichen Passagen durch das Meerschweinchen seine Virulenz voll erhält, sehe ich eine Bestätigung unserer Erfahrung in der Tatsache, daß ich weder aus dem Reichsgesundheitsamt noch aus der veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim ein Passagevirus mit voller Virulenz für Rind und Schwein erhalten konnte. Wir haben neuerdings mit unserem modifizierten Virus Schwein und Kalb vorbehandelt und die Tiere dann mit natürlichem Virus geprüft. Während dieses bei dem Kontrolltier zu einer schweren Infektion führte, blieb unser Schwein gesund und das Kalb bekam eine isolierte Zungenblase ohne Allgemeinerscheinungen. Wir sehen also die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit modifiziertem Virus vor uns. Dahingehende Versuche unter den Bedingungen des praktischen Betriebes sollen jetzt Aufschluß darüber geben, in welcher Form eine solche Schutzimpfung durchgeführt werden kann. Die Bedeutung eines Verfahrens der aktiven Immunisierung für die Landwirtschaft liegt auf der Hand. Die Zukunft muß lehren, ob die Titzeschen Kulturen oder unser modifiziertes Virus in der Praxis bessere Resultate ergeben werden.

Zum Schluß möchte ich noch einige Diapositive und Zeichnungen demonstrieren, an welchen die von mir aufgefundenen Kerneinschlüsse im Zungenepithel von Maul- und Klauenseuche-Meerschweinchen zu sehen sind. Ich habe diese Gebilde mittlerweile im infizierten Gewebe der Sohle, Zunge und Nebenniere von Meerschweinchen und in der Zunge natürlich infizierter Rinder gefunden und halte mich nach meinen bisherigen Befunden für berechtigt, sie in irgendeine Beziehung zum Virus zu bringen. Mit den bisher beschriebenen und nicht immer bestätigten Befunden von Mikroorganismen bei Maul- und Klauenseuche (v. Betegh, Lipschütz, Huntemüller) haben sie nichts zu tun. Dagegen halte ich es für möglich, daß sie Stauffacher gesehen hat, wenigstens finden sich in seinen Bildern einzelne, die eine gewisse Ähnlichkeit haben. Diese Gebilde sind nach meinen Erfahrungen spezifisch für Maul- und Klauenseuche. Ueber ihre Natur kann ich noch nichts sagen. Bei der Methylgrün-Pyroninfärbung werden sie grün und unterscheiden sich so vom Nucleolus. Weitere Untersuchungen müssen aufzuklären versuchen, ob es sich um eine Erscheinungsform des Virus handelt. Die Tatsache, daß im klaren Blaseninhalt diese Dinge nicht gefunden werden, sondern kleinste Körnchen (v. Betegh, Lipschütz), spricht an sich nicht gegen eine solche Möglichkeit, wie die Verhältnisse bei Variolavakzine beweisen.

**21. Vortrag. O. Waldmann und C. Trautwein (Insel Riems):  
Ueber Infektion und Immunität bei Maul- und Klauenseuche.**

Loeffler vertrat auf Grund der Ergebnisse seiner mit seinen Mitarbeitern Frosch und Uhlenhuth durchgeführten Versuche folgende Anschauung vom Zustandekommen der Maul- und Klauenseucheinfektion. Das Virus wird von den Verdauungs- und Atmungsorganen des empfänglichen Tieres aufgenommen. Die Aufnahme des Erregers wird durch Einreiben in die verletzte oder unverletzte Schleimhaut begünstigt. Von diesen Organen aus gelangt der Erreger ins Blut und kreist dort während des Inkubationsfiebers. Das typische Krankheitsbild wird bedingt durch den Ausbruch des Exanthems.

Der Kontakt mit dem Blute sollte demnach Vorbedingung für das Angehen der Infektion sein.

Folgende, ganz kurz skizzierte Versuche sollen entscheiden, wie weit diese Auffassung noch zu Recht besteht.

Wenn wir einem spontan empfänglichen Tiere, z. B. einem Schweine, eine große Menge (etwa 0,5 ccm) Lymphe intravenös injizieren, also in direkten Kontakt mit dem Blute bringen, und vom Zeitpunkt der Infektion an stündlich das Blut entnehmen und auf das Meerschweinchen verimpfen, so läßt sich feststellen, daß das Blut noch 4—6 Std. nach der Infektion virulent bleibt. Hernach ist das Blut frei von Virus bis zu einem Zeitpunkt, an dem die Entwicklung des allgemeinen Exanthems schon im Gange ist, also ungefähr bis zur 24.—20. Std. p. i. Dann tritt das Virus wieder im Blute auf und verbleibt darin so lange, bis die Blasen platzen und der Inhalt derselben sich spontan entleert hat.

Ueber den Verbleib des Virus nach dem erstmaligen Verschwinden aus dem Blute kurze Zeit nach der intravenösen Einverleibung gibt folgender Versuch Auskunft:

Setzt man gleichzeitig mit der intravenösen Injektion eine Skarifikation oder eine oberflächliche Hautquetschung an einer der Prädiaktionsstellen, so entsteht an dieser Stelle außerordentlich rasch, meist schon innerhalb 24 Std., die spezifische Veränderung in Gestalt einer Blase. Die allgemeine Blaseneruption an den übrigen Prädiaktionsstellen tritt erst später ein.

Es ergibt sich somit aus beiden Versuchen, daß das Virus, künstlich in direkten Kontakt mit dem Blute gebracht, ziemlich schnell aus demselben verschwindet und in der Haut oder in dem kutan gebauten Teil der Schleimhaut abgelagert wird.

Der ausgesprochen epitheliotrope Charakter des Virus wird ganz offensichtlich, wenn wir das Virus direkt in die Haut an den Prädiaktionsstellen einbringen. Impfen wir z. B. ein Meerschweinchen unter Anwendung der bei der Schutzpockenimpfung geübten Technik an der unbehaarten Plantarfläche des Metatarsus, so können wir makroskopisch meist bereits nach 16 Std. die Bildung kleinster Bläschen in der Umgebung der Skarifikationsstriche sehen. Mikroskopisch sind die ersten degenerativen Veränderungen an den Zellen des Stratum spinosum, die gegenüber den gleichartigen Veränderungen bei Variola nichts Spezifisches haben, vielfach schon 5 Std. nach der kutanen Infektion nachzuweisen. Nach 20—24 Std. haben wir bereits schöne bohngroße Blasen an der Impfstelle.

Wir haben nun in ausgedehntem Maße den kutanen Infektionsmodus bei den spontan empfänglichen Tieren, Rindern und Schweinen, angewandt und haben hier genau die gleichen Verhältnisse gefunden. Appliziert man beim Rind oder Schwein an einer leicht übersichtbaren Stelle, z. B. am Flotzmaul oder an der Rüsselscheibe, kleinste Lymphemengen kutan oder intrakutan, so sehen wir an der Impfstelle die lokale oder Primäraphthe aufschließen. Die Bildung der Primäraphthe verläuft ohne Temperaturerhöhung und das Blut bleibt während der Primäraphthenbildung frei von Virus.

Bei der Spontaninfektion beim Rind und Schwein haben wir analoge Vorgänge. Die Bedingungen, die wir bei der kutanen Infektion künstlich schaffen, liegen bei den spontan empfänglichen Tieren immer vor. Durch die besondere Art der Futteraufnahme bei den Wiederkäuern und Schweinen wird das Entstehen kleinster, dem bloßen Auge unsichtbarer Epithelverletzungen, an denen sich das Virus ansiedeln und vermehren kann, begünstigt. Die Entstehung des Primäraffekts bei der Spontaninfektion läßt sich natürlich klinisch nur in seltenen Fällen verfolgen, da wir den Sitz nicht kennen und nicht alle Stellen, die dafür in Frage kommen, der Untersuchung zugänglich sind.

Der Entwicklung der Primäraphthe an der Eintrittspforte folgt alsbald der Uebertritt des Virus ins Blut. Dieser Uebertritt wird durch Temperaturerhöhung angezeigt. Daran schließt sich der generalisierte Ausbruch des Exanthems an allen Prädilektionsstellen an.

Ueber den klinischen Verlauf entscheidet neben allgemeinen Faktoren, wie Rasse, Alter, individuelle Resistenz, vor allem die Virulenz des Ansteckungsstoffes.

Das Virulenzproblem bei Maul- und Klauenseuche ist bis heute noch ungelöst. Wir besitzen bis jetzt noch keine sichere experimentelle Methode, durch die die Virulenz so zu beeinflussen ist, daß wir diejenige Form der Seuche hervorrufen können, die als bösartige bekannt ist, und bei der es bei erwachsenen Tieren meist zu einer Lokalisation des Virus im Herzmuskel kommt, die zu einer schweren, oft zum Tode führenden Myocarditis parenchymatosa führt.

Meine Versuche nach dieser Richtung hin haben aber zu Ergebnissen geführt, die vielleicht einen Schluß zulassen über die Bedingungen, unter denen es zu einer Virulenzsteigerung während eines Seuchenganges kommt.

Wir konnten die Feststellung Loefflers, daß Wechselfassagen zwischen Rind und Schwein die Virulenz steigern, bestätigen, und konnten weiterhin feststellen, daß auch Wechselfassagen über ein weniger empfängliches Tier zur Virulenzsteigerung beitragen. Ein Beispiel: Die Ratte steht an Empfänglichkeit dem Meerschweinchen weit nach. Kutane Impfung führt bei diesem Tiere nur zu einer örtlichen Aphthe, die Generalisation bleibt aus. Durch eine solche Rattenpassage können wir nun eine, allerdings nur vorübergehende Virulenzsteigerung für Meerschweinchen hervorrufen. Weiter ist es uns in einem Versuche gelungen, durch Ueberimpfung unseres Meerschweinchenstammes auf das Schwein, von diesem auf das Rind, dann wieder auf ein erwachsenes Schwein, bei letzterem einen tödlichen Verlauf mit der typischen Herzaffektion zu erzeugen.

Nach diesen Versuchen scheint jene, allerdings nicht unwidersprochen gebliebene Auffassung das Richtige zu treffen, daß häufige Wechselfassagen namentlich über weniger empfängliche Tierarten, eine der Ur-

sachen für die im bösartigen Verlauf der Seuche zum Ausdruck kommende Virulenzhöhung ist.

Um auch die andere Seite des Virulenzproblems, die der Abschwächung durch fortdauernde Züchtung in spontan nicht empfänglichen Tieren kurz zu streifen, darf ich feststellen, daß unser nunmehr durch 380 Meerschweinchenpassagen fortgezüchteter Inselstamm noch immer vollvirulent für spontan empfängliche Tiere ist. Ich habe im Gegensatz zu Gins und Weber vorläufig keine Hoffnung, mittels Meerschweinchenpassagen zu einem mitigierten Virus und damit zu einem aktiven Immunisierungsverfahren nach Art der Vakzination bei den Pocken zu kommen.

Ueber die Immunitätsverhältnisse bei Maul- und Klauenseuche wissen wir zunächst, daß das durchgeseuchte Tier in der Regel 14 Tage nach der Erkrankung eine absolute Immunität besitzt.

Terni unterscheidet zwischen einer Gewebs- und einer Allgemeinimmunität und gibt an, daß die Gewebsimmunität früher eintritt und früher erlischt als die Allgemeinimmunität. Die Richtigkeit dieser Ansicht konnten wir experimentell bestätigen und konnten zeigen, daß unmittelbar nach der generalisierten Blaseneruption, d. i. 2 Tage nach der Infektion, eine hochgradige Immunität der Haut einsetzt. Die kutane Superinfektion, unmittelbar nach der Generalisation des Exanthems an einer erkrankt gebliebenen Prädilektionsstelle gesetzt, bleibt immer erfolglos. Diese Versuche, bei 20 Schweinen vorgenommen, zeigten größte Regelmäßigkeit.

Die allgemeine Immunität wird angezeigt durch das Auftreten der Schutzkörper im Blute. Zur Feststellung des genauen Zeitpunktes des Eintretens der Blutimmunität haben wir Meerschweinchen an verschiedenen Tagen nach der Infektion total entblutet, die Gesamtmenge des Blutes gesunden Meerschweinchen einverleibt und diese gleichzeitig infiziert. Auf diese Weise konnten wir vom 7. Tage ab die Schutzkörper nachweisen. Aus Versuchen an Großtieren wissen wir bis jetzt, daß die Schutzkörper im Blute schon am 7. Tage ihre maximale Konzentration erreicht haben. Zu dieser Zeit oder auch 8—14 Tage später entnommenes Serum von Rekonvaleszenten kann bei Simultan- und Heilimpfungen in der Praxis Verwendung finden. Ich darf hinzufügen, daß Loeffler und Uhlenhuth eine Methode der Hyperimmunisierung ausgearbeitet haben, die die Herstellung eines Serums gestattet, das einen 10—20fach höheren Schutzwert besitzt, als das Rekonvaleszenten-serum.

Die mit diesem Serum erzeugte passive Immunität schien nach den Loefflerschen Versuchen eine absolute zu sein. Die Infektion passiv immunisierter Tiere durch intravenöse Injektion des Virus gelang nicht. Demgegenüber konnten wir in einer Versuchsreihe feststellen, daß bei den mit steigenden Mengen, bis zu 800 ccm hochwertigen Immunserums vorbehandelten Rindern immer lokale Aphthenbildung durch intrakutane Impfung hervorgerufen werden konnte; die Generalisation blieb aus. Die Gewebsimmunität läßt sich demnach auch bei der Maul- und Klauenseuche nicht passiv übertragen.

Von größter praktischer Bedeutung ist es nun, durch das Experiment sichere Unterlagen für die Beurteilung der Dauer der Immunität zu schaffen. Erschwerend ist hierbei, daß die beim Meerschweinchen in dieser Richtung gemachten Feststellungen nicht ohne weiteres für das

Rind Geltung haben. Versuche an Großtieren, die unter Umständen jahrelang dauern, sind naturgemäß nur sehr schwer durchführbar.

Unsere bisherigen Versuche berechtigen zu folgenden Schlußfolgerungen:

Das Erlöschen der Gewebssimmunität ist beim Meerschweinchen bereits vom 4. Monat ab, ausnahmsweise noch früher nachzuweisen. Beim Rind dauert die absolute Immunität sicher nicht viel länger. Von 5 Tieren, die nach 7—8 Monaten nach spontaner Erkrankung intrakutan reinfiziert wurden, bekamen 4 Impfpfthen, die Generalisation blieb aus.

Ueber die Dauer der Blutimmunität verfügen wir bis jetzt über eine Beobachtungszeit von 1½ Jahren nach der spontanen Durchseuchung.

Wir fanden bei 30 Tieren, daß rund ein Viertel nach dieser Zeit ihre Blutimmunität verloren hatte und wieder hochempfänglich geworden waren, während bei den übrigen noch Immunkörper in verschiedenen, mittels der Serumprüfung an Meerschweinchen genau meßbaren Mengen im Blute vorhanden waren.

#### Diskussion zu Vortrag 19 bis 21.

Uhlenhuth (Marburg): Die Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf Meerschweinchen halte ich für einen bedeutsamen Fortschritt. Ich habe diese Tatsache bestätigen können (s. Dtsch. med. Wochenschr. 1921, 24), nachdem es der Preuß. Kommission (Loeffler, Frosch, Uhlenhuth) — ebenso wie Kossel — früher nicht gelungen war, auch bei Impfung in die skarifizierte Haut der Fußsohlen die Maul- und Klauenseuche zu erzeugen. Damals stand uns allerdings kein so virulenter Stamm zur Verfügung. Ich glaube, daß die damaligen Mißerfolge z. T. damit zusammenhängen. Auch vor kurzem gelang es mir nicht, mit ganz frischer Blasenlymphe vom Schaf beim Meerschweinchen Maul- und Klauenseuche zu erzeugen. Auch sonst erwies sich Blasenlymphe von 3 verschiedenen Seuchengängen bei Meerschweinchen verschieden virulent. Wir haben mit Bieber neuerdings Versuche mit Maul- und Klauenseuche angestellt. An Meerschweinchen stellten auch wir fest, daß das Ueberstehen der Maul- und Klauenseuche eine komplette Immunität erzeugt, die von uns bis 3 Mon. nach dem Ueberstehen der Seuche beobachtet wurde (später wurde nicht untersucht). Das Blut von mit Maul- und Klauenseuche infizierten Meerschweinchen war bis 52 Std. nach der Infektion infektiös (Skarififikation in der Fußsohle), nach 72—96 Std. nicht mehr. 6½ Std. nach der Infektion konnte Virus im Blut noch nicht nachgewiesen werden. Machte das Blut die Versuchstiere nicht krank, so wirkte es auch nicht immunisierend. Das infektiöse Blut war nicht so virushaltig wie die Blasenlymphe.

In den Organen entbluteter maul- und klauenseuchekrankter Meerschweinchen, deren Blut infektiös war, konnte das Virus nicht nachgewiesen werden. Die mit Organbrei ip. vorbehandelten Tiere erkrankten bei der Nachinfektion (Skarififikation!) prompt.

Die Meerschweinchen eignen sich für praktische Immunisierungsversuche nicht so gut wie Rinder und Schweine, da sie unter natürlichen Verhältnissen nicht erkranken. Eine Spontaninfektion haben wir nie beobachtet, was sehr merkwürdig ist, da doch das Virus durch die Blasen nach außen abgeschieden wird und dadurch Gelegenheit zur Infektion reichlich gegeben ist. Wir haben an Meerschweinchen und Rindern die wechselseitige Immunität zwischen Vakzine und Maul- und Klauenseuche eingehend studiert, nachdem früher schon (1898) die Preuß. Kommission (Loeffler, Frosch, Uhlenhuth) bei einfacher Vakzination eine Immunität gegen Maul- und Klauenseuche nicht erzielen konnten. 2 Rinder, die mit massiven Dosen Vakzinelymph iv. und ip. vorbehandelt waren, blieben 6 Wochen im Seuchenstall zwischen schwerkranken Tieren, die alle erkrankten, gesund (s. Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 15)<sup>1)</sup>. Das eine Tier wurde einige Monate später wieder in den Seuchenstall gebracht und erkrankte. Auch bei Wiederholung des Versuches bei einer größeren Anzahl mit großen Dosen ip. von keimfreier Eukupinlymphe (Kirstein) vorbehandelter Rinder zeigte sich keine Immunität gegen Maul- und Klauenseuche. Diese Rinder, die systematisch hochgetrieben wurden, lieferten ein Serum, das in geringen Dosen hochwirksame Pockenlymphe neutralisierte. Es soll bei pockenkranken Menschen versucht werden.

1) Die ausführliche Arbeit erscheint demnächst in der Zeitschr. f. Immunitätsforschung.

Ebenso verliefen Versuche an Meerschweinchen in Uebereinstimmung mit Gins und Weber. Meerschweinchen bekommen nach Skarifikation der Fußsohlen mit virulenter Vakzinelymphe ähnliche Blasen wie nach Impfung mit Maul- und Klauenseuche. Auch auf der Haut entwickeln sich typische Pockeneruptionen (Demonstration von Abbildungen). Die Lymphe läßt sich auf Meerschweinchen weiterzüchten (= „Cavine“). Für Rinder war sie nach vielfachen Passagen noch virulent.

Ob die Abschwächung im jungen Meerschweinchen nach Gins für die Praxis brauchbar ist, erscheint mir noch zweifelhaft; in unseren Versuchen war jedenfalls die im Meerschweinchen lange fortgezüchtete Lymphe noch imstande, einen spontanen Seuchenausbruch unter Schafen zu erzeugen. Ich vermisse eine Aeußerung der Vortragenden über die Kultur nach Titzze und die damit erzielte Immunisierung. Ich hätte gern etwas Näheres darüber gehört, da ich nach den bisherigen Mitteilungen Zweifel an der wirklich gelungenen Kultivierung des Virus habe.

Uns ist eine Kultur in den verschiedensten Medien („Wasserkultur“ mit Organstückchen, Gallennährböden, Nährböden aus Meerschweinchen-Fußsohlen) nicht gelungen.

Neufeld (Berlin).

Waldmann (Insel Riems) (Schlußwort): Der von Gins als septisch-marantische Form der Maul- und Klauenseucheerkrankung beim Meerschweinchen angesprochene protrahierte Infektionsverlauf gehört zu den seltenen Ausnahmen.

Die Gefahr der Seuchenverschleppung durch virushaltige Organe und Fleisch ist nach allen bisherigen praktischen Erfahrungen unerheblich. Experimentelle Untersuchungen in der Riemscher Anstalt ergaben, daß das Virus im spezifisch veränderten Herzmuskel maul- und klauenseuchekranker Tiere, die unmittelbar nach dem Tode seziiert wurden, bereits nach 24 Std. vernichtet ist. Wir vermuten, daß autolytische Vorgänge im Muskelfleisch die Ursache für das schnelle Absterben des Virus abgeben.

Was die Gins'schen Versuche zur aktiven Immunisierung anlangen, so halte ich es bei dem derzeitigen Stande der Seuche in Deutschland und nach dem, was wir bisher über die Dauer der Immunität nach spontaner Durchseuchung wissen, für unerlässlich, daß bei allen derartigen Versuchen der Nachweis der Hochempfänglichkeit der zu den Immunisierungsversuchen verwandten, spontan empfänglichen Tiere durch das Experiment erbracht wird; wir können m. E. niemals durch Ermittlungen mit absoluter Sicherheit feststellen, ob ein Tier im Verlauf der letzten Jahre durchgeseucht hat oder nicht. Der Prüfungsversuch wird in der Weise vorgenommen, daß wir ein Meerschweinchen je nach Größe mit 8–10 ccm Serum des für den Immunisierungsversuch ausersehenen Rindes subkutan vorbehandeln und unmittelbar danach kutan in der üblichen Weise infizieren. Ist bei dem Meerschweinchen spätestens nach 3mal 24 Std. das generalisierte Exanthem zur Entwicklung gekommen, so ist der Serumsponder als hochempfänglich zu bezeichnen. Das Ausbleiben oder die Verzögerung der Generalisation beweist, daß das Rind noch Schutzkörper im Blute hat und somit unbrauchbar für den Immunisierungsversuch ist.

Gins (Schlußwort): Die von mir als „septisch-marantische“ Form bezeichnete Art der Maul- und Klauenseuche bei Meerschweinchen ist nach unseren Erfahrungen keine seltene Ausnahme. Wir finden sie bei etwa 10 Proz. unserer Tiere. Die von uns beobachtete Virulenzänderung bei Meerschweinchenpassagen ist nicht zu bezweifeln. Ob sie zu einer brauchbaren Schutzimpfung führen wird, können nur Versuche unter praktischen Bedingungen erweisen, die wir vorläufig nicht durchführen können. Die Möglichkeit darf nicht übersehen werden, daß unser modifiziertes Virus in spontan empfänglichen Tieren wieder in den Ausgangsstamm zurückschlägt.

Auf die Kultur nach Titzze bin ich nicht näher eingegangen, weil ich kein Uebersichtsreferat über das ganze Gebiet geben wollte, und weil außerdem unsere Versuche nach dieser Richtung ganz resultatlos verlaufen sind.

## 22. Vortrag. Amster (Göttingen):

### Ein neues Züchtungsverfahren für Protozoen.

Gelegentlich der Untersuchung eines Desinfektionsproblems sah ich mich vor die Aufgabe gestellt, als Testobjekt eine Protozoenkultur von

ganz bestimmten Eigenschaften zu verwenden. Die Protozoen mußten eine gewisse Größe haben, ferner einen Einzellstamm repräsentieren mit möglichst gleicher Resistenz der einzelnen Individuen. Sie mußten jederzeit und in beliebig großer Menge produzierbar sein. Die Protozoenkultur mußte schließlich erlauben, die Wirkung von chemischen Agentien auch bei Gegenwart von Eiweiß zu untersuchen. Dieses war die schwierigste Anforderung, denn man ist bei der Züchtung, gerade der großen Protozoenformen, z. B. der Ciliaten, meist auf Bakteriennahrung angewiesen, und die Bakterien überwuchern die Protozoen sehr schnell in einer eiweißhaltigen Nährflüssigkeit.

Aus diesem Grunde konnte auch die sonst so brauchbare Oehler'sche Methode der gereinigten Ciliatenzucht nicht angewandt werden, weil sie ein eiweißfreies Medium zur Unterlage hat. Ich sah mich also vor die Aufgabe gestellt, die Frage zu entscheiden, unter welchen Bedingungen ein Zusammenleben von Protozoen, speziell Ciliaten, und vermehrungsfähigen Bakterien möglich ist. Die Lösung dieser Frage hat ein gewisses praktisches Interesse, da sich erwarten läßt, daß das Studium der Gleichgewichtsbedingungen zwischen Bakterien und Ciliaten auch Aussicht für die Züchtung anderer Protozoen zusammen mit Bakterien ermöglicht. Ich will nicht unerwähnt lassen, daß Oehler bereits im vergangenen Jahr das Problem der gemeinsamen Zucht von Ciliaten und Bakterien in eiweißreicher Unterlage in Angriff genommen hat, ohne allerdings zu abschließenden Resultaten gekommen zu sein.

Ich möchte meine Erfahrungen über eine gemeinsame Zucht von Ciliaten und Bakterien unter einigen wenigen Gesichtspunkten zusammenfassen, die vielleicht für andere analoge Zuchtverfahren beachtenswert sind. 1) gilt es in jedem Falle ein Bakterium zu finden, dem der betreffende Ciliat angepaßt erscheint. 2) gilt es in jedem Einzelfalle Systembedingungen zu finden, die für den betreffenden Ciliaten ein Entwicklungsoptimum darstellen, für das Bakterium aber dicht über dem Entwicklungsminimum liegen. Eine ganz besondere Rolle spielen hierbei: Konzentration des Bakteriennährmediums, seine Wasserstoffionenkonzentration, die Temperatur.

Der Ciliat, für den ich die Gemeinschaftszucht zunächst durchgeführt habe, ist eine *Balantiophorus* art (identifiziert wurde sie nach Blochmann durch Herrn Prof. Voss vom Göttinger Zoologischen Institut). Das Nährbakterium ist ein gramnegatives, kurzes, bewegliches Wasserbakterium, das nicht der Coli-Gruppe angehört und nach Lehmann nicht zu identifizieren war. Beide wurden aus demselben Heuinfus isoliert, ausgehend von dem Gedanken, daß dasjenige Bakterium, das unter natürlichen Bedingungen mit einem Ciliaten vergesellschaftet ist, besonders disponiert zu seiner Ernährung, ihm sozusagen adäquat ist.

Ich benutzte als Kulturmedium eine  $1/1000$  Pepton-Witte-Lösung, hergestellt mit dest. Wasser, die durch Zusatz von Salzsäure auf eine schwache Azidität gebracht wurde, nämlich auf eine  $P_H$  von 6,8. Sie wird ungefähr erzeugt, wenn man zu einem Liter einer 1:5000 Normal-Salzsäure 1 g Pepton Witte zusetzt. Die Lösung muß kalt bis zur vollkommenen Klarheit filtriert, dann zu je 5 ccm in Reagenzgläser gefüllt und schließlich sterilisiert werden.

Eine sehr wichtige Rolle für die Gemeinschaftszucht spielt die Temperatur. Da das Vermehrungsoptimum für die von mir verwandten Wasserbakterien unterhalb  $18^\circ$  lag (bei  $37^\circ$  wuchs die Bakterienkultur auf Agar erst in 8 Tagen zu sichtbaren Kolonien aus, bei  $15^\circ$  schon

in 24 Std.), so wurde die für die Bakterien weniger günstige, für die Ciliatenvermehrung aber besonders günstige Temperatur von 22–25° als dauernde Zuchttemperatur gewählt. Als Beispiel, wie variierend eine andere Temperatur auf den Zuchtverlauf einwirkt, möchte ich einen Fall erwähnen, bei dem ein 24-stünd. Verweilen der klaren Gemeinschaftszucht bei 10–12° genügte, um die Bakterien so überwuchern zu lassen, daß das Kulturröhrchen sich trübte und die Protozoen in 3 Tagen zugrunde gingen.

Im einzelnen gestaltet sich Zuchtverfahren und Lebenslauf der vorliegenden Ciliatenkultur folgendermaßen: Von einem Stammzuchtröhrchen, in dem sich Ciliaten und Bakterien im Gleichgewicht befinden, überimpft man eine Oese des Bakterien-ciliatengemisches in ein Reagenzglas, das mit 5 ccm der beschriebenen Kulturflüssigkeit beschickt ist. Man hält die Kultur bei 22–25° (ev. auf dem Brutschrank für 37°). Um die Protozoenvermehrung und die Einstellung des Gleichgewichts braucht man sich nicht zu kümmern. Nach 24 Std. tritt in dem Kulturröhrchen eine leichte Trübung auf, hervorgerufen durch die bei der noch geringen Protozoenzahl sich verhältnismäßig ungestört vermehrenden Bakterien. Am 2. Tage haben sich bereits einige hundert Ciliaten im ccm gebildet; am 3. Tage etwa 2000. Gleichzeitig ist die Kultur ganz klar geworden und bleibt nun klar: das Gleichgewicht in der Gemeinschaftszucht ist hergestellt. Vom 4. Tage an kann man von einer Gemeinschaftszucht beliebig viel neue Kulturen anlegen. Nach 10 Tagen erreicht die Ciliatenzahl ein Maximum von 10000 Exemplaren pro ccm. Die Reagenzglas-kultur hält sich ca. 2 Mon., denn durch Ueberimpfen der 2 Mon. alten Kultur erhält man sofort ganz normale, entwicklungsfähige neue Gemeinschaftszuchten. Im 3. Monat beginnen die Protozoen an Größe abzunehmen und stellen langsam ihre Funktionen ein. Sie sterben schließlich ab, nicht weil die Bakterien überwuchern, denn die Kultur bleibt vollkommen klar, sondern weil wahrscheinlich die Stoffwechselprodukte sowohl für die Protozoen als für die Bakterien ein Weiterleben unmöglich machen.

Ich arbeite seit  $\frac{3}{4}$  Jahr mit meiner Balantiophoruszucht und habe bisher keinerlei Unregelmäßigkeiten im Zuchtverlauf wahrgenommen.

Für die Trennung von Bakterien und Protozoen in der Rohkultur hat sich mir ein Verfahren bewährt, das m. E. bisher nie genügend beachtet worden ist: nämlich die Trennung von Bakterien und Protozoen auf elektrischem Wege. Unter dem Einfluß eines Potentialgefälles wandern nämlich die Protozoen zur Kathode, die Bakterien aber entgegengesetzt zur Anode. Ich bediente mich eines etwas modifizierten Michaelischen Kataphoreseapparates mit unpolarisierbaren Elektroden; als Leitflüssigkeit verwandte ich eine 0,05-proz. NaCl-Lösung. Ich möchte bemerken, daß die Trennung nicht einfach ist, da immer einige Bakterien in den Protozoencilien hängen bleiben. Deshalb muß sie mehrmals, oft bis zu 6mal, wiederholt werden. Mit einer gennauen Durcharbeit der Methodik bin ich zurzeit beschäftigt.

#### Diskussion.

Oehler (Frankfurt a. M.).

Reichenbach (Göttingen): Ich möchte darauf hinweisen, was aus den Ausführungen des Herrn Vortragenden vielleicht nicht ganz klar hervorging, daß sich diese Gemeinschaftskultur von Protozoen und Bakterien durch einfache Ueberimpfung auf neuen Nährboden, wie es scheint, beliebig lange fortsetzen läßt. Wir sind jetzt bei der 72. Generation.



23. Vortrag. Weissenberg (Berlin, anat.-biol. Institut):

**Die infektiöse Lymphocystiskrankheit der Fische in ihrer Bedeutung für die Auffassung von Zelleinschlüssen bei den sog. Chlamydozoenkrankheiten.**

M. D. u. H.! Gestatten Sie, daß ich Sie einen Augenblick in das Reich kaltblütiger Patienten entführe und auf eine interessante Fischkrankheit aufmerksam mache, die, wie mir scheint, Rückschlüsse auf die Bedeutung der Einschlußkörperchen bei Chlamydozoenkrankheiten von Warmblütern gestattet. Es handelt sich um die sog. Lymphocystis-Krankheit, die bei Plattfischen in unseren Meeren (Flundern und Schollen) nicht selten ist und, wie ich 1913 fand, auch bei Kaulbarschen im Jasmunder Bodden auf Rügen vorkommt. Die Krankheit geht mit der Entwicklung von Knötchen in der Haut einher, die bei der Flunder bis 2 mm, beim Kaulbarsch 0,7 mm im Durchmesser erreichen. Auf Schnitten erkennt man, daß jedes Knötchen einer einzigen riesigen im Bindegewebe der Haut gelegenen Zelle entspricht, die also bei der Flunder fast 2 mm groß wird. Jede dieser kolossalen Zellen schließt nur einen einzigen Kern ein und ist gegen das kleinzellige Gewebe der Umgebung durch eine dicke hyaline, sich schleimartig färbende Membran abgegrenzt. Am allerauffälligsten aber werden diese seltsamen großen Zellen dadurch, daß sich in ihrem Plasma eigentümliche netzförmige Zelleinschlüsse finden, die in guirlandenartigen Windungen den Kern umgreifen und bei der Kaulbarschinfection in der Einzahl, bei der Flundererkrankung aber in der Vielzahl (zu über 50) vorhanden sind. Bei starker Vergrößerung kann man an den Netzkörpern eine gitterartige Gerüstsubstanz unterscheiden, die sich genau wie das Basichromatin des Kernes, also bei Biondifärbung mit Methylgrün leuchtend grün färbt, und eine fein granuliert Grundsubstanz, die sich oxyphil verhält.

Die eigentümlichen großen Zellen sind zuerst für die Eier eines unbekanntes Metazoenparasiten gehalten worden. Woodcock (1904) und Awerinzew (1907, 1909, 1911) haben sie dann als parasitische Protozoen unter dem Namen Lymphocystis (bzw. Henneguya) johnstonei beschrieben. 1914 konnte ich nun durch die Beobachtung der Entwicklung an Material, das ich in den Aquarien des Berliner anatomisch-biologischen Institutes hielt, feststellen, daß alle diese Deutungen unrichtig sind. Die merkwürdigen großen Zellen stellen vielmehr nichts anderes dar, als Bindegewebszellen des Fisches, die unter dem Reiz eines als Einzelorganismus noch nicht identifizierten Virus zu riesiger Größe hypertrophiert sind. Wenn man einem Aquarium, in dem gesunde Kaulbarsche der Rügenrasse sich befinden, eine Emulsion zerzupfter Hautgeschwülste beimengt, so kann man im Laufe der zweiten Woche nach Beginn des Infektionsversuches — der genauere Termin hängt natürlich von der Wassertemperatur ab — feststellen, daß bei einem großen Prozentsatz der Fische eine Anzahl Bindegewebszellen der Haut (besonders auch auf den Flossen) anzuschwellen beginnen, dann ihre Fortsätze einziehen und sich durch eine im lebenden Präparat als heller Hof deutlich sichtbare Membran gegen die Umgebung abgrenzen. Von Woche zu Woche wachsen dann die Zellen immer mehr heran, bis sie beim Kaulbarsch nach  $\frac{3}{4}$  Jahren, bei den Flundern nach etwa 1 Jahr, ihre Endgröße erreicht haben. Die jüngsten membranumhüllten Zellen zeigen nun noch keine besonderen Einschlüsse im Plasma. Im Laufe der 2.—3. Woche

beginnen jedoch die Zelleinschlüsse aufzutreten, und zwar zunächst als winzige Pünktchen, die von einer Saftvakuole umgeben mitten im Plasma auftauchen. Sie durchlaufen dann ein Stadium, auf dem sie eine frappante Aehnlichkeit mit Guarnierischen Körperchen etwa aus einer mit Vakzine geimpften Kaninchencornea darbieten. Die runden oder ovalen Zelleinschlüsse wachsen dann im Laufe der nächsten Wochen durch Sprossenbildung zu dem eingangs geschilderten Netzkörper aus. Beim Kaulbarsch sproßt meist nur eine Anlage aus, die übrigen bleiben rudimentär; bei der Flunder entwickeln sich zahlreiche Netzkörperanlagen, die nach und nach in winzigen Anfängen im Plasma sichtbar werden, ziemlich gleichmäßig zu Netzkörpern<sup>1)</sup>.

Wenn man nun die hohe Infektiosität der Krankheit berücksichtigt — bei den empfänglichen Fischrassen geht die Infektion in einem großen Prozentsatz einfach durch Zusatz von Geschwulstemulsion zum Aquariumswasser an — wenn man weiterhin sich vor Augen hält, daß bei zahlreichen Protozoenkrankheiten niederer Tiere, bei denen Zellparasitismus beobachtet wird, dieser einhergeht mit einer mächtigen Hypertrophie der befallenen Wirtszelle (insbesondere Mikrosporidienerkrankungen, doch auch *Plasmodiophora brassicae*, manche Gregarinen und Coccidien nach Siedlecki), so wird man es von vornherein als höchstwahrscheinlich bezeichnen dürfen, daß der Erreger der Krankheit auch hier seinen Sitz als Zellparasit im Innern der großen Zellen hat.

Bei den meisten der bisher bekannten Fälle von Zellhypertrophie der Wirtszelle unter dem Reiz intrazellulär sitzender Krankheitserreger, geht nun das Wachstum der Wirtszelle Hand in Hand mit dem Wachstum der Parasitenkolonien, die schließlich meist das ganze Plasma erfüllen. Im vorliegenden Falle hat sich eine weder im Kern noch im Plasma der riesigen Zellen der Erreger direkt nachweisen lassen. Vermutlich ist er sehr klein, vielleicht sogar ultravisibel. Dagegen ist es sehr wohl möglich, daß der als Einzelorganismus nicht nachgewiesene Erreger in Kolonienform sichtbar wird und daß diesen Kolonien der eigentümliche Netzkörper entspricht, der in den schon beträchtlich herangewachsenen Zellen eines Tages in winzigen Anfängen im Plasma erkennbar wird gewissermaßen aus dem Reiche des noch nicht Sichtbaren auftauchend und dann parallel zu dem Wachstum der ganzen Zelle sich mehr und mehr als Netzkörper ausdehnt und schließlich in guirlandenartigen Windungen fast das ganze Plasma erfüllt. Allerdings möchte ich nicht den ganzen Netzkörper als äquivalent der Parasitenkolonie in Anspruch nehmen. Das sich wie Chromatin färbende Gitterwerk halte ich lediglich für ein Reaktionsprodukt der Wirtszelle. Dagegen könnte die granulierten Grundsubstanz wohl als Lokalisationsort der Parasitenkolonie in Betracht kommen.

Mit dem Golgi-Kopschischen Binnenapparat der Zelle (*apparato reticulare*) hat der Netzkörper der Lymphocystiszellen trotz der äußeren Aehnlichkeit nichts zu tun [vgl. Weissenberg (1921): Lymphocystisstudien. II. Abgrenzung des Netzkörpers der Lymphocystiszellen gegen das Golginetz (Josephs Centrophormium). Sitzungsber. Ges. naturf. Freunde, Berlin 1920]. Außerhalb des Netzkörpers lassen sich im Plasma bisweilen Ketten von Kügelchen darstellen, die sich hantelförmig durch-

1) Zusammenfassend habe ich über die Lymphocystiskrankheit der Fische und der Entwicklung der hypertrophischen Zellen 1921 in der 9. Lieferung des Handbuchs der pathog. Protozoen von v. Prowazek-Nöller berichtet (dort auch genauere Literaturangaben).

schnüren können. Es handelt sich aber hier offenbar nur um die Mitochondrien, die ja der modernen histologischen Auffassung nach ein normales Zellorgan darstellen, das die Fähigkeit der Selbstteilung besitzt. Denn ihre Darstellung gelingt am besten und regelmäßigsten unter den für die Darstellung der Mitochondrien angegebenen Fixations- und Färbbedingungen.

Sowohl in bezug auf das oben geschilderte Entwicklungsstadium, wie in bezug auf die Färbbarkeit und feinere Struktur ergeben sich offensichtliche Vergleichspunkte zu den Guarnierischen Körperchen. Während aber für die letzteren von einigen Autoren, so auch ursprünglich von v. Prowazek ein Austritt aus dem Kern behauptet worden ist, hat sich bei meinem Objekt keinerlei genetische Beziehung zum Kern nachweisen lassen. Der u. a. früher von Süpfle vertretene Standpunkt, daß Einschlüsse wie die Guarnierischen Körperchen einfach ein Degenerationsprodukt seien, dürfte, nachdem hier gezeigt, wie der Zelleinschluß ein monatelanges Wachstum erfährt, nicht mehr zu verteidigen sein. Dagegen hat der hier entwickelte Gedankengang zu einer ganz ähnlichen Auffassung geführt, wie sie u. a. von Lipschütz vertreten wird, der ja bei Chlamydozoenkrankheiten die Einschlußkörperchen I. Ordnung ganz allgemein als Sitz der Viruskolonie auffaßt. Bezüglich der Details der interessanten Fischerkrankung wird auf der Demonstration einer größeren Serie von Originalzeichnungen und mikroskopischen Präparaten verwiesen.

24. Vortrag. Margarete Zuelzer (Dahlem):

**Freilebende Wasserspirochäten als Krankheitserreger.**

Durch Verimpfung von Kulturen von Wasserspirochäten, deren Aussehen mit dem der *Spirochaeta icterogenes* übereinstimmt, ist es mir gelungen, beim Meerschweinchen eine tödliche Krankheit hervorzurufen, welche in ihren Erscheinungen mit der Krankheit, welche durch Beimpfung dieser Tiere mit vom Menschen stammender *Spirochaeta icterogenes* verursacht wird, übereinstimmt. Die Spirochäten meiner Kulturen stammen aus einem Hahn der Berliner Wasserleitung; 2 bis 4 ccm einer Kultur intraperitoneal verimpft, verursacht beim Meerschweinchen eine Krankheit, welche nach 4—8, meist nach 4 Tagen zum Tode führt. Die verendeten Tiere zeigen starke Gelbsucht, gefleckte Lungen, Hämorrhagien, reichlich Spirochäten in der von Nekrosen durchsetzten Leber, kurz den ganzen Erscheinungskomplex, den wir bei an Weilscher Krankheit eingegangenen Tieren kennen. Bei Erkrankungen durch den Wasserstamm treten die Hämorrhagien vielleicht noch etwas stärker hervor als beim Menschenstamm, fast stärker als der Ikterus, welcher beim Menschenstamm meist stärker ist.

Hierin würden die durch den Wasserstamm hervorgerufenen Erscheinungen beim Meerschweinchen mit den von den Japanern in Japan gemachten Erfahrungen mit ihrem Menschenstamm übereinstimmen, bei welchem ebenfalls die Hämorrhagien stärker als die Gelbsucht hervortreten sollen.

Dieser Wasserspirochätenstamm ist auch für Mäuse pathogen. Nach intraperitonealer Verimpfung von 0,5 ccm Kultur gehen die Mäuse unter den typischen Er-

scheinungen der Weilschen Krankheit ein; die verendeten Tiere weisen gefleckte Lungen, Hämorrhagien und einen mehr oder minder stark ausgeprägten Ikterus auf.

Bei der Schilderung der Epidemiologie der Weilschen Krankheit ist seit ihrem Bekanntwerden schon häufig auf Beziehungen dieser Infektion zum Wasser hingewiesen worden. In ihrer Monographie haben bereits im Frieden Hecker und Otto das Wasser mit dieser Erkrankung in Verbindung zu bringen gesucht; bei den zahlreichen Erkrankungen im Felde haben zuerst Uhlenhuth und Fromme, ferner Gudzent, Möller, Harzer sowie Martin und Petit auf Zusammenhänge der Krankheit zum Aufenthalt im resp. am Wasser aufmerksam gemacht. Auf irgendwelche Beziehung zum Wasser weist auch Ido bei seinen Erfahrungen in Japan, und Sawae bei solchen nach Aufenthalt auf überschwemmten Reisfeldern hin. Neuerdings beschreibt Schürer den Todesfall eines Kanalarbeiters an Weilscher Krankheit. Der Arbeiter hatte sich ohne Zweifel bei dem Sturz in einen Jauchekanal infiziert, so daß der Autor die Frage erörtert, ob diese Erkrankung direkt als Betriebsunfall anzusehen sei und als solche entschädigungspflichtig ist.

Bereits in Jena haben Uhlenhuth und ich über sehr häufige Befunde freilebender *Icterogenes*-artiger Spirochäten aus dem Wasser berichtet und die daran geknüpften Vermutungen erörtert, ob und wie diese Organismen mit der Weilschen Krankheit in Beziehung stehen könnten. Damals konnten wir jedoch nur von der morphologischen Uebereinstimmung dieser Spirochäte aus dem Wasser und der die Weilsche Krankheit erregenden Spirochäte berichten; der Nachweis auch biologischer Uebereinstimmung war uns nicht gelungen. Durch den jetzt von mir geführten experimentellen Nachweis, daß in der Tat Wasserspirochäten vom Typus der *Spirochaeta icterogenes* für Meerschweinchen pathogen werden und ein Krankheitsbild hervorrufen können, welches sich durch nichts von dem der Weilschen Krankheit unterscheidet, hat die von vielen Seiten erörterte Vermutung, daß im Wasser, besonders in organisch verunreinigtem Wasser, die Erreger der Weilschen Krankheit vorhanden sein können, sehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen, denn es dürfte wohl kaum ein Zweifel an der Identität dieser die Meerschweinchen krank machenden Spirochäte und dem Erreger der menschlichen Weilschen Krankheit bestehen. Der letzte und sichere Beweis der Identität dieser Spirochäten steht leider noch aus; er wäre wohl nur durch eine Laboratoriumsinfektion eines Menschen mit diesem virulenten Wasserstamme zu erbringen, und eine solche ist glücklicherweise bisher nicht vorgekommen.

Für diese Untersuchungen züchtete ich die Spirochäte in großen Mengen. Sie direkt aus dem Oberflächenwasser zu züchten, stößt deshalb auf große Schwierigkeiten, weil die Spirochäten, welche organisch verunreinigte Wasser bevorzugen, hier stets mit sehr vielen anderen Organismenarten, besonders mit Bakterien, vergesellschaftet auftreten, von denen sie in Kulturen sehr schnell überwuchert werden.

Ich zog es daher vor, diese Spirochäte aus den Hähnen der Berliner Wasserleitung herauszuzüchten. Wie Uhlenhuth und ich Ihnen bereits in Jena berichteten, bilden sich häufig an Wasserleitungshähnen der Berliner Leitung, besonders wenn diese selten benutzt werden, schleimartige Pilzgeflechte. Zwischen diesen leben verschiedene Spirochäten, häufig und in großen Mengen solche vom *Icterogenes*-Typ. Eben solche Befunde sind neuerdings auch aus anderen Orten, so aus Bonn, Basel, Halle gemeldet worden.

Derartige Schleimpfröpfe werden in steriles Leitungswasser gebracht, welchem 15—20 Proz. Kaninchenserum zugesetzt wird; vor der Beimpfung werden die Röhrrchen eine Stunde lang auf 56°—60° erwärmt, um das Serum zu inaktivieren. Zwischen den Pilzfäden der Schleimpfröpfe befinden sich zwar noch andere Organismen, Bakterien sowie Protozoen, besonders Amöben, aber in weit geringerer Artenzahl wie im Oberflächenwasser.

Sobald ich in den Kulturröhrrchen eine Vermehrung der mich hier interessierenden Spirochäten bemerkte, war mein Bestreben, das Wachstum dieser Spirochäten zu fördern und ganz besonders das der Begleitbakterien einzudämmen, da durch ein Ueberwuchern derselben die Kulturen meist gefährdet sind. Die Begleitbakterien bilden in der Regel schon nach 2—3 Tagen eine dicke Schicht an der Oberfläche. Diese wird, obgleich es zwischen ihr oft von Spirochäten wimmelt, mit einem Spatel entfernt. Die Weiterimpfung der Kulturröhrrchen erfolgt am zweckmäßigsten aus der oberen Partie, direkt unter der Bakterienhaut, wo dann viele Spirochäten in Teilung vorhanden sein müssen.

Eine Steigerung des Spirochätenwachstums ist ganz besonders durch häufiges Ueberimpfen, oft schon nach 2—3 Tagen zu erzielen, wobei immer wieder sich bildende Bakterienhäute mechanisch entfernt werden. Gelegentliches Einfrieren der Kulturen bis auf —6° fördert die Reinigung, weil die Spirochäten dies gut vertragen, ein Teil der Bakterien aber dabei stets zugrunde geht.

Bei einem Stamm R.G.I. war schließlich außer üppigem Spirochätenwachstum nur noch ein gelber und ein weißer Coccus vorhanden, deren Anwesenheit das Wachstum, die Kulturfähigkeit und vor allem die Virulenz der Kultur nicht stört. Die Kultur ist jetzt durch 70 Kulturpassagen hindurch virulent, und erzeugt bei intraperitonealer Verimpfung beim Meerschweinchen das typische Bild der Weilschen Krankheit. — Reinkulturen der menschlichen *Spirochaeta icterogenes* verlieren nach den Erfahrungen von Ungermann in vitro meist schon nach ca. 40 Passagen ihre Virulenz. Demnach würde dieser mit einem Coccus gemischte Wasserstamm seine Virulenz in Kulturpassagen längere Zeit hindurch bewahren als der reingezüchtete Menschenstamm. Ob hierfür die Begleitbakterien verantwortlich zu machen sind, vermag ich noch nicht zu sagen. Vielleicht bestehen ähnlich wie bei anderen Spirochätosen irgendwelche direkten Beziehungen zwischen den Begleitbakterien und den Spirochäten, oder es ist auch denkbar, daß die verimpften Bakterien die Versuchstiere irgendwie so schädigen, daß dieselben leichter einer Spirochäteninfektion zugänglich sind. Nur das eine habe ich in dieser Beziehung mit Sicherheit feststellen können, daß die Bakterien allein ohne Spirochäten beim Tier keine pathogenen Veränderungen hervorzurufen imstande sind.

Nach den Erfahrungen von Uhlenhuth, sowie von Haendel, Ungermann und Jaenisch ist die Virulenz von Reinkulturen von *Spirochaeta icterogenes*-Menschenstamm sehr starken Schwankungen unterworfen, und es kommt häufig ohne erkennbare Ursache vor, daß alte und avirulente Kulturen virulent werden.

So beträchtliche Virulenzschwankungen habe ich bei dem Wasserstamm nicht beobachtet; in dieser Beziehung ist aber zu bemerken, daß, während bei diesem Stamm zum Krankmachen zeitweise 2 ccm der Kultur genügten, von demselben Stamm zeitweise mindestens 4—6 oder sogar 8 ccm i. p. nötig waren, um die Krankheit zu erzeugen; krank aber

hat er bisher dann stets gemacht. Es ist überhaupt bemerkenswert, welch' große Mengen von Wasserkultur benötigt werden, um eine erste Erkrankung zu verursachen, und dies bei dem gleichen Stamm, welcher die Fähigkeit, krank zu machen, durch 70 Passagen hindurch bewahrt hat. Und hat die Kultur erst einmal krank gemacht, dann genügen bei der Weiterimpfung dieses Stammes von Tier zu Tier jedoch die gleichen geringen Quantitäten wie beim *Icterogenes*-Stamm vom Menschen.

Offenbar neigt *Spirochaeta icterogenes* zur Rassenbildung, und es sind unter den freilebenden Spirochäten ganz bestimmte Rassen vorhanden, welche virulent sind oder werden können. Daher auch das verhältnismäßig seltene Auftreten der Krankheit beim Menschen, obgleich die Spirochäten so überaus weit verbreitet sind und der Mensch sicher sehr häufig mit ihnen in Berührung kommt. Daher auch die Notwendigkeit, den Meerschweinchen so große Quantitäten Spirochätenkultur zum Krankmachen zu injizieren. Daher auch schließlich der Befund, daß von den 6 von mir aus dem Wasser gezüchteten Stämmen bisher nur einer die Fähigkeit, krank zu machen, aufweist<sup>1)</sup>.

Das biologische Verhalten dieser 6 Wasserstämme zueinander und zu dem Menschenstamm der *Spir. icterogenes* wurde auch in serologischer Hinsicht verfolgt. Da aber sowohl hierüber wie über die Herstellung von hochwertigen Immunsera der Wasserstämme von *Spirochaeta icterogenes* Herr Geh.-Rat Uhlenhuth und ich in einer gemeinsamen Arbeit berichten, will ich auf diese Fragen hier nicht näher eingehen und nur erwähnen, daß von den 6 Wasserstämmen bisher nur 2 ein vor der Weilschen Krankheit schützendes Serum geliefert haben. Diese beiden Stämme werden sowohl von ihrem eigenen wie vom menschlichen Weil-Antiserum weitgehend gleichmäßig beeinflusst. Dagegen verhalten sich 3 der anderen Wasserstämme sowohl gegen das Antiserum des erstgenannten Wasserstammes als auch gegen echtes Weil-Antiserum nach den bisherigen Beobachtungen insofern ganz anders, als sie nur in starken Serumkonzentrationen eine geringe, je nach dem Stamm mehr oder weniger starke Beeinflussbarkeit zeigen. Vielleicht ist es nicht uninteressant, daß der jüngste, erst seit ca. 8 Wochen sich in Kultur befindende Spirochätenstamm sowohl durch Wasserstamm- als auch durch Menschenstamm-Antiserum die bei weitem geringste Beeinflussbarkeit zeigt.

Zum Schluß möchte ich noch kurz auf einige allerdings geringe morphologische Unterschiede der verschiedenen Stämme hinweisen. Einzelexemplare der im freien Wasser gefundenen *Spirochaeta icterogenes* sind im ganzen meist länger und dicker als die pathogenen aus Tier oder Kultur. Wird die Wasserform in Kultur, d. h. in Serumwasser gebracht, so dauert es einige Zeit, bis sie sich an dieses Medium gewöhnt. Die Spirochäten werden hier anfangs länger, teilen sich langsamer und seltener, als wir dies vom gut gedeihenden pathogenen Menschenstamm kennen. Dadurch entstehen sehr lange Exemplare, bei deren Vermehrung häufig Vielfach- bis 9-fach-Teilungen zustandekommen. Erst nach mehreren Kulturpassagen werden die Teilungen

1) Die gleichen Virulenzschwankungen zeigen auch die in den Nieren wilder Ratten schmarotzenden *Spir. icterogenes*, denn Uhlenhuth und Zuelzer, welche bei 11 von 110 Berliner wilden Ratten *Spir. icterogenes* nachweisen konnten, fanden bei diesen 11 Spirochätenträgern nur 2 virulente, für Meerschweinchen pathogene Spirochätenstämme. Die starken Virulenzschwankungen von *Spir. icterogenes* stimmen demnach bei den Wasserstämmen und den Rattenstämmen überein.

zahlreicher, gehen schneller und dann meist als Zweiteilungen von statten; dadurch werden die einzelnen Spirochäten immer kürzer. Zwei meiner Stämme, und zwar besonders auch der krankmachende, stimmen jetzt auch morphologisch in der Länge und Zartheit der einzelnen Spirochäten vollkommen mit dem Menschenstamm überein und sind nicht mehr von diesem zu unterscheiden.

Es zeigt sich also hier, daß die Formgestaltung nur der Ausdruck eines physiologischen Geschehens ist, und daß morphologisch übereinstimmende Spirochäten auch gleiche biologische Eigenschaften besitzen.

Wenn ich meine Befunde kurz zusammenfasse, so ist als das Wesentliche hervorzuheben, daß es gelungen ist, einen harmlosen, sehr weit verbreiteten, freilebenden Organismus von seinem Leben im Wasser an tierisches Eiweiß, Serumnährböden, zu gewöhnen. Derartige Spirochäten können hochpathogen für Meerschweinchen werden. — Bei *Spirochaeta icterogenes* können wir die unzweifelhafte Entwicklung eines harmlosen Saprophyten zum pathogenen Parasiten verfolgen.

#### Diskussion.

K. v. Angerer (Erlangen) hat vor 1½ Jahren Wasserspirochäten vom Aussehen der *Sp. icterogenes* durch Filtration in Reinkultur erhalten. Anfangs wuchsen die Spirochäten in Nährböden bis zu 1 Proz. Agargehalt, sowie in Mischung mit den Wasserbakterien; jetzt dagegen werden nur noch wenige Promille Agar ertragen, und gelegentlich blieb in Kulturen mit bakterieller Verunreinigung das Wachstum aus. Vielleicht darf man hierin eine Annäherung an das kulturelle Verhalten der *Sp. icterogenes* durch die Fortzucht in Reinkultur erblicken, da die *Sp. icterogenes* gegen bakterielle Verunreinigung empfindlich und auf Agarnährböden (nach Ungermann) nicht zum Wachstum zu bringen ist.

Uhlenhuth (Marburg): Auf unserer letzten Tagung in Jena habe ich mit Frl. Dr. Zuelzer über unsere gemeinsamen Untersuchungen über die Epidemiologie der Weilschen Krankheit berichtet (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. Heft 6/7). Damals war eine Infektion der Meerschweinchen mit unseren Wasserspirochäten (*Sp. pseudoicterogenes*) noch nicht geglückt. Seitdem haben wir die interessante Tatsache festgestellt, daß insofern enge Beziehungen zu der *Sp. icterogenes* bestehen, als man mit einem gegen die *Sp. pseudoicterogenes* hergestellten Serum gegen Weilsche Krankheit immunisieren kann, eine Tatsache, die durch den geglückten Infektionsversuch von Zuelzer weiter gestützt wird. Ueber diese interessanten Versuche werden wir demnächst ausführlich berichten.

Inwieweit die Wasserspirochäten unter natürlichen Verhältnissen zu Erkrankungen des Menschen führen können, ist noch nicht geklärt. Die Badeepidemien können auch durch Vermittlung der Ratten hervorgerufen werden. Im Kriege waren die Ratten sicher die hauptsächlichsten Verbreiter der Krankheit, sie beherbergen in 10 Proz. der Fälle die *Sp. icterogenes*; die Krankheit kam fast ausschließlich in den vorderen Stellungen vor, während sie hinter der Front nur selten beobachtet wurde (s. Uhlenhuth und Fromme: Weilsche Krankheit [Infektiöser Ikterus] unter besondere Berücksichtigung der epidemiologischen Verhältnisse. Handb. d. ärztl. Erfahrungen im Weltkrieg 1914/18. Bd. VII. Leipzig, J. A. Barth, 1922).

Die hinter der Front erkrankten Soldaten haben sich meist in den vorderen Stellungen infiziert.

Die Wasserverhältnisse waren hier und dort ziemlich die gleichen, aber die Ratten kamen in den vorderen Stellungen (Schützengraben, Unterstände) mit den Soldaten in unmittelbare Berührung, indem sie gleichsam in Symbiose mit den Soldaten lebten. In der Ratte werden die saprophyt. Spirochäten vor dem Aussterben geschützt. Die Ratte ist die Stätte, wo der Uebergang von Saprophytismus zum Parasitismus stattfindet. Für das direkte Virulentwerden der freilebenden Spirochäten müssen wohl besondere Vorbedingungen vorhanden sein, die wir noch nicht übersehen können, sonst müßte die Weilsche Krankheit viel häufiger sein. (Man denke an das Vorkommen der Spirochäte in der Berliner Wasserleitung.)

Analoge gibt es ja auch sonst; wir haben bereits in Jena auf das Virulentwerden der Erreger der Paratyphusgruppe hingewiesen. Die Ratte nimmt die freilebenden Spirochäten fortgesetzt in sich auf; sie erkrankt nicht, wird aber durch Immunisierung zum Parasitenträger — ähnlich wie das auch bei den Paratyphusbazillen der Fall ist.

**Reichenbach (Göttingen):** Die sehr interessanten Mitteilungen von Fräulein Zuelzer lassen erkennen, daß es im Wasser pathogene Bakterien geben kann, die mit unseren gewöhnlichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden nicht nachzuweisen sind. Diese Feststellung scheint mir von besonderem Interesse im Hinblick auf den mehrfach, z. B. von Meinert für Dresden und von Reinke für Hamburg, behaupteten, von anderer Seite, z. B. von Gärtner, geleugneten Zusammenhang zwischen dem Bakteriengehalt des Trinkwassers und der Frequenz von Darmerkrankungen. Wir werden die Möglichkeit, daß in diesen Fällen zugleich mit den nachweisbaren Wasserbakterien andere, bisher dem Nachweis entgangene Krankheitserreger, in das Wasser gelangt sind, kaum leugnen können.

**Jos. Koch (Berlin):** Ein endemisch auftretender Ikterus unter den verbündeten Truppen hat uns im Sept.—Okt. 1917 an der siebenbürgisch-rumänischen Front viel zu schaffen gemacht. Es handelte sich um Fälle von sehr leichtem bis zum schwersten Ikterus, deren Verlauf aber durchweg fieberlos war. Todesfälle sind meines Wissens nicht beobachtet worden. Die Aetiologie konnte nicht aufgeklärt werden. Da gleichzeitig auch der Paratyphus A und B unter den Truppen herrschte, wurden diese Infektionen als Ursache betrachtet. Die Erfahrungen haben jedoch diese Annahme nicht bestätigt. Mit der Weilschen Krankheit hatte dieser Ikterus nichts zu tun. Diese kam während des Krieges übrigens nicht ausschließlich bei den Fronttruppen vor, sondern sie trat auch in der Etappe auf. Ich sah vereinzelte Fälle bei der Zivilbevölkerung in einem Etappenhauptort der Champagnefront.

**Abel (Jena).**

**Weleminsky (Prag):** Bei der Frage des Zusammenhangs der Infektion von Morbus Weillii mit Kanalinhalt bzw. Ratten ist eine Beobachtung in Prag von Interesse. Hier traten alljährlich zur Badezeit bei den Besuchern einer bestimmten Schwimmschule verhältnismäßig zahlreiche Erkrankungen an Morbus Weillii auf. Diese Schwimmschule war dicht unterhalb der Einmündung eines Kanals in die Moldau gelegen. Nach dem Ausbau der Kanalisation und Verlegung dieser Einmündung verschwanden die Infektionen.

**Kossel (Heidelberg).**

**Huntemüller (Gießen)** kann auch über mehrere Fälle von fieberhaftem Ikterus berichten, die im Sommer 1921 in Gießen vorgekommen sind. Bei 2 Fällen wurden Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen, die Untersuchung auf Spirochäten war negativ.

**Seligmann (Berlin):** In Berlin beobachteten wir im vergangenen Winter in einem engbegrenzten Stadtteile eine Häufung von Ikterusfällen bei Kindern. Obwohl wir ganz frische Erkrankungsfälle zur Untersuchung bekamen, war das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchungen völlig negativ. — Die angeblichen Schädigungsursachen (Wasser, Ratten) waren für große Teile Berlins die gleichen; wenn hier die Epidemie sich eng lokalisierte, so spricht das für andere Momente, die epidemiologisch von Bedeutung sein müssen.

**Laubenheimer (Heidelberg):** Im Winter 1921/22 wurde in Heidelberg gehäuftes Auftreten von Ikterus beobachtet. In den Wohnungen der Erkrankten wurde sehr häufig das Vorkommen von Ratten festgestellt, von denen eine Anzahl dem Hygienischen Institut zur Untersuchung auf Spirochäten der Weilschen Krankheit übergeben wurde. Spirochäten ließen sich aber in keinem einzigen Falle feststellen. Auffallenderweise gehörten sämtliche eingesandten Ratten der Art *Mus rattus* an, deren weite Verbreitung in letzter Zeit auch sonst in Heidelberg beobachtet wurde, während früher nur *Mus decumanus* vorkam. Es wäre interessant, festzustellen, ob auch an anderen Orten Deutschlands ein Zunehmen von *Mus rattus* auf Kosten von *Mus decumanus* sich in den letzten Jahren, vielleicht durch die Folgen des Krieges bedingt, zu verzeichnen ist.

**Zuelzer (Schlußwort).**





**25. Vortrag. Uhlenhuth und Seiffert (Marburg):  
Zur Chemotherapie der Kaninchensyphilis mit organischen Antimonpräparaten.**

Die außerordentliche Erhöhung der Wirksamkeit, welche beim Arsen durch seine Bindung an den Benzolkern, wie z. B. beim Atoxyl und Salvarsan, erreicht worden ist, legte den Gedanken nahe, ähnliche Verbindungen auch mit Antimon herzustellen.

Uhlenhuth hat daher, nachdem er das Atoxyl als spezifisch-spirillizides Mittel erkannt und bei Hühnerspirillose und Syphilis an Tier und Menschen mit Erfolg angewandt hatte, schon 1908 die Chemischen Werke in Charlottenburg veranlaßt, ein dem Atoxyl ähnlich zusammengesetztes Antimonpräparat, das „Antimon-Atoxyl“, herzustellen, das bei Hühnerspirillose und Kaninchensyphilis günstige Erfolge hatte. In weiterem Verfolg gelang es Dr. Schmidt (bei der Chemischen Fabrik v. Heyden A. G.) in der chemischen Synthese dieser Präparate weiter vorzudringen, und so sind denn mit der Zeit zahlreiche Präparate, in denen das Antimon an den Benzolkern gebunden war, chemotherapeutisch geprüft worden (Uhlenhuth, Mulzer, Hügel), worüber in unseren Arbeiten berichtet worden ist (Dtsch. med. Wochenschr. 1913, 9 u. 50).

Die Versuche, die 1913 in Straßburg gemeinsam mit Mulzer und Hügel über die Wirksamkeit organischer Antimonpräparate gegenüber Trypanosomen angestellt worden waren, waren bereits damals auf Spirochätosen, insbesondere auf Hühnerspirillose und experimentelle Kaninchensyphilis, ausgedehnt worden. Die Präparate hatten zu recht beachtenswerten Ergebnissen geführt; bei der experimentellen Kaninchensyphilis hatten namentlich verschiedene Derivate der p-Amino-phenylstibinsäure,

darunter das benzolsulfonparaamidophenylstibinsäure Natrium   $\text{NHSO}_2\text{C}_6\text{H}_5$   
 $\text{SbO}_3\text{HNa}$

sowie das p-Urethanophenylstibinsäure Natrium   $\text{NHCOOC}_2\text{H}_5$   
 $\text{SbO}_3\text{HNa}$

und das mittlererweile von der Fa. Heyden unter dem Namen Stibenyl in den Handel gebrachte Acetyl-p-aminophenylstibinsäure Natron,  $\text{NHCOCH}_3$  die Hodentumoren nach 1—2 Injektionen zum Schwinden gebracht; auch bei der menschlichen Syphilis hatte die vorsichtig tastende, subkutane Behandlung einiger Patienten mit diesen Präparaten Erfolge gezeitigt, die allerdings denen der organischen Arsenpräparate erheblich nachstanden. Sie ermutigten jedoch immerhin, auf dem betretenen Wege fortzuschreiten.

Selbstverständlich konnte es sich zunächst nur darum handeln, immer neue organische Antimonverbindungen herzustellen<sup>1)</sup> und sich über ihre

1) Die Präparate sind von Privatdozent Dr. Schmidt hergestellt.

**antiluetische Wirksamkeit im Tierexperiment zu orientieren. Ueber diese orientierenden Versuche soll in folgendem berichtet werden.**

Was unsere Technik anbelangt, so gingen wir dabei stets von harten, kirsch- bis walnußgroßen Hodentumoren aus, die das Stadium des durchbrechenden Schankers noch nicht erreicht hatten; zahlreiche Beobachtungen hatten ergeben, daß sowohl kleinere, nur erbsen- bis bohnen große Knoten wie die mit dem Durchbruch des Schankers offenbar spontan in ein Heilstadium übertretenden offenen Tumoren einer chemotherapeutischen Beeinflussung oft relativ leicht zugänglich sind, die Präparate also günstiger erscheinen ließen, als es der Wirklichkeit entsprach. Unsere großen Hodentumoren wurden in den Kontrollen mit Neosalvarsan erst durch Dosen von 0,03 g pro Kilo in einmaliger Injektion zum Schwinden gebracht, von 0,015—0,02 g pro Kilo dagegen zwar gebessert, aber nicht geheilt.

Die Beurteilung erfolgte in erster Linie gemäß dem Palpationsbefund. Selbstverständlich wurde auch das Dunkelfeldbild zur Kontrolle herangezogen, erwies sich aber als unzuverlässig; häufig fiel der Befund kurz nach der Injektion eines Präparates negativ aus, blieb auch mehrere Tage hindurch trotz des sorgfältigsten Suchens negativ, um plötzlich, wenn der Tumor zurückgegangen war, sich also die kapilläre Entnahme nicht mehr auf die äußeren Schichten zu beschränken brauchte, wieder deutlich und reichlich Spirochäten zu zeigen. Mit dem Endeffekt hatten derartige überraschende Spirochätenbefunde nichts zu tun; der Heilungsprozeß konnte trotzdem binnen wenigen Tagen bis zur Restitutio ad integrum fortschreiten.

Unsere orientierenden Versuche mit neuen Antimonpräparaten lassen sich in 3 Gruppen zusammenfassen.

1) Zunächst wurde das Antimon<sup>1)</sup> auf Grund der Erfahrungen über die spirilliziden Wirkungen des Kollargols und Silbersalvarsans (Kolle) mit Silber kombiniert. Es gelang, in Wasser lösliche komplexe Silber-salze des Stibenyls herzustellen, die Präparate 315 und 316. Mit 315 wurden 3 Tiere behandelt, die sämtlich walnußgroße Tumoren aufwiesen; eine günstige Beeinflussung war unverkennbar, der Endeffekt jedoch wenig befriedigend: nur ein Tier heilte — nach 2 Injektionen von 0,05 g — völlig aus, bekam jedoch schon nach 5 Wochen ein Rezidiv; bei einem zweiten, mit gleichen Dosen behandelten Tier trat nach anfänglicher Besserung eine rückfallartige Verschlimmerung auf, die den bereits bis auf eine Erbse abgeheilten Tumor wieder bis auf Walnußgröße brachte; bei dem dritten Tier, das 2mal 0,1 g iv. erhielt, stand der Heilungsprozeß bald still. Daraufhin wurde von weiteren Versuchen zunächst Abstand genommen.

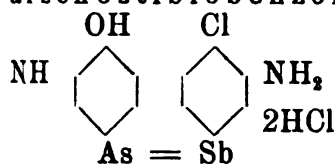
Mit dem Präparat 316, ebenfalls ein Silberstibacetin, wurden 10 Tiere behandelt. Die ersten Ergebnisse waren nicht schlecht. 2 Tiere mit kleineren 5 Pfennig- bis 1 Markstück-großen Schankern und 2 weiteren mit Erbsen- bis bohnen großen Tumoren wurden durch einmalige Injektion von 0,1 g binnen 8—10 Tagen dauernd geheilt. Bei Tieren mit größeren Tumoren wurde 2mal durch einmalige Injektion von 0,05, bzw. 0,1 g zwar Ausheilung erzielt, doch trat bereits 5 Wochen darauf ein Rezidiv auf, das sich seinerseits nicht mehr beeinflussen ließ; der Erfolg war also nur ein scheinbarer gewesen; ein 7. Tier heilte zwar nach 2 Injektionen von 0,1 g aus, brauchte aber bis zur Restitutio ad integrum Monate; die letzteren 3 Tiere konnten auch durch zweimalige Injektionen nur der Besserung, aber nicht der Heilung zugeführt werden. So hatte also auch dieses Präparat wenig befriedigt.

2) Die 2. Serie der Präparate, die wir untersuchten, kombinierte das Antimon mit Arsen. Diese Präparate waren mehr oder weniger dem Salvarsan verwandt. Das eigentliche Antimonanalogon des Salvarsans war freilich chemisch zu unstabil, um konstante therapeutische Resultate zu ermöglichen. Dagegen erwiesen sich Arsen-Antimon-Ver-

1) Auch mit einem von den Behringwerken hergestellten Wismut-Präparat (Bismut kaliumnatriumtartrat) hatten wir bei Kaninchensyphilis gute Resultate.

bindungen vom Typus Ar-As=Sb-Ar als genügend haltbar. Aehnliche, aber anders zusammengesetzte Präparate sind übrigens bereits früher in Form von Arseno-Stibino-Verbindungen von Ehrlich und Karrer als wirksam gegen Trypanosomen befunden worden.

Unser Ausgangspräparat war das m-m-Diamino-p-oxy-p-chlorarsenostibiobenzoldichlorhydrat (467).

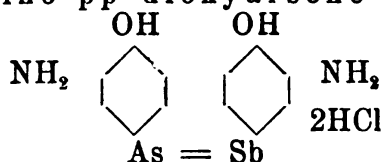


Das Präparat war bereits von Uhlenhuth und Hügel bei der Hühnerspirillose als wirksam erkannt worden, hatte jedoch als saure Lösung lokale Reizerscheinungen zur Folge gehabt. Die uns jetzt vorliegende Modifikation

konnte kurz vor Gebrauch nach der Lösung in Alkohol und Wasser alkalisiert werden, so daß dieser Uebelstand fortfiel. Unsere Ergebnisse bei der experimentellen Kaninchensyphilis waren folgende: 0,005 g waren wirkungslos, auch wenn die Injektion wiederholt wurde; 0,01 g ließen bei einmaliger Injektion das eine Tier gänzlich unbeeinflusst, während auf das andere eine deutliche Reizwirkung ausgeübt wurde; nach der Injektion wurde der kirschgroße Tumor kartoffelgroß; ein 3. Tier zeigte nach der 1. Injektion von 0,01 g geringe Besserung, wurde jedoch durch die 2. geheilt. Auch bei einer Dosis von 0,02 g waren die Ergebnisse nicht einheitlich; in einem Fall trat schneller Rückgang der Tumoren bis zur Ausheilung ein, in einem anderen wurde der Befund verschlimmert; 0,05 g heilten prompt, doch lag diese Dosis der toxischen Grenze recht nah.

Die besten Ergebnisse in dieser Gruppe erzielten wir mit dem Präparat 481, über dessen chemische Zusammensetzung wir uns jedoch auf Bitte der Fa. Heyden noch nicht äußern möchten. 3 Tiere erhielten 0,025—0,04 g (=0,01—0,02 g pro Kilo) iv. und wurden sämtlich geheilt.

Ein anderes Präparat, das m-m-Diamino-pp-dioxyarsenostibiobenzoldichlorhydrat (489), vermochte in Dosen von 0,01 g pro Kilo zwar Besserung, aber keine Heilung zu bewirken, doch hatte die doppelte Menge guten Erfolg.



Doch wurden diese Kombinationsversuche vorläufig nicht weiter verfolgt, da mittlererweile andere Präparate aussichtsreicher erschienen und wir unser Tiermaterial nicht verzetteln konnten. Es sei bei dieser Gelegenheit nur noch erwähnt, daß sich in früheren Versuchen eine Kombination von Quecksilber, Arsen und Jod, welche die Sächsischen Serumwerke hergestellt hatten, völlig versagt hat.

3) Das Präparat von dem unsere 3. Versuchsreihe ausging, war ein m-chlor-p-acetylaminophenylstibinsaures Natrium



mit einem Antimonengehalt von 30,5 Proz., also eine Verbindung, die dem Stibenyl recht ähnlich ist. Im ganzen wurden 18 luetische Kaninchen behandelt.

Die Ergebnisse waren kurz folgende:

Sämtliche Tiere, die 0,1 g iv. erhielten, heilten aus (8 Kaninchen). Das Dunkelfeld wurde gewöhnlich am 4. Tage negativ, bis dahin war kaum eine Besserung zu vermerken; dann setzte jedoch ganz rapid eine Verkleinerung der Tumoren, bzw. ein Eintrocknen und Erweichen der Schanker ein, und am 10.—12. Tage war nach der einmaligen Injektion die völlige Ausheilung erreicht. — Das Gewicht der Tiere bewegte sich zwischen 2 $\frac{1}{2}$ —3 $\frac{1}{2}$  Kilo; die schweren Tiere wurden durch 0,1 g ebenso sicher geheilt wie die kleineren.

Bei 0,05 g waren die Resultate verschieden; 3 Tiere wurden durch einmalige Injektion geheilt, 3 Tiere bedurften einer 2. Injektion; was das Körpergewicht anbelangt, so wog das eine geheilte z. B. 2650 g, 2 nicht geheilte 2100 g; das Körpergewicht scheint also — bei ausgewachsenen Tieren — eine ausschlaggebende Rolle nicht zu spielen.

0,03 g zogen auch bei wiederholter Injektion nur eine merkliche Besserung, aber keine Ausheilung nach sich. 0,01 g bewirkten in einem Fall eine schwache Besserung, in einem anderen eine eklatante Reizwirkung; die 2. Injektion hatte in jedem Tier das gleiche Resultat wie die erste. Doch konnten sämtliche Fälle, bei denen die gegebene Dosis zu gering gewesen war (6 Kaninchen), 3—4 Wochen nach der 1. Injektion durch einmalige Gabe von 0,1 g — mit einer einzigen Ausnahme, wo der Tumor unverändert blieb — binnen wenigen Tagen völlig geheilt werden. Rezidive sind niemals beobachtet worden.

Berechnet man die Dosen nicht auf den Kopf, so ergibt sich folgendes Bild: 0,02 g pro Kilo heilen in etwa 50 Proz., 0,03—0,04 g pro Kilo heilen in 100 Proz. völlig aus. Die heilende Dosis bei einmaliger Injektion liegt also zwischen 0,05—0,1 g pro Tier, bzw. 0,02—0,03—0,04 g pro Kilo Körpergewicht.

Demgegenüber liegt die Dosis toxica etwa bei 0,3 g pro Tier, bzw. 0,12 g pro Kilo, ist also etwa 4mal höher als die Heildosis. — Die Sektion der vergifteten Tiere zeigte niemals einen besonderen Befund, weder bei denen, die akut, noch bei denen, die nach einigen Tagen eingegangen waren; der akute Tod erfolgte nach 5—30 Min. des sichtlichen Unbehagens unter plötzlichen heftigen Krämpfen.

Es ist bereits eingangs betont worden, daß diese Versuche nur einen orientierenden Charakter tragen, aber es darf doch wohl so viel gesagt werden, daß hier ein Präparat vor uns liegt, welches, in den richtigen Gaben appliziert, die experimentelle Kaninchensyphilis binnen wenigen Tagen, auch bei dem schwersten lokalen Befund — dgl. übrigens auch bei den gelegentlichen Allgemeinerscheinungen wie syphilitische Keratitis (2 Tiere) — mit Sicherheit zu völliger Ausheilung bringt, ohne in dieser sicheren Heildosis auch nur die geringsten Nebenerscheinungen auszulösen. Wie weit dieses Präparat durch weitere chemische Modellierung noch einer Verbesserung fähig ist und wie sich seine Wirkung gegenüber menschlicher Syphilis äußert, wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Jedenfalls bietet der weitere Ausbau der Antimontherapie<sup>1)</sup> der Syphilis ebenso wie anderer Infektionskrankheiten manche interessante und wichtige Ausblicke.

#### Diskussion zu Vortrag 25.

Kolle (Frankfurt a. M.).

Schumacher (Berlin): Wenn der Herr Vortragende den Quotienten bei seinem Präparate ungünstiger findet als bei den Salvarsanpräparaten, so liegt das z. T. an der

1) Uhlenhuth, Mulzer u. Hügel, Die chemotherapeutische Wirkung von organischen Antimonpräparaten bei Spirochäten und Trypanosomenkrankheiten. (Dtsch. med. Wochenschr. 1913, 39.) — Uhlenhuth u. Hügel, Weitere Mitteilungen und die chemotherapeutische Wirkung neuerer Antimonpräparate bei Spirochäten und Trypanosomenkrankheiten. (Dtsch. med. Wochenschr. 1913, 50.) — Uhlenhuth und Mulzer, Beiträge zur experimentellen Pathologie und Therapie bei Syphilis mit besonderer Berücksichtigung der Impfsyphilis bei Kaninchen. (Arb. aus dem K. Gesundheitsamt. Bd. 44. 1913.) — Hügel, Experimentelle Beiträge zur chemotherapeutischen Wirkung von organischen Antimonpräparaten bei Spirochäten und Trypanosomen. (Arch. f. Derm. u. Syphilis. Bd. 118.)

Chlorierung am Benzolkern, durch welche nach einem allgemeingültigem pharmakodynamischen Gesetz die betreffenden Substanzen zwar desinfektorisch wirksamer, aber auch zugleich toxischer werden. Das ist das noch zu lösende Problem: Durch Einführung neuer Gruppen die Desinfektionskraft auch in vivo zu steigern und gleichzeitig die Toxizität herabzusetzen. Das vermag die bisher übliche Technik nicht, denn die sonst so ungemein bei ihrer Einführung in den Benzolkern entgiftend wirkende Sulfosäuregruppe hebt auch mit der Toxizität die gesteigerte Desinfektionswirkung auf, die Carboxylgruppe wirkt in gleichem Sinne etwas schwächer. Ehrlich fand seine carboxylierten und sulfurierten Salvarsane dystherapeutisch wirksam, seine halogenierten Salvarsane waren therapeutisch wirksamer, aber zugleich auch das Verhältnis der Dosis curativa zur Dosis toxica ungünstiger als bei den nicht halogenierten Salvarsanen.

Hans Schmidt (Dresden) äußert sich im Anschluß an die Ausführungen Schumachers ebenfalls über die Bedeutung des Eintritts von Chlor in das Molekül, wodurch sich das von Uhlenhuth und Seiffert als besonders wirksam bei Kaninchensyphilis erkannte m Chlor-p-acetylaminophenylstibinsäure Natron von dem Stibenyl (p-acetylaminophenylstibinsäures Natron) unterscheidet. Die bei den anderen Halogenbenzolderivaten, z. B. den Halogenphenolen, gemachten Erfahrungen gestatten nicht, bei den Benzol-Antimonverbindungen die Beeinflussung der biologischen Wirkung durch Einführung von Halogen vorauszusagen. Es spielen hier andere Umstände mit. Auch bei den Benzolarsenverbindungen verändert Halogen je nach der Stellung am Benzolkern und der sonstigen Beschaffenheit des Moleküls in sehr verschiedener Weise die pharmakologische und parasitizide Wirkung.

## 26. Vortrag. E. Gildemeister (Berlin-Dahlem):

### Weitere Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen.

In der Oktobersitzung v. J. der Berliner Gesellschaft für Mikrobiologie, in der ich erstmalig über das d'Herellesche Phänomen berichtete, konnte ich die Angaben d'Herelles bestätigen, daß in Stuhlfiltraten von darmkranken Personen ein auf Bakterien der Typhus-, Ruhr-, Coli-Gruppe wirksames lytisches Agens häufig nachweisbar ist, das sich in Verbindung mit lebenden Bazillen in Passagen fortzüchten läßt. Die Wirkung des Agens bezeichnete ich als unspezifisch. Ich konnte ferner dartun, daß das lytische Agens in Kolonieförmigen nachweisbar ist, die ich bereits vor d'Herelle unter dem Namen „Flutterformen“ beschrieben habe, und daß derartige, das lytische Agens enthaltende Flutterformen von mir in Stuhlausstrichen nachgewiesen worden sind. Bezüglich der Deutung des d'Herelleschen Phänomens vertrat ich den Standpunkt, daß die Annahme d'Herelles, die Erscheinung werde durch ein belebtes Virus hervorgerufen, abzulehnen sei. Ich schloß mich vielmehr der von Bordet und Ciuca vertretenen Ansicht an, daß das d'Herellesche Phänomen in das Gebiet der Variabilitätserscheinungen gehöre. Allerdings sprach ich mich dahin aus, daß derartige das lytische Agens enthaltende Kolonievarianten nicht nur unter dem Einflusse eines von den Leukozyten ausgehenden Reizes, sondern auch durch andersartige, uns noch unbekanntere Einwirkungen, z. B. in alten Kulturen, entstehen können.

Wie die Durchsicht der deutschen Literatur ergibt, hat dieses zweifellos hochinteressante Phänomen auch bei uns zahlreiche Untersucher veranlaßt, sich mit seiner Erforschung zu befassen; ich verweise hier nur auf die Arbeiten von Bail und Watanabe, Otto, Munter und Winkler, Rimpau, Pfreimbter, Sell und Pistorius, Pior-

kowski, Mießner und Baars, Eichhoff, Seiffert und auf das Sammelreferat von Schloßberger, das in wertvoller Weise die Monographie d'Herelles ergänzt. Es sei mir nunmehr gestattet, kurz über das Ergebnis meiner weiteren Untersuchungen zu berichten:

Flutterformen, die als Träger des bakteriophagen Agens anzusehen sind, hatte ich bisher nur bei Vertretern der Typhus-, Ruhr-, Coli-Gruppe angetroffen. Neuerdings habe ich sie auch bei Staphylokokken nachweisen können. Ich verimpfte Vakzine in die Bauchhöhle von Meerschweinchen und entnahm nach verschiedenen Zeiten durch Punktion Exsudat aus der Bauchhöhle der Tiere und verimpfte es teils auf Bouillon, teils auf Agarplatten. Auf letzteren fand so gut wie gar kein Wachstum statt, nur einige wenige Kolonien gingen an, die ich wegen ihrer Form sogleich als Flutterformen ansprechen konnte. Weiterimpfungen von Kolonien bestätigten meine Annahme. Die mit dem Exsudat beimpfte Bouillon war nach 24 Std. getrübt und nach 48 Std. wieder klar. Bei Abimpfungen auf ein neues Bouillonröhrchen trat wieder zunächst Trübung ein, der in weiteren 24 Std. wiederum Aufklärung folgte. Ausstriche aus derartiger Bouillon auf Agarplatten ergaben nach 24 Std. zahlreiche Normalformen und nur spärliche Flutterformen, nach 48 Std. jedoch meist nur Flutterformen. Es handelte sich um einen recht kräftig Farbstoff bildenden *Staphylococcus aureus*. Auch bei ihm konnte ich wieder Haupt-, Neben- und Zwischenformen unterscheiden. Die Nebenformen waren durch eine außerordentliche Zartheit, völlige Farblosigkeit und zum Teil auch Kleinheit ausgezeichnet, so daß sie bei durchfallendem Lichte fast gar nicht und nur bei seitlicher Betrachtung einigermaßen deutlich erkennbar waren. Die Nebenformen überwogen nicht selten die übrigen Formen. Bezüglich der Hauptformen ist zu bemerken, daß die Farbstoffbildung nur so weit reichte, als die Kolonie aus normaler Substanz bestand. Die defekten Stellen der Hauptformen waren umsäumt von einem zarten, durchsichtigen, farbstofflosen Rande. Bei Weiterimpfung der Flutterformen dieses Staph. aur. ergab sich das gleiche Verhalten, wie es von den Flutterformen des Typhus-, Ruhr- und Coli-Bazillus her bekannt ist. Den Nachweis, ob die Flutterformen des Staph. aur. bakteriophages Agens enthalten, konnte ich in der sonst üblichen Weise nicht führen. Der Ausgangsstamm, der aus der Vakzine gewonnen war, war mir verloren gegangen, und die aus den Flutterformen erzielten Normalformen haben sich bisher trotz zahlreicher Passagen als lysoresistent erwiesen. Auch andere Staphylokokkenstämme blieben unbeeinflusst. Indes halte ich mich für berechtigt, das Vorhandensein eines bakteriophagen Agens anzunehmen, da die mit Flutterformen beimpfte Bouillon nach anfänglicher deutlicher Trübung meist völlig geklärt wurde.

Vergleicht man meine Beobachtungen mit den Befunden von T wort, so zeigt sich eine große Uebereinstimmung zwischen seinen und meinen Befunden. Auf die von d'Herelle erhobenen Einwände gegen die Identität des T wortschen Phänomens mit dem seinen muß ich mir hier versagen näher einzugehen; ich möchte nur so viel bemerken, daß ich sie nicht für stichhaltig erachte. Es erscheint mir daher auch nicht unberechtigt, wenn, wie es schon vielfach geschieht, das Phänomen nach T wort und d'Herelle benannt wird. Das große Verdienst d'Herelles um die Erforschung des Phänomens bleibt trotzdem ungeschmälert.

Ueber die Entwicklung der Flatterformen der Typhus-, Ruhr-, Coli-Gruppe auf der Agaroberfläche habe ich eingehende Untersuchungen angestellt. Vergleicht man die zeitliche Entwicklung der Flatterformen mit derjenigen von Normalformen, so ergeben sich hierbei recht bemerkenswerte Unterschiede. Die Flatterformen entwickeln sich wesentlich langsamer als die Normalformen. Bei Coli-Normalformen ist auf der Agarplatte nach 4—5—6-stünd. Bebrütung beginnende Kolonieentwicklung deutlich erkennbar, während zu dieser Zeit auf den mit Coli-Flatterformen beimpften Platten ein Wachstum noch nicht erkennbar ist. Dieses setzt erst mehrere Stunden später ein. Läßt man je eine mit Normalformen und mit Flatterformen eines Ruhr-Shiga-Stammes beimpfte Agarplatte bei Zimmertemperatur stehen, so ist bei ersteren gewöhnlich nach 24 Std. eine geringe, aber erkennbare Entwicklung vorhanden, die auf der mit Flatterformen beimpften Platte fehlt. Es geht somit aus diesen Beobachtungen einwandfrei hervor, daß die Entwicklung der Flatterform gegenüber der Normalform verzögert ist.

Von Interesse ist es weiterhin, die Koloniebildung der Flatterformen auf der Agarplatte zeitlich zu verfolgen. Ich ging hierbei in der Weise vor, daß ich Plattenserien mit Coli- oder Shiga-Kruse-Flatterformen (Nebenformen) beimpfte und systematisch stündlich je eine Platte mit Formalin fixierte, alsdann die fixierten Platten im Mikroskop betrachtete und miteinander verglich. Es zeigte sich nun, daß die zunächst in Ausstrichen von Flatterformen auf der Agaroberfläche entstehenden Kolonien keine Defekte oder Abweichungen besonderer Art von der normalen runden Form erkennen lassen; diese sind bei Coli zumeist erst von der 8. und 9. Stunde an, bei Shiga-Kruse-Bazillen etwas später zu erkennen. Es scheint also der zerstörende oder umwandelnde Einfluß des bakteriophagen Agens erst nach einer gewissen Entwicklung der Kolonien einzusetzen.

Wie ich schon in meiner ersten Mitteilung angegeben hatte, fand ich das bakteriophage Agens außer in Stuhlfiltraten mehrfach im Urin von Coli-Cystitiskranken, wie dies auch d'Herelle beschrieben hat. Das im Urin von mir nachgewiesene Agens war gegen *B. coli* gerichtet; dies stimmt gut mit der von mir früher gemachten Feststellung über das Vorkommen von Flatterformen in Urinausstrichen von Coli-Cystitiskranken überein. Ich möchte nun noch auf eine andere bequeme Fundgrube für bakteriophages Agens aufmerksam machen, die ich entdeckte, als ich nach einem auf Kokken wirksamen Agens fahndete. Es handelt sich um das Vaginalsekret. Ich untersuchte wahllos das Vaginalsekret von 11 Frauen, die aus irgendwelchen Gründen die Poliklinik der Universitäts-Frauenklinik in Berlin aufgesucht hatten. Die Entnahme des Sekrets (Dr. Philipp) erfolgte mittels Döderleinschen Katheters möglichst aus dem oberen Scheidengewölbe; das Sekret wurde alsdann in Bouillon gebracht, 24 Std. bebrütet und filtriert. Hierauf wurde die Einwirkung des Filtrates auf Typhus-, Coli-, Ruhrbazillen, Staphylokokken und Streptokokken geprüft. In keinem Falle wurde ein auf die verwendeten Staphylokokken und Streptokokken wirksames Agens angetroffen, dagegen fanden sich unter den 11 Sekreten 6, die ein bakteriophages Agens gegen Coli und in 2 Fällen gleichzeitig gegen Shiga-Kruse-Bazillen enthielten. Bemerken möchte ich hierbei, daß das im Vaginalsekret vorhandene bakteriophage Agens, wie dies auch für Stuhlfiltrate gilt, meist von vornherein nicht so wirksam ist, daß die damit versetzten Bouillonkulturen klar werden bzw. klar bleiben. Um auch geringere Mengen

von bakteriophagem Agens zu erfassen, ist es unbedingt erforderlich, aus den mit dem Filtrat versetzten Bouillonkulturen Plattenausstriche anzulegen und diese auf Löcher in dichten Stellen und Flatterformen bei einzeln gelegenen Kolonien zu durchmustern, wie dies auch von Pfreimbter, Sell und Pistorius empfohlen wird. Das bei der Untersuchung von Vaginalsekret erzielte Resultat erscheint mir recht beachtlich. Ich bin überzeugt, daß sich das Ergebnis hätte noch verbessern lassen, wenn ich mich nicht mit einmaliger Filtration begnügt hätte. Was nun die Frage anbetrifft, ob das im Vaginalsekret nachgewiesene bakteriophage Agens auch tatsächlich in der Vagina entstanden oder aus dem Darm eingewandert ist, so läßt sie sich nicht ohne weiteres entscheiden. Nachdem wir aber erfahren haben, daß bakteriophages Agens außer in Stuhl und Urin in den Organen (d'Herelle), im Blutserum (Piorkowski) und in Eiter (Eichhoff) nachweisbar ist, liegt kein zwingender Grund vor, die Herkunft des im Vaginalsekret sich findenden Agens unter allen Umständen auf den Darm zurückzuführen.

Daß auch bakteriophages Agens sich aus alten Kulturen ohne Mitwirkung des Organismus gewinnen läßt, kann wohl heute bereits als feststehende Tatsache angesehen werden. Ich verweise hierbei auf die diesbezüglichen Mitteilungen von Bail, Otto, Munter und Winkler und Pfreimbter, Sell und Pistorius. Ich selbst habe aus einem Coli-Stamm ein bakteriophages Agens in der Weise gewonnen, daß ich 24-stünd. Schrägagarkulturen mit Kochsalzlösung abschwemmte und die Abschwemmungen längere Zeit bei 37° stehen ließ. In anderen Fällen hat sich indes die Methode nicht bewährt.

Ich möchte an dieser Stelle auf alte Versuche von Gamaleia hinweisen, der berichtet hat, daß es ihm gelungen sei, im Reagenzglas Bakteriolyse gegen bestimmte Bakterien zu erzeugen. Insbesondere hat er angegeben, daß er bei Züchtung von Milzbrandbazillen in dem Ammoniaksalz der Glutaminsäure ein lytisches Ferment gewonnen habe, das sich mittels Essigsäure ausfällen lassen. Wenn er den Niederschlag auf dem Filter auffing und den Filtrerrückstand in Ammoniak auflöste, so war diese Lösung nach seiner Angabe imstande, eine dichte Milzbrandaufschwemmung innerhalb weniger Stunden zur Auflösung zu bringen. Was nun von besonderem Interesse hier ist, ist die Angabe, daß sich die Bakteriolyse gewissermaßen in Passagen fortzuchten ließen. Ich habe in Gemeinschaft mit meinem Mitarbeiter, Herrn Dr. Herzberg, diese Angaben nachgeprüft, eine Bestätigung aber bisher nicht erzielen können. Da uns die Originalarbeit, die in russischer Sprache erschienen ist, nicht zur Verfügung stand, waren wir auf Referate bzw. die von Gamaleia selbst gegebene Uebersicht angewiesen. Es ist daher immerhin mit der Möglichkeit zu rechnen, daß wir die von Gamaleia befolgte Versuchsanordnung nicht völlig innegehalten haben, und daß dadurch unsere Fehlresultate bedingt sind. Es erscheint uns jedoch dringend erforderlich, diese alten Versuche Gamaleias nochmals aufzunehmen, da hier vielleicht der Schlüssel zu dem Geheimnis des d'Herelleschen Phänomens zu finden ist.

Meine frühere Angabe, daß ich eine restlose Auflösung von Bakterien durch ein bakteriophages Agens bisher nicht habe beobachten können, kann ich dahin ergänzen, daß dies inzwischen geschehen ist. Ich konnte mich an einem gegen Shiga-Kruse-Bazillen hochwirksamen bakteriophagen Agens überzeugen, daß es tatsächlich zu einer kompletten Auf-



lösung der Bazillen kommen kann. Aber auch bei dieser Beobachtung zeigte sich, daß zuerst eine Vermehrung der Bazillen eintritt, bevor es zu ihrer Auflösung kommt.

Wie die Wirkung des bakteriophagen Agens von einer Vermehrung der Bakterien abhängig ist, erhellt auch aus folgenden Versuchen, die in ähnlicher Weise von d'Herelle gemacht worden sind. Hält man die mit dem bakteriophagen Agens versetzten Bouillonaufschwemmungen bei Eisschranktemperatur ( $6-8^{\circ}$ ), so erfolgt eine Vermehrung des Agens nur außerordentlich langsam und ist innerhalb von 24 Std. kaum oder gar nicht erkennbar; etwas besser ist die Vermehrung bei Zimmertemperatur, bei *B. coli* sogar durchaus befriedigend. Besonders günstig gestaltet sie sich jedoch bei Brutschranktemperatur (Shiga-Kruse-Bazillen). Dieses Verhalten entspricht durchaus den Wachstumsbedingungen der Bakterien. Es gibt also keine Vermehrung des bakteriophagen Agens ohne Vermehrung der zugesetzten Bazillen.

Es erschien mir weiterhin von Wert festzustellen, ob das in einem Bouillonröhrchen vorhandene und als wirksam erkannte bakteriophage Agens durch wiederholte Abtötung der Bazillen und erneute Beimpfung mit ihnen sich erschöpfen lasse oder nicht. Schon Bail hat darauf hingewiesen, daß eine Bouillonaufschwemmung, die durch ein bakteriophages Agens aufgeklärt war, sich nach abermaliger Beimpfung mit denselben Bazillen nicht mehr aufklärte. Ich stellte meine Versuche derart an, daß ich eine Bouillonaufschwemmung mit einem gut wirksamen bakteriophagen Agens versetzte, nach 24 Std. die Bakterien im Wasserbad bei  $60^{\circ}$  (1 Std.) abtötete und erneut Bakterien zu demselben Röhrchen zusetzte. Diese Versuche führte ich mit je einem bakteriophagen Coli- und Shiga-Kruse-Agens aus. Ich beobachtete nun, daß nach wiederholter Beimpfung die Trübung in den Röhrchen mehr und mehr zunahm, daß aber das bakteriophage Agens, wie ich mich durch Plattenausstrich regelmäßig überzeugen konnte, durchaus erhalten blieb. Ich habe die Versuche bei dem Coli-Stamm bis zur 50. Wiederbeimpfung ausgeführt, ohne daß das bakteriophage Agens erschöpft worden wäre, wenn es auch an Wirksamkeit allmählich zweifellos eingebüßt hatte. Bei dem Shiga-Stamm habe ich den Versuch bei der 30. Abtötung und Wiederbeimpfung mit dem gleichen positiven Ergebnis abgebrochen. Aus diesen Versuchen resultiert, daß das bakteriophage Agens eine sehr erhebliche Resistenz gegen wiederholte tägliche Erhitzung auf  $60^{\circ}$  besitzt, und daß seine Wirksamkeit sich durch stets neuen Zusatz von frischen Bakterien nicht erschöpfen läßt.

Ueber die Resistenz des bakteriophagen Agens gegen physikalische und chemische Einflüsse liegen bereits eine Reihe von Untersuchungen vor. Ich möchte diese noch bezüglich des Verhaltens des bakteriophagen Agens gegenüber ultravioletten Strahlen ergänzen. Wir wissen, insbesondere aus den Untersuchungen von Potthoff, daß vegetative Formen von Mikroorganismen unter den von diesem Autor gewählten Versuchsbedingungen (Aufschwemmung in Wasser oder Oberflächenausstrich auf festen Nährböden) spätestens innerhalb von 3 Min. abgetötet, und daß selbst resistente Sporen gleichfalls nach wenige Minuten während der Bestrahlung vernichtet sind. Anders liegen jedoch die Verhältnisse, sobald derartige Versuche mit Bouillonaufschwemmungen ausgeführt werden. Hier zeigt selbst der an sich sehr labile Pestbazillus eine nicht unerhebliche Resistenz. Mit Rücksicht darauf, daß das bakteriophage Agens sein Wirkungsoptimum in Bouillon hat, habe ich meine Versuche zu-

nächst mit Bouillon ausgeführt, sie aber im übrigen in ähnlicher Weise angeordnet wie Potthoff. Das bakteriophage Agens wurde in offenen Glasschalen mit einem Durchmesser von 5—6 cm und einer Höhe von 1—1,5 cm den Strahlen in einer Entfernung von 16—18 cm vom Quarzbrenner ausgesetzt. Die Höhe der Flüssigkeitsschicht betrug 2—3 mm. Die Temperatur, die nach 45 Min. während der Bestrahlung erreicht wurde, ging in keinem Falle über 52° hinaus, eine Temperatur, die an sich völlig unwirksam zur Vernichtung des bakteriophagen Agens ist. Die Versuche ergaben nun, daß das bakteriophage Agens zuweilen einer 45 Min. währenden Bestrahlung — eine längere Einwirkungsdauer wurde mit Rücksicht auf die alsdann auftretenden Temperaturen nicht geprüft — widersteht, zuweilen aber schon nach 30 Min. abgeschwächt und nach 45 Min. völlig unwirksam ist. Die mit *B. coli* und einem sporenbildenden Erdbazillus unter sonst gleichen Bedingungen — also klare Bouillon — ausgeführten Kontrollversuche ergaben ähnliche Resultate: zuweilen Ueberleben, zuweilen Abtötung bei 45 Min. während der Bestrahlung. Es ließ sich also bei diesen Versuchen ein Resistenzunterschied gegenüber violetten Strahlen zwischen bakteriophagem Agens und Bakterien nicht erweisen. Weitere Versuche, bei denen die hemmende Wirkung der Bouillon auszuschalten sein wird, sind daher zur Klärung dieser Frage erforderlich.

Wenn ich meinen Ausführungen einige Schlußbetrachtungen anfügen darf, so sind es folgende:

Ueber die Natur des bakteriophagen Agens haben wir zwar bisher keine befriedigende Aufklärung erhalten, doch will es mir scheinen, als ob die Hypothese d'Herelles, daß hier ein ultravisibles Virus vorliege, an Wahrscheinlichkeit nicht gewonnen hat. Jedenfalls liegt für mich kein Anlaß vor, an der Auslegung, die ich dem Phänomen in meiner 1. Mitteilung gegeben habe, etwas zu ändern.

Wir sind, glaube ich, zu der Annahme berechtigt, daß bakteriophages Agens im gesunden wie im kranken Organismus sehr oft, vielleicht sogar immer und überall dort vorhanden ist, wo Bakterien sich finden, oder wohin Bakterien gelangen können. Vieles spricht dafür, daß das bakteriophage Agens gewisse Prädilektionsstellen im Organismus besitzt. Der Grad seiner Wirksamkeit und die Art der ihm zusagenden Bakterien können jedoch in weitesten Grenzen differieren, so daß es leicht zu verstehen ist, warum sein Nachweis nicht regelmäßig gelingt. Die Frage, ob das bakteriophage Agens aus den Bakterien selbst oder aus dem Medium, in dem sich die Bakterien befinden, mit ihrer Hilfe entsteht, muß zunächst noch offen bleiben.

Unsere weiteren Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen werden sich, abgesehen von der endgültigen Klärung der Natur des bakteriophagen Agens, insbesondere mit zwei Dingen zu beschäftigen haben: erstens mit dem weiteren Studium der lysoresistenten Bakterien, d. h. mit denjenigen Bakterien, die sich aus Flatterformen als Normalformen abspalten und dann dem bakteriophagen Agens widerstehen. Hierbei sei bemerkt, daß der Grad der Lysoresistenz breitesten Schwankungen, sowohl was die einzelnen Stämme als auch das bakteriophage Agens anbetrifft, unterworfen ist. Sodann erscheint es mir angezeigt, die Frage der therapeutischen Verwendbarkeit der verschiedenen Bakteriolyse auf breiter Basis einer Prüfung zu unterziehen, nachdem von d'Herelle und auch von deutscher Seite Beobachtungen vorliegen, die zu weiteren Versuchen berechtigen und ermutigen.

27. Vortrag. C. Prausnitz (Breslau):

**Untersuchungen über den d'Herelleschen Bakteriophagen.**

(Erste Mitteilung: Die Natur des Bakteriophagen.)

Die Untersuchungen d'Herelles über den „bakteriophagen“ Effekt sind von zahlreichen Forschern bestätigt worden. Mit geringen Mengen bakterienfreier Stuhlfiltrate von Ruhrgenesenen u. a. kann man Aufschwemmungen von Ruhrbazillen töten, auflösen; mit Filtraten dieser Lösung können neue Ruhrbazillen gelöst werden, und der Prozeß kann, wie es scheint, unbegrenzt fortgesetzt werden, wobei die Wirksamkeit der Filtrate einem Maximum zustrebend zunimmt. Ungeklärt ist noch die Ursache dieser Erscheinung. Beruht sie, wie der Entdecker behauptet, auf einem belebten infravisiblen Virus oder handelt es sich, wie Kabeshima glaubt, um die Wirkung eines toten Ferments? Im letzteren Falle müßte man annehmen, daß die Bakterien das Ferment in sich bergen, wobei sich der Vergleich mit der Endo-Tryptase der Hefezelle aufdrängt. Man würde sich dann den Vorgang so denken können, daß die Fermentwirkung komplexer Art wäre, etwa so, daß das bakterienzerstörende Ferment als Zymogen in den Bakterienleibern enthalten wäre und durch ein mit dem Filtrat zugefügtes Koferment aktiviert würde. Bei der dann folgenden Auflösung der Bazillen würde das Koferment wieder frei werden, könnte abfiltriert werden und beim Zusatz zu frischer Bazillenaufschwemmung erneut die in diesen Bazillen enthaltenen Zymogene aktivieren usw. — also eine Art von perpetuum mobile. Gewisse Schwierigkeiten bietet bei dieser Hypothese allerdings die fast stets beobachtete Zunahme des Wirkungsgrades der Filtrate.

Eine andere Erklärung bringen Bordet und Ciuca: unter dem schädigenden Einfluß der Körperzellen, z. B. der im Ruhrstuhl massenhaft enthaltenen Leukozyten, sollen Varianten der Ruhrbazillen auftreten, die in sich eine Autolyse fördernde Substanz enthalten. Solche autolytische Varianten sollen auch diese Eigenschaft vererben können. Beim Zugrundegehen der Bazillen würde das autolytische Ferment frei, könnte normale Ruhrbazillen befallen, die dadurch ebenfalls die Neigung zur Autolyse gewinnen würden. Der Erklärungsversuch von Bordet und Ciuca ist recht kompliziert und gründet sich, wie man sieht, auf eine Reihe von unbewiesenen Hilfhypothesen. Für die Auffassung dieser Autoren würde höchstens die von Gildemeister beobachtete Tatsache sprechen, daß in alten Ruhrbazillenkulturen ganz abnorme Wuchsformen, „Flutterkolonien“, entstehen können, und daß die Filtrate solcher Kulturen ohne jeden Zusatz bazillenfremder Substanzen auf andere Kulturen den bakteriophagen Effekt ausüben können. Diese Beobachtung ist von Otto und Munter bestätigt, die zu ähnlichen Schlüssen kommen. Indessen läßt sich diese Erscheinung wohl ebensogut mit der d'Herelleschen Auffassung in Einklang bringen: setzt man nämlich einer bakteriophagenfreien Bazillenkultur den Bakteriophagen zu, so wird nur ein Teil der Bazillen gelöst, während einige resistente Bazillen überleben; diese können vom Bakteriophagen nicht mehr gelöst werden, sind aber viele Generationen hintereinander mit ihm gemeinsam fortzuchtbar; aus solchen Mischkulturen kann man natürlich durch Filtration den Bakteriophagen jederzeit rein gewinnen. Solche Mischkulturen zeigen auch, wie d'Herelle und seine Mitarbeiter berichtet haben, eine

Reihe von abnormen Wuchsformen der Bazillen. Es wäre also durchaus denkbar, daß die Stühle, aus denen die Kulturen von Gildemeister und von Otto und Munter gezüchtet wurden, bereits von vornherein außer den Ruhrbazillen auch Bakteriophagen enthalten hätten. Fällt also diese Stütze der Bordet-Ciucaschen Hypothese, so scheint sie der Kabeshimaschen Auffassung an Wahrscheinlichkeit erheblich nachzustehen.

Noch weniger kann die Bailsche Hypothese befriedigen: durch die Schutzkräfte des Körpers fände ein Abbau der Bazillen statt, wobei diese gewisse Eigenschaften verlören, sich auch zum Teil bis zur „Splittergröße“ verkleinerten, so daß sie bakteriendichte Filter passieren könnten; wahrscheinlich blieben sie aber hierbei noch lebens- und vermehrungsfähig. Brächte man solche Splitter mit normalen Bazillen zusammen, so entzögen sie diesen die beim Abbau verlorenen Substanzen und machten diese Bazillen wieder zu Splittern. — Die quantitativen Verhältnisse, bei denen minimale Mengen bakteriophag wirksamer Substanz verhältnismäßig große Bazillenmengen zerstören, sind nach dieser Auffassung ebensowenig zu erklären, wie der nach d'Herelles Beschreibung ultramikroskopisch sichtbare Zerfall der mit Bakteriophagen versetzten Bazillen.

So kann man nur noch schwanken zwischen der d'Herelleschen Auffassung vom Bakteriophagen als einem infravisiblen Mikroben und der Kabeshimaschen Fermenthypothese. Eine Entscheidung dieser Frage ist noch nicht gelungen. Sie ist aber von so grundsätzlicher Bedeutung, daß ich mich mit ihr eingehend beschäftigt habe. Diese Untersuchungen wurden auf die Anregung von Herrn Geh.-Rat Pfeiffer unternommen, und ich möchte ihm auch dafür besonders danken, daß er ihnen sein Interesse gewidmet und sie durch seine stete Kontrolle und Kritik gesichert und gefördert hat.

Für die Ausführung der Arbeit sind durch die Medizinische Fakultät der Universität Breslau Mittel aus einer Spende japanischer Aerzte zur Verfügung gestellt worden; den freundlichen Gebern sei an dieser Stelle aufrichtig dafür gedankt.

Als Material für die Untersuchungen diente eine Reihe von Bakteriophagen gegen Flexner-, Shiga-, Y-Bazillen, die wir aus den dem Hygienischen Institut eingesandten Ruhrstühlen isoliert haben; dazu kamen noch einige sehr wirksame Filtrate, die Herr Geh.-Rat Otto und Herr Prof. Gildemeister die Güte hatten, uns zur Verfügung zu stellen.

#### Methodik.

Setzt man zu 1 ccm einer Ruhrbazillenaufschwemmung in Bouillon, die in 1 ccm etwa 250 Mill. Bazillen enthält, eine bestimmte Menge bakteriophagen Filtrats, mischt gründlich durch, bringt hiervon 0,1 ccm auf eine leidlich trockene Agarplatte und verstreicht mit dem Glasspatel zur Trockne, so sieht man nach eintägiger Bebrütung einen Kulturrasen, in dem eine Anzahl runder Flecken von verschiedener Größe — bis zu 4 mm Durchmesser — ausgespart sind („tâches vierges“ von d'Herelle). Das Zentrum dieser Flecken ist frei von Bakterien, den Rand bildet ein niedriger Saum mit dünnem Bakterienwachstum, der nach außen hin mehr oder weniger scharf von den normalen dichten Bakterienrasen abgegrenzt ist. Je nach der Wirksamkeit und dem Verdünnungsgrad des bakteriophagen Filtrats ist die Zahl dieser runden Flecken größer oder

kleiner; sie kann daher, wie schon d'Herelle vorschlug, als Maßstab für die Wertbestimmung des Bakteriophagen dienen. In der Tat hat sich die Bestimmung dieser Flecken, die wir mit d'Herelle als „Bakteriophagenkolonien“ bezeichnen, für die vorliegenden Untersuchungen als grundlegend wichtige Meßmethode bewährt.

### I. Der Dispersitätsgrad des Bakteriophagen.

Die bakterienzerstörende Substanz kann nicht der Bakterienemulsion gleichmäßig beigemischt sein, sondern muß eine relativ grob disperse Substanz sein; nur da, wo die „Bakteriophagenkolonien“ sich auf der Platte entwickeln, kann die wirksame Substanz hingelangt sein. Denn wenn man aus dem normalen Bakterienrasen außerhalb der Bakteriophagenkolonien abimpft, so findet man keine oder höchstens eine geringe Spur bakteriophager Wirkung, während Abimpfungen von den „Kolonien“ die typische starke Wirkung ergeben. Die Erklärung dafür, daß gelegentlich auch außerhalb der für das Auge sichtbaren Kolonien noch bakteriophage Wirkung nachweisbar ist, dürfte darin zu suchen sein, daß außer den großen Bakteriophagenkolonien auch kleinere auf der Platte zuweilen vorkommen; solche kleine Kolonien können nach eintägiger Bebrütung vom Bakterienrasen nachträglich überwachsen werden und so der Beobachtung entgehen. Für die Zählung der Bakteriophagenkolonien, d. h. für die Wertbestimmung des Bakteriophagen, dürfte dieses Moment keine wesentliche Rolle spielen.

Um eine Schätzung des Dispersitätsgrades des Bakteriophagen zu erhalten, sind wir zunächst auf Filtrationsversuche angewiesen, wobei wir uns stets der gegen solche Versuche erhobenen Kritiken bewußt geblieben sind. Der Bakteriophage passiert gewöhnliche bakteriendichte Filter, die ihn nur wenig zurückhalten. Wurde z. B. eine bakteriophage Flüssigkeit durch ein und dieselbe Berkefeld-N-Kerze ohne Reinigung der Kerze wiederholt filtriert und die Wirksamkeit jeder Probe bestimmt, so ergab sich, daß das siebente Filtrat noch  $\frac{2}{3}$ , das achte Filtrat  $\frac{1}{3}$  und das elfte Filtrat noch  $\frac{1}{5}$  so stark wie das Ausgangsmaterial war. Zur Größenbestimmung des Bakteriophagen kommt in erster Linie die Ultrafiltration in Betracht. Da zurzeit Ultrafilter nicht zur Verfügung standen, habe ich die de Haen'schen Membranfilter benutzt — Nr. 20, 50, 100, 200, 400. Diese Zahlen geben die Sekundenzahl an, in welchen 100 ccm destill. Wasser bei 40 cm negativem Druck durch 100 qcm Filterfläche hindurchgesogen werden. Hierbei zeigt es sich, daß der Bakteriophage das Filter Nr. 20 mit geringem, Nr. 50 mit erheblichem Verlust passiert, daß er durch Nr. 100 fast völlig, durch Nr. 200 und 400 restlos zurückgehalten wird.

Tabelle 1.

		Bakteriophagenkolonienzahl in 1 ccm
Kontrolle (Berkefeld-Filtrat)		230 000
Dasselbe, filtriert durch M.F.	20	129 000
„	50	27 000
„	100	2 500
„	200	0
„	400	0

Gegenüber den gleichen Filtermembranen verhielt sich eine Reihe der Bechhold'schen Vergleichslösungen, wie folgt: Von einer 1-prom.

Kollargollösung (Teilchengröße  $20 \mu\mu$ ) passiert etwa  $\frac{1}{10}$  das Filter Nr. 50, etwa  $\frac{1}{1000}$  das Filter Nr. 100, kaum meßbare Spuren das Filter Nr. 200 und nichts mehr durch Nr. 400. — 1-proz. Gelatinelösung passiert Filter Nr. 100 mit geringem, Nr. 200 mit größerem Verlust und ist selbst im Filtrat von Nr. 400 deutlich nachweisbar. — 1-proz. Hämoglobin passiert Filter Nr. 20—400 glatt.

Die zwischen Kollargol und Gelatine stehende Zsigmondysche Goldlösung Nr. 0 (Teilchengröße  $1-4 \mu\mu$ ) konnte noch nicht untersucht werden. Soweit sich bisher ersehen läßt, steht jedenfalls die Größe der bakteriophagen Elemente derjenigen des Kollargols sehr nahe, wird also wahrscheinlich etwa  $20 \mu\mu$  betragen. Weitere Untersuchungen mit den Bechhold'schen Ultrafiltern sollen ausgeführt werden.

Von grundsätzlicher Wichtigkeit ist es aber, schon jetzt festzustellen, daß eine Reihe der bekannten Fermente, Trypsin, Pepsin und Invertase (aus Hefe), die Filter 20—200 glatt und selbst Nr. 400 mit geringem Verlust durchdringen, daß sie also von weit kleinerer Teilchengröße sein müssen als der Bakteriophage.

## II. Die Wirkung von Chemikalien auf den Bakteriophagen.

Für die Frage nach der Natur des Bakteriophagen ist seine Beeinflussbarkeit durch Chemikalien wichtig. Nachdem d'Herelle und seine Mitarbeiter die Schädigung des Bakteriophagen durch Säure und Alkalien, Glycerin, 90-proz. Alkohol, Chinin, aber höhere Widerstandsfähigkeit gegen  $\frac{1}{2}$ -proz. Sublimat, 1-proz. Kupfervitriol, 1-proz. Phenol beobachtet hatte, schloß Kabeshima aus der Unwirksamkeit von Chloroform und Fluornatrium auf den Bakteriophagen, daß dieser kein belebtes Wesen, sondern ein Ferment sein müsse. Solche Schlüsse erscheinen indessen gewagt, da jede Desinfektionswirkung der Chemikalien mit der Denaturierung der Eiweißstoffe des lebenden Mikroben zusammenhängt, also mit einem Prozeß, der erfahrungsgemäß auch die Fermente schwer schädigt. Derartige Schlüsse sind auch deshalb mit um so größerer Vorsicht zu ziehen, als gerade bei manchen filtrierbaren Virusarten eine wesentlich höhere Widerstandskraft gegen Desinfektionsmittel besteht, als wir sie bei den vegetativen Bakterienformen kennen. Daher ist die hohe Resistenz des Bakteriophagen gegenüber gewissen Desinfektionsmitteln noch keineswegs ein Beweis gegen seine belebte Natur.

Bei der Ausführung solcher Desinfektionsversuche ist zu bedenken, daß die Desinfektionsmittel mindestens ebenso stark auf die Bakterien wie auf den Bakteriophagen wirken; da aber die Bakteriophagen nur auf lebenden Bakterien wachsen, müssen die Chemikalien also nach beendeter Einwirkungsdauer durch Verdünnung, Neutralisierung oder Abzentrifugieren beseitigt werden. Man ist also von vornherein in der Anwendungsmöglichkeit der Mittel etwas beschränkt; beim Fluornatrium, das nach seiner Harmlosigkeit für viele Fermente zunächst in Betracht kam, genügt hierzu die Verdünnung mit einem Bouillonüberschuß. Es zeigte sich, daß das Fluornatrium in 2,5 proz. Verdünnung bei Zimmertemperatur nach 2 Tagen keine nennenswerten, nach 3 Tagen eine starke und zunehmende Schädigung auf den Bakteriophagen ausübt.

Tabelle 2.

	Bakteriophagenkolonienzahl in 1 ccm nach . . . Tagen			
	0	2	3	4
Bakteriophage + NaFl 5 Proz. ana	161 000	104 000	23 000	13 500
„ + NaCl 0,85 Proz. ana	165 000	131 000	119 000	69 000

Die Tabelle zeigt einen deutlichen Rückgang der Wirksamkeit des mit NaFl versetzten Bakteriophagen; der Wirksamkeitsverlust ist viel stärker, als der auch in der Kontrolle nach einigen Tagen beobachtete. Zu einer Zerstörung des Bakteriophagen ist es aber in unseren Fluorversuchen nicht gekommen. Daß bei der schädigenden Wirkung des NaFl nicht etwa die Salzkonzentration als solche wesentlich war, ergab ein Kontrollversuch mit 5-proz. Kochsalz.

Eine wesentlich stärkere Wirkung als mit NaFl wurde mit 5-proz. Zyankalilösung erzielt, doch kam es auch hier nicht zur völligen Zerstörung. Dagegen waren Chloroform und Trichloräthylen in wiederholten Versuchen kaum, Toluol nach mehrtägiger Einwirkung bei Zimmertemp. nur schwach wirksam. Dasselbe gilt von den durch M. Jacoby als für Bakterien giftig und für Fermente wenig schädlich angegebenen Substanzen Penta- und Hexachloräthan.

Positive Resultate wurden erst mit einer Serie hydrierter Naphthene erzielt, die Herr Geh.-Rat Pohl gütigst zur Verfügung stellte, mit Tetrahydroacenaphthen, Dekahydronaphthalin, Hexahydrotoluol und Tetralin. Am stärksten war die Wirkung des Tetralins. Der Bakteriophage wurde mit Tetralin überschichtet, bei Zimmertemp. im Dunklen gehalten und täglich einmal kräftig durchgeschüttelt; die Probeentnahme erfolgte nach scharfem Zentrifugieren mit steriler Pipette aus der unteren Flüssigkeitsschicht. Als Beispiel für die Tetralinwirkung diene nachfolgendes Protokoll.

Tabelle 3.

Bakteriophagenkolonienzahl in 1 ccm.		
Zeit	Tetralinversuch	Kontrolle
2 Std.	179 000	450 000
9 „	53 000	
24 „	19 600	
2 Tage	20 300	
4 „	10 500	350 000
8 „	1 900	
10 „	1 100	
12 „	200	300 000
24 „	0	53 000

Das Tetralin ist für Bakterien ein schwaches Desinfektionsmittel, das z. B. an Seidenfäden angetrocknete Diphtheriebazillen und Staphylokokken in einem Tage tötet, während Milzbrandsporen nach 7 Tagen noch lebenskräftig und selbst nach 16 Tagen nicht völlig abgetötet sind. Dagegen ist Tetralin gegenüber einer Reihe von Fermenten — Pepsin, Trypsin, Invertase (aus Hefe) — selbst bei tage- und wochenlanger Einwirkung völlig unwirksam.

Es besteht also bei dem Desinfektionsversuch ebenso wie bei der Ultrafiltration ein sehr ausgesprochener quantitativer Unterschied zwischen dem Bakteriophagen und einer Reihe von Fermenten.

Wenn es gelingen würde, eine Gewöhnung des Bakteriophagen an ein chemisches Desinfektionsmittel zu erzielen, so dürfte dadurch der Beweis für seine belebte Natur erbracht sein. d'Herelle hatte behauptet, daß es ihm gelungen wäre, trotz der schädigenden Wirkung des Glycerins, in einer langsam eintrocknenden, bakteriophagenhaltigen Glycerinbouillon selbst nach völligem Verdunsten des Wassers bakteriophag wirksame Substanzen gefunden zu haben; seinen Schluß, daß es sich hier um eine Gewöhnung des Bakteriophagen an das Glycerin gehandelt habe, wird man jedoch mit einer gewissen Vorsicht aufnehmen müssen; die von ihm beobachtete Tatsache ließe sich gewiß auch so erklären, daß beim Eintrocknen die Albumosen und anderen Kolloide der Bouillon eine Art von Schutzwall zwischen den Bakteriophagen und den stärkeren Glycerinkonzentrationen gebildet hätten.

Unsere Versuche, den Bakteriophagen an verschiedene Desinfektionsmittel zu gewöhnen, haben bisher kein Ergebnis geliefert. Insbesondere beim Tetralinversuch, wo durch das lange Ueberleben eines kleinen Bruchteils der Bakteriophagen die Aussichten für einen solchen Versuch der Auslese besonders widerstandsfähiger Individuen günstig erschienen, konnte kein Unterschied gegenüber der Kontrolle festgestellt werden.

### III. Das antibakteriophage Serum.

Zu grundsätzlich neuen Resultaten haben aber die Untersuchungen mit dem „antibakteriophagen“ Serum geführt. Das Serum wurde gewonnen durch 5malige intravenöse Injektion eines wirksamen Flexner-Bakteriophagen an Kaninchen. Das am 10. Tag nach der letzten Injektion entnommene Serum agglutinierte Flexner-Bazillen bis 1:800 und neutralisierte den Bakteriophagen vollständig, während Normalkaninchen-serum gänzlich unwirksam war.

In Bestätigung der Befunde von Otto und Winkler wurde festgestellt, daß das Serum durch Erschöpfung mit dem homologen Flexner-Stamm seine Agglutinine verliert, aber die antibakteriophage Wirkung unverändert behält. Je 5 ccm des Serums, 1:10 mit 0,85-proz. NaCl-Lösung verdünnt, wurden mit je einer Oese Flexner, Shiga, Typhus und Kaolin versetzt, nach eintägigem Stehen bei Zimmertemperatur abzentrifugiert, wieder mit den gleichen Bazillen bzw. Kaolin versetzt und am folgenden Tag nochmal abzentrifugiert, worauf der Versuch noch ein 3. und 4. Mal wiederholt wurde. Der Agglutinintiter sank nach zweimaliger Erschöpfung mit Flexner auf 1:40 und war nach der weiteren Behandlung verschwunden; die Behandlung mit Shiga, Typhus und Kaolin rief dagegen keinen nennenswerten Rückgang des Agglutinins hervor. Es war also gelungen, durch Behandlung des Serums mit Flexner-Bazillen die homologen Agglutinine zu entfernen; dagegen erwies sich die antibakteriophage Wirkung des Serums sowohl nach Erschöpfung mit dem homologen Flexner-Stamm wie mit dem heterologen Shiga usw. als vollkommen unverändert; sie war ebenso groß wie im unvorbehandelten Serum. Daher sind im Serum, wie schon d'Herelle betonte, zwei Gruppen von Antikörpern vorhanden, deren eine auf den Bazillus, deren andere auf den Bakteriophagen eingestellt ist. Die gegen die Bazillen gerichteten Antikörper sind natürlich erzeugt durch die dem Kaninchen im Filtrat mitinjizierten gelösten Bazillenbestandteile. Wäre nun, wie die Anhänger der Fermenttheorie glauben, der Bakteriophage ein im Bazillus vorge-



bildetes Ferment, also ein Teil des Bazillenleibes, so dürfte man füglich erwarten, daß der gegen ihn gerichtete Antikörper bei der Erschöpfung des Antiserums mit den homologen Bazillen beseitigt würde. Da das Gegenteil eintritt, liegt die Annahme näher, daß der Bakteriophage mit keinem der Leibesbestandteile der Bazillen identisch ist.

Die Neutralisierung des Bakteriophagen durch das antibakteriophage Serum verläuft je nach dem Grade der Verdünnung mehr oder weniger langsam, aber anscheinend gesetzmäßig. Ein Beispiel gibt folgendes Protokoll. Gleiche Mengen des Bakteriophagen und fallender Serumverdünnung mit 0,85 NaCl-Lösung wurden gut gemischt, bei Zimmertemperatur gehalten und von Zeit zu Zeit auf ihren bakteriophagen Titer ausgewertet. (Die Zahlen der Tabelle geben die Anzahl der bakteriophagen Kolonien in 0,01 ccm des Gemisches an.) Die Ergebnisse der Neutralisierung entsprechen etwa einer Reihe logarithmischer Kurven.

Tabelle 4.  
Neutralisierung des Bakteriophagen durch sein Antiserum.

	Nach Std.:					
	0	1½	8	24	48	96
Bakterioph. + Ser. 1:10	1300	28	1	2	0	0
" + " 1:20	∴ 2000	184	3	3	1	0
" + " 1:40	∴ 2000	560	6	3	1	0
" + " 1:80	∴ 2000	840	185	20	2	1
" + " 1:160	∴ 3000	980	260	47	1	4
" + " 1:320	∴ 4000	1800	240	485	7	13
" + " 1:640	∴ 4000	∴ 2000	1100	710	750	16
" + " 1:1280	∴ 4000	∴ 3000	1600	905	1800	1200
" + NaCl-Lös.	∴ 9000	∴ 9000	∴ 9000	∴ 5000	∴ 5000	∴ 8000

Die ∴ bezeichneten Zahlen sind geschätzt, die anderen genau gezählt.

In den höheren Verdünnungen ist auch nach 4 Tagen keine deutliche Neutralisierung nachweisbar. Die Abhängigkeit von der Zeit und Verdünnung ist deutlich ersichtlich.

Daß die antibakteriophage Substanz des Serums durch die Bindung an den Bakteriophagen nicht zerstört wird, ließ sich durch den Erhitzungsversuch nachweisen. Der Bakteriophage wird bei halbstündiger Erhitzung auf 60° ein wenig abgeschwächt, bei halbstündiger Erhitzung auf 65° zerstört. Das antibakteriophage Serum, 1:10 mit NaCl-Lösung verdünnt, wird durch halbstündige Erhitzung auf 70° gar nicht, durch halbstündige Erhitzung auf 75° ein wenig, durch ¼-std. Erhitzung auf 80° erheblich abgeschwächt, aber erst bei 90° unwirksam. Ein neutrales Gemisch von Bakteriophagen und Antibakteriophagen wurde nach 7-std. Kontakt bei Zimmertemperatur ½ Stunde auf 65° erhitzt und dann mit frischem Bakteriophagen versetzt; auch dies Gemisch hatte keine bakteriophage Wirkung; also war durch die Erhitzung der Antibakteriophage aus seiner ersten Bindung wieder freigeworden und konnte den nach der Erhitzung neu zugefügten Bakteriophagen neutralisieren.

Die Bindung des Antibakteriophagen scheint, soweit bisher ersichtlich, durch eine einheitliche Substanz des Bakteriophagen zu erfolgen; denn der bei der Toxin-Antitoxinbindung beobachtete Danysz-v. Dungenische Effekt konnte hier nicht beobachtet werden: für die Erzielung der

Neutralität war es unwesentlich, ob dem Bakteriophagen die notwendige Antibakteriophagenmenge auf einmal oder in getrennten Portionen nacheinander zugesetzt wurde.

Was bei der Absättigung des Bakteriophagen durch das spezifische Serum vor sich geht, können wir vorläufig nicht entscheiden. Wäre der Bakteriophage nur ein Ferment, so würde man annehmen dürfen, daß das antibakteriophage Serum ein Antiferment enthalte, was für die Erklärung keinerlei Schwierigkeiten bereiten würde. Falls aber der Bakteriophage ein belebtes Wesen wäre, so würde man vergeblich nach Analogien mit den antibakteriellen Seris suchen, denn hier kennen wir nur Sera, die unter Mitwirkung des Komplements oder der lebenden Zellen die Bakterien abtöten. Wollte man sich nach dieser Analogie ein Bild machen, so könnte man annehmen, daß ein komplementartiges Ferment in den Bakterien selbst enthalten wäre, und daß dies mit dem offenbar sehr hitzebeständigen spezifischen Bestandteil des antibakteriophagen Serums zusammenwirkend den Bakteriophagen unschädlich macht, vielleicht zerstört. Für eine solche Auffassung könnte man die sonst auffallende Beobachtung ins Feld führen, daß es bisher nicht gelungen ist, den Bakteriophagen anders als auf lebenden Bakterien fortzupflanzen. Im übrigen ist es noch nicht bewiesen, daß der Bakteriophage durch das antibakteriophage Serum zerstört wird, sondern nur, daß er seine bakterienlösende Wirkung verliert. Ueber diese Fragen schweben noch Untersuchungen, deren Ergebnis später berichtet werden soll.

Die bisher mitgeteilten serologischen Untersuchungen waren also noch nicht geeignet, die Frage nach der belebten Natur des Bakteriophagen zu entscheiden. Ich glaube aber dieser Entscheidung durch die Erzielung eines serumfesten Bakteriophagen näher zu kommen. Auf den Kulturen, die mit unvollständig neutralisierten Bakteriophagen-Antibakteriophagengemischen beschickt wurden, war nur eine kleine Zahl von Bakteriophagenkolonien zu sehen. War der Bakteriophage ein unbelebtes Ferment, so war diese Erscheinung nach dem Gesetz der Massenwirkung in verdünnten Lösungen zu erklären. Es war dann eben ein Zufall, ob das eine oder andere Bakteriophagenmolekül der Neutralisierung durch das Serum entging. War aber der Bakteriophage ein Mikrobe, so lag die Annahme nahe, daß die verschiedenen in der Emulsion vorhandenen Individuen eine verschieden starke Widerstandsfähigkeit gegen die schädigende Wirkung des Antiserums besaßen: dann war zu erwarten, daß bei der unvollkommenen Neutralisierung, und zwar besonders nahe an der Grenze der vollkommenen Neutralität, einige wenige besonders widerstandsfähige Individuen übrig blieben. Impfte man also aus den bei nicht ganz vollständiger Neutralisierung sich entwickelnden Bakteriophagenkolonien ab, so mußte — wenn der Bakteriophage ein Ferment war — ein Bakteriophagenstamm gewonnen werden, der sich gegen das Antiserum ebenso verhielt wie der Ausgangsstamm. Im anderen Falle aber — wenn der Bakteriophage ein Mikrobe war — konnte man erwarten, auf diesem Wege einen Bakteriophagen von erhöhter Serumwiderstandsfähigkeit zu erhalten; man durfte hoffen, seine Serumresistenz durch fortgesetzte Passagen sogar zu erhöhen. Nach längeren Bemühungen ist es gelungen, einen zunächst etwas serumresistenteren Stamm zu erhalten und aus diesem in 3 rasch aufeinander folgenden Passagen im Serum-Bakteriophagengemisch einen absolut serumfesten Bakteriophagenstamm zu züchten. Dieser Stamm hat in weiteren 3 Passagen seine Serumfestigkeit unverändert behalten und ist

daher eine künstlich gewonnene serumfeste Abart des ursprünglichen Bakteriophagen. Weitere Untersuchungen mit diesem Stamm sind noch im Gange.

Nach diesem Ergebnis erscheint die belebte Natur des Bakteriophagen kaum noch zweifelhaft: Wenn man die bisher bekannten Untersuchungen über den Bakteriophagen überblickt, so muß zugegeben werden, daß sich fast alle Befunde teils ebensogut, teils noch besser mit der belebten Natur dieser Gebilde als der Fermenttheorie in Einklang bringen lassen. Vollends die Erzeugung einer serumfesten Variante des Bakteriophagen durch wiederholte Passagen über serumhaltige Nährböden scheint uns den gewichtigsten Grund gegen die Fermenttheorie und für die Auffassung des Bakteriophagen als eines belebten Virus darzustellen.

Damit dürfte auch die theoretische Bedeutung der d'Herelleschen Entdeckung und auch die Aussicht auf ihre praktische Verwertbarkeit im Kampf gegen die Bakterien wesentlich erhöht sein. Endlich glaube ich auch, in obigen Versuchen zum erstenmal gezeigt zu haben, daß ein infravisibles Virus gegen sein spezifisches Serum serumfest werden kann.

Zum Schluß ist es mir ein besonderes Bedürfnis, der Hilfsassistentin Fräulein Edith Firlle für ihre treue und verständnisvolle Mitarbeit zu danken; sie hat dadurch zum Ergebnis der mühevollen Untersuchungen sehr wesentlich beigetragen.

#### Literatur.

- 1) d'Herelle, *Le bactériophage, son rôle dans l'immunité*. Paris 1921. —
- 2) Kabeshima, *Compt. rend. Soc. Biol.* 1920. p. 219. 471; ref. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd.* 72. 1921. S. 412. —
- 3) Bordet u. Ciuca, *Ebenda* S. 1293; *Ref. a. a. O. S.* 413. —
- 4) Bail, O., *Wien. klin. Wochenschr.* 1921. S. 237. —
- 5) Gilde-meister, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1921. S. 1355. —
- 6) Otto u. Munter, *Dtsch. med. Wochenschr.* 1921. S. 1579. —
- 7) Otto u. Winkler, *Ebenda* 1922. S. 383. —
- 8) Otto, Munter u. Winkler, *Zeitschr. f. Hyg. Bd.* 96. 1922. S. 118. —
- 9) Jacoby, *Biochem. Zeitschr. Bd.* 87/88. 1918.

#### 28. Vortrag. W. Seiffert (Marburg):

##### Ein Beitrag zur Variation der Bakterien und zum d'Herelleschen Phänomen.

Bereits bei den Untersuchungen, die ich vor einigen Jahren in Greifswald über die Beziehungen zwischen der schwärmenden und der nichtschwärmenden Form des *B. proteus* X 19 anstellte, war es mir aufgefallen, daß man im Ausstrich bereits bei der 3 - 6 Std. alten Kultur die morphologischen Unterschiede der beiden Varianten, die Fäden der H-Form und die kurzen, plumpen Stäbchen der O-Form, deutlich differenzieren konnte. Diese Beobachtung, daß die bakterielle Variation bereits in den jüngsten Stadien ausgesprochen ist, hatte ich im Reichsgesundheitsamt auf Veranlassung Herrn Prof. Gildemeisters weiter verfolgt, jedoch wurde jetzt der Ausstrich durch das Klatschpräparat ersetzt. Orientierende Versuche ergaben, daß sich tatsächlich bei bestimmten Varianten der Aufbau der Kolonie von Anfang an nach besonderen Gesetzen vollzog, während die Struktur der normalen Formen, wenigstens

innerhalb der Typhus-Paratyphus-Gruppe, durchaus einheitlich war. In Marburg nahm ich dann im Institut Herrn Geh.-Rat Uhlenhuths diese Untersuchungen wieder auf, insbesondere um festzustellen, ob der Einheitlichkeit im Aufbau der normalen Kolonie eine Einheitlichkeit in der Struktur bestimmter Variantentypen entsprach.

Das Charakteristikum der Normalform ist die parallele oder winklige Anordnung der Stäbchen. Die gleiche Anordnung fand ich bei jener häufigen, leicht gekräuselten Form der Typhus-Coli-Gruppe, die man aus einige Tage alten Bouillonkulturen erhält und die so außerordentlich leicht in die Normalform übergeht. Dagegen konnte ich Strukturänderungen stets bei beständigen Varianten feststellen. An solchen beständigen Varianten züchtete ich mir aus verschiedenen Typhus- und Paratyphusstämmen 2 Formen heraus, jede aus 2—3 Stämmen, eine geriffelte, gezähnte, glänzende und eine ebensolche matte Form; dabei hatte ich stets — bis auf eine Ausnahme — die Normalform des gleichen Stammes als Kontrolle zur Hand. Der Aufbau der Varianten war ein ganz anderer als der der normalen Kolonien: an die Stelle der parallelen und winkligen Anordnung trat die gekrümmte Fadenstruktur; bei der glänzenden Form waren dabei die Fäden in ihrem Zusammenhang erhalten, bei der matten waren sie in einzelne Stäbchen zerfallen. Diese Bilder wurden bereits in 3—4 Std. alten Kolonien gefunden. Es variiert also das strukturelle Bild ebensogut wie der Feuchtigkeitsgehalt der Kolonie, die Generationsdauer, die Agglutinabilität u. dgl. Doch wenn auch sicher der strukturelle Aufbau für bestimmte Variantentypen außerordentlich charakteristisch ist, so konnte ich mich von seinem dominierenden Einfluß nicht überzeugen. Man findet Kolonien mit unregelmäßiger Oberfläche sowohl bei winkliger wie bei bogenförmiger Stäbchenfolge, man findet andererseits einwandfreie Fadenbildung bei agglutinablen und inagglutinablen Typen usw. Die Lagerung der Bakterien spielt also keine übergeordnete Rolle.

Nicht immer waren die Bilder einheitlich. Häufig sah ich innerhalb ein und derselben Einzelkolonien winklige Anordnung der Stäbchen durch einen gekrümmten Faden unterbrochen, und umgekehrt. Es zeigten also die Abkömmlinge ein und desselben Individuums verschiedene Tendenzen; dabei konnte das makroskopische Bild der Kolonie seinen einheitlichen Eindruck ruhig bewahren. Es ist demnach nicht richtig, wenn man praktisch bei den Untersuchungen über Variation die Kolonie, wie es meist geschieht, als Repräsentanten eines einheitlichen Typus hinnimmt. — Außerordentlich mannigfaltig wurden die Abdrücke der Einzelkolonien, wenn sich ein makroskopischer Rückschlag vorbereitete; manchmal traten schon Tage vorher die bizarrsten Mischbilder auf; dann konnte man auch gelegentlich auf der Platte die verschiedenartige Zusammensetzung einer bei oberflächlicher Betrachtung einheitlich erscheinenden Kolonie durch die Lupe feststellen, wie es ja bereits von Gildemeister angegeben ist.

Es liegt also der Typus, nach dem sich eine Kolonie aufbaut, an sich von Anfang an fest, doch können bereits in der Einzelkolonie die Abkömmlinge ein und desselben Stäbchens untereinander differieren. — Auf Studien über den Mechanismus des Aufbaus einer Kolonie habe ich diese Beobachtungen, die sehr viel Zeit in Anspruch nahmen, nicht ausgedehnt.

Eine interessante Erweiterung erfuhren diese Ergebnisse, als ich meine Untersuchungen auf den *B. proteus* X 19 ausdehnte. Herr Prof.

Gildemeister war so liebenswürdig gewesen, mir aus seiner Sammlung eine O-Form zuzusenden. Aus diesem Stamm konnte ich ohne Mühe so zahlreiche Varianten herauszüchten, wie es mir sonst noch nicht gelungen ist. Es ließen sich folgende Formen unterscheiden: 1) die gewöhnliche Hauchform, bei der ich auch hier all die Differenzen wieder fand, die Braun, ich und andere seinerzeit beschrieben haben. Sie zeigte — wenigstens dort, wo es sich um schnell und ohne jede Hemmung schwärmende Bakterien handelte — eine einheitliche, gekrümmte Fadenstruktur; 2) die glatten, klaren Tröpfchen der O-Form; hier entsprach die Anordnung dem winkligen Typus der auch bei anderen Bakterienarten festgestellten Normalform; 3) die von Jötten u. a. beschriebene Zwischenform, d. h. Tröpfchen mit ausgeschwärmtem Hof. Meine Klatschpräparate ergaben jedoch, daß diese Variante weniger eine Zwischenform als eine Mischung von Stäbchen und Fäden, also verschiedener Wachstumstendenzen unter den Abkömmlingen ein und desselben Individuums darstellt; 4) es gibt aber auch eine, einen echten Uebergang in das Schwärmstadium bildende Zwischenform: ganz winzige, leicht gezackte, klare Kolonien, die ich aus den verschiedensten Formen erhielt und die den Rückschlag in die schwärmende Form mit Sicherheit ankündigte, wenn sie auch nicht jedem Rückschlag voranzugehen brauchte. Bei ihr ließ sich im Klatschpräparat ein bestimmtes strukturelles Prinzip außer dem der Mannigfaltigkeit des Bildes nicht nachweisen. Auch über den Aufbau meiner anderen Formen konnte ich einheitliche Gesetzmäßigkeiten nicht feststellen, da sie sich durchweg nur wenige Tage hielten, auch in der Einzelkolonie die Tendenz zur Variation durch die Buntheit ihrer Struktur deutlich hervortreten ließen, so daß ein wirres Durcheinander entstand, und fortwährend ineinander übergingen. Makroskopisch ließen sie sich unterscheiden als 5) glatte, weißliche Tröpfchen; 6) als kleine, glatte, klare Tröpfchen von ca. 2 mm Durchmesser mit scharfem Rand; 7) als leicht gezackte, klare, gekräuselte Form und 8) als große, scharf umrandete, geriffelte, gelbliche Kolonien.

Gerade diese dauernd umschlagenden Kolonien waren durch eine überraschende Morphologie ausgezeichnet. Kleinere und größere Kugeln und Körnchen, dicke, plumpe, bald mehr breite, bald mehr längliche Gebilde, Verzweigungen, Sprossungen u. dgl. waren keine Seltenheit. (Typen, die der Kuhnschen a-Form der Vibrionen entsprachen, waren nicht darunter.) Dabei fügten sich diese Formen im Klatschpräparat durchaus der Koloniestruktur ein; gar nicht selten fand man in ein und derselben Kolonie, auch wenn sie erst wenige Stunden alt war, Stäbchen und kokkenförmige Gebilde u. dgl. bei völliger Erhaltung des Kolonieaufbaues nebeneinander. Impfte man derartige Formen weiter, so nahmen sie die gewöhnliche Stäbchenform wieder an, ohne darum gleich völlig zu verschwinden; makroskopisch aber repräsentierten sich die überimpften Kolonien in einer oder mehreren neuen Varianten. — Es ist selbstverständlich, daß ich nichts unversucht gelassen habe, um Verunreinigungen einwandfrei auszuschließen: nur solche Formen, die gramnegativ waren, die sich in die Hauchform überführen ließen, und die — da ja solches Ausschwärmen auch durch versteckte H-Bazillen hätte erklärt werden können — auch in schwarmlosem Zustande von X 19-Serum bis zur Titergrenze (1:20000) agglutiniert wurden, habe ich anerkannt; außerdem hat hier nicht eine einzige Form Erwähnung gefunden, die im Laufe meiner Untersuchungen nicht mindestens 3mal aufgetreten

ist. Ich habe also die ja bereits von den verschiedensten Seiten gemachten Angaben über den außerordentlich reichen Formenkreis der Bakterien nun auch für Proteus-Bazillen bestätigt. Von irgendeiner Gesetzmäßigkeit in diesem Formenwechsel habe ich mich aber nicht überzeugen können. Noch weniger konnte ich auch nur den geringsten Beleg dafür finden, daß es sich bei diesen Gebilden um irgendwelche beigeordnete Lebewesen handle, im Gegenteil sprachen meine Klatschpräparate durchaus für ihren bakteriellen Charakter. Andererseits möchte ich diese Gebilde in Anbetracht ihres Auftretens schon in ganz jungen Kolonien sowie der ihnen innewohnenden Vermehrungsenergie nicht mit dem Signum Degeneration belegen. Sie sind meines Erachtens nur der Ausdruck eines in seinem Wesen bisher noch nicht geklärten, anscheinend mit lebhafter Neigung zur Variation verknüpften Reizzustandes, und darum habe ich sie möglichst indifferent als Alterationsformen bezeichnet.

Nun möchte ich noch kurz auf zwei andersartige Beobachtungen hinweisen, die ebenfalls auf das Vorkommen tiefgreifender Störungen im Leben der Bakterien deuten. Ich habe vor kurzem eine Shiga-Kruse-Variante beschrieben, die in ihrer Hauptmasse nach 3—4 Tagen abstarb, auf der toten Oberfläche dagegen äußerst lebensfähige Knöpfchen bildete. Ich habe jetzt diese Variante aus einem anderen Shiga-Kruse-Stamm wiedergewonnen. Es mag von Interesse sein, daß sich die Knöpfchen dem d'Herelleschen Bakteriophagen gegenüber als lysoresistent erwiesen, während die Absterbeform lysosensibel war.

Die andere Beobachtung ging von einem Staphylococcus albus aus, der mir durch seine ungleichmäßige Pigmentbildung aufgefallen war. Legte ich von diesem Stamm einen Plattenausstrich an, so ließ in den ersten Tagen die Kolonieförmigkeit nichts Außergewöhnliches erkennen. Am 3.—4. Tage jedoch begannen hier und da sowohl in dem zusammenhängenden Teil des Impfstrichs wie in Einzelkolonien bestimmte Partien einzutrocknen, bis sie, wenigstens bei oberflächlicher Betrachtung, so gut wie verschwunden waren. Das Bild einer solchen defekten Kolonie entsprach ziemlich der Hauptform unter den Gildemeisterschen Flatterformen der Bakteriophagie. Als wesentlicher makroskopischer Unterschied fiel mir jedoch auf, daß auch beim isolierenden Ausstrich über mehrere Platten noch die letzten Kolonien Defekte aufweisen konnten; bei der Gildemeisterschen Flatterform ist das nach meinen Untersuchungen nicht der Fall (Med. Klin. 1922). Ferner spalteten sich bei der Weiterimpfung neben den defekten Kolonien zwar Normalformen, aber niemals die Gildemeisterschen Nebenformen ab, denen doch unter den Kolonien der Bakteriophagie als Trägern des lysierenden Agens die Hauptrolle zukommt. Vor allen Dingen ist es mir aber trotz aller Bemühungen weder in Bouillon noch auf Platten gelungen, irgendeine Uebertragbarkeit dieses Phänomens auf gesunde Bakterien, sei es durch die defekten Partien direkt, sei es durch das Filtrat der Bouillonkultur oder der Plattenabschwemmung nachzuweisen. Augenscheinlich handelt es sich hier um rein intrabakterielle Störungen. Ich möchte jedoch nicht unerwähnt lassen, daß ich sowohl die geschilderte Shiga-Kruse-Variante wie diese Staphylokokkenform direkt aus meinen Sammlungsröhrchen nur ein einziges Mal gewonnen habe; die einmal gewonnene Variante dagegen hat sich in beiden Fällen durch zahlreiche Passagen hindurch gehalten.

Zum Schluß sei es mir noch gestattet, hier einige Beobachtungen über das Verhalten der Bakterien gegenüber dem d'Hérelleschen Phänomen anzufügen. Sie sind das Ergebnis einiger Bindungsversuche: die Bakterien wurden mit dem lytischen Agens versetzt, auszentrifugiert, mehrfach gewaschen und dann ausgestrichen oder ausgespatelt.

Hinsichtlich ihres passiven Verhaltens ließen sie sich folgendermaßen einteilen: 1) in impermeable, also nur mittelbar lysoresistente Stämme (z. B. Pseudodiphtheriebazillen gegenüber Shiga-Kruse-Bakteriophagen); 2) in permeable, aber trotzdem lysoresistente Stämme im engeren Sinn (z. B. alte Shiga-Bazillen gegenüber dem wirksamen Bakteriophagen); 3) in permeable lysosensible Formen (die jungen Individuen).

Hinsichtlich der Uebertragung des Bakteriophagen ließen sich dagegen folgende Modalitäten unterscheiden: 1) in ein und derselben Kolonie finden sich Bakterien und Bakteriophagen nebeneinander; sie werden also im Grunde genommen getrennt übertragen; beim Ausstrich auf Einzelkolonien lassen sich Bakterien und Bakteriophage isolieren, d. h. man erhält auf der Platte Flatterformen nur im Beginn des Ausstrichs, am Ende jedoch nur normale Formen. Beispiel: die Hauptform der Gildemeisterschen Flatterkolonien; 2) der Bakteriophage befindet sich intrazellulär; a) die Bakterien sind lysosensibel: die Platte bleibt steril; b) die Bakterien sind lysoresistent: dann muß es möglich sein, das lytische Prinzip mit den Bakterien, deren Wachstum infolge ihrer Lysoresistenz eine einwandfreie Ueberimpfung von Einzelkolonien aus gestatten muß, durch mehrere Passagen hindurch fortzupflanzen und doch sofort in Erscheinung zu bringen, sobald man diesen bakteriophagenhaltigen, lysoresistenten Keimen lysosensible hinzufügt. Beispiel: die Gildemeistersche Nebenform (sie wurde von mir über 10 Plattenpassagen geschickt, nahm dabei eine annähernd normale Wuchsform an und ergab noch nach der 10. Passage, im Verein mit lysosensiblen Bakterien ausgespatelt, zahlreiche Löcher; spatelte man sie dagegen für sich aus, so entstand infolge der Lysoresistenz ein ununterbrochener Rasen. Jede Plattenpassage wurde im isolierenden Ausstrich auf Einzelkolonien hin angelegt; die Weiterimpfung erfolgte von solchen Kolonien aus, die in weiten Abständen voneinander lagen, um so eine Trennung zwischen Bakterien und etwa extrazellulär vorhandenen Bakteriophagen zu gewährleisten; daß eine solche Trennung auf diese Weise möglich ist, hatten ja die Versuche mit den Gildemeisterschen Hauptformen ergeben).

#### 29. Vortrag. Kuhn (Dresden):

##### Weitere Ergebnisse der Erforschung der A-Formen bei Bakterien.

**Zusammenfassung.** I. Seit Anfang 1916 habe ich mit Käthe Sternberg die Veränderungen der Bakterienkulturen verfolgt, die unter dem Namen der Mutationen beschrieben sind, und bei ihnen die Vernichtung der Bakterienformen durch andere Formen (A- und C-Formen) festgestellt, worüber ich im Sommer 1919 in Tübingen zuerst berichtete. Inzwischen haben wir besonders mittels der Agarfixierungsmethode über die A-Formen weitere Kenntnisse erzielt.

II. Ihre Entwicklung geht in folgender Weise vor sich: Sie beginnen an oder in den Bakterien als Körnchen und wachsen zu eckigen und rundlichen Formen heran. Die Bakterien zergehen dabei, wie ich 1919 beschrieben, oft sieht man von Bakterienfäden nur noch „Zwirnsfäden“.

III. Die A-Formen vermehren sich ebenso wie die C-Formen durch Teilung, die bereits einsetzen kann, wenn der Bakterienleib noch erkennbar ist. Meist sieht man Teilungsformen, ohne daß von dem ursprünglichen Bakterienleib etwas sichtbar ist. Sie wachsen, auch ohne Zusammenhang mit Bakterien, auf dem Agar weiter und können eine stattliche Größe erreichen; die größte bisher beobachtete Form hat einen Durchmesser von etwa 14  $\mu$ . Sie haben oft Vakuolen. Bei der Teilung wird die A-Form in zwei oder mehr meist ungleiche Stücke der verschiedensten Gestaltung zerlegt. Als Vorbereitung dieses Vorganges erscheinen an den Rändern kleine Vorbuchtungen des Protoplasmas; dadurch entstehen oft „Zitronen“- und „Zwiebelformen“. Die Spaltung solcher Formen geht in der Weise vor sich, daß die eine Ausbuchtung bei der einen, die andere bei der zweiten Teilungsform verbleibt. In vielen großen Formen sieht man bereits mehrere junge Formen als Bruchstücke durch feine Linien angedeutet. Ferner sieht man oft aneinandergelagerte Formen, die zu verschmelzen scheinen.

IV. Das Protoplasma älterer A-Formen sieht man oft im Zerfall, bei dem lichtbrechende Körnchen übrigbleiben.

V. Bildung und Vermehrung der A-Formen beobachtet man am besten auf Agar mit 2—3 Proz. Lithiumchloridzusatz nach Gamaleia unmittelbar im Leben oder vermittels halbstündiger oder stündlicher Präparate nach unserer Agarmethode.

VI. Diese außerordentlich lebenskräftigen und vermehrungsfähigen Formen sind keine Degenerations- oder Absterbeformen. Die gegenteiligen Behauptungen von Gildemeister, Seiffert und Platz sind hinfällig.

VII. Es handelt sich, wie ich bereits 1919 in einem Tübinger Vortrage ausführte, bei ihnen entweder um Entwicklungsformen oder um Parasiten der Bakterien, die mit letzteren in Symbiose leben.

VIII. Schon vor meiner 1. Tübinger Veröffentlichung haben wir beobachtet, daß in alten Kulturen ein Etwas vorhanden ist, das imstande ist, auf der Agarplatte frisch aufgestrichene Bakterien zu vernichten. Eine Veröffentlichung dieser Beobachtungen habe ich seinerzeit zurückgestellt, um zuvor die Ursache dieser Vernichtung mittels der Agarmethode nachzuweisen. Es ist jetzt gelungen, festzustellen, daß das Bakterienwachstum in solchen Fällen durch die Entwicklung der A-Formen verhindert wird.

IX. Es gelingt, aus Lithiumchloridagarkulturen von Bakterien mit großen A-Formen in wenigen Tagen durch Abschwemmung wirksame bakterienvernichtende Filtrate wie die d'Herelleschen zu erhalten.

X. Die A-Formen verkörpern demnach den Vorgang der Bakterienauflösung durch das lytische Agens und ihre Entstehung begünstigt die Bildung des letzteren.

Weitere Untersuchungen werden entscheiden, ob die A-Formen Entwicklungsformen aus den Bakterien sind und zu ihrer Entstehung noch ein besonderes lytisches Ferment im Filtrat angenommen werden muß, oder ob die A-Formen als Parasiten in Gestalt feinsten filtrierbarer Körperchen ihre Entwicklung beginnen. Letzteres halte ich bereits seit 1916 für das Wahrscheinlichere.



XI. Wie bereits aus meinem Tübinger Vortrage 1919 hervorging, hängt die sogenannte Mutation der Bakterien nach meiner Auffassung mit der Bildung der atypischen Formen bei Bakterien zusammen.

Ich vermag hierzu heute die Mitteilung zu machen, daß bei der Bildung der Knöpfe in Bakterienagarkulturen die Wucherung der A-Formen eine besondere Rolle spielt. Mit Hilfe der Agarmethode gelingt es, die A-Formen in den Knöpfen sichtbar zu machen.

XII. Das zähe Zusammenhalten der Knopfmasse beruht darauf, daß mit dem Auftreten der A-Formen die Bildung von Schleim einhergeht, in den die Bakterien eingebettet sind. Es gelang, diese Schleimbildung in Gestalt feiner Fäden mittels Zettnowscher Geißelfärbung nachzuweisen.

XIII. Das Auftreten der A-Formen bedingt das Zusammenhalten der von Bordet, Gildemeister, Otto u. a. beschriebenen schleimigen Kolonien, wie uns schon seit 1916 bekannt ist.

XIV. Die Entwicklung der A-Formen ist u. a. außerordentlich vom Nährboden abhängig. Starker Gehalt an Salzen und Zuckerarten begünstigen außer anderen Stoffen ihr Wachstum. Ferner ist die Temperatur von Bedeutung, sie wachsen besser bei 28° als bei 37° C.

XV. Da Vermehrungsfähigkeit und Vergehen eines Bakterienstammes in hohem Maße von dem Auftreten der A-Formen abhängig ist, so ist der Schluß gerechtfertigt, daß die A-Formen in einem Stamme etwas mit dem organischen Substrat y zu tun haben, das Pettenkofer neben dem Keime x zum Zustandekommen des krankmachenden z bei Cholera und Typhus behauptet hat. Ich erinnere daran, daß einer seiner Sätze lautete: Die spezifische Natur (Qualität) von z wird durch die spezifischen Keime x und die Menge (Quantität) von z durch die Menge des Substrats y bestimmt.

XVI. Damit glaube ich auf den lang gesuchten Weg zur Verbindung der Anschauungen der beiden Meister Koch und Pettenkofer gestoßen zu sein. Zu Ehren des großen Hygienikers benenne ich die von uns erforschten A-Formen: Pettenkoferiaformen.

XVII. In welcher Weise sich das z durch das Zusammenwirken der Bakterien und der Pettenkoferiaformen bildet, bleibt weiteren Forschungen vorbehalten. Auf den ersten Blick müßte man annehmen, daß die Pettenkoferien das z vermindern. So einfach liegen die Dinge nicht. Denn es kann nach den bisherigen Versuchen bereits gesagt werden, daß in einem mit Bakterien infizierten Körper sowohl sichtbare Pettenkoferien wie das filtrierbare Agens unter Umständen Verschlimmerung auszulösen vermögen. Namentlich das Auftreten von Lähmungen wurde beobachtet.

Demonstration von Vibrionen mit beginnenden A-Formen, der Teilungsformen der A-Formen insbesondere des „Zwiebelmusters“, der A-Formen in Knöpfen von Agarkultur, der Schleimbildung in Knöpfen (in Lichtbildern und unter dem Mikroskop).

## Diskussion zu Vortrag 26—29.

K. W. Jötten (Leipzig): Ich möchte über einige Versuche berichten, deren bisherige Ergebnisse m. E. vielleicht geeignet sind, mit zur Klärung der Natur des d'Hérelleschen lytischen Agens beizutragen. Von allen bisher gegebenen Erklärungen scheint mir die von Otto, Munter und Winkler am wahrscheinlichsten zu sein, die das wirksame Agens beim d'Hérelleschen Phänomen in kleinsten, mit fermentativen Eigenschaften ausgestatteten Bakterieneiweißteilchen annehmen, die sich beim Zerfall der Bakterien bilden, zumal auch diese Annahme mit den früheren Beobachtungen von Bakterienfermenten resp. Autotoxinen von Eijkman, Conradi und Kurpjuweit durchaus in Einklang zu bringen wären. Für die Annahme solcher Autotoxine sprechen ferner alte Laboratoriumserfahrungen von Kruse und Pansini, die schon Anfang der 90er Jahre feststellten, daß Bouillonkulturen, in denen Pneumokokken gewachsen und abgestorben waren, nach Herstellung der richtigen Reaktion und nach Wiederbeimpfung mit Pneumokokken kein neues Wachstum mehr gestatteten. Sie schlossen daher auf das Vorhandensein giftiger Stoffe in diesen. Waren die Kulturen aber eben erst angegangen und bei 100° sterilisiert, so gediehen neue gut auf ihnen. Solche Selbstgifte entwickelten sich also nur in älteren Kulturen beim Zerfall der Kokken, ganz entsprechend neueren Mitteilungen von Bail, Otto, Munter und Winkler, die auch nur aus älteren Ruhr-, Typhus- und Coli-Kulturen das wirksame lytische Agens freimachen konnten. Schließlich darf auch nicht vergessen werden, daß Emmerichs Pyocyanase wahrscheinlich einen ähnlichen Stoff darstellt.

Auf Grund dieser früheren und neueren Beobachtungen war anzunehmen, daß in solchen Kulturen, in denen infolge von Nahrungsmangel und Selbstverdauung ein starker Bakterienzerfall stattfindet, viele Autotoxine gebildet werden, die ihrerseits wieder andere Individuen in ihrer Entwicklung hemmen und außerdem alle die Eigenschaften des lytischen Agens d'Hérelles aufweisen müßten.

Ein verhältnismäßig sehr schneller Bakterienzerfall tritt aber, wie Kruse und David auch schon früher fanden, beim Einbringen sehr großer Mengen, z. B. einer ganzen Agarkultur von Ruhrbazillen in ein Bouillonröhrchen ein. In solchen Aufschwemmungen kommt es infolge Nahrungsmangels überhaupt zu keinem Auswachsen der Keime, sondern von Anfang an zu einer Verminderung derselben. Es müßte also auch zu einer starken Autotoxinbildung resp. zur Bildung des lytischen Agens d'Hérelles kommen.

In der Tat konnte ich mich auch von der Richtigkeit dieser Annahme in mehreren Versuchen überzeugen, bei denen 24stünd. Agarplattenkulturen von echten Ruhrbazillen, Pseudodysenterie-, Coli- und Typhusbazillen und Choleravibrionen mit je 10 cem Bouillon abgeschwemmt wurden. Diese in Reagenzröhrchen eingefüllten Aufschwemmungen kamen auf 8 Tage in den 37°-Brutschrank. Sodann wurden sie in der üblichen Weise durch Berkefeld-Kerzen filtriert und die Filtrate  $\frac{1}{2}$  Std. bei 56° gehalten. Auf diese Weise ist es mir bereits gelungen, bei 1 Pseudodysenterie-, 1 Coli-Stamm, 1 Typhus- und 1 Cholerastamme Filtrate zu gewinnen, die alle die von d'Hérelle und den anderen Forschern beschriebenen Eigenschaften besaßen. Besonders betonen möchte ich, daß dieses im Gegensatz zu den früheren Ergebnissen auch bei einer Cholerastamme möglich gewesen ist. Es war ja auch nicht recht einzusehen, warum es bei dieser Bakterienart mit der ausgesprochenen Neigung zu baldigem Zerfall nicht gehen sollte.

Aber nicht allein durch Autolyse, sondern sogar noch rascher und anscheinend noch sicherer gelang durch künstliche Verdauung die Darstellung des lytischen Agens aus einer echten und einer Pseudoruhrkultur, wenn ich derartige Massenabschwemmungen zunächst 1 Std. bei 56° hielt und zur Erzeugung einer intensiven Verdauung 0,1 Proz. Trypsin zufügte. Nach 3-tägigem Aufenthalt bei 37° wurde dann wieder filtriert. Das  $\frac{1}{2}$  Std. bei 56° gehaltene Filtrat zeigte, besonders deutlich in Plattentropfversuchen, wieder alle, auch in höheren Verdünnungen, die beschriebenen lytischen Eigentümlichkeiten, die zudem durch Uebertragung kleiner Filtratmengen wieder in frisch beimpften Kulturen hervorgerufen werden konnten.

Es ist somit auf zwei Wegen möglich gewesen, durch Hervorrufung starker Zerfallerscheinungen aus dicken Kulturaufschwemmungen in verhältnismäßig kurzer Zeit das lytische Agens zur Darstellung zu bringen. Daß es aber bei allen in Betracht kommenden Bakterien nicht immer und so schnell gehen wird, darauf weisen schon meine bisherigen Versuchsergebnisse hin, und außerdem wird dieses ja auch je nach der Art und Rasseigentümlichkeit verschieden sein. Weiter werden die ungleiche Schnelligkeit des Absterbens in den Kulturen und die ungleiche Widerstandsfähigkeit gegenüber schädigenden Einflüssen eine Rolle spielen.

Von weiteren Versuchen, die sich vor allem mit der chemischen Natur des Agens beschäftigen, möchte ich nur noch erwähnen, daß sie bisher Ergebnisse zeitigten, die die Annahme eines filtrierbaren Virus oder gar Bakteriensplitters nicht zulassen dürften.

Die aus den verschiedensten Kulturen gewonnenen wirksamen Stoffe d'Herelles sind dialysabel, d. h. sie gehen durch nach Wo. Ostwald hergestellte Extraktionshülsen, die zweimal mit Kollodium heiß ausgegossen sind, hindurch. Außerdem scheinen sie in Agar tief hinein zu diffundieren. Die lytischen Stoffe waren in den Dialysaten und in den abgeschnittenen Agarstückchen fast in unverminderter Stärke nachweisbar.

Ueber die Konstitution dieser Giftstoffe lassen aber die bisherigen Versuche noch keine bindenden Schlüsse zu.

E. Jacobsthal (Hamburg): Ich glaube wohl, daß die d'Herellesche Bakteriophagentheorie immer mehr an Boden verliert, und auch die Versuche von Herrn Prausnitz halte ich nicht für beweisend für seine Auffassung.

Ich möchte Ihnen in wenigen Worten einige theoretische Ueberlegungen zur Erklärung des d'Herelleschen Phänomens mitteilen. Nehmen Sie an, daß durch irgendeinen Prozeß — sei es nun Autolyse oder Einwirkung eines bakterienfeindlichen Schutzfermentes des Körpers — der chemische Aufbau des Bakteriums so gestört wird, daß einzelne Gruppen sich ablösen, so werden diese Gruppen zunächst in die Suspensionsflüssigkeit übergehen. Wenn wir fernerhin den Anschauungen von Herzfeld und Klinger folgen, so dürfen wir annehmen, daß einzelne dieser losgesprengten Gruppen die Fähigkeit haben, sich an ihnen verwandte bzw. gleichgebaute Gruppen, an anderen vorerst noch intakten oder nur wenig geschädigten Bakterienindividuen anzulagern. Indem dies geschieht, werden nun diese Gruppen aus dem betreffenden Bakterienindividuum herausgerissen, und damit ist der Anstoß zu weiterem chemisch-autolytischen und schließlich auch morphologisch nachweisbaren Verfall gegeben. Nunmehr treten dadurch immer neue Gruppen in die Suspensionsflüssigkeit und es muß sich derjenige progrediente Prozeß entwickeln, den man als den bakteriophagen bezeichnet. Diese Auffassung erleichtert uns die Erklärung von mancherlei Erscheinungen, die bei der Bakteriophagenwirkung beobachtet worden sind.

Zunächst erklärt sich so leicht das Phänomen der sich steigernden Wirksamkeit des Bakteriophagen von Generation zu Generation, ebenso aber auch die Erscheinung, daß die Bakteriophagie zunächst artspezifisch, bei Steigerung der Virulenz aber gruppen-spezifisch wird. Je mehr chemische Gruppen mit der Zeit in den Bakteriophagenwirbel hineingerissen werden, desto größer muß die Virulenz werden. Denn ebenso, wie die Gruppenagglutination ein Ausdruck chemischer Verwandtschaft ist und mit dem Titer des Immunserums wächst, so ist auch bei virulenten Bakteriophagen das Uebergreifen auf verschiedene Arten ein Ausdruck chemischer Verwandtschaft. Diese Konzeption erklärt uns ferner, warum durch Antibakteriophagensera eine Wirkung ausgeübt wird: wie bei allen derartigen Immunvorgängen müssen wir die Entstehung einer gröber dispersen Phase, vielleicht sogar eine ultramikroskopisch sichtbare Präzipitation annehmen. Auch die Bailschen Beobachtungen des großen, mittleren und kleineren Bakteriophagen, ihrer immunbiologischen Verwandtschaft und Verschiedenheit erscheinen uns so in ganz anderem Lichte: je stärker abgebaut eine chemische Gruppe ist, desto diffusibler ist sie, desto wirksamer ist sie aber auch auf der Agarplatte, wo sie eben deshalb einen größeren Hof (tâche vierge) bilden muß. Aber es ist nur natürlich, daß diese verschiedenen Bakteriophagen als Abkömmlinge einer Zellart zwar untereinander verschieden sind, aber doch auch wieder chemische Verwandtschaft haben, was sich in den von Bail beobachteten Immunitätsvorgängen ausdrückt.

Theoretisch und teleologisch gedacht, kann man sich die Ausbildung von Formen, die gegen den Bakteriophagen resistent sind, in zweierlei Weise denken. Entweder so, daß sich der Bakterienleib gegen den stark diffusiblen Bakteriophagen dadurch schützt, daß er eine kolloide Schutzhülle — die Schleimkapsel — produziert, oder aber so, daß er chemisch-differente Gruppen hat oder entwickelt, zu denen das Molekül des Bakteriophagen nicht paßt. Es erscheint wahrscheinlich, daß tatsächlich diese in einem Bakterienklon vorhandenen ganz vereinzelt, chemisch differenten Individuen bei Einwirkung des Bakteriophagen elektiv bevorzugt und herausgezüchtet werden. Ihre immunbiologische Verschiedenheit, aber auch ihre Fähigkeit zur Rückschlagbildung wird uns so wohl verständlich.

Es wird sich sicherlich in kurzer Zeit durch physikalisch-chemische Untersuchung, wie durch Untersuchungen der Kataphorese, wie kolloidanalytische Filtrationsversuche bald feststellen lassen, ob die von mir aufgestellte Hypothese richtig ist, oder nicht. Ich möchte hier nochmals festlegen, daß sie sich von der Bailschen Theorie dadurch unterscheidet, daß sie zwar auch Absprengungen vom Bakterium annimmt, daß sie diese Splitter aber nicht als morphologische, sondern als chemische Aggregate auffaßt, die kraft ihres chemischen Baues fermentartig zu progredienten Absprengungen von dem ihnen verwandten Bakterienprotoplasma befähigt sind (Absprengungstheorie).

**Schnabel (Berlin):** Bei Versuchen, die von mir vor 2 Jahren in einem anderen Zusammenhang unternommen wurden, konnte ich beobachten, daß nicht selten Staphylokokken, die in traubenzuckerhaltiger Bouillon gezüchtet wurden, durch das Kulturfiltrat agglutiniert wurden; ebenso wurden Schrägagarkulturen derselben Staphylokokken durch das Filtrat beeinflusst. Die Vermutung, die bei der Spaltung des Traubenzuckers aufgetretene Säure könnte die Agglutination bedingen, erwies sich nicht als stichhaltig; denn die Erscheinung blieb auch nach vollkommener Neutralisierung weiter bestehen. Ich möchte es dahingestellt sein lassen, ob hier ein Zusammenhang mit dem sog. d'Herelleschen Phänomen besteht.

Bezüglich der Nomenklatur erlaube ich mir zu bemerken, daß hier der Ort wäre, dazu Stellung zu nehmen. Entweder man kennzeichnet die Erscheinung durch ihr hervorstechendstes Merkmal und spricht in Anlehnung an Bordet von der übertragbaren Bakteriolyse oder aber der Autornamen dient als Kennzeichen, dann müßte man die Erscheinung aus formellen und sachlichen Gründen als Twort-d'Herellesches Phänomen bezeichnen.

**Uhlenhuth (Marburg):** Ich möchte auf eine neue Filtriereinrichtung hinweisen, die im Nebenraum von Herrn Dr. Schmitthener (Seitz-Werke Kreuznach) demonstriert wird. Es handelt sich

1) um einen kleinen Filtrierapparat zur Entkeimung kleiner Flüssigkeitsmengen nach meinen Angaben. In einem Metallzylinder befindet sich eingeschraubt eine Asbestplatte. Die Filtration erfolgt mittelst Saugflasche oder Druck mittels einer kleinen Fahrradpumpe; das Filter ist mit einem Abfüllapparat nach Uhlenhuth-Weidanz verbunden. Der Apparat hat sich für Filtration von präzipitierenden Seris und von Stuhlfiltraten (für die Untersuchungen nach d'Herelle) bewährt und bietet gewisse Vorteile vor den Berkefeld-Kerzen, die bisweilen Defekte zeigen.

2) Größere Filter resp. Filterkammern dienen zur Filtration von größeren Serummengen, die bakteriell verunreinigt sind; sie haben sich im praktischen Betrieb gut bewährt. Eine ausführliche Beschreibung wird später erfolgen.

**K. v. Angerer (Erlangen)** hat die Versuche von Gamaleia gleichfalls mit negativem Erfolg nachgeprüft; nur zweimal ergab sich durch Abtötung von Ruhrbazillen mit Chloroform ein schwach wirksamer und nur kurz fortzüchtbarer Bakteriophagenstamm. Er hält die Bakteriophagie für eine Fermentwirkung, welche darauf beruht, daß die für gewöhnlich Eiweiß aufbauenden Fermente des Bazillenleibes infolge einer Einwirkung nicht näher bekannter Art nunmehr das Eiweiß abbauen, ebenso wie bei der spontanen Autolyse von Tierorganen die während des Lebens synthetisch wirkenden Fermente jetzt lösend wirken.

**Weleminsky (Prag):** Zu den Beobachtungen der Herren Bresslau und Kuhn möchte ich hinzufügen, daß ich bei Tuberkelbazillen, welche zwecks Erzielung therapeutisch wirksamer Substanzen durch ein Jahr und länger, also unter sehr ungünstigen Bedingungen auf Glycerinbouillon gezüchtet worden waren, ebenfalls außerordentlich starke Muzinbildung beobachtet habe. Die Säurefestigkeit und die Virulenz waren bei diesen Bazillen wesentlich herabgesetzt, und in der Kulturflüssigkeit war eine wachstumshemmende thermolabile Substanz aufgetreten, welche sich dadurch nachweisen ließ, daß frisch eingimpfte Tuberkelbazillen in der unveränderten Kulturflüssigkeit nicht wuchsen, wohl aber dann, wenn dieselbe im Dampftopf auf 100° erhitzt wurde. Auch Preisz hat vermehrte Schleimbildung bei abgeschwächten Anthraxbazillen auftreten sehen, ebenso fanden Bail und Breinl bei Kulturen von Dysenterie, Coli etc. schleimbildende Kolonien dieser Bakterien aus Kulturen, welche der auflösenden Wirkung des Bakteriophagen ausgesetzt gewesen waren. Es dürfte daher die Schleimbildung als allgemeine, oder zum mindesten weitverbreitete Schutzvorrichtung der Mikroorganismen aufzufassen sein.

**Otto (Berlin):** Da ich mit meinen Mitarbeitern (Munter und Winkler) unsere Versuchsergebnisse in einer soeben erschienenen Arbeit in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 96. H. 1 bekanntgegeben habe, so beschränke ich mich auf einige allgemeine Bemerkungen.

Was zunächst die Gewinnung und den Nachweis des bakteriophagen Lysins betrifft, so erkläre ich mir die Mißerfolge, welche einzelne Autoren bei der Nachprüfung des d'Herelleschen Versuchs gehabt haben, einmal damit, daß sie wahrscheinlich ungeeignete Bakterienstämme in den Händen hatten. Nach unseren Beobachtungen hängt die Gewinnung des Lysins in erster Linie von der Bakterienkultur ab. Mißerfolge können z. B. schon bei der Fortführung eines wirksamen Lysins

eintreten, wenn die zur Fortführung des „Bakteriophagen“ benutzten Bakterienstämme gewechselt werden oder diese selbst, wie wir das erlebt haben, spontan resistent und zugleich für die Fortzuchtung des Lysins unbrauchbar werden. Dieses spontane Umschlagen ist im übrigen nicht zu identifizieren mit der schon länger bekannten, künstlich durch die Einwirkung des Virus zu erzielenden Resistenz. Weiterhin ist es aber nach unseren Beobachtungen von großer Bedeutung, daß man die Bouillonkulturen erhitzt und filtriert. Beides, die Filtration wie die Erhitzung, begünstigen zweifellos in hohem Grade die Lysinbildung.

Bezüglich des Nachweises der bakteriophagen Wirkung möchte ich hier kurz erwähnen, daß wir bei den Paratyphusbazillen eine neue Form von Lysinwirkung festgestellt haben, welche nicht in der üblichen mehr oder weniger ausgebreiteten, völligen Wachstumshemmung, sondern in einem abgeschwächten, gleichmäßig zarten, hauchartigen Wachstum (im Bereich der Bakteriophagenwirkung) besteht.

Was schließlich die Natur des Bakteriophagen betrifft, so sprechen nach meiner Ansicht (neben anderen Befunden) folgende Momente dafür, daß es sich bei dem bakteriophagen Lysin um ein von den Bakterien geliefertes Ferment handelt, dessen Wirkung an bestimmte kleinste Bakterieneiweißteilchen gebunden ist:

1) Die Tatsache, daß es, wenn auch nicht regelmäßig, gelingt, in vitro ohne Mitwirkung des menschlichen oder tierischen Organismus das Lysin aus den Bakterienbouillonkulturen allein zu erzeugen.

2) Die Art der Einwirkung des durch Erhitzung inaktivierten Lysins auf die Bakterien: Zusatz von inaktiviertem Lysin begünstigt die Lysinbildung. Würde es sich um ein lebendes Virus handeln, so wäre es schwer verständlich, wie ein abgetöteter Mikrobe die Veranlassung zur Entstehung neuer lebender Mikroben bilden sollte.

3) Die Analogie mit den Beobachtungen Ehrenbergs bei Eiweißzymen. In einer vorläufigen Mitteilung (Naturwissenschaften 1922) hat Ehrenberg darauf hingewiesen, daß er auch bei seinen Emzymversuchen den Fermenten einen gewissen Grad von Spezifität „anzüchten“ und die Fermente durch mehrere „Generationen fortzuchten“ konnte, wobei ebenso wie bei dem d'Herelleschen Phänomen auch durch bakteriendichte Filter filtriert wurde. Aus seiner ausführlichen Publikation (Biochem. Zeitschr. 1922. 46) darf man entnehmen, daß ihm der Nachweis der Fermentbildung aus dem Substrat und die künstliche Spezifizierung in der Tat gelungen ist. Die Erscheinung der Züchtung zeigte sich in seinen Versuchen mit Deutlichkeit.

Ich bin also geneigt, anzunehmen, daß es sich bei dem d'Herelleschen Phänomen um ein aus den Bakterien stammendes und an Bakteriensubstrat gebundenes Bakterieneiweißenzym handelt. Das d'Herellesche Phänomen wäre damit nur ein spezieller Fall von Eiweißenzymwirkung.

v. Gruber (München): Ich neige mich entschieden der Auffassung zu, daß es sich beim d'Herelleschen Phänomen nicht um die Tätigkeit eines unsichtbaren Lebewesens handelt und hoffe, daß Versuche, welche bei uns im Gange sind, bald entscheidende Gegenbeweise bringen werden. Herr v. Angerer hat auf verdauende Enzyme hingewiesen, welche in der lebenden Zelle etwa schon vorhanden sind und normalerweise nur nicht zur Wirkung kommen. Solche Enzyme gibt es in der Tat. Ich verweise auf die Selbstverdauung des Hefepreßsaftes durch die Endotryptase und auf das rasche „Zerfließen“ der Hefe unter der Einwirkung kleiner Mengen von Aether, Benzol usw., die mein Freund Hans Buchner und ich zuerst beobachtet haben. Das tryptische Enzym ist fertig in der Zelle vorhanden, kommt aber nicht zur Wirkung auf das zell-eigene Eiweiß, solange die Struktur des Lebendigen erhalten ist.

Sachs (Heidelberg) weist auf die Kieselgumpierfilter von Macherey, Nagel & Co. in Düren hin. Sie können vielleicht als technisches Hilfsmittel herangezogen werden, da sie Bakterien in ziemlich starkem Maße zurückhalten, zuweilen sogar ein steriles Filtrieren erlauben und dabei ein rasches Arbeiten ermöglichen.

E. Gildemeister (Schlußwort): Die Vorträge und die Diskussionsbemerkungen zu dem Thema d'Herellesches Phänomen haben nach verschiedenen Richtungen hin wertvolles neues Tatsachenmaterial und beachtenswerte Anregungen ergeben. Möge es der weiteren Forschung gelingen, die Ursachen dieses interessanten Phänomens restlos aufzudecken.

Zu den Ausführungen des Herrn Kuhn möchte ich folgendes bemerken. Zu seinen früheren Arbeiten über das gleiche Gebiet habe ich bereits in einer im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. erschienenen Arbeit in ablehnendem Sinne Stellung genommen. Mir will es scheinen, als ob seine heutigen Ausführungen auf der gleichen schwachen Basis stehen wie seine früheren. Ich möchte bitten, bei der Deutung von morphologischen Ab-

weichungen von der Norm doch ja recht vorsichtig und recht mißtrauisch zu sein. Wie mannigfach und wie absonderlich derartige Bilder von Mikroorganismen sein können, wissen wir aus zahlreichen in der Literatur niedergelegten Abbildungen. In den Ausführungen des Herrn Kuhn habe ich einen Beweis für seine zahlreichen, so weitgehenden Behauptungen nicht recht gefunden; ich darf wohl annehmen, daß sie in dem gedruckten Vortrag enthalten sein werden, so daß eine sachliche Nachprüfung stattfinden kann.

Prausnitz (Schlußwort).

W. Seiffert (Schlußwort): Versuche mit Pyozyanase, wie sie Herr Prof. Gildemeister anführte, habe ich ebenfalls unternommen, und ebenfalls mit negativem Resultat.

Im Anschluß an die Arbeiten von Kruse habe ich diese Versuche auch auf die spontane Autolyse der Pneumokokken ausgedehnt; ich habe auch die von Kruse beschriebene Aufhellung erhalten, doch ist mir, im Gegensatz zu Herrn Jötten, eine Übertragung im Sinne d'Herelles nicht gelungen; freilich könnte das an meinen Stämmen liegen.

Was die Widerstandsfähigkeit des Bakteriophagen gegenüber dem Erhitzen anbelangt, so habe ich in allen Fällen, in denen nachträglich durch Zusatz von Bakterien eine Regeneration des wirksamen Prinzips möglich war, durch Ausspätelung auf der Platte Spuren von Bakteriophagen nachweisen können, die die angewendete Temperatur überstanden hatten. Eine feste Temperaturgrenze gibt es für den Bakteriophagen nicht; vielmehr geht im Ausspätelungsversuch von einer bestimmten Temperatur an die quantitative Abnahme seiner Wirksamkeit der weiteren Erwärmung parallel.

Kuhn (Schlußwort): Ich freue mich, daß Herr Prausnitz eine objektive Würdigung aller hier über das lytische Agens vorgetragenen Ansichten gegeben hat. Herr Gildemeister hat gegen meine heutigen Demonstrationen über die A-Formen lediglich eine frühere Arbeit ins Feld geführt, die meine vor zwei Jahren in Berlin vorgetragenen Ansichten entkräften sollte und in der er die A-Formen für abgestorbene Degenerationsformen der Bakterien erklärte, ebenso wie Herr Seiffert das getan hat. Seine Behauptungen erinnern mich an den genesenen Kranken, von dem es hieß: nach der Wissenschaft müßte dieser Mann längst tot sein. So sind die A-Formen trotz Gildemeister nicht tot, sondern leben und wuchern. — Die von mir gezeigten großen A-Formen entstehen auf geeigneten Nährböden in 1–2 Tagen. Bei den verschiedenen Bakterienarten sind die A-Formen in ihrer Erscheinung verschieden. Die Variation der Bakterienkolonien beruht auf den von mir erforschten Bakterienformen. Ich betone, daß alle hier im gefärbten Präparat gezeigten Pettenkoferia-Formen auch im Lebenden eingehend beobachtet worden sind.

Pause.

Vorsitzender: Sachs (Heidelberg).

30. Demonstration. J. Schumacher (Berlin):

**Demonstrationen zum chemischen Aufbau der Hefezelle.**

31. Vortrag. Schumacher (Berlin):

**Die Prozesse der Zellfärbung.**

Einige Demonstrationen aus dem Gebiet der Zellfärbung:

1) Die Gentianaviolett-Quecksilberjodidjodkalium-Phosphinalkohol-Safraninmethode stellt einen Teil der Bakterien rein violett, einen anderen Teil rot dar. Die Resultate decken sich restlos, soweit untersucht, mit denen der Gramschen Methode. Die Gramsche Färbung ist daher nicht an das freie Jod gebunden. Durch die

raschere Entfärbung mit Phosphinalkohol werden die Präparate etwas rascher fertig als bei der Original-Grammethode, gleichzeitig wird die Hälfte des zur Gramfärbung nötigen Jods gespart. (Bei Verwendung von Malachit- und Aethylgrün-Chininalkohol keine Uebereinstimmung mehr mit Gram.)

2) Die Tannin-Viktoriablau-Phosphinalkohol-Pyronin- oder Safraninmethode arbeitet gänzlich ohne Jod, mit hohen Kontrasten. Ein Teil der Bakterien ist rein tiefblau, ein Teil rein rot gefärbt. Auch hierbei scheinen die positiv reagierenden Bakterien den grampositiven zu entsprechen, und umgekehrt. In einzelnen Bakterien treten Details zutage. Färbedauer wie bei Gram. (Demonstration.)

3) Die Neosalvarsan-Silber-Malachitgrünmethode stellt tote Zellen beispielsweise einer Hefesuspension tiefbraun, lebende hellgrün dar. Bei Verwendung von Osmiumsäure an Stelle von ammoniak. Silbernitrat: tote Zellen tiefschwarz. (Demonstration.)

4) Demonstrationen zur Ursache der Zellfärbung. Durch Hydrolyse mit Mineralsäuren Nukleinsäure-frei gemachte Zellen (Hefe) färben sich nicht mehr mit Methylenblau, Pyronin, Phosphin, Methylgrün beispielsweise. Von basischen Farben färbt nennenswert nur noch die Rosanilingruppe, stark dagegen alle sauren Farben. Durch Behandeln so dargestellter Zellen mit einer Nukleinsäurelösung in essigsauerm Natrium lassen sich die Kernsubstanzen regenerieren. So behandelte und gewaschene Zellen färben sich dann wieder mit allen basischen Farben, sind aber gramnegativ. Beide Zellarten, in großem hergestellt, gemischt und auf Objektträger ausgestrichen, lassen sich färberisch gut unterscheiden, sowohl durch ein Dibasichrom (Methylenblau-Fuchsin), aus dem die Nukleinsäure-freie Zelle den Rosanilinfarbstoff aufnimmt, als auch durch alkoholische mit Wasser zu verdünnende Gemische saurer und basischer Farben (Giemsa, Methylenblau-Erythrosin, Pyronin-Guineagrün, Methylenviolett-Guineagrün) als auch durch getrennte Behandlung mit basischen und sauren Farben (Methylenblau-Tannin + Erythrosinmethode). In den zuletzt genannten Fällen bevorzugt die Nukleinsäure-freie Zelle stets den sauren Farbstoff, mit dem sie sich allein tingiert, während die Nukleinsäure-haltige Zelle sich mit dem basischen Farbstoff färbt. Bei der Färbung nach Giemsa verhalten sich beide Zellarten wie *Spirochaeta pallida* und Körperzelle, indem sich die Nukleinsäure-freie Zelle wie die ebenfalls Nukleinsäure-freie *Pallida* rot färbt. Beim Behandeln mit Metallsalzlösungen bindet die Nukleinsäure-freie Zelle sehr wenig Metall, die Nukleinsäure-haltige Zelle große Mengen. Neosalvarsanlösungen lassen beide Zellarten nicht unterscheiden. Verschiedene Beizen gestatten auch eine Färbung der Nukleinsäure-freien Zelle mit Methylenblau. Als solche können dienen: Erythrosinvorfärbung, nicht dagegen Eosinvorfärbung. Tannin wirkt nicht so gut, stark dagegen Vorbehandlung mit Ammoniak oder mit Neosalvarsan. Polychromes Methylenblau (Unna) färbt nicht, wohl aber bei Vorfärbung mit Eosin = Giemsa-Prinzip. (S. auch Centralb. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. 73. Nr. 15/16. S. 339, und Berlin. Phys. Ges. 1922. Januar. Klin. Wochenschr. 1922. H. 10. S. 498.) (Alle Methoden erscheinen nebst genauer Technik ausführlich unter den Originalien.)

**Diskussion** zu den Vorträgen 30 und 31.

Hilgers (Königsberg): Die Modifikationen der Gram-Färbung haben die Gefahr in sich, daß der Standardwert der normalen Gram-Färbung erschüttert wird,

und zwar gerade in den Fällen, wo in dem graduellen Verhalten gegenüber der Gram-Färbung Unterschiede zwischen ähnlichen Bakterien, z. B. Diphtherie und Pseudodiphtherie oder Anaërobier gefunden werden sollen.

Eine Modifikation ist erst dann als vollwertig anzuerkennen, wenn die Modifikation sich gegenüber allen Bakterien entsprechend der Originalfärbung verhält.

v. Wasielewski (Rostock) warnt davor, aus den sehr schönen Färbungen der verschieden behandelten Hefepräparate zu weitgehende Schlüsse auf die Deutung der ganzen Hefezelle als ein den Kernen höherer Zellen gleichwertiges Gebilde zu ziehen. Der Kernbau ist bei verschiedenen Hefearten durch einwandfreie histologische Methoden aufgeklärt, der Nachweis sich teilender Kerne bei Knospungsvorgängen gelungen. Möglicherweise entspricht das vom Vortragenden als „Nucleolus“ gedeutete Gebilde in Wirklichkeit dem Zellkern, der nach der Vorbehandlung nicht mehr in vollem Umfange und in gleicher Deutlichkeit dargestellt werden kann, wie in einfacher fixierten Präparaten.

Huntemüller (Gießen) teilt auf die Anfrage des Herrn v. Wasielewski mit, daß im Hygienischen Institut in Gießen schon seit längerer Zeit denaturierter Spiritus mit gutem Erfolg bei der Gram-Färbung Verwendung findet.

Schumacher (Schlußwort): Modifikationen einer bestehenden Methode haben nur dann ihre Berechtigung, wenn sie wirkliche Vorteile zu bieten vermögen. Diese erblicke ich in der Ausschaltung des freien Jods, der rascheren Entfärbbarkeit der gramnegativen Bakterien durch den Phosphinalkohol und der Ersparnis der Hälfte des Jods, die doch heute bei einem jährlichen Verbrauch von 145 l Lugolscher Lösung des Frankfurter Instituts beispielsweise auch in die Wagschale fällt. Ob die Methode sich bewährt, kann nur eine ausführliche Durchprüfung entscheiden. Aus diesem Grunde überlasse ich Ihnen die Beurteilung ihres Wertes.

Was die Nukleinsäure in den Zellen mit synthetischer Kernsubstanz anlangt, so findet sie sich nicht in einzelnen Körnchen vor, sondern genau wie in der ursprünglichen Zelle diffus verteilt, hellere und dunkler gefärbte Stellen, also Nukleinsäure-arme und -reiche Partien wechseln bei Färbung mit basischen Farben einander ab. Nur da, wo man in der ursprünglichen Zelle Nukleinsäure findet, sieht man sie auch bei diesen Zellen wieder. Ob das entstandene Nuklein wirklich absolut mit dem ursprünglich vorhandenen der normalen Zelle identisch ist, sei dahingestellt.

### 32. Vortrag. H. Dold (Marburg):

#### Ueber den Wert kurvenmäßiger Ablesung der Luesreaktion.

Mit 6 Kurven im Text.

Bekanntlich beruhen alle jene Luesreaktionen, bei denen Organextrakte Verwendung finden, auf einer gemeinsamen Grundlage, nämlich auf einer Präzipitation, die sich zwischen dem Luesserum und Extrakt abspielt. Während man früher allgemein annahm, daß bei diesem Präzipitationsvorgang das Serum, und zwar das Serumglobulin in quantitativer Beziehung am stärksten beteiligt sei, wissen wir heute, vornehmlich durch die analytischen Arbeiten von Epstein und Paul, Niederhoff, Klostermann und Weißbach u. a., daß das entstehende Präzipitat sicher in der Hauptsache aus Extraktlipoiden besteht. Einige der genannten Autoren stehen sogar auf dem Standpunkt, daß das Serumeiweiß an dem Präzipitat überhaupt nicht beteiligt sei. Wie dem auch sei, so viel steht jedenfalls fest, daß die tatsächlichen Verhältnisse richtiger wiedergegeben werden, wenn man von einer Aus-



flockung des Extraktes durch das Luesserum, als wenn man, wie früher, von einer Ausflockung des Luesserums durch den Extrakt spricht.

Wenn wir die Vorgänge, welche sich bei diesem Präzipitationsprozeß in dem Serumanteil abspielen, ganz außer Betracht lassen, und unser Augenmerk nur auf die wichtigen Vorgänge im Extraktanteil richten, so kommen wir zu einer Auffassung, die sich ungefähr folgendermaßen kurvenmäßig veranschaulichen läßt: Fig. 1.

Die WaR., die uns den Präzipitationsprozeß nicht direkt, sondern auf dem Umwege über die Komplementbindung zum sichtbaren Ausdruck bringt, gründet sich auf das Anfangsstadium dieses Präzipitationsprozesses [Komplementbindung in statu nascendi (Sachs)], und mißt die Stärke dieses Anfangsprozesses. Denn der für den schließlichen Ausfall der WaR. entscheidende Eintritt oder Nichteintritt der Komplementbindung (als Folge des Eintritts oder Nichteintritts der Präzipitation) erfolgt, wie wir wissen, in der Regel bald nach dem Zusammenmischen von Patientenserum, Extrakt und Komplement. Die Flockungsreaktionen

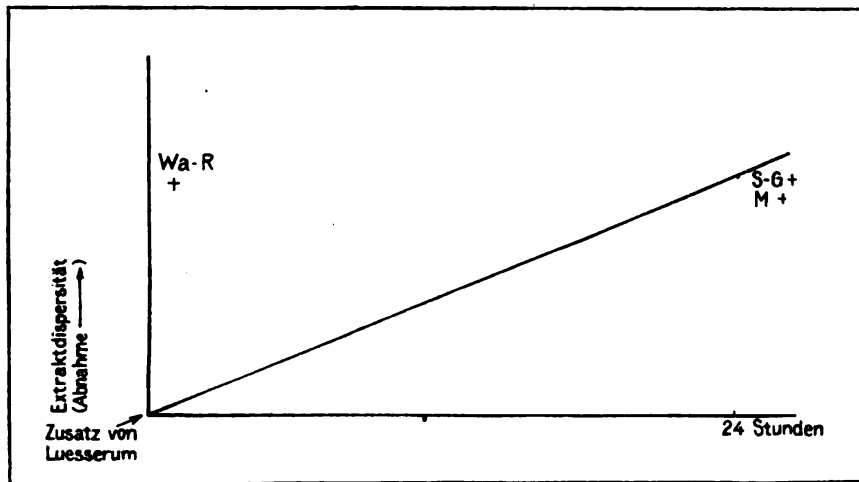


Fig. 1.

von Meinicke und Sachs-Georgi, die bekanntlich nach 20—24 Std. abgelesen werden, gründen sich dagegen auf das letzte Stadium des gleichen Präzipitationsvorganges und messen die Stärke dieses Endprozesses. Eine völlige Uebereinstimmung zwischen den Ergebnissen der WaR. und denen der Flockungsreaktionen ist daher nur in dem — allerdings wohl die Regel bildenden — Falle zu erwarten, wo der Prozeß der Präzipitation gleichmäßig von Anfang bis Ende fortschreitet. In anderen Fällen dagegen, in denen zwischen Anfang- und Endprozeß Unterschiede bestehen, müssen sich Differenzen in den Ergebnissen bemerkbar machen.

Dieser Gedankengang legte es nahe, nach einem Verfahren zu suchen, welches gestattet, den ganzen Präzipitationsvorgang von Anfang bis Ende, womöglich makroskopisch zu verfolgen. Dabei zeigt es sich, daß die wichtigste Voraussetzung für die Erreichung dieses Zieles die Verwendung einer geeigneten Extraktverdünnung ist. Bekanntlich erhält man bei gleichem Verdünnungsgrad je nach der Herstellungsart sehr verschiedene Extraktverdünnungen, wie wir hauptsächlich durch die Arbeiten von Sachs und Rondoni wissen. Nur Extraktverdünnungen von einer gewissen mittleren Dispersität sind für die vorgezeichneten

Zwecke geeignet. Nur an solchen Extraktverdünnungen kann sich der ganze Prozeß makroskopisch deutlich bemerkbar machen, indem es zunächst zu einer zunehmenden Trübung, und schließlich zu einer klärenden Flockung kommt. Bei den zu fein dispersen, fast wasserklaren Extraktverdünnungen spielt sich zum mindesten der Anfangsteil des Prozesses

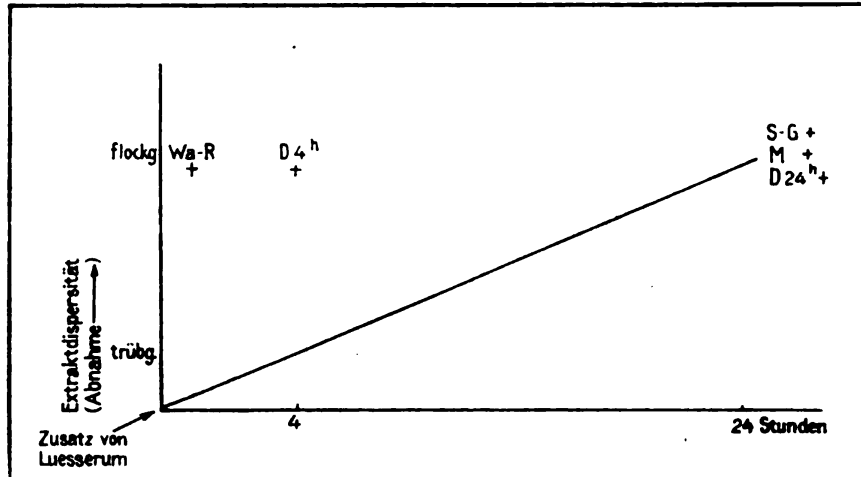


Fig. 2.

im makroskopisch Unsichtbaren ab. Andererseits kann bei den zu grob dispersen, milchig getrüben Extraktverdünnungen, wie sie bei der Meinicke- und bei der Sachs-Georgi-Reaktion zur Verwendung kommen, die kornvergrößernde Wirkung des Luesserums nicht mehr in

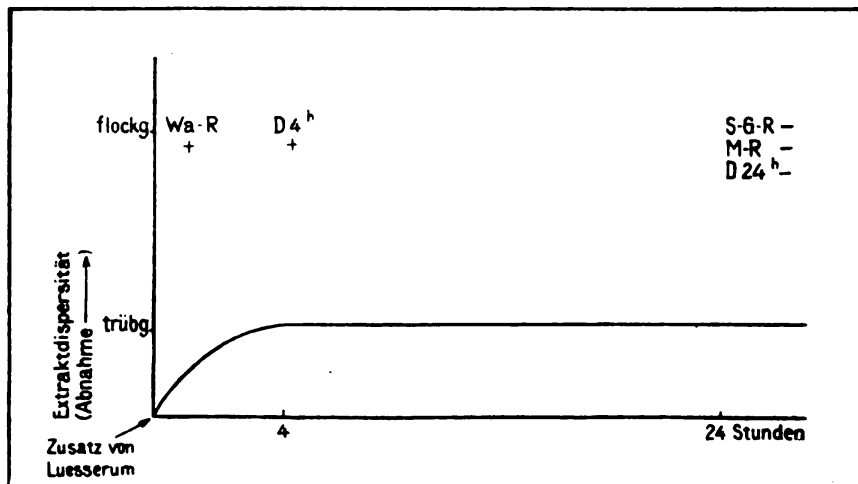


Fig. 3.

einer deutlichen Trübungszunahme sich äußern, sondern führt bald zu einer klärenden Flockung.

Bringt man Sera mit solchen geeigneten Extraktverdünnungen<sup>1)</sup> zusammen, so macht man folgende Beobachtung: Während bei den Normalseren der in der Mischung resultierende optische Zustand entweder unverändert bleibt oder eine Aufhellung erfährt, tritt bei Luessereren eine Trübung, bei schon bestehender Trübung eine Trübungs-

1) Bezüglich der Technik s. H. Dold, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, No. 8.

zunahme auf, welche nicht flüchtiger Natur ist. Bei gewissen Seren von Nichtsyphilitikern (z. B. von Tuberkulösen) treten gelegentlich auch Trübungen auf, jedoch mit dem Unterschied, daß diese vorübergehend (reversibel) und nach 4 Std. meist wieder verschwunden sind.

Würden einerseits alle normalen, d. h. nicht syphilitischen Seren, mit dem Extrakt unter Aufhellung und andererseits nur dieluetischen Seren mit dem Extrakt unter Trübung reagieren, so hätten wir die denkbar einfachste Luesreaktion. Man brauchte dann nur die zu untersuchenden Seren mit geeigneten Extraktverdünnungen zu vermischen; nach Ablauf der Versuchszeit wären dann die trüb aussehenden Proben als positiv, die klaren als negativ zu betrachten. Kontrollen wären überflüssig. Meinicke hat neuerdings seine Methodik im Sinne der Trübungsreaktion abgeändert und ein Verfahren angegeben, welches auf Kontrollen verzichtet. Wie ich oben auseinandergesetzt habe, liegen aber die Verhältnisse leider nicht so einfach, daß man die Kontrollen entbehren könnte. Aus diesem Grund habe ich gegen das neuerdings von Meinicke angegebene kontrollose Verfahren gewisse Bedenken.

Die Trübungsreaktion kann nur unter Berücksichtigung des optischen Verhaltens der Extraktverdünnung (Extraktkontrolle) und des Serums (Serumkontrolle) und unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes der auftretenden Trübung im spezifisch-diagnostischen Sinne bewertet werden. Bei der von mir zuerst angegebenen Ausführungsform der Trübungsreaktion kann die Reaktion nur dann als positiv angesprochen werden, wenn nach 4-stünd. Aufenthalt im Brutschrank das Versuchsröhrchen trüber erscheint als die Extraktkontrolle und als die Serumkontrolle, oder anders ausgedrückt, wenn von den 3 Röhrchen (Versuch, Extrakt und Serumkontrolle) das Versuchsröhrchen entweder die einzige oder die stärkste Trübung aufweist. In allen anderen Fällen ist sie negativ.

Mit dem Nachweis, daß die Reaktionsfähigkeitluetischer Sera durch Formaldehyd aufgehoben wird, ergab sich die Möglichkeit einer weiteren Vereinfachung meines Verfahrens. Durch Zusatz von Formaldehyd läßt sich der im Augenblick des Mischens von Serum und Extrakt jeweils resultierende optische Zustand der Proben festhalten, wodurch in einfachster Weise eine kombinierte Extraktserumkontrolle für die im Versuchsröhrchen etwa auftretende Trübung geschaffen ist. Das Verfahren gestaltet sich dann folgendermaßen:

Man nimmt 2 gleich weite Reagenzröhrchen, bringt in beide Röhrchen gleiche Mengen (am besten je 0,4 ccm) des zu untersuchenden Serums, hierauf in das als Kontrolle dienende rechts stehende Röhrchen 2 Tropfen einer  $\frac{1}{8}$  mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Formalinlösung, sodann in beide Röhrchen je 2,0 ccm der vorschriftsmäßig hergestellten  $\frac{1}{11}$  Trübungsextraktverdünnung. Man schüttelt um, bringt die Röhrchen in den Brutschrank und liest nach 4 Std. ab, indem man die Röhrchen in etwa 2 m Abstand gegen das Fenster hält; das Ergebnis ist positiv, wenn das Versuchsröhrchen trüber ist als die Kontrolle, in allen anderen Fällen negativ.

Verfolgt man mit diesem Verfahren im einzelnen Falle den Ablauf des Präzipitationsprozesses, so ergeben sich folgende Haupttypen des Reaktionsverlaufs.

In der Regel verläuft die Präzipitationskurve nach dem in Fig. 2 wiedergegebenen Typus: eine ziemlich gleichförmig fortschreitende Prä-

zipitation bis zur Bildung von gröbst-dispersen Flocken. In diesen Fällen sind WaR., D4<sup>h</sup>, S-G; M; und D24<sup>h</sup> sämtlich positiv.

Gelegentlich kommt aber auch der in Fig. 3 wiedergegebene Verlaufstypus zur Beobachtung: die zu Beginn energisch einsetzende Präzipitation gelangt nur bis zur makroskopisch sichtbaren Trübung, aber nicht bis zur Bildung gröbst-disperser Flocken.

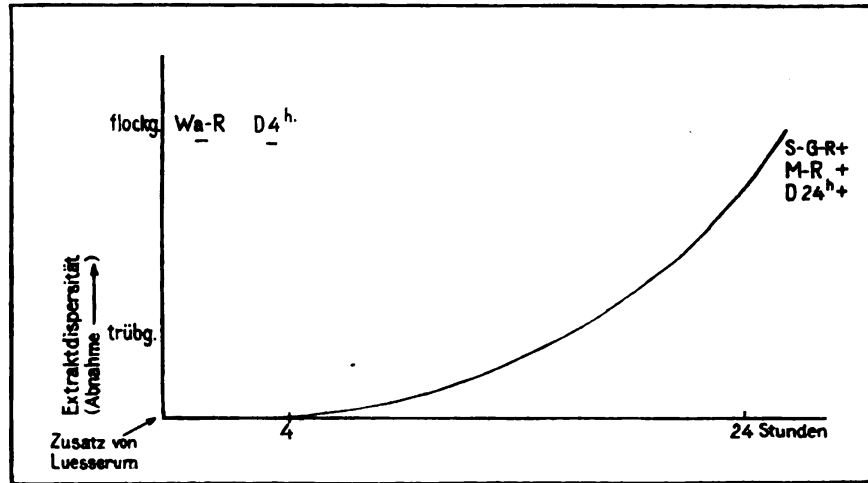


Fig. 4.

In diesen Fällen sind die WaR. und D4<sup>h</sup> positiv, die S-G, M und D24<sup>h</sup> dagegen negativ.

Ferner kommt gelegentlich der in Fig. 4 gezeichnete Verlaufstypus zur Beobachtung: eine starke Verzögerung des Präzipitationsprozesses, der aber schließlich doch zur Bildung von grobdispersen Flocken führt.

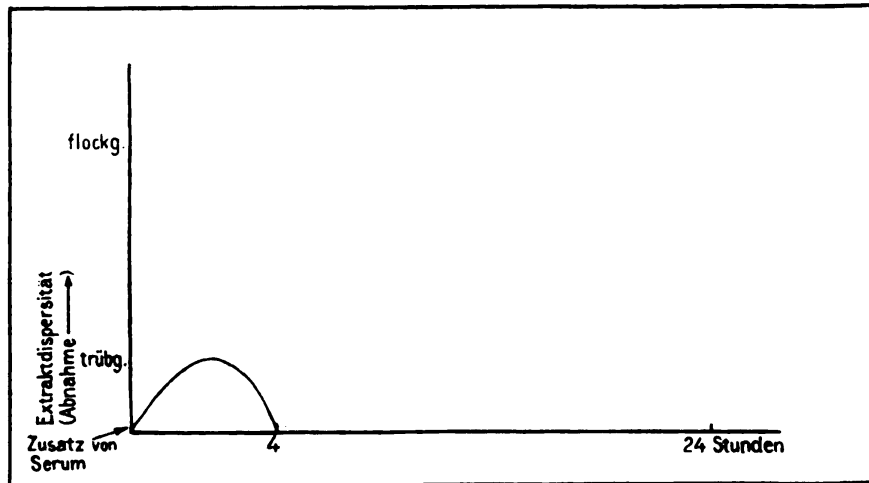


Fig. 5.

In solchen Fällen sind die WaR. und die D4<sup>h</sup> negativ (letztere eventuell zweifelhaft); dagegen die S-G, M und D24<sup>h</sup> positiv.

Es kommt auch vor, daß der Präzipitationsprozeß so verzögert und abgeschwächt ist, daß es nach 24 Std. nur zur makroskopischen Trübung, aber nicht zur Flockenbildung kommt. Diese Spättrübung dürfte als geringster Grad einer Reaktion zu betrachten sein.

Schließlich beobachten wir den in Fig. 5 wiedergegebenen Reaktionstypus: es kommt zu einer Trübung, die aber meist nach 4 Std. wieder verschwunden ist. Es gibt auch Fälle, wo die Trübung bei der Ablesung nach 4 Std. zwar im Schwinden, aber noch nicht völlig geschwunden ist. Bei kurvenmäßiger Betrachtung läßt sich aber ohne weiteres die Tendenz der Kurve erkennen.

Einen derartigen Kurvenverlauf sieht man gelegentlich bei Seren von Tumoren, von Tuberkulösen und von Schwangeren in der letzten Zeit der Schwangerschaft (Keining), wo bekanntlich von verschiedenen Autoren auch eine positive WaR. beobachtet worden ist.

Der Wert dieser kurvenmäßigen Ablesung, wie sie durch mein Verfahren ermöglicht ist, erhellt auch daraus, daß man auf diese Weise die Wirkung therapeutischer Maßnahmen auf das Verhalten der Reaktion direkt verfolgen kann. So konnte Keining feststellen, daß vorhandene Reaktionen durch die Behandlung teils von hinten her (allmähliches Schwächerwerden der Endreaktion) teils von vorne her (all-

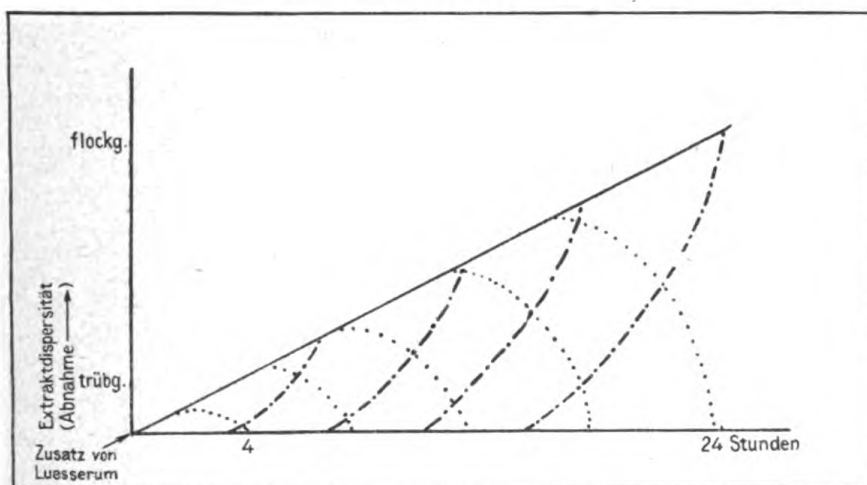


Fig. 6.

mähliches Schwächerwerden der Anfangsreaktion) zum Verschwinden gebracht werden (siehe Fig. 6).

Die Vorteile des von mir angegebenen Verfahrens lassen sich, wie folgt, zusammenfassen:

- 1) eine, auch gegenüber den Flockungsreaktionen vereinfachte Technik;
- 2) makroskopische Ablesbarkeit der Ergebnisse schon nach 4 Std., also ungefähr zur gleichen Zeit wie bei der WaR. Uebereinstimmung der Ergebnisse mit denen der WaR. in etwa 94 Proz. der Fälle, sofern man in der vorgeschriebenen Weise unter Verwendung von eingestellten Trübungsextrakten arbeitet. Wegfall der bei der WaR. oft störenden zweifelhaften Ergebnisse infolge Eigenhemmung;
- 3) außerdem schließt das Verfahren eo ipso die Flockungsreaktion in sich. Man kann also, wenn man will, in zweifelhaften Fällen ohne weiteres auch noch als Flockung nach 24 Std. ablesen, und dadurch noch etwa 2 Proz. weitere positive Reaktionen gewinnen.

Wird nur als Trübungsreaktion abgelesen, so entgehen die Fälle von verzögertem Präzipitationsverlauf (Fig. 4). Wird nur als Flockung abgelesen, so entgehen andererseits die Fälle, wo die Präzipitation nur bis zur makroskopischen Trübung, aber nicht bis zur Bildung grobdisperser Flocken vorschreitet (Fig. 3).

Den höchsten Prozentsatz von positiven Reaktionen liefert darum die kombinierte Ablesung als Trübungsreaktion ( $D4^h$ ) und als Flockung ( $D24^h$ ).

4) Schließlich bietet das Verfahren jederzeit die Möglichkeit, direkt Einblick in den ganzen Ablauf des Präzipitationsprozesses zu gewinnen, was der Beantwortung mancher theoretischer und klinischer Fragen dienlich sein kann.

#### Diskussion zu Vortrag 32.

E. Keining (Marburg): Bevor die Bedeutung der verschiedenen Kurventypen, welche mit der Dold-Reaktion (= Trübungs-Flockungsreaktion) nachzuweisen sind, zuverlässig beurteilt werden kann, mußte die Spezifität der Frühablesung als Trübungsreaktion (=  $D4^h$ ) und der Spätablesung als Flockungsreaktion (=  $D24^h$ ) durch ein größeres Zahlenmaterial sichergestellt werden. Dabei wurde nicht auf eigene Verantwortung experimentiert, vielmehr wurden die Vorschriften Dolds genau befolgt. Im Gegensatz zu Winkler und Poehlmann, in Übereinstimmung mit Stempel, wurde eine sehr hochgradige Spezifität der Dold-Reaktion festgestellt. Bei 800 Seren stimmten nämlich WaR. und  $D4^h$  in 94 Proz. überein;  $D4^h$  und  $D24^h$  in 93 Proz.; Meinickes D. M. und  $D4^h$  in 91,5 Proz. Den höchsten Prozentsatz an Übereinstimmungen mit der Klinik wies die Dold-Reaktion (=  $D4^h$  und  $D24^h$  zusammen) gegenüber der WaR. und D. M. auf.

Um nun einen kurvenmäßigen Ueberblick über den Reaktionsablauf in seiner Totalität zu erhalten, wurde nicht nur nach 4 und nach 24 Std. abgelesen, sondern für diesen speziellen Zweck außerdem auch noch sofort nach Ansatz der Versuche und nach 2 Std. Weitere Ablesungszeiten erwiesen sich als überflüssig, weil sie an dem Kurvenverlauf nichts Nennenswertes ändern. Ein großer Teil des Luesmaterials wurde in Abständen von etwa 8 Tagen serologisch nach Dold untersucht, um sowohl positiv werdende als auch unter der Kur schwindende Blutveränderungen auf ihr kurvenmäßiges Verhalten hin zu studieren. Dabei stellte sich heraus, daß sich die von Dold gesehene Kurven mit großer Wahrscheinlichkeit unter einheitlichen Gesichtspunkten ordnen lassen. Stark positive Sera haben eine Kurve als Grundtyp, wie sie Herr Dold in Fig. 2 vorgeführt hat: die Trübung nimmt allmählich zu, ist nach 4 Std. optimal ablesbar und geht später in grobdisperse Flockung über; bei 2-stünd. Ablesung ist die Trübung noch gering bis zweifelhaft, bei sofortiger Ablesung fehlt sie. Ferner gibt es stark positive Sera, bei denen entweder sofort oder schon nach 2 Std. eine starke Trübung vorliegt, die auch nach 4 Std. gleich stark oder wenig stärker ist und die nach 4 Std. wieder bald früher, bald später in grobdisperse Flockung übergeht. Bei diesen stark positiven Seren tritt nur die Anfangsreaktionsfähigkeit besonders ausgesprochen in Erscheinung als Spielart ein und desselben Grundtyps. Beim Negativwerden solcher Sera durch antiluetische Kur kann einmal die Anfangsreaktion schneller schwinden. Dann entspricht die Kurve der Fig. 4. Schließlich ist als schwächster Ausdruck einer positiven Reaktion nur noch eine Spättrübung nachweisbar. Es sind dies jene Sera, welche früh eine schwindende positive WaR. aufweisen, bei denen aber die Flockungsreaktionen eine Zeitlang noch stark positiv bleiben, um erst später negativ zu werden. Andererseits gibt es Sera, welche zunächst den in Fig. 2 dargestellten Grundtyp oder eine Spielart erkennen lassen, 8 Tage später zwar früh und stark trüben, oft schon nach 2 Std. oder gar sofort, dann aber geht die Trübung wieder in Klärung über, und zwar zunächst spät, z. B. nach 6 Std.; hier tritt also überhaupt keine grobdisperse Flockung mehr auf. Eine zeitlang später tritt nach anfänglicher Trübung die Klärung bereits nach 4 Std. ein; schließlich ist nur noch sofort oder nach 2 Std. eine vorübergehende Trübung festzustellen (vgl. Fig. 5). Hier ist also die Anfangsreaktion am hartnäckigsten. Es sind dies jene Sera, welche lange Zeit nach Wa noch positiv reagieren, während die Flockungsreaktionen schon eine Zeitlang wieder negativ waren. Hier ist die flüchtige Trübung bei 2 Std. schwächster Ausdruck einer positiven Reaktion, evtl. ist auch die WaR. bereits wieder negativ. Dasselbe Verhalten läßt sich bei positiv werdenden Seren beobachten: mal ist die Anfangsreaktionsfähigkeit früher deutlich und serologisch faßbar, mal die Endreaktionsfähigkeit. In Fig. 6 hat Herr Dold bereits die beiden Wege veranschaulicht, auf denen eine zunächst nur einen Teil des Reaktionsgebietes betreffende Blutveränderung schließlich sich über dessen Totalität erstrecken kann, und dementsprechend in jeder Phase des Reaktionsablaufes nachweisbar wird, sei es im Anfangsteil durch die WaR. und die  $D4^h$  oder im Endteil durch die Flockungsreaktionen. Auch die Rückbildung des Normaltyps stark positiver Sera geht auf einem der beiden beschriebenen Wege vor sich. Weitere seltene Typen sollen hier nicht beschrieben werden. An dieser Stelle soll nur darauf hingewiesen werden, daß 1) der Grund für die Abweichungen zwischen WaR. und Flockungsreaktionen nicht nur im Extrakt zu

suchen ist, sondern wahrscheinlich auch in der Individualität der Sera, und 2) daß es, wie die kurvenmäßige Darstellung lehrt, grundfalsch wäre, den Luesnachweis oder die Kurkontrolle, allein auf die Anfangsreaktion (WaR) oder allein auf die Endreaktion (D. M. und S.-G.) zu stützen, weil leicht eine positive Reaktion übersehen werden kann.

Untersucht wurden ferner bisher 100 Sera von Schwangeren vor, während und nach dem Partus, also in einem Zeitpunkt, wo die WaR häufig unspezifisch positiv ist. Ueber 80 Proz. Sera gaben eine sofortige und eine sich über 2 Std. ausdehnende Trübung, die dann wieder in Klärung übergang (vgl. Fig. 5). Dieses auffällige Phänomen dürfte mit der abnormen Komplementbindung vieler Schwangerenserum in Zusammenhang zu bringen sein, weil sich die WaR. ja auf den Anfangsprozeß stützt. Nach Esch sind vom 7. Tage p. part. ab die Blutverhältnisse wieder normal und weder bei der WaR. noch beim Kobrahämolyseversuch abnorme Komplementbindung bzw. Aktivierung mehr nachweisbar. Auch die beschriebenen Frühtrübungen scheinen etwa vom 7. Tage post part. ab zu fehlen. Spezifische Trübungen bei Schwangerenserum gehen in grobdisperse Flockungen über. Das charakteristische Verhalten der Flockungsreaktionen bei Schwangeren, das z. B. von Stühmer und Dreyer (S.-G.) und neuerdings von Esch (D. M.) festgestellt wurde, dürfte wohlbegründet sein. Auch Tuberkulosen geben gehäuft Anfangstrübungen entsprechend dem in Fig. 5 beschriebenen Typ. Für die Dold-Reaktion als Luesnachweismethode ist hieraus zu entnehmen, daß nur der Trübungsgrad nach 4 Std. im Vergleich zur Kontrolle für Lues charakteristisch ist und daß jeder frühere Ablesetermin falsche Resultate liefern muß.

Zur Zeit der Nachprüfung der Flockungsreaktionen war das Auge geschärft für grobdisperse Flockungen, also für das Endprodukt aus dem im Serumextraktgemisch sich abspielenden Präzipitationsvorgang. Das Anfangsstadium galt als ultravisibel, und konnte nur auf dem Umwege über die Komplementbindung nachgewiesen werden. Seitdem es nunmehr Dold gelungen ist, dieses feindisperse kolloidale Frühstadium nicht nur in einem Trübungsphänomen zu erkennen, sondern auch der praktischen Diagnostik nutzbar zu machen, werden wir unser Auge auch für das Trübungsphänomen schärfen müssen, um den Grundvorgang in seinem gesamten Ablauf direkt zu diagnostizieren. Das Phänomen der Präzipitation ist bei der WaR., S.-G., D. M. und der Dold-Reaktion dasselbe, aber der Indikator ist verschieden; jeder Indikator erfordert seine ihm optimal in Erscheinung tretende Technik, das ist der Grund für die abweichende Technik der verschiedenen Reaktionen.

Messerschmidt (Hannover) berichtet über gute Erfolge mit der Doldschen Trübungsreaktion. Klinische Kontrolle der serologischen Diagnose war in den meisten Fällen nötig. Die Einfachheit der Ausführung ermöglicht tägliches Ansetzen der Reaktion und damit schnelle Sicherung der Diagnose. Das Ablesen ist einfach. Differenzen zwischen den Befunden nach Sachs-Georgi kommen vor, sind jedoch selten.

#### Mandelbaum (München).

Sachs (Heidelberg): Die Ergebnisse von Dold mit seiner sog. Trübungsreaktion haben mich besonders interessiert, weil sie mit den Erfahrungen, die über die von mir und Georgi angegebene Flockungsmethode aus den letzten 3 Jahren vorliegen, weitgehende Übereinstimmung aufweisen. Auch bei der als Sachs-Georgi-Reaktion bezeichneten Methode kann man das Ergebnis in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nach wenigen (3—4) Stunden an der eingetretenen Ausflockung ablesen. Wenn ich trotzdem empfohlen habe, die Beurteilung erst nach längerer Zeit vorzunehmen, so waren für mich hauptsächlich die reversiblen Frühreaktionen, die bei Tuberkulose, Geschwülsten usw. eintreten, maßgebend. Auch Dold hat sie bei der sog. Trübungsreaktion beobachtet. Ueber ihr Eintreten bei der Ausflockung ist aber schon vor längerer Zeit in Untersuchungen von Stilling aus meinem Laboratorium berichtet worden.

Die Ursache nun, daß die Ergebnisse der Sachs-Georgi-Reaktion mit denjenigen der sog. Doldschen Trübungsreaktion so weitgehend übereinstimmen, ist offenbar darin gelegen, daß es sich grundsätzlich um identische Methoden handelt. Auch Dold verwendet cholesterinierte Extrakte, stellt ebenso wie wir Extraktverdünnungen von mittlerer Dispersität her, und wenn er auch in den quantitativen Verhältnissen geringfügig von der Methodik der Sachs-Georgi-Reaktion abweicht, so dürfte hierin kein grundsätzliches Unterscheidungsmerkmal gelegen sein. Der Unterschied besteht nur in einer Modifikation der Ablesung. Während wir die eintretende Flockung als Maßstab zugrunde legen, benutzt Dold die mit der Flockung vergesellschaftete oder ihr vorangehende Trübung als Kriterium, ein relativer Maßstab, der vor dem absoluten der Flockung keinen Vorzug verdienen dürfte.

Ich darf in diesem Zusammenhang vielleicht auf ein Phänomen hinweisen, das zwar selbstverständlich erscheint, das aber, wenn man überhaupt auf Trübungsunterschiede Wert legt, häufig sehr drastisch ist. Filtriert man nach beendeter Sachs-Georgi-Reaktion ein Röhrchen mit positivem und negativem Ergebnis durch ein dichtes Filter, z. B. durch Kieselgurfiltrierpapier von Macheray, Nagel, das auch jüngst von Wassermann und Citron herangezogen wurde, so ist das Filtrat des positiven Versuches klar, dasjenige des negativen Versuches trübe. Das Ergebnis verhält sich also zu demjenigen der einfachen Sachs-Georgi-Reaktion gewissermaßen wie das Negativ zum Positiv. Die Ursache ist darin gelegen, daß bei positivem Ergebnis die Extraktteilchen fast vollständig aggregiert sind, so daß sie das Filter nicht passieren, während bei negativem Ergebnis das Extrakt durch das Filter geht und im Filtrat die Trübung verursacht. Zu dem gleichen Ziele kann man freilich auch durch scharfes Zentrifugieren gelangen, und die derart erhaltenen Zentrifugate zeigen, wie das Sachs und Sahlmann bereits im vorigen Jahre mitgeteilt haben, biologisch in der Regel die gleichen Eigenschaften wie die von v. Wassermann und Citron neuerdings beschriebenen Filtrate: bei positiven Seris reagieren sie wie ein syphilitisches Serum. Allerdings möchte ich daraus nicht ohne weiteres auf eine Wiedergewinnung der reagierenden Serumkomponenten aus einem Aggregat schließen. Es genügt vielmehr, anzunehmen, daß der Ueberschuß von Serumkomponenten, der an der Reaktion nicht teilgenommen hat, durch Filtrieren oder Zentrifugieren wieder nachweisbar wird.

Dold (Schlußwort): Ich erkenne gerne die großen Verdienste von Sachs um die Entwicklung der Flockungsreaktionen an, vermag jedoch den von Sachs soeben entwickelten Anschauungen und Ansprüchen nicht zuzustimmen. Alle bisher bekannten Luesreaktionen beruhen, soweit sie Organextrakte als Reagenz benützen, auf einer gemeinsamen Grundlage, nämlich auf der zwischen Luesserum und Extrakt sich abspielenden Präzipitation. Infolgedessen haben alle diese Reaktionen die engsten Beziehungen zueinander und man kann immer das eine Verfahren als Modifikation des anderen betrachten. So könnte man beispielsweise die Trübungsreaktion auch als eine WaR. ohne Komplement bezeichnen. Es kann aber keine Rede davon sein, daß es sich bei meinem Verfahren etwa nur um eine geringfügige Modifikation der Sachs-Georgi-Reaktion handelt. — Die Mitteilung von Sachs, daß er seine Reaktion jetzt auch nach 2—4 Std. ablese, ändert nichts an der Tatsache, daß bis zu der Zeit, wo ich mein vereinfachtes, frühzeitig makroskopisch ablesbares Verfahren, die Trübungsreaktion veröffentlichte, die Sachs-Georgi-Reaktion, entsprechend den Vorschriften der Autoren, nach 20—24 Std. abgelesen wurde. Uebrigens bleibt die Sachs-Georgi-Reaktion, auch wenn man versucht, schon nach 2—4 Std. abzulesen, trotzdem das, was sie ist, nämlich eine Methode, welche auf grobdisperse Flockenbildung eingestellt ist. Sachs müßte auch noch die Technik der Herstellung der Extraktverdünnung und vieles andere ändern, mit anderen Worten, er müßte den gleichen Weg gehen, den ich gegangen bin, um zu dem von mir angegebenen Verfahren zu gelangen. Sachs glaubt, seine Ansprüche auch damit begründen zu können, daß bei meinem Verfahren seine cholesterinierten Rinderherzextrakte verwendet würden. Darauf ist zu erwidern, daß allerdings cholesterinierte Rinderherzextrakte, sofern sie für die Trübungsreaktion ausprobiert und eingestellt sind, sich für mein Verfahren gut eignen, daß aber nicht alle für die Sachs-Georgische Flockungsreaktion eingestellten cholesterinierten Rinderherzextrakte auch für die Trübungsreaktion optimal sind. Außerdem sind auch andere Organextrakte für die Trübungsreaktion zu gebrauchen. So verwendet z. B. Meinicke neuerdings seine Pferdeherzextrakte für die Trübungsreaktion. Die Verwendung von cholesteriniertem Rinderherzextrakt ist also keine *conditio sine qua non*. — Wenn Sachs seine Flockungsreaktion als eine „objektive“ Reaktion meinem Verfahren als einem „subjektiven“ gegenüberstellt, so kann ich mir kein subjektiveres Urteil denken als dieses. Beide Verfahren sind gleich subjektiv und gleich objektiv. Bei beiden Verfahren gibt es zweifelhafte Grenzfälle, wo dem subjektiven Urteil ein gewisser Spielraum gelassen ist.

Kurz zusammengefaßt unterscheidet sich mein Verfahren von der Sachs-Georgi-Reaktion 1) durch eine in fast allen Einzelheiten veränderte Technik, 2) durch die ausschließliche Verwendung von Extrakten, die für die Trübungsreaktion eingestellt sind, 3) durch die frühzeitige Ablesbarkeit nach einem anderen Ablesungsprinzip (makroskopische Ablesung als Trübungsreaktion nach 4 Std.), 4) durch die Einführung der kombinierten Formolkontrolle, nachdem von mir festgestellt worden war, daß Zusatz von Formaldehyd die Reaktionsfähigkeit der Luesseren aufhebt, 5) durch eine andere Zielsetzung (Kurvenreaktion und Ablesung in 2 typischen Stadien als Trübung und als Flockung). Als Gemeinsames verbleibt eigentlich nur das Luesserum und der Organextrakt und die zwischen beiden sich abspielende Präzipitation. Aber das ist, wie gesagt, allen Luesreaktionen, die mit Organextrakt arbeiten, gemeinsam. — Da Sachs



die Prioritätsfrage angeschnitten hat, so muß ich darauf hinweisen, daß Bruck und Hidaka sowie Paul Schmidt schon im Jahre 1911, also viele Jahre vor der Ausarbeitung der Flockungsreaktionen feststellte, daß im Luesserumextraktgemisch bei längerem Stehen eher und deutlicher Sedimente (also grobdisperse Flocken) auftreten als in den Normalerumextraktgemischen. —

Meine Mitteilungen über die verschiedenen Präzipitationstypen, die eine einfache Erklärung für die Verschiedenheiten im Ausfall der WaR., der Trübungs- und Flockungsreaktionen bieten, unterscheiden sich von ähnlichen früheren Mitteilungen von Sachs und seinen Mitarbeitern darin, daß die letzteren sich auf fälschlicher Weise vermutete Globulinflockungen bezogen und vorwiegend spekulativen Charakter trugen, während meine Mitteilungen sich auf die Vorgänge im Extrakt beziehen und das Ergebnis direkter tatsächlicher Beobachtungen sind, wie sie erst durch meine Methodik möglich waren. —

Was jene Fälle betrifft, wo bei meinem Verfahren eine vorübergehende Trübung beobachtet wird, während die WaR. mehr oder weniger negativ ist, so kann ich hierin keinen Widerspruch zu der Anschauung eines Zusammenhangs zwischen auftretender Trübung und positiver WaR. erblicken. Ich stelle mir vor, daß es in solchen Fällen auch zunächst zu einer Komplementbindung kommt, daß aber dann das Komplement in demselben Maße, als der Präzipitationsvorgang rückläufig wird, wieder frei wird und mehr oder weniger vollständige Hämolyse bewirkt.

### 33. Vortrag. Hilgers (Königsberg):

#### **Ernährungszustand und Komplementgehalt beim Meerschweinchen<sup>1)</sup>.**

Die Schwankungen des Komplementgehaltes frisch entnommenen Meerschweinchenblutes sind vorwiegend für die Technik der Wassermannschen Reaktion von Interesse gewesen, da diese Schwankungen bei der Ausführung der W.-N.-B.-Reaktion berücksichtigt werden müssen. Erheblich geringerem Interesse begegnet aber die Frage, worauf diese durch das hämolytische System sichtbar gemachten Veränderungen der Komplementwirkung beruhen, deren Ausschläge nach oben und unten allerdings ziemlich klein sind. Normal ist etwa ein Wert von 0,01 ccm bei gewöhnlicher Bluteinheit und vierfachem Ambozeptorüberschuß. Werte von 0,1 sind selten, ebenso die geringen Werte unter 0,008.

Schwankungen können durch Ursachen außerhalb des Tierkörpers bedingt sein: Art der Aufbewahrung, Zeitspanne zwischen Entnahme und Verarbeitung, Methodik der Blutentnahme u. a. m.; die Aenderung der Komplementkraft kann auch durch das Tier selbst verursacht werden: Alter, Geschlecht, Trächtigkeit, Art der Fütterung (Grünfutter). Ein Zusammenhang zwischen Jahreszeit und Komplementwirkung wird mehrfach erwähnt, z. B. nach der Tabelle von Kaup und den Mitteilungen von Loew. Daß kranke Tiere, besonders die chronisch kranken, eine Herabsetzung der Komplementkraft aufweisen, ist bekannt. Hierhin gehören die Beobachtungen Hintzes, welcher zeigen konnte, daß im Komplement vollkommen gesund erscheinender Meerschweinchen, die nach dem Sektionsergebnis mit Pseudotuberkulose behaftet waren, Stoffe auftreten, die die lösende Kraft des Komplements beim Zusammenbringen mit Extrakt und Serum erheblich herabsetzen. Bei der Annahme, daß vielleicht zwischen dem Gesundheitszustand des Tieres und dem Gehalt des Komplements ein Zusammenhang vorhanden ist, wurde versucht, den Zustand des Tieres in einzelne Faktoren zu zerlegen, um zu prüfen,

1) Die Arbeit erscheint ausführlich in der Zeitschrift für Immunitätsforschung.

ob nicht ein besonderer Faktor für die Schwankung der Komplementkraft in Frage komme. Es wurde deshalb bei den zur Wassermannschen Reaktion gebrauchten Tieren jedesmal die Komplementmengen genau festgelegt und die gefundenen Werte mit dem Zustand des Tieres verglichen. Zur Bestimmung des Komplementtiters nahm ich nach der Definition von Kaup als Komplementeinheit diejenige kleinste Menge eines aktiven Meerschweinchenserums, die für die völlige Lösung der jeweiligen Bluteinheit bei einem bestimmten Ueberschuß an Immuns Serum erforderlich war. Als Gesamtvolumen nahm ich 2,5 ccm bei normaler Bluteinheit mit vierfachem Ambozeptorüberschuß; Ablesung nach halbstündigem Verweilen im Wasserbade. Berücksichtigt wurde: Alter der Tiere, Gewicht, Ernährungszustand, Art der Fütterung und der Sektionsbefund. Der Sektionsbefund wurde in 2 Teile geteilt. 1) in das eigentliche Sektionsergebnis, ob sich pathologische Veränderungen durch irgendwelche Krankheiten finden; 2) in eine Ernährungszustandsbestimmung, die dadurch einigermaßen objektiv wurde, daß das Gewicht des Netzes, welches gewöhnlich als Hauptfettdepot angenommen wird, auf 100 g Meerschweinchen bezogen und als Mittelwert der Betrag von 0,3 g auf 100 g Meerschweinchen eingesetzt wird.. Auf Grund des Netzgewichtes wurden die Tiere mit einem Netzgewicht unter 0,3 g auf 100 g als in schlechtem Ernährungszustand, die Tiere mit 0,3 g auf 100 g als normal, und die über 0,3 g als in gutem Ernährungszustand bezeichnet. Die Ernährung war stets die gleiche: Heu, Hafer, Wruken; auf ungefähr gleiches Alter wurde geachtet. Die Tiere entstammten alle unseren Tierställen. Entnahme, Aufbewahrung und Verarbeitung des Serums geschah unter genau gleichen Verhältnissen.

Untersucht wurden im Zeitraum von Oktober 1921 bis Mai 1922 88 Tiere, die nach keinem besonderen Gesichtspunkt ausgelesen waren. Unter diesen befanden sich 10, die zu anderweitigen Versuchen mit humanen Tuberkelbazillen infiziert waren, und die teils in beginnender, teils in fortschreitender Tuberkuloseerkrankung sich befanden. Diese 10 tuberkulösen Tiere seien als kranke Tiere zuerst gesondert behandelt.

Bei den fortgeschrittenen tuberkulösen Tieren war der Titer deutlich bei 2 Tieren herabgesetzt. Er betrug zwischen 0,03 bis 0,04 ccm. Ein Tier, ebenfalls mit nach dem Sektionsergebnis weit vorgeschrittener Tuberkulose, aber noch in gutem Ernährungszustand, besaß noch seinen normalen Komplementtiter von 0,01. Die übrigen 7 Tiere mit beginnender Tuberkulose teilten sich deutlich in 2 Gruppen: 4 Tiere in noch ziemlich gutem Ernährungszustande hatten einen Komplementtiter von 0,01 bis 0,015, 3 stark abgemagerte Tiere einen Titer von 0,017 bis 0,02. Die Schwankungen sind gering, zeigen aber doch, daß ein guter Ernährungszustand trotz fortgeschrittener Infektion mit einer nicht nennenswert herabgesetzten Komplementkraft einhergeht.

27 normal gleichmäßig genährte Tiere aus den verschiedenen Jahresmonaten Oktober bis April mit einem Netzgewicht von 0,3 g auf 100 g Meerschweinchen hatten einen Durchschnittskomplementgehalt von 0,01 ccm. Es sind nur 2 Tiere, welche durch eine herabgesetzte lösende Dosis auffielen, 0,015 und 0,014. 10 von den 27 Tieren hatten unter 0,01; etwa bei 0,009 ccm.

23 gesunde, aber ziemlich fette Tiere mit einem Netzgewicht von 0,35 bis 0,5 auf 100 g Lebendgewicht hatten einen Durchschnittskomplementgehalt von 0,009, er war also nicht erheblich geringer als bei den normalen Tieren.

Dagegen war auffallend, daß 28 gesunde, aber magere Tiere mit einem Nettgewicht unter 0,3, deren Sektion keinerlei Anhaltspunkte für eine Erkrankung ergab, einen deutlich herabgesetzten Komplementtiter aufwiesen. Er betrug durchschnittlich 0,015. Alle hatten einen Titer über 0,01 mit Ausnahme von 2 Tieren.

Werden die Tiere (die kranken 10 Tiere sollen hier außer Ansatz bleiben) nach ihrer Titerhöhe eingeteilt, so erhalten wir folgendes Ergebnis:

Bei einem Titer von:

unter 0,01 32 Tiere, 6,2 Proz. magere, 31,3 Proz. normale, 62,5 Proz. Tiere in gutem Ernährungszustande;  
um 0,01 11 Tiere, 27,3 Proz. magere, 72,7 Proz. normale Tiere, 0,0 Proz. in gutem Ernährungszustande;  
über 0,01 34 Tiere, 64,6 Proz. magere, 26,5 Proz. normale, 8,9 Proz. Tiere in gutem Ernährungszustande.

Ein Zusammenhang zwischen Monatsstemperatur bezüglich der Jahreszeit und dem Komplementtiter ließ sich nicht feststellen.

Hiernach scheint zwischen Ernährungszustand und Komplementtiter ein deutliches Zusammentreffen zu sein. Bereits Kaup erwähnt, daß der Titer vor oder nach andauerndem Hunger schwanken kann. Ob aber ein unmittelbarer Zusammenhang besteht, sei nicht eher festgelegt, als bis durch die weiteren begonnenen Versuche an hungernden und überernährten Tieren ein genauerer Einblick gewonnen ist.

#### Diskussion zu Vortrag 33.

Huntemüller (Gießen) weist auf Untersuchungen hin, die in der Medizinischen Gesellschaft in Gießen vorgeführt wurden. Es gelang, durch vitaminfreie Nahrung bei Ratten Panophthalmie hervorzurufen, die sich nach Beigabe von Vitaminen wieder zurückbildete, falls sie nicht schon zu weit vorgeschritten war. Er vermutet, daß hier auch Komplementmangel im Spiele sein könnte. Untersuchungen nach dieser Richtung hin konnten aus Mangel an Tiermaterial leider noch nicht durchgeführt werden.

Hilgers (Schlußwort).

#### 34. Vortrag. W. Bender und C. Prausnitz (Breslau):

### Ueber die Beziehungen zwischen Temperatur und Komplementwirkung.

#### 1. Mitteilung.

Die Bedeutung des Fiebers als Abwehrreaktion des Körpers ist allgemein anerkannt, aber über den Mechanismus dieser Wirkung wissen wir nichts Sicheres. Zum Teil dürfte sie mit einer Schädigung der Mikroben bei der erhöhten Temperatur zusammenhängen, vielleicht kommen aber auch Verstärkungen der zellulären und humoralen Abwehrkräfte in Frage. Zur Klärung dieser Frage liegt es nahe, zunächst die Rolle des Komplements beim Fieber zu studieren. Die erste Grundlage für solche Untersuchungen ist eine genaue Meßmethode des im Blut vorhandenen Komplements. Wegen ihrer leichten Ausführung und scharfen Ablesbarkeit ist das hämolytische Komplement hierfür besonders geeignet. Gutsche hat bei fiebernden und nichtfiebernden Pferden solche Bestimmungen ausgeführt und im Fieber höhere Werte gefunden. So interessant die Versuche sind, so ist seine Methodik deshalb nicht ganz zweckmäßig, weil sie wie im klassischen Hämolyseversuch und bei der Wassermann-Reaktion auf der Verwendung verdünnten Komplements beruht.

Die Wichtigkeit der Einhaltung einheitlicher Komplementkonzentrationen beim Hämolyseversuch, besonders bei der Wassermann-Reaktion ist durch die Arbeiten von Kiss, Scheller, Liefmann und Cohn, Liefmann und Andreev, Ungermann und Kandiba, Fraenkel bekannt, nach deren Ergebnissen die Hämolyse in höheren Verdünnungen des Komplements abnimmt. Ähnliches sah Schlemmer beim bakteriolytischen Versuch. Freilich handelt es sich bei allen diesen Arbeiten, wie Leschly betont, nur um eine Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit, aber schließlich ist für die praktische Frage der Vernichtung der Mikroben die schnelle Abtötung, also doch gerade die hohe Reaktionsgeschwindigkeit ausschlaggebend.

Auf der anderen Seite haben v. Liebermann und v. Fenyvessy, Bordet und Gay, und vor allem v. Fenyvessy und Freund nachgewiesen, daß das hämolytische Komplement im unverdünnten Zustand schwächer wirkt als in mäßiger Verdünnung. Die letzteren Autoren haben daher betont, daß man zur Messung der Verhältnisse des Komplements im lebenden Organismus zweckmäßig mit unverdünntem Komplement arbeiten sollte.

Die uns interessierende Frage nach den Beziehungen zwischen Komplement und Fieber, besonders beim Menschen, war nach den obigen Ausführungen der Bearbeitung erst zugänglich, nachdem eine Reihe grundlegender Fragen entschieden war. Diese Fragen waren: 1) Soll das Komplement konzentriert oder in Verdünnung geprüft werden? 2) Findet eine verstärkte Komplementwirkung bei 40—41° auch im Reagenzglasversuch statt? 3) Ist bei künstlicher Temperaturerhöhung durch physikalische Agentien eine Komplementvermehrung im Blut nachweisbar? Da der eine von uns (B.) vor Abschluß der Arbeit nach Bern übersiedelte, so kann in der vorliegenden Mitteilung nur die Antwort auf diese drei Fragen gegeben werden. Wir hoffen, weitere Mitteilungen folgen zu lassen.

### Methodik.

Zu diesen Versuchen braucht man nur physiologische Kochsalzlösung, komplementhaltiges Serum und sensibilisierte Hammelblutkörperchen. Die 0,85-proz. NaCl-Lösung wurde aus chemisch reinstem NaCl hergestellt, das gegläht und im Exsikkator aufbewahrt wurde. Die zum Versuch gebrauchten Hammelblutkörperchen wurden gleich nach der Entnahme zweimal gewaschen und dann sensibilisiert mit dem 6-fachen Volumen des Doppelten von derjenigen Ambozeptorkonzentration, die im gebräuchlichen Hämolyseversuch komplette Lösung bewirkt; nach  $\frac{1}{2}$ -stünd. Stehen bei 37° wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, einmal gewaschen, wieder abzentrifugiert und durch Abpipettieren der überstehenden Flüssigkeit und Absaugen der letzten Reste von Flüssigkeit mittels Fließpapierstreifens möglichst restlos vom Waschwasser befreit. Unmittelbar vor der Entnahme wurden sie jedesmal gründlich, aber schonend durch wiederholtes Aufziehen und Ausblasen mit der Kapillarpipette durchgemischt. Gelegentlich beobachtete man eine Verklumpung der Blutkörperchen. Solche Emulsionen wurden nie benutzt. Das Komplement wurde entweder von gesunden, ungebrauchten Kaninchen von etwa 2000—3000 g Gewicht oder von normalen, nicht fiebernden Menschen entnommen, sofort abzentrifugiert und bis zum Versuchsbeginn — höchstens 4 Std. — im Eisschrank aufbewahrt. Außer unseren eigenen Seris, die wiederholt geprüft wurden, standen uns Sera von Wassermann-negativen Patienten der Universitäts-Hautklinik zur Verfügung. Die Hammelblutkörperchen wurden von der serologischen Abteilung derselben Klinik freundlichst überlassen. Herrn Assistenzarzt Dr. Biberstein und Frl. Margarete Stern sind wir für die gütige Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

Die Versuche wurden angestellt in dickwandigen Zentrifugenröhrchen von 8 mm lichtigem Durchmesser und 80 mm Höhe mit rundem Boden; die Gläschen waren alle ausgesucht gleich dick und wurden nur für diese Arbeiten verwendet. Sie wurden nach jedem Versuch gründlich mit dest. Wasser gespült und getrocknet, aber nicht sterilisiert, um den dabei leicht auftretenden Glasalkalifehler zu vermeiden. In die Röhrchen wurde zuerst das Komplement, dann die NaCl-Lösung so eingefüllt, daß die Flüssigkeiten ohne Berührung der Wand auf den Boden gelangten. Die Hammelblutkörperchen wurden mit einer Kapillare zugesetzt, so daß in jedes Röhrchen genau 2 Tropfen ohne Berührung der Wand in die am Boden liegende Flüssigkeit fielen. Die Röhrchen wurden sofort verkorkt, durchgemischt und in das auf die betreffende Temperatur eingestellte

Wasserbad gesetzt; alle 15 Min., zuletzt am Schluß des Versuches, wurde jedes Röhrchen für sich erneut durchgemischt; dann wurden die Röhrchen 5 Min. bei 3000 Touren zentrifugiert; von der überstehenden klaren hämoglobinhaltigen Flüssigkeit wurde mit einer geeichten Kapillarpipette<sup>1)</sup> 0,05 oder 0,1 ccm entnommen und im Sahlischen Hämoglobinometer bestimmt. Der für 0,1 ccm gefundene Hämoglobinwert wurde bei konzentriertem Komplement unverändert verwendet; bei dem 1:2 mit NaCl-Lösung verdünnten Komplement mußte aber die Hämoglobinzahl mit 2, bei dem 1:3 verdünnten Komplement mit 3, usw. multipliziert werden, um das in der Gesamtflüssigkeit (ohne die roten Blutkörperchen) vorhandene, also aus den roten Blutkörperchen ausgelaugte Hämoglobin zu messen.

Die Bestimmungen wurden von uns gemeinsam unter sorgfältiger gegenseitiger Kontrolle und in vielfachen Parallelversuchen ausgeführt; die Ablesung des Hämoglobin-gehalts war mit einem Fehler von höchstens 1—2 Teilstrichen der Skala des Apparats behaftet. Wenn trotzdem, wie später ausgeführt wird, nicht alle Versuche gleichsinnig verlaufen sind, so muß wohl angenommen werden, daß die Ursache dafür nicht in unserer Technik, sondern in individuellen Unterschieden der verwendeten Komplemente zu suchen ist. Wir können aus den bisher vorliegenden Versuchen trotzdem gewisse allgemeine Ergebnisse ableiten.

### 1. Der Einfluß der Verdünnung des Komplements auf die Hämolyse.

Die Verdünnung des Komplements führt im Reagenzglas fast stets sowohl bei normaler Körpertemperatur wie bei Fiebertemperatur zu einer wesentlichen Zunahme der Hämolyse: in 61 Versuchen konnten wir eine erhebliche Zunahme, in 4 keine Veränderung, in 6 eine deutliche Verringerung der Hämolyse bei Verdünnung des Komplements feststellen. Die Ergebnisse verteilen sich in annähernd gleicher Weise auf Kaninchen- und Menschenkomplement. Die Verstärkung der Hämolyse erreichte in einem Teil der Versuche bereits in geringer Verdünnung ein Maximum, um in höheren Verdünnungen abzunehmen (bei Verdünnungen 1:2 6mal beim Menschen, 7mal beim Kaninchen; bei Verdünnung 1:3 8mal beim Menschen, 6mal beim Kaninchen). In den meisten übrigen Versuchen, d. h. überall da, wo überhaupt eine Verstärkung der Hämolyse bei der Verdünnung erfolgte, nahm sie ständig zu bis zu der höchsten angesetzten Verdünnung (gewöhnlich 1:4). Der Grad der Steigerung war beim Kaninchen in der Regel etwas kleiner als beim Menschen, doch wurden, wie nachstehendes Beispiel zeigt, zuweilen recht erhebliche Werte gefunden.

Versuch I.

Kan.-Kpl.	0,3 ccm	0,3	0,3	0,3
NaCl-Lösung	0 "	0,3	0,6	0,9
Sens. Hammelblutkörp.	2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.
Hämolyse (1° 37°)	18	60	45	20
" (1° 40°)	30	70	60	32

Diese auffallende Erscheinung könnte vielleicht durch das Vorhandensein chemisch wirksamer Hemmungskörper erklärt werden; diese müßte man wohl im Serum suchen. Es wäre durchaus verständlich, daß bei stärkerer Verdünnung des Serums die Wirkung solcher Substanzen zurückträte. Vielleicht ist aber die Erscheinung nur bedingt durch die im konzentrierten Serum weit höhere Viskosität, wodurch die Reaktion trotz des häufigen Durchmischens der Röhrchen verzögert werden könnte. Hierüber müssen noch anzustellende Versuche Aufklärung bringen. Jedenfalls ist für die Komplementbestimmung des Blutes die gleich-

1) Der kapillare Teil der Pipette war gegen den Stamm in stumpfem Winkel abgebogen, so daß man beim Aufsaugen das Aufsteigen der Flüssigkeit im Röhrchen genau verfolgen und eine Berührung des Bodensatzes vermeiden konnte.

zeitige Auswertung der Hämolyse im konzentrierten und im verdünnten Zustand dringend anzuraten.

## 2. Der Einfluß der Temperatur auf die Hämolyse im Reagenzglas.

Wie schon der Versuch I zeigt, wird oft eine wesentliche Verstärkung der Hämolyse durch Erhöhung der Reaktionstemperatur von 37 auf 40° erzielt. In 4 derartigen Versuchen war sie bei 40° erheblich verstärkt, in einem unverändert und in einem geringer als bei 37°. Das Ergebnis ist nicht auffallend und kann sich in zwei Weisen erklären: entweder sind die roten Blutkörperchen bei 40° labiler als bei 37° oder das Komplement wirkt bei der erhöhten Temperatur intensiver (z. B. infolge einer Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit der Temperatur. Um zu ermitteln, welches von beiden Momenten diese Erscheinung verursacht, wurden mehrere Parallelreihen angesetzt:

1) Kompl. + sens. Blutkörper. 2<sup>b</sup> 37°; 2) Kompl. + sens. Blutkörper. 1<sup>b</sup> 37°, 1<sup>b</sup> 40°; 3) Kompl. allein 1<sup>b</sup> 40°, und gleichzeitig sens. Blutkörper. 1<sup>b</sup> 37°, dann gemischt und 1<sup>b</sup> 37°; 4) Kompl. allein 1<sup>b</sup> 37° und gleichzeitig sens. Blutkörper. 1<sup>b</sup> 40°, dann gemischt und 1<sup>b</sup> 37°. Das Ergebnis dieser Versuche ist in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

	bei auf 40° erhitztem Kompl.	bei auf 40° erhitzten sens. Blutkörper.
Verstärkung der Hämolyse	3	7
keine Verstärkung	3	1
Verringerung	1	0

Die Hauptrolle für die Verstärkung der Hämolyse bei 40° spielt hiernach die bei dieser Temperatur vermehrte Hinfälligkeit der Blutkörperchen. Möglicherweise erklärt sich durch solche Thermolabilität der Erythrozyten auch ein Teil der bei fieberhaften Krankheiten beobachteten Anämien. Ob außerdem eine Aktionssteigerung des Komplements in Betracht kommt, ist aus diesen Ergebnissen nicht sicher zu entnehmen. Aus einigen unserer Versuche scheint es allerdings, als ob unter gewissen, noch nicht von uns beherrschten Bedingungen, auch dies der Fall sein könnte (vgl. Versuch II).

### Versuch II.

Menschenkompl.	0,2 ccm	0,2	0,2	0,2
NaCl-Lösung	0	0,4	0,6	0,8
Sens. Hammelblutkörper.	2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.
1) Kompl. + Blutkörper. 2 <sup>b</sup> 37°	90	90	200	250
2) Kompl. + Blutkörper. 1 <sup>b</sup> 40°, 1 <sup>b</sup> 37°	104	156	272	325
3) Kompl. 1 <sup>b</sup> 40°, dann + Blutkörper. 1 <sup>b</sup> 37°	100	138	240	290
4) Blutkörper. 1 <sup>b</sup> 40°, dann + Kompl. 1 <sup>b</sup> 37°	.	300	340	350

In der 4. Reihe konnte der Versuch mit konzentrierten Hammelblutkörperchen nicht verwertet werden, weil diese regelmäßig verklumpten.

## 3. Der Einfluß künstlich erhöhter Körpertemperatur auf den Komplementgehalt des Blutes.

Für diese Versuche wurde bei Kaninchen und Menschen eine künstliche Ueberwärmung erzeugt. Bei den Kaninchen wurde dies erreicht, indem man sie in einen angeheizten, großen Brutschrank von etwa 1 cbm Inhalt setzte. Hierbei stieg die Temperatur sehr rasch. Bei 42—43° Lufttemp. erfolgte gewöhnlich in 1/2 Std. eine Zunahme von 1 1/2°, nach 1 Std. von 3 1/2°, nach 2 Std. von 4 1/2°; bei 41° Lufttemp. stieg die Körpertemp. in 1 Std. um 1 1/2°. Selbst bei einer Lufttemp.

von 37—38° stieg die Körpertemp. in 1 Std. um 1½°, in 2 Std. um 3,6° und blieb bei 6stünd. Aufenthalt im Brutschrank auf dieser Höhe. Die Tiere zeigten hierbei bald erhebliche Dyspnoe und starke Schleimabsonderung aus der Nase; dem Schleim war gelegentlich auch etwas Blut beigemischt. Ein Kaninchen ist uns bei zu langem Aufenthalt bei 43° an Wärmestauung eingegangen. Trotz der starken Erhitzung wurde kein nennenswerter Gewichtsverlust der Tiere beobachtet, so daß eine Korrektur des Komplementwertes für eine etwaige Eindickung des Blutes fortfiel. In der Tat ist der Wasserverlust, abgesehen vom Schleim, der ihnen aus der Nase fließt, bei den Tieren sehr gering, sie schwitzten anscheinend sehr wenig und ließen während der ganzen Versuchszeit keinen Harn. Vor Beginn und gleich nach Schluß des Versuches wurden den Kaninchen — kräftigen Tieren von 2500—3000 g — je 5 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Um die störende Wirkung, die der Blutverlust bei der ersten Entnahme auf das Komplement der 2. Blutentnahme ausüben konnte, zu kontrollieren, wurde jedesmal einem annähernd gleichschweren Kontrolltier, das bei Zimmertemp. gehalten wurde, die gleiche Blutmenge zu denselben Zeiten entnommen. Der Vergleich des Komplementgehalts dieser 4 Proben ergab in 3 Versuchsreihen eine wesentliche Zunahme des Komplements beim erhitzten Tier; bei einem weiteren Tier war der Komplementgehalt nach der Erhitzung unverändert und bei 2 Tieren deutlich verringert. Die bei Zimmertemp. gehaltenen Kontrolltiere zeigten aber fast stets eine wesentliche Abnahme des Komplementgehalts, die jedenfalls zu erklären war durch die Wirkung der 1. Blutentnahme und eine dadurch bedingte vorübergehende Verdünnung des Blutes. Dadurch gewinnen diese Zahlen an Bedeutung und sprechen dafür, daß auch bei der künstlichen Ueberhitzung des Kaninchens bis an die Grenze des Erträglichen eine relative, zuweilen auch eine absolute Komplementvermehrung stattfindet (vgl. Versuch III).

#### Versuch III.

Kaninchen A wurde bei 37—38° Lufttemp. 6 Std. gehalten, wobei seine Körpertemp. von 37,4 auf 41° stieg. Kontrollkaninchen B wurde bei Zimmertemp. gehalten und zeigte Temperaturen zwischen 37,5 und 38°.

Kompl.	0,3 ccm	0,3 ccm
NaCl-Lösung	0 "	0,3 "
Sens. Hammelblutkörper.	2 Tr."	2 Tr."
<b>Kaninchen A-Serum vor dem Versuch</b>	<b>9</b>	<b>40</b>
" " " nach " "	14	42
<b>Kaninchen B-Serum vor " "</b>	<b>52</b>	<b>52</b>
" " " nach " "	37	48

Am Menschen mußten diese Versuche naturgemäß wesentlich schonender ausgeführt werden, so daß auch nicht so hohe Körpertemp. erreicht oder so lange innegehalten wurden. Durch 1stünd. angestregtes Radfahren bei heißem Sommerwetter wurde die Körpertemp. in einem Versuch um 0,7, in einem 2. um 0,8° — durch 1stünd. Bad in Wasser von 40—41° wurde die Körpertemp. um 1,5° erhöht. In jedem dieser 3 Versuche wurde eine beträchtliche Komplementvermehrung (allerdings in einer Serie nur im verdünnten Serum) erzielt; das Ergebnis von 2 Versuchen zeigt folgendes Protokoll.

Versuch I V.

Kompl.		0,3 ccm	0,3	0,3	0,3	
NaCl-Lösung		0	0,3	0,6	0,9	
Sens. Hammelblutkörp.		2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.	2 Tr.	
Ser. P. (Radfahr.)	vor Versuch	Temp. 37,0°	156	432	444	408
" "	" nach "	" 37,7°	180	432	486	448
Ser. B. (heiß. Bad)	vor "	" 37,4°	52	200	321	400
" "	" nach "	" 38,9°	52	242	336	436

Schlußfolgerungen.

1) Die Bestimmung des Komplementgehaltes des Blutes sollte bei Mensch und Kaninchen nicht nur mit verdünntem, sondern auch mit dem konzentrierten Komplement ausgeführt werden, wobei in der Regel wesentlich geringere Werte sich ergeben.

2) Die im Reagenzglasversuch beobachtete Verstärkung der Hämolyse bei 40° ist wesentlich bedingt durch die bei dieser Temperatur erhöhte Labilität der roten Blutkörperchen. Ob auch das Komplement bei 40° wirksamer ist als bei 37°, konnte noch nicht entschieden werden.

3) Bei künstlicher Ueberhitzung des Körpers (Aufenthalt in heißen Räumen, übertriebene Körperbewegung bei hoher Außentemperatur) ist bei Kaninchen und Mensch ein deutlicher Anstieg des Komplements feststellbar.

Literatur.

Bordet und Gay, *Annal. Inst. Past.* 1908. Nr. 8. — v. Fenyvessy und Freund, *Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig.* Bd. 8. 1913. S. 666. — Fraenkel, ebenda. Bd. 10. 1911. S. 388. — Gutsche, *Berl. tierärztl. Wochenschr.* 1918. S. 14. — Kiss, *Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig.* Bd. 3. 1909. S. 558. — Leschly, ebenda. Bd. 24. 1916. S. 499. — Liefmann und Andreew, ebenda. Bd. 11. 1911. S. 355. — Liefmann und Cohn, ebenda. Bd. 8. 1911. S. 58. — v. Liebermann und v. Fenyvessy, *Biochem. Zeitschr.* Bd. 5. S. 99. — Scheller, *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.* Bd. 56. 1910. S. 120. — Schlemmer, *Arb. Kais. Gesundheitsamt.* Bd. 50. 1916. S. 341. — Ungermann und Kandiba, ebenda. Bd. 40. 1912. S. 25. — Dies., *Fr. Vereinig. f. Mikrobiol. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Ref.* Bd. 50. 1911. Beih. S. 158.

Diskussion zu Vortrag 34:

Sachs (Heidelberg): Veränderungen in der Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen beim Erwärmen auf 40° sind auch in meinem Laboratorium in Untersuchungen von v. Oettingen festgestellt worden. Es handelt sich hierbei um Versuche, bei denen die Blutkörperchen der Wirkung des Kobragiftes unter dem Einfluß gewisser Aktivatoren (inaktiviertes Serum) ausgesetzt wurden. Die Hämolyse war nach dem Erwärmen der Blutkörperchen auf 40° gesteigert, und das Ergebnis deutet daher darauf hin, daß bereits bei etwa 40° Veränderungen der Disponibilität der intrazellulär gespeicherten Lipide, die für die hämolytische Kobragiftwirkung von Bedeutung ist, eintreten können.

35. Vortrag. Lange und Heuer (Dahlem):

**Einfluß des Verdünnungsmediums auf Antikörperreaktionen.**

(Erscheint in der *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*)



36. Vortrag. G. Wolff (Berlin):

**Weitere Untersuchungen über die Verbreitung der durch Fleckfieber-  
serum agglutinablen Proteus (X) Stämme.**

(Zur Klärung der Weil-Felixschen Reaktion.)

Die Diskussion über die Stellung der Proteus X-Stämme zum Fleckfieber, die auch die theoretische Deutung der Weil-Felixschen Reaktion umfaßt, ist noch immer nicht abgeschlossen; es soll an dieser Stelle nicht auf die Differenzpunkte der einzelnen Meinungen eingegangen, sondern nur das Tatsachenmaterial um einen weiteren Beitrag vermehrt werden, der nach meiner Auffassung geeignet sein dürfte, zur Klärung der Weil-Felixschen Reaktion beizutragen.

Es muß auffallen, daß bei der bisherigen Bearbeitung der Frage verhältnismäßig wenig systematische Untersuchungen darauf gerichtet waren, unter den normalerweise in Stuhl, Urin, Eiter etc. mehr oder wenig häufig vorkommenden Proteus-Stämmen nach X-Stämmen zu fahnden, obgleich deren Nachweis im Nichtfleckfiebermaterial von genereller Bedeutung für die Frage ist. Außer gelegentlichen Beobachtungen [Dienes (1), Hamburger und Bauch (2), Finger und Kollert (3)] über Fleckfieber-agglutinable Proteus-Stämme, die aber meist keiner genauen kulturellen und serologischen Analyse unterzogen wurden, berichten nur Weil und Felix (4) in ihren „Untersuchungen über die gewöhnlichen Proteus-Stämme und ihre Beziehungen zu den X-Stämmen“ (Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 23. S. 637) systematisch über solche Versuche. Sie untersuchten 61 auf ihren Kriegsschauplätzen selbst gezüchtete Proteus-Stämme, und 65 andere, die ihnen aus den hygienischen und bakteriologischen Instituten Oesterreichs und Deutschlands überlassen wurden, und hatten darunter keinen einzigen X 2- oder X 19-Stamm. „Unter allen diesen Stämmen fand sich kein einziger, welcher vom Immuserum OX 2 oder vom Immuserum OX 19, wie die entsprechenden X-Stämme, agglutiniert wurde.“ Ihre Untersuchung beschränkte sich auf die serologischen Eigenschaften der Proteus-Stämme, und bestätigte, daß die X-Stämme in serologischer Hinsicht absolute Spezifität aufweisen und sich dadurch grundsätzlich von anderen Proteus-Stämmen unterscheiden; kulturell wurden die Stämme nicht weiter gesichtet. Zu nennen ist in diesem Zusammenhang ferner die Arbeit von H. Schaeffer (5) „Untersuchungen über Proteus-Bazillen“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 430), der neben X-Stämmen 50 Nichtfleckfieber-Proteus-Stämme eingehend kulturell und serologisch zum Zwecke einer brauchbaren Gruppeneinteilung der Proteus-Stämme untersuchte. Er kam dabei, wie alle Untersucher vor und nach ihm, zu einem völlig negativen Ergebnis, und mußte feststellen, daß „eine für die Systematik brauchbare Gruppeneinteilung der Proteus-Bazillen mit Hilfe der Agglutination“ nicht zu erzielen ist. Diese methodologisch wichtige Untersuchung ist von Interesse, weil unter den untersuchten 50 Proteus-Stämmen gleichfalls keiner vom Typus der X-Stämme gefunden wurde.

Außer diesen systematischen Untersuchungen wurde von mir in einer Arbeit (6) „Zur Kenntnis von der Verbreitung agglutinabler Proteus-Stämme des Typus X 19 (Weil und Felix)“ 1919 (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 21. S. 483) berichtet. Untersucht waren darin 116 Proteus-Stämme, die Stuhlproben, vorwiegend solchen von Ruhrkranken, entstammten; darunter fanden sich auf Grund der serologischen Prüfung mit verschiedenen Fleckfiebersera 3 Stämme vom Typus des Bazillus X 19.

Da der Einwand, daß diese Untersuchungen aus dem damals noch fleckfieberverseuchten Rumänien (1918) stammten und daher vielleicht nicht völlig beweiskräftig sind, schon von mir selbst gemacht wurde, hielt ich es für wesentlich, solche Untersuchungen noch einmal in einem Lande und zu einer Zeit vorzunehmen, wo von einer epidemischen Verbreitung des Fleckfiebers keine Rede mehr sein konnte. Zu diesem Zweck wurden die rein gezüchteten Proteus-Stämme aus Stuhl-, Urin-, Eiterproben, die dem Hygienisch-bakter. Institut am Hauptgesundheitsamt der Stadt Berlin zugehen, einer genauen kulturellen und serologischen Prüfung unterzogen.

**Kulturelle Prüfung.**

Geprüft wurden 52 frisch isolierte Stämme, die aus einem Untersuchungsmaterial mehrerer Hundert Proben der Reihe nach ohne besondere Auswahl gezüchtet waren, in ihrem Verhalten gegenüber Lackmusmolke, Barsiekowscher Nährlösung mit Traubenzucker, Milchzucker, Mannit, Maltose, Saccharose, gegenüber Traubenzuckeragar, Neutralrotagar, Ge-

latine und auf Indolbildung. Die letztere wurde mittels der Ehrlich-schen Indolreaktion, wie sie mehrfach von Frieber (7) aus dem Neisserschen Institut mit Trypsin-Bouillon (0,2 g Trypsin auf 1000 ccm Bouillon) und p-Dimethylamidobenzaldehyd (5 g in 50 ccm Methylalkohol und 40 ccm konz. Salzsäure) angegeben wurde, geprüft, die sich uns als sehr empfindlich und zuverlässig erwies. Eine Schwierigkeit bestand zeitweise nur in der Beschaffung des Methylalkohols, der nicht immer, selbst bei bekannten Fabriken, zu erhalten war, nach der letzten Mitteilung Friebers aber auch durch gewöhnlichen 96-proz. Alkohol zu ersetzen ist.

Ueber alle kulturellen Einzelheiten unterrichtet die nachstehende Tab. 1. Wir haben zusammenfassend dazu noch folgendes zu bemerken: Sämtliche der untersuchten Proteus-Stämme verflüssigen Gelatine, röten zunächst die Lackmusmolke, um sie dann (mitunter schon nach 24 Std.) deutlich zu bläuen. Die meisten Proteus-Stämme verhalten sich Zuckernährböden gegenüber sehr ähnlich; sie bilden Gas in Traubenzuckeragar oder -bouillon, lassen Milchzucker und Mannit, gewöhnlich auch Maltose und Saccharose, in Barsiekowscher Nährlösung unverändert. Die Mehrzahl bildet in Trypsinbouillon kein Indol. Dann und wann findet man jedoch Stämme, die Maltose allein oder Maltose und Saccharose unter Säurebildung zerlegen und dementsprechend die Barsiekowsche Nährlösung röten. Diejenigen, die Maltose und Saccharose zerlegen, bilden fast stets auch Indol. (Nur einer dieser Stämme [Nr. 17] bildete kein Indol.) Genau so verhalten sich die X-Stämme (X 2 und X 19); sie zerlegen nach meinen Erfahrungen, die auch mit denen von Schaeffer (5) und Jötten (8) übereinstimmen, stets Maltose und Saccharose und bilden Indol. Martin Jakoby (9) konnte ferner zeigen, daß sich die X-Stämme in ihrem Verhalten gegenüber  $H_2O_2$  anders verhalten als die gewöhnlichen der von ihm untersuchten Proteus-Stämme; sie haben einen viel geringeren Katalasegehalt, und zersetzen  $H_2O_2$  daher in beträchtlich geringerem Maße als letztere (Tab. 1).

### Serologische Prüfung.

Die serologische Prüfung der gezüchteten Stämme erfolgte mit dem nämlichen Fleckfieberkrankenserum (Titer gegen X 19 1:3200) als dem feinsten Reagens gegenüber X-Stämmen. Zur Agglutinationsprüfung wurden von sämtlichen Stämmen 18-std. Kulturen von Schrägagar und Karbolagar benutzt; der letztere wurde nach den Angaben von Braun und Salomon (10) hergestellt und ist besonders geeignet zur serologischen Identifizierung der Proteus-Stämme, weil er die Gruppenagglutinogene (H-Rezeptoren) unterdrückt, während die Artantigene (O-Rezeptoren), die nach Weil und Felix das spezifische serologische Gepräge der einzelnen Stämme bedingen, darauf erhalten bleiben. Es zeigte sich, daß von den 52 geprüften Stämmen 2 (St. 14 und St. 44) eine deutliche und komplette Agglutination bis zur Serumverdünnung 1:200 nach 2 Std., 1:400 nach 24 Std. gaben, die noch wesentlich deutlicher von Karbolagar, entsprechend der von Weil und Felix beschriebenen Form der O-Agglutination, ausfiel (nach 2 Std. 1:400, nach 24 Std. 1:800). Beide Stämme gehörten kulturell zur Gruppe derjenigen Proteus-Stämme (s. Tab. 1), die Maltose und Saccharose vergären und Indol bilden, und zeigen auch damit ihre Zugehörigkeit zur Gruppe

Tabelle 1.  
Kulturelle Prüfung der Proteus-Stämme.

Her- kunft	Lackmusmolke nach		Barsiekow- Trauben- zucker	Bars.- Milch- zucker	Bars.- Man- nit	Bars.- Maltose	Bars.- Sac- charose	Traub- zucker- agar	Indol- reakt. n. 1-7 Tagen	Gela- tine n. 1-7 Tagen
	24 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.		
Urin	gerötet	nicht voll- kom. gebläut, hellviolett	gerötet	unver- ändert	unver- ändert	unver- ändert	unver- ändert	Gas- bildg.	—	ver- flüss.
Stuhl	"	blau	"	"	"	"	"	"	—	"
"	geröt., beg. Umschlag	nicht vollk. gebläut	"	"	"	deutlich gerötet	stark gerötet	"	+	"
"	gerötet	blau	"	"	"	unveränd.	unveränd.	"	—	"
"	geröt., beg. Umschlag	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	dgl.	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	gerötet	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	Braun- färbg.	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	stark gerötet	stark gerötet	"	+	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	"
"	"	gerötet	"	"	"	gerötet	"	"	+	"
"	"	fast blau	"	"	"	stark gerötet	"	"	+	"
"	geröt., beg. Blaufärb.	stark blau	"	"	"	gerötet	"	"	—	"
"	gerötet	blau	"	"	"	unveränd.	unveränd.	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	Braun- färbg.	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	blau	stark blau	"	"	"	"	"	"	Braun- färbg.	"
"	schwache Rötung	dgl.	"	"	"	"	"	"	—	"
"	dgl.	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	blau	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
Ohr- ster	"	blau	"	"	"	"	"	"	—	"
dgl.	"	"	"	"	"	gerötet	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	unveränd.	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
Stuhl	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
Ohr- ster	schwach	"	"	"	"	gerötet	"	"	—	"
dgl.	rosa	"	"	"	"	unveränd.	"	"	—	"
Ohr- ster	blau	"	"	"	"	"	"	"	—	"
Stuhl	"	"	"	"	"	"	"	"	—	"
"	rot	"	"	"	"	"	"	"	—	"

Lfde. Nr.	Her- kunft	Lackmusmolke nach		Barsiekow- Trauben- zucker	Bars.- Milch- zucker	Bars.- Man- nit	Bars.- Maltose	Bars.- Sac- charose	Traub- zucker- agar	Indol (Ge- reakt. un- n. 1-7 n. 1- Tagen Tag
		24 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	48 Std.	
38	Stuhl	blau	blau	gerötet	unver- ändert	unver- ändert	unveränd.	unveränd.	Gas- bild.	—
39	Eiter	schwach blau	stark blau	dbl.	"	"	"	"	"	—
40	Stuhl	dbl.	schwach blau	"	"	"	stark gerötet	gerötet bis geronnen	"	+
41	"	blau	stark blau	"	"	"	unveränd.	unveränd.	"	—
42	"	schwach blau	dbl.	"	"	"	"	"	"	—
43	"	blau	blau	"	"	"	"	"	"	—
44	*) "	schwach blau	"	"	"	"	gerötet bis geronnen	gerötet bis geronnen	"	+
45	"	blau	"	"	"	"	unveränd.	unveränd.	"	—
46	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
47	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
48	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
49	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
50	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
51	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
52	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—

\*) Bei Prüfung des Stammes 44 nach 1 Jahr hat er die Eigenschaft, Maltose und Saccharose zu zerlegen und Indol zu bilden, verloren, hingegen nicht seine Agglutinabilität durch Fleckfieberserum.

der X-Stämme<sup>1)</sup>. Ging die Agglutination auch nicht bis zum Endtiter des gegen X 19 austitrierten Fleckfieberkrankenserums (1:3200), so ließ sich doch mit beiden Stämmen eine sichere Fleckfieberdiagnose ermöglichen. Die Stämme charakterisieren sich damit eindeutig, kulturell und serologisch, als X-Stämme. Sie wurden agglutinatorisch weiter als ein zum Vergleich dienender X2-Stamm beeinflusst, der mir seinerzeit von Herrn Prof. Braun (Frankfurt) zur Verfügung gestellt wurde (s. Tab. 2); aber nicht so weit wie der Laboratoriums-X 19-Stamm.

Ein Proteus-Stamm vom serologischen Typus des Bazillus X 19 konnte in dem untersuchten Material nicht gefunden werden; es darf jedoch keineswegs als aussichtslos erscheinen, daß auch ein solcher Typus des Proteus vulgaris unter Nichtfleckfieber-Material bei systematischem Suchen gefunden wird, wie es uns in Rumänien bereits gelang.

1) Allerdings ist zu bemerken, daß Stamm 44 bei Prüfung nach einem Jahr, währenddessen er nur selten überimpft wurde, die Fähigkeit, Maltose und Saccharose zu zerlegen und Indol zu bilden, völlig verloren hat, während seine Agglutinierbarkeit durch Fleckfieberserum voll erhalten blieb. Dieses Verhalten ist in zweifacher Hinsicht interessant; einmal zeigt es, daß tatsächlich fließende Uebergänge zwischen Proteus- und Proteus-X-Stämmen bestehen, daß die Agglutinierbarkeit der X-Stämme nicht völlig parallel geht mit ihrer kulturellen Eigenart, zweitens aber ist es ein interessanter Beitrag zur Umwandlung von Bakterieneigenschaften innerhalb längerer Zeiträume, die nach den Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann (11) innerhalb der Typhus-Paratyphusgruppe eine wichtige Rolle spielt. In diesem Zusammenhang darf auch auf eine Arbeit von Löwenthal und Seligmann (12) verwiesen werden, in der die Autoren einen Paratyphusstamm beschreiben, der nach längerer Zeit bei häufiger Ueberimpfung die Fähigkeit, Traubenzucker unter Gasbildung zu zerlegen, verloren, hingegen seine agglutininbindenden und -bildenden Qualitäten völlig beibehalten hatte. Der Proteus-Stamm 14 hat seine kulturellen und serologischen Eigenschaften innerhalb des beobachteten Zeitraumes nicht verändert.

Tabelle 2.  
 Agglutination der Stämme Proteus 14, Proteus 44, X 2-Braun, X 19-Otto von gewöhnlichem Agar und Karbolagar mit Fleckfieber Serum (Tit. 1:3200).

Stamm	50		100		200		400		800		1600		3200		6400		Kontr.	Bemerkungen
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
14 Agar	+	+	+	+	±	+	±	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
14 Karbolagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
44 Agar	+	+	+	+	±	+	±	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
44 Karbolagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
X 2-Braun Agar	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
X 2-Braun Karbolagar	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	bröckelt von Karbolagar
X 19-Otto Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
X 19-Otto Karbolagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Anmerkung 1. a = nach 2 Stunden, b = nach 24 Stunden.

Anmerkung 2. + + + = komplette Agglutination (überstehende Flüssigkeit völlig geklärt).

+ = fast komplette Agglutination (überstehende Flüssigkeit etwas getrübt).

± = feinste Agglutination (überstehende Flüssigkeit völlig getrübt).

± = fragliche Agglutination.

Tabelle 3.

Agglutination der Stämme Proteus 14, Proteus 44, X 2-Braun, X 19-Otto von gewöhnlichem Agar und Karbolagar mit X 19-Immuns Serum (Gesundheitsamt Tit. 1:6400).

Stamm	50		100		200		400		800		1600		3200		6400		12800		Bemerkungen
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b			
14 Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14 Karbolagar	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
44 Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
44 Karbolagar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
X 2-Braun Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
X 2-Braun Karbolagar	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
X 19-Otto Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
X 19-Otto Karbolagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Anmerkungen wie oben.

Und es wäre daher zu begrüßen, wenn darauf gerichtete Untersuchungen auch an anderer Stelle fortgesetzt werden; denn ihr Nachweis ist von grundsätzlicher Bedeutung für das ganze Problem. Da aber Weil (13) in einer jüngeren Arbeit über Varianten des X 19 die Vermutung ausspricht, daß der Typus X 2 wahrscheinlich als eine Variante des Typus X 19 anzusprechen ist, wohl um über das Dilemma hinwegzuhelfen, daß nicht gut beide Typen zur Aetiologie, sei es des Fleckfiebers, sei es der Weil-Felixschen Reaktion, in ursächlicher Beziehung stehen können, wird auch dem Befund von X 2-Stämmen in sicherem Nichtfleckfiebermaterial eine beachtenswerte Rolle zuzuschreiben sein. Beide Stämme wurden aus Ruhrstühlen von Frauen gezüchtet, die bestimmt nichts mit Fleckfieber zu tun gehabt hatten; die eine Patientin war eine 66 Jahre alte Insassin eines Berliner Altersheimes, die dort seit 15 Jahren interniert war, die andere eine Patientin aus der Privatpraxis eines Berliner Arztes, bei der an Fleckfieber überhaupt nicht gedacht werden kann.

Es folgen die beiden Tabellen, aus denen das serologische Verhalten der beiden X-Stämme (St. 14 und 44), im Vergleich mit einem anderen X 2-Stamm (Braun) und einem X 19-Stamm, 1mal gegen Fleckfieber-Krankenserum (Titer 1:3200), 1mal gegen X 19-Immunsrum (Titer 1:6400), zu ersehen ist (Tab. 2 und 3).

Die Tabellen zeigen einmal, daß die Karbolagarkulturen sämtlicher Stämme vom Kranken- und Immunsrum mindestens um eine Stufe weiter agglutiniert werden als die gewöhnlichen Agarkulturen; sie zeigen weiter, daß nur das Krankenserum mit den X 2- und X 19-Stämmen zugleich reagiert, daß hingegen das Kaninchenimmunsrum nur mit dem homologen Stamm (X 19) reagiert. Der von allen Autoren, die sich mit der Frage beschäftigt haben, betonte Unterschied zwischen Fleckfieberkrankenserum und Immunsrum geht auch hieraus deutlich hervor. Das Fleckfieberkrankenserum enthält „Agglutinine“ gegen beide Typen der X-Stämme, es müßte also, will man seine Entstehung dem Immunsrum parallel setzen, durch Infektion mit X 2 und X 19 entstanden sein; in jedem Einzelfall eine nicht sehr wahrscheinliche Annahme, selbst wenn man die O-Form dabei zu Hilfe holt. Das Immunsrum enthält hingegen nur die dem Infektionsstamm homologen Agglutinine, also echte Immunagglutinine im Sinne der Spezifitätslehre. Diese Gegenüberstellung zeigt zugleich, daß die Proteus-Rassen X 2 und X 19 serologisch völlig getrennte Arten darstellen, wie sich auch die meisten übrigen Proteus-Stämme serologisch different verhalten und daher nicht leicht in ein System auf Grund ihres serologischen Verhaltens untereinander gebracht werden können. Die entsprechende Prüfung mit einem ebenso hergestellten X 2-Immunsrum konnten wir uns daher ersparen, zumal da gleichlautende Versuche (siehe z. B. Schaeffer) oft genug gemacht wurden und wir selbst mit Tieren sparen mußten<sup>1)</sup>.

1) Wir haben später noch Gelegenheit gehabt, mit dem Stamm 44 ein Kaninchenimmunsrum herzustellen, das den homologen Stamm bis zum Titer 1:3200 agglutinierte. Dabei zeigte sich die sehr interessante Tatsache, daß weder der Stamm X 19 noch unser St. 14 (X 2) von diesem Immunsrum beeinflusst wurde, sondern nur der homologe Stamm. Danach sind sogar die St. 14 und 44 serologisch keine einheitlichen Typen. Nur das Fleckfieberserum besitzt gegen alle „X“-Stämme Agglutinine, die Immunsra beeinflussen jeweils nur den homologen Stamm; nur der Typus X 19 stellt eine serologisch einheitliche Art dar. Auch diese Beobachtungen sprechen für die von uns vertretene Ansicht, daß die „Fleckfieberagglutinine“ nicht von den X-Stämmen hervorgerufen werden, sondern nur ein Ausdruck der allgemeinen Zustandsänderung des Fleckfieberserums sind.

Ohne an dieser Stelle weiter auf Einzelheiten des Problems einzugehen, wegen deren ich auf meine Darstellung in Weichardts Ergebnissen (14) verweisen darf, möchte ich doch in Uebereinstimmung mit Epstein (15) auch diese biologische Reaktion in Parallele mit den neueren Deutungen der Wassermannschen Reaktion als eine chemisch-physikalische Zustandsänderung des Serums während des Krankheitsprozesses auffassen, jedenfalls nicht als eine Immunreaktion gegen einen Bazillus der X-Gruppe. In diesem Sinne sind die „Fleckfieberagglutinine“ keine echten „Immunagglutinine“. Auffallend war bisher aber noch immer die Tatsache, daß die X-Stämme ausschließlich bei Fleckfieberkranken oder in deren Umgebung gefunden wurden; das ließ naturgemäß an irgendeine ursächliche Beziehung der X-Stämme zum Phänomen der Weil-Felixschen Reaktion denken [Weil und Felix (4), Friedberger (16)], wollte man nicht eine unwahrscheinliche Häufung von Zufällen bei der Erklärung der Weil-Felixschen Reaktion mittels heterogenetischer Antigenfunktion [Kolle und Schloßberger (17), Hamburger und Bauch (2)] zu Hilfe nehmen. Ein solches unwahrscheinliches Zusammentreffen muß darin erblickt werden, daß man die heterogenetischen Antikörper (X-Agglutinine) am selben Ort fand, wie das darauf eingestellte Antigen (X-Stämme), d. h. ausschließlich im fleckfieberkranken Körper; dem würde am Beispiel [Forssmann (18)] der klassischen heterogenetischen Antikörperbildung des Kaninchens entsprechen, daß man die durch Meerschweinchenorgane erzeugten Hammelbluthämolyse und Hammelblut im selben Organismus findet, d. h. beide im Kaninchen. Daß man bei einem solchen Zusammentreffen zunächst an eine ätiologische Beziehung zwischen den aufeinander eingestellten Rezeptorengruppen denken wird, erscheint ohne weiteres gegeben, selbst wenn andere Tatsachen nicht damit in Einklang zu bringen sind. Die weitere Forschung ergab, daß eine so einfache Deutung der Weil-Felixschen Reaktion nicht möglich ist.

Die Sachlage ändert sich schon grundsätzlich im Problem der Weil-Felixschen Reaktion, wenn man das heterogenetisch agglutinable Antigen, d. i. die X-Stämme, nicht mehr ausschließlich im fleckfieberinfizierten, X-agglutininhaltigen Körper findet, sondern auch sonst im weiten Verbreitungsgebiet der Proteus-Stämme. Darin scheint mir die Bedeutung meiner positiven Befunde zu liegen, die wohl noch eine Erweiterung durch den Nachweis anderer X-Stämme in fleckfieberfreier Gegend, namentlich solcher vom Typus X 19, erfahren können. Die Situation liegt dann heute ähnlich wie bei dem Antigen der Wassermannschen Reaktion. Auch dieses braucht keineswegs dem syphilitischen Körper zu entstammen und hat erst recht nichts mit dem Syphiliserreger zu tun; ganz ebenso ist auch der X-Stamm als Antigen der Weil-Felixschen Reaktion nicht auf den fleckfieberinfizierten Körper angewiesen und ebensowenig mit dem Fleckfiebervirus zu identifizieren, was im übrigen auch durch eine große Reihe anderer Versuche hinlänglich widerlegt ist.

Was nun die Tatsache anbetrifft, daß bisher nur wenige X-Stämme außerhalb des fleckfieberkranken Körpers gefunden wurden, so muß auf die im gleichen Sinn zu deutende Tatsache verwiesen werden, daß bisher auch auffallend wenige X-Stämme aus dem fleckfieberkranken Körper gezüchtet wurden; es fällt weiter auf, daß auch unter der großen Zahl von Proteus-Stämmen, die gewiß aus Stuhl und Urin Fleckfieberkranker gezüchtet und untersucht wurden, auch

wenn die negativen Ergebnisse nicht zur Veröffentlichung gelangten, nur sehr selten X-Stämme gefunden wurden. Wer die Fleckfieberliteratur daraufhin durchsieht, wird sich davon überzeugen können. Ich darf auch auf die gemeinsam von Schürer und mir (19) untersuchte Fleckfieberepidemie in Rumänien 1917 hinweisen, bei der unter 20 aus 350 Blutproben gezüchteten *Proteus*-Stämmen 7 X 19-Stämme gefunden wurden, während unter 137 *Proteus*-Stämmen, die aus 450 Urinproben derselben Kranken gezüchtet wurden, nur 1 St. vom Typus X 19 isoliert wurde. Aehnliche Zahlenverhältnisse sind auch aus den Angaben anderer Autoren zu erschließen, die sich mit der Frage beschäftigt, insbesondere auch größere Fleckfieberepidemien untersucht haben [Gergely (20), Felix (29) u. a.]; sonst hätte die Zahl der bisher nachgewiesenen X-Stämme ja viel größer sein müssen.

Genaue Zahlenangaben über die gewöhnlichen *Proteus*-Stämme fehlen bei diesen Untersuchungen meist, da nur die X-Stämme registriert wurden. Meines Wissens ist es aber noch keineswegs erwiesen, daß unter der Zahl der aus Stuhl und Urin Fleckfieberkranker gezüchteten *Proteus*-Stämme prozentual mehr X-Stämme gefunden wurden als unter einer gleich großen Zahl von *Proteus*-Stämmen anderer Provenienz, da solche Untersuchungen bisher noch wenig gemacht wurden. Erst dann kann über die Verbreitung der *Proteus*-X-Stämme ein einigermaßen zutreffendes Bild gewonnen werden. Daß aber *Proteus*-X-Stämme bisher relativ häufig, wenn auch im ganzen sehr selten, aus Blut Fleckfieberkranker gezüchtet wurden, findet wiederum vielleicht seine Erklärung darin, daß die X-Stämme infolge der primär vorhandenen chemisch-physikalischen Blutveränderung (Epstein), die allgemein in der leichten Ausflockbarkeit des Serums zum Ausdruck kommt und (in der Nomenklatur der Seitenkettentheorie) mit einer Rezeptorengemeinschaft für die X-Stämme, aber auch für andere Keime, einhergeht, in den Blutkreislauf geleitet und dadurch gewissermaßen aus der großen Zahl anderer *Proteus*-Stämme ausgelesen werden. Es erklärt sich dann auch, als abhängig von dem primären Vorhandensein von *Proteus*-Stämmen überhaupt, der bei den einzelnen Untersuchern sehr wechselnde Befund von X-Stämmen im Blut Fleckfieberkranker. Wo überhaupt keine oder nur selten *Proteus*-Stämme vorhanden sind, kann auch keine Auslese der X-Stämme stattfinden. Infolgedessen haben manche Untersucher nie bei sorgfältigster Untersuchung, manche öfter *Proteus*-X-Stämme im Blut gefunden; von grundlegender Bedeutung dafür ist stets das Vorkommen von *Proteus*-Stämmen überhaupt, das je nach Jahreszeit und Ernährung, bzw. der Art der Entleerungen in weiten Grenzen schwankt. Danach ist eine Umwandlung gewöhnlicher *Proteus*-Stämme im Fleckfieberkörper in fleckfieberagglutinable X-Stämme im Sinne der Paragglutinationstheorie nicht einmal erforderlich, wenn auch durchaus möglich.

Auch diese Frage wird zu beantworten oder wesentlich gefördert sein, wenn über das Vorkommen der *Proteus*-X-Stämme im gesamten Reich der *Proteus*-Flora ein hinreichend großes Untersuchungsmaterial vorliegt, das heute noch fehlt<sup>1)</sup>.

In diesem Zusammenhang darf wohl daran erinnert werden, daß auch der von Plotz, Olitzky und Baehr beschriebene und als Erreger angesehene Keim vielleicht aus ähnlichen Gründen in den Blutkreislauf geschwemmt worden ist, vielleicht auch manche andere, denen etwas freigebig die Erregerqualitäten zugesprochen wurden. Immerhin sind die Befunde von Plotz, Olitzky und Baehr so ausführlich dar-



Die Beziehungen der X-Stämme zum Phänomen ihrer Agglutinabilität durch Fleckfieberserum (Weil-Felixsche Reaktion) können auf Grund des bisher vorliegenden Tatsachenmaterials folgendermaßen gedeutet werden:

1) Die fleckfieberagglutinablen Proteus-X-Stämme entstehen im fleckfieberkranken Organismus aus gewöhnlichen Proteus-Stämmen durch deren Symbiose mit dem Fleckfiebertypus, d. h. durch Paragglutination [Otto (22), Oettinger (23), Dietrich (24) u. a.]. Die fleckfieberagglutinabel gewordenen Proteus-Stämme behalten diese Eigenschaft unbegrenzt; sie stellen demnach im Sinne der Vererbungslehre genotypisch bedingte, d. h. erblich fixierte und konstant gewordene Mutationen dar. Dieser neue Biotypus des Proteus vulgaris (Oettinger) würde auch einen für die Vererbungslehre interessanten Fall darstellen. Gegen die Umwandlung des Proteus vulgaris in den fleckfieberagglutinablen Biotypus auf dem Wege der Paragglutination spricht die auffallende Uebereinstimmung in der Agglutinabilität verschiedener X-Stämme, namentlich derer vom Typus X 19, durch Fleckfieberserum; es wäre zu erwarten, analog den experimentellen Ergebnissen von Otto und Grütz (25), die leider nicht wiederholt wurden, daß die agglutinabel gewordenen Stämme nicht alle den gleichen Titer gegen Fleckfieberserum haben. Die letztere Tatsache spricht mehr für eine native, in der inneren Struktur des Keimes bedingte Konstanz.

2) Die fleckfieberagglutinablen Proteus-Stämme entstehen aus gewöhnlichen Proteus-Stämmen, vielleicht auch unter anderen biologischen Einflüssen als durch die Symbiose mit dem Fleckfiebertypus; dieser Fall ist als Spontanumwandlung nicht ganz auszuschließen (auch in Parallele zu dem Befund anderer paragglutinabler Bakterien, z. B. dem von Ditthorn und Neumark (27) erhobenen Befunde typhusagglutinabler und dem von Messerschmidt (26) erhobenen Befund choleraagglutinabler Coli-Bazillen im Darm Gesunder), und steht dem vorigen phylogenetisch sehr nahe (Oettinger). Ein vollgültiger Beweis wurde für diese beiden Möglichkeiten noch nicht erbracht.

3) Die X-Stämme sind konstante Spielarten der Proteus-Gruppe [Wolff (6)]; sie werden aus den Entleerungen Fleckfieberkranker nicht häufiger gezüchtet als aus den gleichen Ursprungsmaterialien anderer Menschen. Daß sie aus dem Blut Fleckfieberkranker öfter isoliert wurden, erklärt sich aus der chemisch-physikalischen Veränderung des Blutserums beim Fleckfieber (Epstein), die allgemein in einer erhöhten Ausflockbarkeit gegenüber verschiedenen Suspensionskolloiden zum Ausdruck kommt. Infolge besonderer kolloidchemischer Beziehungen zwischen den X-Stämmen und den hydrophilen Kolloiden des Fleckfieberserums werden die X-Stämme in erster Linie beeinflußt und auch in den Kreislauf gebracht. Aber auch andere Bakterien werden infolge dieser Eigentümlichkeit des Fleckfieberserums [polyagglutinatorische Eigenschaft nach Weltmann (28)] ausgeflockt (z. B. der hochagglutinable Pyocyaneus-Stamm Kreuzschers, 29) und sind nicht selten sogar als Erreger des Fleckfiebers angesprochen worden.

4) Diese kolloidchemische Beziehung bedeutet in der Nomenklatur der Seitenkettentheorie eine zufällige weitgehende Einpassung der unter dem Einfluß des Fleckfiebertypus in das Blut abgestoßenen freien

gestellt, daß man sie nicht einfach übergehen kann. Man wird sie daher vielleicht als einen Parallelfall zum Befund von Proteus-Bazillen im Blut denken können, ohne daß ihnen eine ähnliche diagnostische Bedeutung zukommt.

Rezeptoren auf die haptophoren Gruppen der X-Stämme (Kolle und Schloßberger), eine Erklärung, die auch von Hamburger und Bauch schon frühzeitig als heterogenetische Antigenfunktion zur Diskussion gestellt wurde. Diese Deutung, die hauptsächlich deshalb als eine unwahrscheinliche Häufung von Zufällen erschien, weil die X-Stämme ausschließlich bei Fleckfieberkranken gesucht und gefunden wurden, gewinnt erheblich an Wahrscheinlichkeit, seitdem X-Stämme als eine der zahlreichen serologischen Spielarten des *Proteus vulgaris* auch bei anderen Menschen nachgewiesen wurden. Als der weitergehende Begriff scheint mir, wie bei der Erklärung der Wassermannschen Reaktion, die Deutung der Weil-Felixschen Reaktion als chemisch-physikalische Blutveränderung im Sinne Epsteins den Vorzug zu haben vor der Erklärung mittels heterogenetischer Antigenfunktion; dies um so mehr, als die „heterogenetischen Antikörper“ nicht nur gegen die X-Stämme, sondern auch gegen zahlreiche andere Keime gerichtet sind. Das bedeutet aber keinen Unterschied in der Sache, sondern nur einen anderen Namen.

5) Damit stellt die Weil-Felixsche Reaktion eine weitgehende Analogie zur Wassermannschen Reaktion dar, deren Antigen gleichfalls nicht auf den infizierten Körper beschränkt und deren „Spezifität“ daher nicht im Sinne der auf der Seitenkettentheorie aufgebauten Immunitätslehre zu deuten ist. Kein Mensch wird deshalb die hohe praktische Bedeutung der beiden Reaktionen, die mit den Methoden der Immunitätslehre gefunden wurden, aber aus dem Rahmen der üblichen Immunreaktionen zwischen Antigen und Antikörper herausfallen, leugnen oder gar das Verdienst ihrer Entdecker schmälern wollen.

#### Zusammenfassung.

Unter 52 *Proteus*-Stämmen aus sicher fleckfieberfreier Gegend (Berlin 1920/21) konnten nach ihrem kulturellen und serologischen Verhalten 2 typische X-Stämme identifiziert werden. Dieser Befund ergänzt meine frühere Untersuchung aus Rumänien. Danach sind die X-Stämme konstante Spielarten des *Proteus vulgaris*.

Die Weil-Felixsche Reaktion ist, analog der Wassermannschen, nicht als eine spezifische im Sinne der Immunitätslehre aufzufassen, sondern nur Ausdruck einer erhöhten Ausflockbarkeit des Bluteserums Fleckfieberkranker während des Infektionsprozesses.

Die X-Stämme, insbesondere der Typus X 19, stellen für dieses Phänomen, das sich auch mit anderen Bakteriensuspensionen (Suspensionskolloiden) zur Darstellung bringen läßt, den besten der bisher bekannten Indikatoren dar.

#### Literatur.

- 1) Dienes, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 15. — 2) Hamburger u. Bauch, Ibid. 1917. Nr. 36 u. 39. — 3) Finger u. Kollert, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 10. — 4) Weil u. Felix, Ibid. Nr. 23. — 5) H. Schaeffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 430. — 6) G. Wolff, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 21. — 7) Frieber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 424, und Bd. 87. S. 254. — 8) Joetten, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 12. — 9) M. Jakob, Biochem. Zeitschr. Bd. 100. 1919. S. 191. — 10) Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. H. 1/2 u. 3/4. — 11) Sobernheim u. Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910. S. 401. — 12) W. Löwenthal u.

E. Seligmann, Berlin. klin. Wochenschr. 1913. S. 250. — 13) E. Weil, Wien. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 3. — 14) G. Wolff, Weichardts Ergebnisse der Immunitätsf. etc. 1922. — 15) Emil Epstein, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 36, und Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 3. — 16) Friedberger, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 42—44. — 17) Kolle u. Schloßberger, Med. Klinik. 1917. Nr. 10. — 18) Forssman, Biochem. Zeitschr. Bd. 37. 1911. S. 78. — 19) Schürer u. Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 517. — 20) Gergely, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 40. — 21) Felix, München. med. Wochenschr. 1917. Nr. 39. — 22) Otto, Med. Klin. 1916. Nr. 44; Dtsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 30 etc. — 23) Oettinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. S. 304. — 24) Dietrich, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 51. — 25) Grütz, Ztschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919. H. 3. — 26) Messerschmidt, München. med. Wochenschr. 1916. Nr. 22. — 27) Ditthorn u. Neumark, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. S. 544. — 28) Weltmann, Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 19. — 29) Kreuzscher, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 16.

#### Diskussion zu Vortrag 36.

Messerschmidt (Hannover) hat die in Eiterungen vorkommenden *Proteus*-Stämme mit Fleckfieber-Patientenserum vom Titer 1:20000 zu agglutinieren versucht, jedoch bei 15 so gezüchteten Kulturen keinerlei Agglutination von  $\frac{1}{20}$  anfangend gesehen.

Das Serum dieser 15 Kranken agglutinierte weder während der Krankheit, noch nach Rekonvaleszenz echte X 19-Stämme, wohl aber die eigenen *Proteus*-Kulturen.

#### 37. Demonstration. H. Dold (Marburg):

##### Demonstration von „Trocken-Tropfen“-Bildern.

Mit 6 Abbildungen im Text.

Im Verfolg von Bestrebungen, Einblicke in die Strukturen und Strukturveränderungen von Seren und verwandten Körperflüssigkeiten zu gewinnen, kam ich unter anderem auch dazu, mir Eintrocknungsbilder in Form von „trockenen Tropfen“ herzustellen. Eintrocknungsfiguren sind wiederholt beschrieben, meines Wissens aber nicht in der vorliegenden Form und unter den hier zu entwickelnden Gesichtspunkten.

Das zu untersuchende Material wird mit einer ausgeglühten und wieder abgekühlten Oese auf einen reinen Objektträger gesetzt, der beschickte Objektträger sodann in einem Chlorkalzium-Exsikkator umgekehrt (um das Hereinfallen von Luftstäubchen zu vermeiden) zum Eintrocknen gebracht. Dabei spielt sich folgender Vorgang ab:

Mit zunehmender Wasserverdunstung geliert der Eiweißanteil des Serums, während es gleichzeitig — unter Ausbildung lebhafter Strömungen — zu Uebersättigungen des Salzanteiles des Serums kommt. Wo immer ein Uebersättigungszentrum entsteht, taucht hell leuchtend ein Kristallisationskern auf. Die Kristallisationsformen, die man so erhält, sind sehr vielgestaltig und, offenbar abhängig von einer Reihe von Einflüssen, von denen die wichtigsten sind: Die Beschaffenheit und Menge des Eiweißgehalts, Beschaffenheit und Menge der Salze, Geschwindigkeit der Wasserverdunstung, Schnelligkeit und Kraft, mit der die Salz-moleküle zu Kristallen zusammentreten.

Es hat sich nun gezeigt, daß man von ein und demselben jeweiligen Untersuchungsobjekt bei gleichzeitiger Untersuchung immer gleiche Bildtypen gewinnen kann, sofern man unter genau den gleichen Versuchsbedingungen (jedemal frische Oesenentnahme) untersucht. Untersuchungen eines Objekts zu verschiedenen Zeiten ergeben verschiedene Bilder, entsprechend den in dem Objekt inzwischen vorgegangenen inneren Veränderungen.

Demonstration von Diapositiven von „Trocken-Tropfen“-Bildern<sup>1)</sup> (Photogramme ca. 14-fache Vergrößerung):

1) Bilder von verschiedenen Seren, je im frischen (aktiven) und erhitzten ( $\frac{1}{2}$  Std. auf  $56^{\circ}$  C) Zustand. Unter der Hitzeeinwirkung kommt es offenbar zu Veränderungen des Serumeiweißes, die sich auch im trockenen Tropfen durch gewisse gleichsinnige Veränderungen ausdrücken. (Verkleinerung des Kristallisationskernes.) — 2) Bilder, die den Einfluß der Salzkonzentration lehren. — 3) Bilder, die den Einfluß des Eiweißgehaltes lehren (Sera vor und nach der Filtration). — 4) Bilder von verschiedenen Lumbalfüssigkeiten. — 5) Bilder von verschiedenen Hämolysearten a) Aqua dest. Hämolyse, b) Kobragifthämolyse, c) Saponinhämolyse, d) komplexe Hämolyse. — 6) Bild einer negativen und positiven Wassermannschen Reaktion (komplette Hämolyse und komplette Hemmung der Hämolyse. — 7) Bild einer kolloidalen Kieselsäurelösung und im Anschluß daran Bilder, die den starken Einfluß von Spuren von Serum ( $\frac{1}{4000}$ ) bzw. von reinem Cholesterin auf die Kieselsäurestruktur aufweisen.

Figuren. Da sich die Wiedergabe aller Bilder nicht ermöglichen ließ, seien folgende Bilder als Beispiele reproduziert:

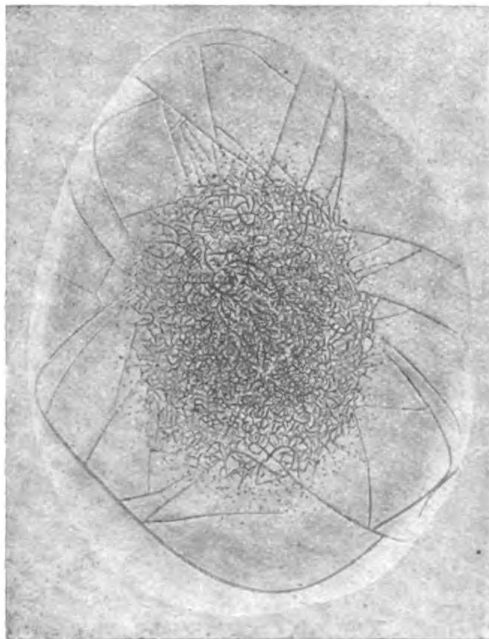


Fig. 1.



Fig. 2.

1) Die Aufnahmen sind von Frl. Wangerin in Halle a. S. gemacht worden.

Wie Sie gesehen haben, kann man mittels des „trockenen Tropfens“ vielfach in einfacher Weise Aufschluß über die gröbere Zusammensetzung gewisser Flüssigkeiten, namentlich hinsichtlich ihres Eiweiß- und Salzgehaltes, erhalten. Wir dürfen aber das Verfahren nicht überschätzen

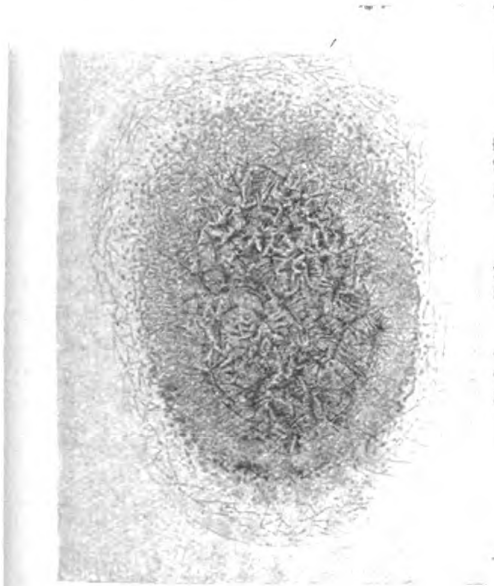


Fig. 3.

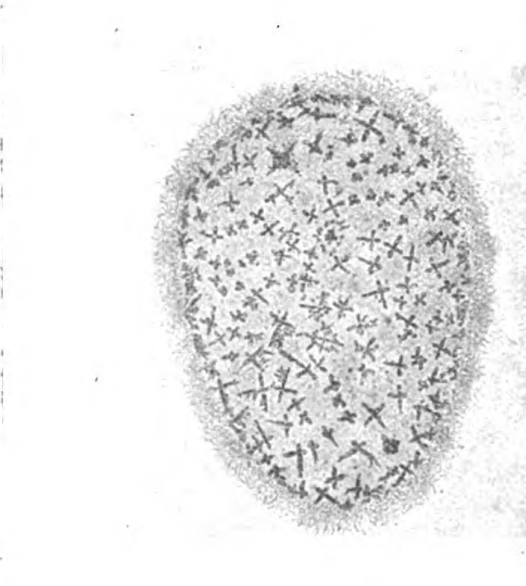


Fig. 4.

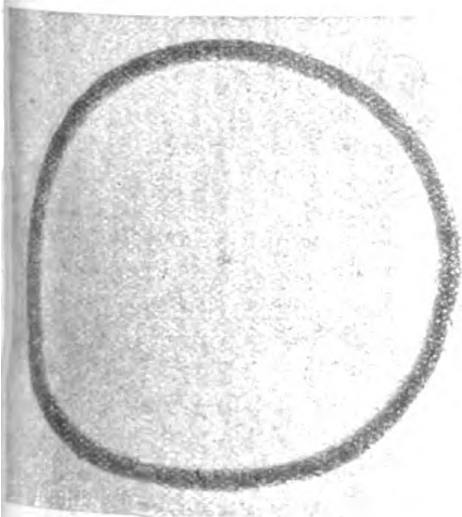


Fig. 5.

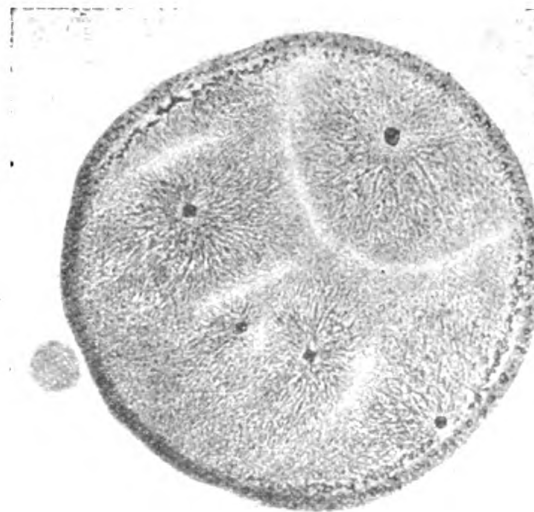


Fig. 6.

- Fig. 1. Pferdeserum, aktiv.
- Fig. 2. Das gleiche Pferdeserum, nach halbstündiger Erhitzung auf 56° C.
- Fig. 3. Ein menschliches Mischserum.
- Fig. 4. Das gleiche Serum, nach der Filtration durch ein Kollodiumfilter.
- Fig. 5. Eine Aqua destillata-Hämolyse.
- Fig. 6. Eine komplexe Hämolyse (Hammelblutkörperchen, hämolytischer Ambozeptor und Komplement).

und müssen uns seine Schwächen und die Grenzen seiner Anwendbarkeit wohl vor Augen halten. Trotzdem wird es m. E. da und dort mit Vorteil herangezogen werden können. Daß es auch eine gewisse praktische Verwendungsmöglichkeit besitzt, mögen Sie daraus ersehen, daß man z. B. echten Honig und Kunsthonig damit unterscheiden kann, worüber ich an anderer Stelle berichten will.

---

### Anhang.

#### 38. Vortrag. Herzberg (Dahlem):

#### **Bakteriologische und physiologisch-chemische Untersuchungen mit o-oxy-jod-sulfon-benzolpyridin (Yatren).**

##### Ein Beitrag zur Reizkörpertherapie<sup>1)</sup>.

Im bakteriologischen Teil wird zunächst der Befund untersucht, daß verschiedene Yatrenlösungen gleicher Konzentration in ihrem desinfektorischen Verhalten stark wechseln. Die Differenz beruht darauf, daß bei den Yatrenpräparaten aus dem September 1921 durch 2 Min. langes Kochen, bei den neueren erst durch etwa  $\frac{1}{4}$ stünd. Erhitzen Jod frei wird. Es folgen Untersuchungen über das Verhalten von jodhaltigem und jodfreiem Yatren im Serum, Vergleiche mit Phenol usw. Sie ergeben im Serum die Ueberlegenheit des Phenols (Staphylokokken), in wässriger Lösung etwa Gleichwertigkeit (Staphylokokken, Erdbazillus). Jodhaltige und jodfreie Yatrenlösung unterscheiden sich in ihrer Desinfektionskraft bei Gegenwart von Eiweiß nicht. Als Konservierungsmittel für präzipitierende Seren ist Yatren nicht geeignet, da es durch Gelbfärbung die Schärfe der Reaktion gegenüber dem üblichen Verfahren beeinträchtigt. Der Titer von agglutinierendem Typhus- und Cholera-serum wurde durch Yatren (0,2—1 Proz.) in 4 Mon. nicht verändert.

Im physiologisch-chemischen Teil wird nach einer Erörterung des Begriffes der Leistungssteigerung gezeigt, daß man chemisch zu einer klaren Definition dieses Vorganges kommen kann. (Beispiel: Laktazidogenabbau aus einer Hexose und einer Phosphorsäure, Spaltung unter Milchsäurebildung, die die Vorbedingung für vermehrte Leistung des Muskels ist [Embdn].) Es wird der Versuch unternommen, die Ursache der leistungssteigernden und heilenden Wirkung von Reizkörpern an einem Präparat zu untersuchen, das der chemischen Analyse leichter zugänglich ist, als die Eiweißkörper. Das Yatren ist hierfür geeignet. Es erhebt sich die Frage, ob eine chemische Bindung dieser Substanz resp. ein Abbau bei der Einleitung der Reparationsvorgänge im kranken Organismus in Betracht zu ziehen ist. Zur Beantwortung wurde eine quantitative Bestimmungsmethode für das Yatren ausgearbeitet<sup>2)</sup>. Im Prinzip

---

1) Als Diskussionsbemerkungen zum Referat Proteinkörper vorgetragen.

2) Die genauere Methodik wird in der Klin. Wochenschr. beschrieben. Sie konnte im Vortrag auch nur kurz berührt werden.

besteht sie in der Oxydation des yatrenhaltigen Harns (1 ccm) mit Kaliumpermanganat (5 Proz.) und 50-proz. Schwefelsäure, Reduktion durch gesättigte Oxalsäurelösung, Ausschütteln des in Freiheit gesetzten Jods mit Chloroform, Titration des am intensivsten gefärbten Chloroforms mit  $\frac{n}{200}$  Thiosulfatlösung. Die zur Festlegung des optimalen Verhältnisses genau einzuhaltenden Mengen betragen:

a	b	c	d	e	f	
1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	ccm Harn
3,5	3,2	3,0	2,8	2,5	2,0	„ Wasser
0,75	0,9	1,0	1,1	1,25	1,5	„ 5-proz. $\text{KMnO}_4$
0,75	0,9	1,0	1,1	1,25	1,5	„ 50-proz. $\text{H}_2\text{SO}_4$

1 Std. lang in der Kälte unter häufigerem Umschütteln einwirken lassen. Mittels dieser Methode läßt sich nachweisen, daß der gesunde wie der kranke Körper (10 Fälle von Entzündungen der Salpinx und der Ovarien, eine subakute Kniegelenkentzündung) innerhalb von  $5\frac{1}{2}$ —6 Std. das Yatren quantitativ ausscheidet. Das Yatren geht im Organismus also weder eine chemische Bindung ein noch wird es gespalten.

Es folgen Mitteilungen über die Verzögerung der Phagozytose und über eine bei erhöhter  $\text{H}(\text{P}_h 6,5)$  eintretende Dispersitätsverringernng von Serumeiweiß durch Yatren.

Auf Grund der bisher vorliegenden Beobachtungen (Veränderungen an Plasma, Gewebssaft, Zellmembranen usw. nach Reizkörperereinverleibung), vermehrt durch den Beweis der quantitativen Yatrenausscheidung beim Gesunden und Kranken, ergibt sich der Schluß, daß physikalische Prozesse das Primäre bei der Einleitung der Reparationsvorgänge am entzündlichen Herd darstellen, und daß hier die chemische Konstitution der eingeführten Verbindung nur soweit von Bedeutung ist, wie sie (durch Molekülgröße, sterische Konfiguration usw.) in die Gesetze der physikalischen Chemie eingreift. Aus dieser Feststellung resultiert aber eine veränderte Einstellung zur Methodik der Reizkörpertherapie. Zieht man in Betracht, daß bei Anwendung des gleichen Mittels die therapeutische Wirkung außerordentlich different sein kann, je nach der Menge, je nach der Applikationsstelle, je nach der Person, je nach der Pause zwischen den Injektionen und je nach der Tageszeit (Königer), so weisen diese Erfahrungen im Verein mit dem Beweis der physikalischen Natur des Anstoßes zwingend darauf hin, daß der erfolgreiche Ausbau der Reizkörpertherapie nicht von einer beliebigen Vermehrung und einem dauernden Ausprobieren neuer Präparate, sondern von einer Verbreiterung und Vertiefung unserer Kenntnis im Dosieren (Kombinieren) der bekannten Therapeutika zu erwarten ist. Nicht das Präparat an sich bestimmt hier den Heilerfolg — die chemische Natur ist bis zu einem gewissen (s. o.) Grade gleichgültig — sondern die Erkenntnis der durch den jeweiligen Patienten bedingten und für ihn erst zu erschließenden Modifikationen in der Anwendung.

**39. Vortrag. E. G. Dresel und W. Keller (Heidelberg):**

**Bakterientötende Kräfte im Serum von Gesunden und Kranken<sup>1)</sup>.**

In Studien zur unspezifischen Reiztherapie über die experimentelle Steigerung der Anthrakocidie im Blute haben Dresel<sup>2)</sup> und Freund nachgewiesen, daß das normalerweise nicht anthrakozid wirkende menschliche Serum milzbrandfeindliche Kraft erlangen kann, ohne daß es sich um einen Immunisierungsprozeß im gewöhnlichen Sinne handelt.

Da im strömenden Blute des Kaninchens eine Vermehrung der Anthrakocidine außer durch unspezifische Reiztherapie auch durch pathologische Zustände oder durch Schwangerschaft ausgelöst wurde, waren die Verhältnisse im menschlichen Serum nachzuprüfen.

**Versuchsordnung.**

Auf 4 Spitzgläschen wurden je 0,5 Serum verteilt. Von einer 24-stünd. sporenfreien, sehr gut durchgeschüttelten Milzbrandbouillonkultur wurde eine Verdünnung 1:1000 hergestellt und davon jedem Spitzgläschen ein Tropfen zugesetzt. Das erste Röhrchen wurde sofort durch Ausgießen zur Agarplatte verarbeitet, das zweite nach 1-stünd., das dritte nach 4-stünd., das vierte nach 6-stünd. Verweilen im Brutschrank bei 37°. Als Kontrolle wurden zu jedem Versuch 4 Spitzgläschen, enthaltend 0,5 Bouillon und einen Tropfen der Milzbrandverdünnung, verwandt.

Es konnten die Sera von 225 gesunden und kranken Menschen geprüft werden.

Bei 12 klinisch völlig gesunden Männern fanden sich im Serum gar keine oder nur Spuren von Anthrakocidinen, die praktisch = 0 zu bewerten sind. Ebenso verhielten sich Sera von 4 jugendlichen Frauen, die einige Tage vor dem Einsetzen der Menses entnommen waren. Dagegen enthielten die Sera von 13 klinisch gesunden Frauen während und einige Tage nach der Menstruation große Mengen von Anthrakocidinen.

Im Nabelvenenblut von 22 Neugeborenen fanden sich große Mengen anthrakocider Stoffe, die in 12 Fällen die eingebrachten Milzbrandbazillen restlos abtöteten, in den übrigen Fällen eine fast restlose Abtötung auslösten.

10 Sera von Patienten der medizinischen Klinik, bei denen klinisch kein pathologischer Befund zu erheben war, die aber subjektiv geringe Beschwerden äußerten, enthielten keine oder nur ganz geringe Spuren von anthrakociden Stoffen. Ebenso verhielten sich die Sera eines Falles von genuiner Epilepsie und eines seit 6 Wochen abgelaufenen Scharlachfalles.

Die Untersuchungen der Sera von klinisch kranken Menschen ergaben: Bei 31 verschiedenen akuten Infektionskrankheiten mit Fieber zeigte das Serum in 25 Fällen eine restlose Abtötung der Milzbrandbazillen, in 6 Fällen eine fast restlose Abtötung.

1) Von Dresel als Diskussionsbemerkungen zum Referat Proteinkörper vorgetragen.

2) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 91. Heft 6.



### Tuberkulosen.

Während sich im Serum von Menschen mit Befunden latenter tuberkulöser Prozesse nur geringe milzbrandfeindliche Stoffe finden, zeigt sich bei manifesten tuberkulösen Prozessen ohne Fieber eine recht erhebliche Wirkung der Anthrakocidine, die bei fieberhaften Prozessen der Lungen, der Pleuren, des Peritoneums und bei miliärer Tuberkulose in 12 Fällen so groß wird, daß die eingebrachten Milzbrandbazillen durch das Serum restlos abgetötet werden.

### Lues.

Die Sera von 5 fieberlosen, bisher nicht behandelten luetischen Erkrankungen töten die eingebrachten Milzbrandbazillen restlos ab; 3 unbehandelte Fälle zeigen eine starke Anthrakocidie, die in einem Falle nach Behandlung mit einer Quecksilberkur bis zur völligen Abtötung der Milzbrandbazillen gesteigert wurde. Ebenso verhalten sich 3 Fälle im Anschluß an die Behandlung mit Quecksilber und Salvarsan. Je 2 Fälle von luetischen Aortitiden und Tabes dorsalis, bei denen die spezifische Behandlung längere Zeit (mindestens 2 Jahre) zurückliegt, haben sehr starke Anthrakocidine im Serum.

Daraus geht hervor, daß bei Lues starke Anthrakocidie unabhängig von spezifischer Behandlung auftritt und durch spezifische Behandlung gesteigert werden kann.

### Bluterkrankungen.

Bei 2 perniziösen Anämien, 1 Leukämie, 1 Pseudoleukämie, bei 8 sekundären Anämien infolge von Magengeschwüren und in 1 Falle von Geschwüren des Duodenums, bei 2 Krebskachexien und 1 Falle von Morbus Banti werden in 9 Fällen die eingebrachten Milzbrandbazillen restlos abgetötet, in 3 Fällen ist sehr starke Anthrakocidie vorhanden.

### Rheumatismen.

Bei rheumatischen Gelenkerkrankungen in 3 Fällen mit Salizyltherapie und in 2 Fällen ohne Therapie werden die eingebrachten Milzbrandbazillen restlos abgetötet.

### Lebererkrankungen.

Bei 7 Lebererkrankungen (1 Fall von Cirrhosis hepatis, 1 Ikterus, 1 Cholangitis, 1 Cholecystitis, 3 Fälle von Cholelithiasis) findet sich ohne Fieber und ohne Therapie sehr starke Anthrakocidie.

### Nierenerkrankungen.

2 Fälle von chronischer Nephritis zeigen im Serum restlose Abtötung der Milzbrandbazillen, 2 eine starke Anthrakocidie.

### Chronische Herz- und Gefäßerkrankungen.

4 Fälle von chronischen Herzfehlern und 5 von atherosklerotischen Prozessen weisen teils starke, teils sehr starke Anthrakocidie auf.

### Chronische Erkrankungen.

1 Bronchitis, 2 chronische Dysenterien, 1 Fall von Kreuzschmerzen nach Verhebung, 1 Querschnittsmyelitis nach Panaritium, 3 Spondylitiden und 1 Epididymitis gonorrhoeica haben im Serum sehr starken Gehalt von anthrakociden Stoffen.

### Konstitutionelle Erkrankungen.

1 Fall von Diabetes mellitus und 1 von Dystrophia adiposogenitalis töteten die eingebrachten Milzbrandbazillen im Serum restlos ab. 1 Fall von Thyreoidismus, 1 konstitutionelles Ekzem und 1 Jackson-Epilepsie zeigen eine sehr starke Anthrakocidie.

### Verschiedene Fälle.

Außerdem fand sich starke bis sehr starke Anthrakocidie in 1 Falle von chronischem Kopfschmerz, bei 1 Fall von Ischias, 1 Gastropiose, 1 fraglichen chronischen Malaria mit Pleocytose und 3 Fällen von Neurasthenie (darunter 1 mit leichten Temperaturen, 1, ein starker Raucher, mit mehreren vorausgegangenen Grippeerkrankungen).

Dazu kommen noch 3 klinisch ganz Gesunde mit sehr starker Anthrakocidie. Ein Arzt mit amputiertem Oberschenkel bei starker Muskelzertrümmerung (Kriegsverletzung), 1 Mann mit schwerem Lungenschuß (Kriegsverletzung) und Magen- und Appendixoperation vor 1 Jahre; 1 Aerztin, der vor  $\frac{1}{2}$  Jahre zu Untersuchungszwecken zahlreiche große Aderlässe gemacht waren.

### Verschwinden der Anthrakocidie.

Die durch irgend einen Reiz, wie akute und chronische Infektion mit und ohne Fieber oder Blutung oder Schwangerschaft oder degenerative und narbige Prozesse ausgelöste Anthrakocidie, scheint nach Abklingen des Reizes zu verschwinden.

Eine unklare fieberhafte Infektion mit Fieber bis über  $39^{\circ}$  tötete auf der Höhe des Fiebers die in das Serum eingebrachten Milzbrandbazillen restlos ab, dagegen blieben 14 Tage nach der Entfieberung von 1200 eingebrachten Milzbrandkeimen 260 am Leben. Bei einer Lungenentzündung, die auf der Höhe des Fiebers von 950 Keimen 170 nicht abtötete, blieben nach der Entfieberung von 1200 Keimen 500 am Leben.

Andererseits scheint ein zu starker Reiz durch Häufung von Organerkrankungen im Körper oder durch zu große therapeutische Einwirkung die Bildung von anthrakociden Stoffen aufzuheben (6 Fälle).

Weiterhin sollte die Frage beantwortet werden, ob die bakterien-tötenden Kräfte im Serum von Gesunden und Kranken außer Milzbrandbazillen auch andere Bakterienarten abtöten.

Untersucht wurden 50 Sera gleichzeitig auf Baktericidie gegen Milzbrand- und Typhusbazillen. Darunter waren die Sera von 5 wiederholt während des Krieges mit Typhusschutzimpfstoff geimpften Männern und die Sera von 8 nicht geimpften Männern; 21 Sera stammten von Frauen und zwar 9 von noch nicht oder nicht mehr menstruierten, während die übrigen 12 alle am 1. oder 2. Tag der Menstruation waren. Von diesen 34 Seren stammten 7 von klinisch völlig gesunden Frauen, während alle übrigen Menschen wegen klinischer Befunde bettlägerig-krank waren.

Alle Sera wiesen starke abtötende Kräfte gegen Milzbrand auf, 19 töteten die eingebrachten Milzbrandbazillen restlos ab. 32 Sera töteten die eingebrachten Typhusbazillen schwankend zwischen 1600 und 6000 restlos ab, bei 2 zeigte sich eine sehr starke Verminderung der eingebrachten Typhusbazillen.

In 16 Fällen konnte Nabelvenenblutserum gegen Milzbrand- und Typhusbazillen geprüft werden. Ebenso wie die Milzbrandbazillen abgetötet wurden, wurden in 7 Fällen die eingebrachten 3000 Typhusbazillen abgetötet, in 3 Fällen fast restlos (11, 25 und 50 Typhuskeime blieben am Leben), in 6 Fällen fand eine sehr starke Verminderung der Typhusbazillen statt.

#### Zusammenfassung.

Im Serum klinisch gesunder Männer und bei klinisch gesunden Frauen im Menstruationsintervall finden sich keine Anthrakocidine.

Das Serum klinisch gesunder Frauen erlangt während der Menstruation bakterizide Kraft gegen Milzbrandbazillen, die schnell wieder abklingt.

Im Nabelvenenblut gesunder Neugeborener finden sich bakterizide Kräfte gegen Milzbrand- und Typhusbazillen.

Sera von klinisch kranken Menschen enthalten sehr reichliche Anthrakocidine, und zwar bei fieberhaften akuten und chronischen Infektionskrankheiten; bei Infektionskrankheiten ohne Fieber (chronische Tuberkulose, Lues, Rheumatismen); bei Bluterkrankungen; bei chronischen Krankheiten mit Organveränderungen, wie Lebererkrankungen, Herz- und Gefäßerkrankungen, und chronischen Nierenerkrankungen; bei schweren Verletzungen und Operationen mit schweren Vernarbungsprozessen.

Therapeutische Eingriffe können die Bildung von Anthrakocidinen steigern, können sie jedoch bei zu großen Dosen zum Verschwinden bringen. Ebenso scheint das Zusammentreffen von verschiedenen schweren Organerkrankungen zu wirken.

Die durch irgendwelche Reize im Körper ausgelösten bakterientötenden Kräfte gegen Milzbrand und Typhus scheinen gleichsinnig wirksam zu werden.

#### 40. Vortrag. Jos. Koch (Berlin):

##### Die Tätigkeit und die Bedeutung der Kapillarendothellen bei der hämatogenen Allgemeininfektion<sup>1)</sup>.

Spritzt man einem beliebigen Versuchstier, z. B. einem Affen oder Kaninchen, eine dichte Tuschelösung in die Blutbahn ein, tötet dann das Tier nach 24 Std., so zeigen bei der Sektion die Leber, die Milz und das Knochenmark eine starke schwarze Verfärbung, während andere Organe, wie Lungen und Nieren, ihre Eigenfarbe wenig oder gar nicht verändert haben. Die schwarze Verfärbung der drei Organe rührt daher, daß sie in besonders hohem Grade die Tusche aufgenommen und ihrem Gewebe einverleibt haben.

1) Als Diskussionsbemerkungen zum Referat Proteinkörper vorgetragen.

Aufnahme durch die drei Organe tritt auch dann ein, wenn man anstatt der Farbstoffaufschwemmungen Fett, Milchemulsionen oder Proteinkörper in die Blutbahn der Tiere einspritzt.

Selbst lebende, feinste Elemente, z. B. rote Blutkörperchen, machen hiervon keine Ausnahme. Bringt man einem Versuchstier eine Bakterienaufschwemmung von Stäbchen oder Kokken in die Blutbahn, so werden die einzelnen Keime ebenfalls in ganz besonders hohem Grade von den erwähnten Organen an sich gerissen.

Ganz allgemein kann man also Leber, Milz und Knochenmark als die hauptsächlichsten Ablagerungsstätten für feinste lebende oder leblose körperliche Elemente bezeichnen.

Daß die Aufnahme außerordentlich schnell, fast unmittelbar nach der Einspritzung erfolgt, zeigt folgender Versuch:

Einem mittelschweren Kaninchen werden in der Narkose etwa 3 ccm einer dichten Tuscheaufschwemmung in die Ohrvene eingespritzt; dann dem Tiere sofort die Brust- und Bauchhöhle eröffnet. Man kann dann sehen, wie die Leber nach und nach immer schwärzer wird; nach Ablauf von 5 Min. sieht sie fast schwarz aus. Ebenso nimmt das Knochenmark und die Milz eine schwärzliche Farbe an, während die Lungen und Nieren im allgemeinen ihre Eigenfarbe bewahren.

Die Schnelligkeit, mit der fremde Bestandteile durch die Tätigkeit der drei Organe aus dem Blute verschwinden, kann man nur als eine erstaunliche bezeichnen.

Die grundlegenden Kenntnisse über das Schicksal feiner Farbstoffemulsionen in der Blutbahn verdanken wir v. Recklinghausen und Ponfick<sup>1)</sup>. Daß Bakterienaufschwemmungen dasselbe Schicksal erleiden, wurde später durch Wyssokowitsch<sup>2)</sup> bewiesen und ist in seiner Tragweite für das Immunitätsproblem von Rosenthal<sup>3)</sup>, Kruse und mir<sup>4)</sup> gewürdigt worden.

Die Frage, welche Zellen die körperlichen Elemente aufnehmen, hat Ponfick nicht zu beantworten gewußt. Heute wissen wir, daß es die Endothelzellen der feinsten Kapillaren sind. Die Zellen sind kontraktile; man hat sie zum Unterschiede von den beweglichen freien Leukozyten „fixe Phagozyten“ genannt. Denn durch eine aktive phagozytierende Tätigkeit gelangten die fremden Bestandteile in die Gefäßwandzellen. Wir sprechen daher mit Recht von einer Endothelphagozytose oder Adsorption.

In besonders schöner Weise läßt sich ihr Umfang und ihre Gesetzmäßigkeit an der Leber eines Tuschekaninchens zeigen. Die von der Peripherie zur Vena centralis eines jeden Leberläppchens zustrebenden Kapillaren der Pfortader sind als schwarze Streifen sichtbar. In der Wand dieser feinen Pfortaderkapillaren lagert sich die Tusche ab. Besonders reichlich trifft man sie in den Stern- oder Kupferschen Zellen an.

Da jedes Leberläppchen dieselbe Gefäßanordnung hat, so werden die feinen körperlichen Elemente mit dem Blutstrom in gleichmäßiger Weise über die ganze Leber verteilt und in den Endothelien festgehalten.

1) Studien über die Schicksale körniger Farbstoffe im Organismus. (Virch. Arch. Bd. 48. 1.)

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 1. 1886.

3) Rosenthal, Phagozytose durch Endothelzellen. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 31. 1921.)

4) Jos. Koch, Berl. klin. Wochenschr. 1914. Nr. 7. S. 289.

Wenn man bedenkt, daß die Zahl der Gefäßkapillaren auch nur eines Leberläppchens eine sehr große ist, die Gefäßwandung wiederum aus zahlreichen Zellen gebildet wird, so kann man sich eine ungefähre Vorstellung davon machen, in wie vollkommener Weise der Organismus imstande ist, schädliche Bestandteile des Blutes, wie z. B. Bakterien, auf ein geeignetes Organ und Zellen zu verteilen, in denen sie unschädlich gemacht werden.

In der Milz kommt die Ablagerung in weit unregelmäßigerer Weise zustande. Ganze Bezirke, in erster Linie die Zellanhäufungen der Malpighischen Körperchen, bleiben frei von Farbstoff.

Die Endothelphagozytose kommt keineswegs nur in den drei genannten Organen vor — wenn wir auch der Tätigkeit ihres reticulo-endothelialen Apparates eine besondere Stellung einräumen müssen — wir beobachteten sie auch in der Lunge, Niere, im Darm, in der Haut und im Lymphgefäßsystem. Blutkapillarnetze liegen z. B. dicht unter dem Epithel der Schleimhaut des Magendarmkanals, unter der Epidermis der Haut; der ganze Gefäßknäuel des Malpighischen Körperchens der Niere ist ein Kapillarschlingennetz. Alle diese Haargefäße sind Epithelschläuche, die auf Reize sich bis zum vollkommenen Verschuß verengern können.

Daß der Vorgang der Endothelphagozytose für das Immunitätsproblem von größter Wichtigkeit ist, liegt klar auf der Hand. Die Phagozytose der fixen Phagozyten steht der durch die freien Leukozyten an Bedeutung nicht nach, sondern übertrifft sie bei weitem. Ich will heute nicht näher darauf eingehen. Dagegen möchte ich auf eine Reihe von pathologischen Erscheinungen und Veränderungen aufmerksam machen, denen wir bei hämatogenen Allgemeininfektionen zu begegnen pflegen, und die mit der Endothelphagozytose aufs innigste verknüpft sind.

Bleiben wir zunächst einmal bei den Farbstoffversuchen. Wie reagiert der Gesamtorganismus auf die Einspritzung von sterilen Farbstoffemulsionen? Wie systematische Temperaturmessungen ergeben haben, tritt nach der Einspritzung eine beträchtliche Erhöhung der Körpertemperatur, also Fieber auf. Es ist diese Tatsache deshalb wichtig, weil sie beweist, daß selbst indifferente, sterile körperliche Elemente imstande sind, Temperatursteigerungen hervorzurufen. Dasselbe ist der Fall, wenn wir andere Emulsionen, wie Milch, Peptonaufschwemmungen oder Proteinkörper intravenös einspritzen. Daraus geht hervor, daß nicht eine spezifische Fermentwirkung oder das heterogene Eiweiß das Fieber auslöst, sondern daß hier lokale Ursachen am Gefäßapparat die Störung der Wärmeregulierung herbeiführen.

Was wird aus den in die Gefäßwandzellen aufgenommenen Farbstoffteilchen? Tusche und Zinnober bleiben dort als indifferente Teilchen liegen. Von einer reaktiven Entzündung in der Umgebung der farbstoffführenden Zellen ist nichts zu entdecken, selbst wenn man die betreffenden Organe mehrere Wochen oder Monate nach der Farbstoffinjektion histologisch untersucht. Ein Transport des Farbstoffes in das benachbarte Gewebe findet durch die fixen Phagozyten nicht statt. Bemerkenswert ist aber die spätere starke Blutfülle solcher farbstoffreichen Organe. Die Hyperämie tritt auch ein, wenn die Endothelien Fett, Eiweiß oder andere molekuläre Elemente an sich gerissen haben. Die ganze Saftströmung ist dann verstärkt, was bei der Leber

wahrscheinlich eine lebhaftere Sekretion, bei der Milz und dem Knochenmark eine erhöhte bakterizide Tätigkeit zur Folge hat. Das Ganze ist als eine unspezifische Leistungssteigerung des Organes anzusehen. Es läßt sich aber auch verstehen, daß durch eine solche erhöhte Tätigkeit alte Infektionsherde wieder mobil gemacht werden können. So erklärt es sich, daß z. B. durch eine Milchinjektion eine schlummernde Malariainfektion wieder aufleben kann.

Den Farbstoffversuchen analoge Vorgänge sehen wir bei einigen hämatogenen Allgemeininfektionen, bei denen ein starker Zerfall von roten Blutkörperchen und die Bildung von Blut und anderem Pigment stattfindet. Die charakteristische Melanämie der inneren Organe und der Haut der Malaria-kranken kommt zum Teil so zustande, daß das Hämosiderin und Melanin der zerstörten roten Blutkörperchen von den Kapillarendothelien der Leber, Milz und des Knochenmarkes, sowie der Haut oft in enormer Menge aufgenommen und dort festgehalten wird. Die Verteilung des Melanins deckt sich vollkommen mit dem Verhalten der experimentell in die Blutbahn eingespritzten Farbstoffe.

Die wichtigste Aufgabe fällt den Kapillarendothelien aber bei der hämatogenen Allgemeininfektion zu. Geht die Aufnahme von indifferenten leblosen Elementen ohne eine Schädigung der einzelnen Gefäßwandzelle vor sich, so ist das bei lebenden, z. B. pathogenen Keimen, natürlich anders; aber auch hier ist die Wirkung eine zweifache, eine lokale und eine allgemeine.

Eine der wichtigsten Erscheinungen einer hämatogenen bakteriellen Infektion ist das Fieber. Ich weiß sehr wohl, daß das Fieber im Verlauf einer Infektionskrankheit ein sehr komplizierter und noch wenig geklärter Vorgang ist. Aber wir müssen doch versuchen, das Wesen des Fiebers nach Möglichkeit zu ergründen. Es ist nun sehr auffallend, daß es bei hämatogenen Allgemeininfektionen einen ziemlich einheitlichen und typischen Charakter zeigt, und zwar, wie ich ganz besonders betonen möchte, im Anfang der Infektion. Der Beginn einer Allgemeininfektion des Blutes wird gewöhnlich mit einem Schüttelfrost eingeleitet. Als eine regelmäßige Erscheinung beobachten wir ihn bei der Malaria, bei der Recurrens, beim akuten Rotz, bei septischen Strepto- und Staphylokokosen, auch bei anderen harmloseren Infektionen, z. B. beim Katheterfieber. Man darf wohl behaupten, daß überall dort, wo ein plötzlicher reichlicher Einbruch von pathogenen Mikroorganismen, eine Ueberschwemmung des Blutes erfolgt, dieselbe Form des Fiebers, der Schüttelfrost auftritt. Daraus darf man wohl schließen, daß es nicht die Giftwirkung der Bakterien und Protozoen ist, die diesen Fiebertypus hervorruft, und zwar schon deshalb nicht, weil ja der Schüttelfrost ganz im Beginn der Fieberperiode steht, wo von einer spezifischen Wirkung des betreffenden Erregers noch nicht die Rede sein kann. Am meisten Wahrscheinlichkeit hat wohl die Annahme für sich, daß das Fieber durch Störungen der Blutzirkulation in diesen Fällen erzeugt wird, die durch zelluläre Vorgänge am Gefäßapparat entstehen. Durch die nach Einbruch der Keime in den Gefäßapparat häufig sofort und stürmisch einsetzende Endothelphagozytose kommt es zu einer Kontraktion der Kapillaren; beim Menschen zeigt schon die Blässe und Kälte der Haut im Schüttelfrost die Kontraktion der Hautgefäße an. Dadurch wird die Ableitung der Wärme nach außen verhindert; es tritt das charakteristische Phänomen des Schüttelfrostes auf.

Neben der Allgemeinreaktion sehen wir ferner lokale Veränderungen und Schädigungen im Kapillargebiet, die wiederum als eine Folge der Aufnahme durch die fixen Phagozyten aufzufassen sind. Nichtpathogene Keime werden im Zelleib vernichtet, pathogene können sich dort vermehren. Je nach der spezifischen Wirkung des betreffenden Keimes und seines Giftes kann es zu einer Schädigung, zu einer Zerstörung von Endothelzellen kommen. Die Folge ist ein Austritt roter Blutkörperchen ins Gewebe. So entstehen die zahlreichen kapillären Blutungen, die Petechien usw. bei einer Reihe von Allgemeininfektionen, besonders bei den septischen Erkrankungen. Bei anderen Infektionen, z. B. bei der Ueberschwemmung des Blutes mit Tuberkelbazillen, sind es anfänglich nicht so sehr die Toxine, als vielmehr die Fremdkörperwirkung, welche die Endothelzellen zur Hypertrophie und zur Wucherung reizt. Auch die sogenannten Bakterienembolien verdanken ihre Entstehung in erster Linie der Endothelphagozytose. Die Annahme, daß diese Ansammlung von Bakterien durch ein Hineinschleudern und eine dadurch bedingte Verstopfung zahlreicher Keime namentlich in die Endarterien erfolge, ist nicht zutreffend. Wenn das der Fall wäre, müßten wir derartige Verstopfungen einzelner Endarterien, z. B. bei den Farbstoffversuchen und bei allen hämatogenen Infektionen, z. B. bei der akuten Miliartuberkulose, bei der Recurrens, bei der Syphilispirochäte sehen. In Wirklichkeit entstehen die Verstopfungen der Kapillargebiete dadurch, daß die pathogenen Keime, zumal die der Kokkeninfektionen, sich in einzelnen Endothelien besonders stark anhäufen oder vermehren. Geschieht dies in sehr engen Kapillaren, vielleicht von zwei sich gegenüberliegenden Stellen aus, so füllen die Keime das Lumen aus oder wachsen in es hinein, bis es auf diese Weise gänzlich verstopft ist. Unterstützt wird die Entstehung derartiger Verstopfungen in Kapillarschlingennetzen, wo zudem der Blutstrom physiologisch verlangsamt ist. Das ist besonders bei den Kapillarschlingen der Nierenglomeruli der Fall, ebenso in der Haut. Die Roseolen beim Typhus, Paratyphus, Fleckfieber bei der Syphilis, beim Rotz sind letzten Endes ebenfalls auf diesen Mechanismus zurückzuführen.

Die Endothelphagozytose schafft endlich die Bedingungen für den Uebertritt oder die Ausscheidung der im Blute kreisenden Bakterien in gewisse Se- und Exkrete des menschlichen und tierischen Organismus. Es ist bekanntlich lange darüber gestritten worden, ob eine physiologische Ausscheidung von pathogenen Keimen durch die Nieren, die Leber und die Darmschleimhaut stattfindet. Es handelt sich dabei wohl stets um einen pathologischen Vorgang, auch wenn die Gewebsläsionen der einzelnen Organe sehr geringfügig oder gar nicht festzustellen sind. Die ganze Veränderung besteht oft nur darin, daß nach der Aufnahme der pathogenen Bakterien einzelne Gefäßwandzellen des Kapillarrohrs zerstört werden, so daß nunmehr der Austritt der Keime möglich ist.

Die kurzen Ausführungen zeigen Ihnen, wie das Phänomen der Endothelphagozytose für viele Erscheinungen und pathologische Veränderungen, die wir bei der hämatogenen Allgemeininfektion beobachten, von grundlegender Bedeutung ist.

## 41. Vortrag. P. Manteufel (Dahlem):

Ueber Anaërobenzüchtung<sup>1)</sup>.

Bekanntlich liefert die kulturelle Untersuchung von Anaërobenmaterial beim Oberflächenausstrich auf festen Nährböden häufig unbefriedigende Ergebnisse. Deswegen empfiehlt sich in diesem Falle eine Anreicherung oder Vorkultur in flüssigem Nährmedium, wenn man es nicht vorzieht, zunächst mit dem Untersuchungsmaterial einen Tierversuch zu machen. In flüssigen Kulturen läßt sich anscheinend das Optimum des Sauerstoffbedarfs leichter regulieren. Wenn im Betriebe der klinischen Laboratorien und bakteriologischen Untersuchungsanstalten auf die Regulierung der Sauerstoffspannung im ganzen wenig geachtet wird, so liegt das wohl hauptsächlich an der Umständlichkeit der Methodik, die wiederum eine Erhöhung der Betriebskosten mit sich bringt. Die Technik der Züchtung luftscheuer Mikroorganismen ist nun durch neuere Arbeiten in mancher Hinsicht bereichert worden. Ich muß mich damit begnügen, hier die Arbeiten von McIntosh und Fildes (1), Thompson (2), Gates und Olitsky (3), Brown (4), Hall (5), Hitchens (6), Knorr (7) und Adam (8) zu nennen. Zum Teil habe ich Gelegenheit gehabt, mir ein Urteil über die Leistungsgrenzen und die praktische Brauchbarkeit dieser Verbesserungen zu bilden. Aus diesen Nachprüfungen, die mit anerkennenswerter Unterstützung durch Fräulein Margret Mundt ausgeführt worden sind, haben sich die beiden Modifikationen ergeben, auf die ich mit den folgenden Ausführungen Ihre Aufmerksamkeit lenken möchte, weil ich überzeugt bin, daß die Technik der Anaërobenuntersuchung sich damit wesentlich vereinfacht.

Unter den neueren Nährböden für die Anaërobenkultur hat sich das von Tarozzi<sup>(9)</sup> und Wrzosek (10) zuerst in die Praxis eingeführte Verfahren der Züchtung unter scheinbar aeroben Bedingungen mittels Zusatzes eines sterilen Gewebestückes zur Nährlösung wegen seiner Eintachtheit vielfach eingebürgert. Setzt man einem solchen Tarozzi-Röhrchen einen Tropfen einer 1-proz. wässrigen Methylenblaulösung als Sauerstoffindikator hinzu<sup>2)</sup>, so erkennt man, daß die Reduktion des Farbstoffes ganz allmählich in der unmittelbaren Umgebung des Gewebestückes vor sich geht, aber auch nach Tagen gewöhnlich nicht bis an die Oberfläche der Nährlösung hinaufgeht, sondern allmählich wieder abnimmt. Man hat also in einem solchen Röhrchen zeitlich wechselnde Sauerstoffspannungen und die Bedingungen der strengen Anaërobie nur in der nächsten Umgebung des Gewebestückes. Ein streng anaërober Nährboden wird aus einem Tarozzi-Röhrchen erst dann, wenn man gleichzeitig durch Luftabschluß an der Oberfläche das Nachströmen von Sauerstoff aus der Luft verhindert. Der unangenehmste Uebelstand bei diesem Verfahren ist der Umstand, daß die Herstellung jedesmal das Opfer eines gesunden Tieres erfordert, und daß eine Sterilitätsprüfung vorausgehen muß, so daß der Nährboden erst 24—48 Std. nach der Fertigstellung gebrauchsfähig ist. Das Bestreben, ein anderes Reduktionsmittel an die Stelle des tierischen Gewebestückes zu setzen, führte Wrzosek (11) zur Empfehlung seiner Kartoffelnährbrühe, die sich aber anscheinend nirgends eingeführt hat. Traubenzucker, Pepton und Gelatine, die ebenfalls als reduzierende Zusätze zu Nährflüssigkeiten verwendet werden, sind in der Wirkung nicht energisch genug, so daß schon Kitasato und Weyl (12) 1890 nach anderen Präparaten gesucht haben, die stärker als Traubenzucker reduzieren und dabei das Bakterienwachstum ebensowenig beeinträchtigen. Der von Pfuhl (18) empfohlene Platinschwamm ist gegenwärtig leider zu teuer. Trenkmann (13) glaubte 1898, eine geeignete Substanz im Natriumsulfid gefunden zu haben, indes ist dieses m. E. vorzüglich für den Zweck geeignete Reduktionsmittel in Vergessenheit geraten, weil die Nachprüfungen durch Hammerl (14) (1901) und Hata (15) (1908) nicht günstig ausfielen. Der erstgenannte Autor empfahl Schwefelammonium, der letztere Ferrosulfat oder schwefligsaures Natrium. Liefmann (16) sah in Fleischbrühe, der er auf 10 ccm 0,1 ccm einer 10-proz. Ferroammoniumsulfatlösung setzte, treffliches Wachstum von Anaërobiern. Adam (8) hat die Reduktion der Nährlösung durch Koks erzielt und in Milch, der reichlich kleingeschlagener Koks zugesetzt wurde, Kulturen eines streng anaëroben Buttersäurebazillus erhalten.

1) Der Vortrag konnte wegen dienstlicher Verhinderung des Vortragenden in Würzburg nicht gehalten werden.

2) Nach M. van Riemsdijk (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 229) sind Einwände gegen die Empfindlichkeit dieses Indikators nur dann zu machen, wenn man die anaëroben Bedingungen durch Absorption des Luftsauerstoffs herstellt, während es hier durch Zusatz von Reduktionsmitteln zum Nährboden geschieht.



Eine zweite Methode der Anaërobenzüchtung in flüssigen Nährböden, die wegen ihrer Einfachheit gern benutzt wird, besteht darin, daß man durch längeres Erwärmen oder Kochen die Luft und den Sauerstoff aus dem Nährboden austreibt, am besten unter gleichzeitigem Zusatz eines chemischen Reduktionsmittels (Zucker, Gelatine) und dann sogleich einen Luftabschluß mittels Paraffinüberschichtung herstellt. Nun hat sich neuerdings durch Untersuchungen von Fildes (1917), Thompson (1920), sowie Gates und Olitsky (1921) herausgestellt, daß die Ueberschichtung mit flüssigem Paraffin keinen sicheren Luftabschluß gewährleistet. Deshalb ist von Fildes Vaseline, von Thompson festes Paraffin für den Zweck empfohlen worden. Andere Autoren haben das Eindringen der Luft in die flüssigen Kulturen durch Zusatz von Gelatine und Agar in passenden kleinen Mengen zu verhindern gesucht [Novy (17) 1893 und Hitchens (6) 1921]. Hall (5) suchte den Abschluß der Luft auf mechanischem Wege herzustellen, indem er Reagenzgläser mit einer Verengung des Lumens benutzte, die durch eine Murmel oder ein passendes Konvexglas verschlossen werden kann; in dem so von der Außenluft abgeschlossenen unteren Teil der Nährflüssigkeit kommen anaërobe Keime zur Entwicklung.

Die beiden von mir erprobten Verfahren der Anaërobenzüchtung sind auch in kleinen Laboratorien mit geringen Hilfsmitteln jederzeit verwendbar, da keinerlei Apparatur erforderlich ist und auch von der Verwendung sterilen Gewebes und dem jetzt ziemlich kostspieligen Pyrogallusverfahren nach Buchner abgesehen wird. (1 g Pyrogallussäure kostet jetzt 1,35 M.)

Handelt es sich darum, ein Untersuchungsmaterial unter streng anaëroben Bedingungen zu kultivieren, so verimpft man in der üblichen Weise auf Reagenzgläser mit gewöhnlicher Nährbrühe oder der sonst gewählten Nährflüssigkeit, fügt auf 10 ccm der Nährlösung 0,5 ccm einer  $\frac{1}{2}$ -proz. Natriumsulfidlösung hinzu und überschichtet mit einer etwa 0,5 cm dicken Schicht durch leichtes Erwärmen verflüssigter weißer Vaseline. Diese erstarrt sogleich und stellt einen absolut sauerstoffdichten Luftabschluß her. Als Kontrolle läßt man ein unbeimpftes Röhrchen, mit der gleichen Menge Natriumsulfidlösung, einem Tropfen einer 1-proz. sterilen wässerigen Methylenblaulösung und dem „Vaselinesiegel“ beschickt, mitlaufen, an dem man kontrollieren kann, daß nach wenigen Minuten der Farbstoff unter der Vaseline reduziert ist und sich beim Aufenthalt im Brutschrank unbegrenzt in diesem Zustande hält. Zwecks Untersuchung wird das Vaselinesiegel durch leichtes Erwärmen an der Flamme flüssig gemacht und die Entnahme des Kulturmaterials mittels ausgezogener Kapillare ausgeführt, um eine mikroskopische Untersuchung oder einen Oberflächenausstrich anzuschließen. Natriumsulfid ist bei der Firma Kahlbaum zu 54 M. je kg zu beziehen und gut verschlossen aufzubewahren, da es stark Wasser anzieht. 20-proz. Stammlösung hat sich in Erlenmeyer-Kolben mit grauer Watte verschlossen bei mir einige Wochen gebrauchsfähig gehalten. Die Lösung wird in sterilem Wasser hergestellt und darf nachträglich nicht sterilisiert werden. Als Vaseline habe ich von der Hageda ein petroleumfreies weißes Präparat „Wilburine“ zur 135 M. das Kilo benutzt. Man schmilzt kleine Mengen im Kölbchen und sterilisiert den Inhalt durch Kochen auf dem Drahtnetz.

Die Methode stellt also eine Modifikation des 1898 von Trenkman (13) angegebenen Verfahrens dar und bedeutet diesem gegenüber insofern einen kleinen Fortschritt, als es durch Kombination mit einer Vaselinesiegelung mit geringeren Mengen Natriumsulfid gelingt, anaërobe Bedingungen herzustellen und diese unbegrenzt lange festzuhalten. Ein Gehalt von 0,025 Proz. Natriumsulfid stellt auch für empfindliche pathogene Keime wie beispielsweise Spirochäten kein Entwicklungshindernis

dar. Als Reduktionsmittel hat Natriumsulfid vor Traubenzucker und organischem Gewebe den Vorzug, daß es rascher wirkt und bereits nach wenigen Minuten die anaëroben Bedingungen herstellt. Man kann zwar auch ohne Vaselinesiegelung durch Zusatz von Natriumsulfid zu gewöhnlicher Nährbrühe anaërobe Bedingungen und Wachstum von Tetanusbazillen erzielen, muß dann aber größere Mengen des Präparates benutzen. Mit etwa 3 Tropfen einer 10-proz. Lösung kann man beispielsweise 10 ccm Fleischbrühe, der ein Tropfen 1-proz. Methylenblaulösung zugesetzt ist, ohne Siegel über 24 Std. lang farblos erhalten.

Das 2. Verfahren, das sich mir als praktisch erwiesen hat, kommt in Frage, wenn es sich darum handelt, ein Untersuchungsmaterial gleichzeitig unter aëroben und anaëroben Bedingungen zu kultivieren. Sofern über die Natur und das Sauerstoffoptimum der fraglichen Krankheitserreger keine sicheren Anhaltspunkte vorliegen, müßte man theoretisch in diesen Fällen Nährböden mit abgestuften Sauerstoffspannungen verwenden oder wenigstens nebeneinander aërobe und anaërobe Verfahren anwenden. In der Praxis ist ein derartiges Vorgehen bislang allerdings wegen seiner Umständlichkeit häufig unterblieben. Aus diesen Gesichtspunkten hat Hall (5), wie oben erwähnt, das mit einer Einschnürung versehene Reagensglas als Vereinfachung empfohlen, das in dem unteren mit einer Murmel abgedeckten Teil einen Nährboden für aërophobe, und im oberen offenen Teil gleichzeitig für aërophile Keime bietet. Hitchens (6) hat das Gleiche durch Zusatz von 0,1 Proz. Agar zur Nährlösung erreicht.

Ich gehe folgendermaßen vor: Nachdem das Untersuchungsmaterial in ein gewöhnliches Reagensglas mit der gewählten Nährlösung eingimpft und darin verteilt ist, wird auf 10 ccm 0,5 ccm einer  $\frac{1}{2}$ -proz. Natriumsulfidlösung zugesetzt, darauf ein enges Glasrohr von etwa 10 cm Länge und 3—4 mm lichter Weite, das an einem Ende zugeschmolzen und dann sterilisiert worden ist, mit steriler Pinzette gefaßt, mittels ausgezogener Glaskapillare mit der beimpften Nährlösung maximal gefüllt und umgekehrt in das äußere Röhrchen hineingetan. Ein unbeimpftes mit einem Tropfen einer 1-proz. sterilen Methylenblaulösung versetztes Röhrchen der gleichen Nährflüssigkeit, das ebenso hergerichtet wird und als Kontrolle mitgeht, zeigt an, daß zunächst der Farbstoff in beiden Röhrchen reduziert wird, aber nach einigen Minuten im äußeren Schenkel seine blaue Färbung wieder gewinnt, während der innere Schenkel auch nach mehrtägigem Aufenthalt des Röhrchens im Brutschrank farblos bleibt. Man hat also mit einfachen Mitteln einen Nährboden hergestellt, der im inneren Röhrchen anaërobe, im äußeren Röhrchen aërobe Bedingungen und in der Kuppe eine verminderte Sauerstoffspannung aufweist. In der Tat beginnen in einem solchen Röhrchen sogenannte strenge Anaërobier wie Tetanus-, Gasbrand- und Rauschbrandbazillen im inneren, und Alkaligenes-Bazillen im äußeren Schenkel zu wachsen, und wenn man eine Mischkultur von beiden einsät, erhält man im inneren Röhrchen eine Anreicherung der Anaërobier, im äußeren Schenkel des letztgenannten obligaten Aërobiers: nach Herausnahme des inneren Glasrohres, was man infolge der das Auslaufen verhindernden Kapillarität ohne weiteres tun kann, läßt sich dann das angereicherte Material getrennt auf Platten weiter verarbeiten.

Die obige Modifikation geht zurück auf eine von Theobald Smith (19) 1893 mitgeteilte Beobachtung, daß Reduktionserscheinungen im geschlossenen Schenkel des von ihm angegebenen Gärungskölbchens

besonders gut zu beobachten seien. Beijerinck (21) hat dann 1895 dieses Gärungskölbchen zur Trennung von Aërobiern und Anaërobiern aus Gemischen benutzt und dafür ein besonderes „Trennungskölbchen“ angegeben. Einfacher als mit diesen U-förmig gebogenen Kölbchen arbeitet es sich mit den Gärungsröhrchen nach Durham (20), wie sie bei uns im Gebrauch sind, und die man sich derart herstellt, daß man in gewöhnliche Reagensgläser mit Traubenzuckerbrühe umgekehrt Uhlenhuth-Röhrchen versenkt, die sich beim Sterilisieren restlos mit der Nährlösung vollsaugen. Sät man in die äußere Flüssigkeit eines solchen Gärungsröhrchen beispielsweise Tetanusbazillen ein, so kommen sie im inneren Schenkel so stark zur Entwicklung, daß sich auch der äußere Schenkel trübt. Ein derartiges Gärungsröhrchen ist also ebenfalls zur gleichzeitigen Züchtung von Aërobiern und Anaërobiern zu gebrauchen. Bei der Verwendung eines engen inneren Glasrohres mit kapillaren Eigenschaften, wie ich es eben beschrieben habe, gewinnt man indes insofern Vorteile, als man sich die Vorrichtung ohne vorherige Sterilisation jedesmal bei Bedarf sogleich selbst herstellen und das innere Röhrchen beliebig wieder herausnehmen und für sich verarbeiten kann; endlich ist dabei auch die Möglichkeit geboten, auch solche Nährlösungen zu benutzen, die wie etwa Serumwasser oder Serumbrühe das Sterilisieren, das zur Herstellung der Durhamschen Röhrchen notwendig ist, nicht vertragen.

#### Literatur.

- 1) McIntosh, J., and Fildes, P., *Lancet*. 1916. p. 768. — 2) Thompson, Leonard R., *Journ. infect. Dis.* Vol. 27. 1920. p. 240. — 3) Gates, Frederic L., and Olitsky, Peter K., *Journ. exp. Med.* Vol. 33. 1921. p. 51. — 4) Brown, J. Howard, *Ibid.* Vol. 33. 1921. p. 677. — 5) Hall, Ivan C., *Journ. infect. Dis.* Vol. 29. 1921. p. 317. — 6) Hitchens, A. Parker, *Ibid.* Vol. 29. 1921. p. 390. — 7) Knorr, Maximilian, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 86. 1921. S. 596. — 8) Adam, A., *Zeitschr. f. Kinderheilk.* Bd. 29. 1921. S. 59; Ref. in *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd.* 73. 1922. S. 134. — 9) Tarozzi, G., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 38. 1905. S. 619. — 10) Wrzosek, A., *Wien. klin. Wochenschr.* 1905. S. 1268. — 11) Ders., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 43. 1907. S. 17. — 12) Kitasato, S., u. Weyl, Th., *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 8. 1890. S. 41. — 13) Trenkmann, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd.* 23. 1898. S. 1038. — 14) Hammerl, H., *Ibid. Abt. I. Bd.* 30. 1901. S. 658. — 15) Hata, S., *Ibid. Bd.* 46. 1908. S. 539. — 16) Liefmann, H., *Münch. med. Wochenschr.* 1907. S. 823. — 17) Novy, F. G., *Centralbl. f. Bakt. Bd.* 14. 1898. S. 581. — 18) Pfuhl, E., *Ibid. Bd.* 44. 1907. S. 378. — 19) Smith, Theobald; *Ibid. Bd.* 7. 1893. S. 502. — 20) Durham, H. E., *Brit. med. Journ.* 1898. p. 1387; *Referat: Hyg.-Rundsch.* 1899. S. 702. — 21) Beijerinck, W. M., *Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I.* 1895. S. 104.

# Mitglieder-Liste

der

Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie.

(Juli 1922).

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
1	Abel	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Jena	Hygien. Institut
2	v. Angerer	Privatdozent	Erlangen	" "
3	Baerthlein	Reg.-Med.-Rat, Prof. Privatdoz.	Würzburg	Versorgungslazarett
4	Bail	Professor	Prag	Hyg. Institut (Deutsche Univ.)
5	Ballner	"	Preßburg	Isabellagasse 5
6	Barnewitz	Dr. med.	Kiel	Hygien. Institut
7	Baumgarten	Direktor	Trier	Med.-Unters.-Amt
8	Beck, M.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Stade	" "
9	Bernhardt	Dr. med.	Charlottenburg	Geisbergstr. 12/13
10	Besserer	Professor	Münster i. W.	Med.-Unters.-Amt
11	Bieber	Dr. med.	Marburg a./L.	Institut E. v. Behring
12	Biedl	Professor	Prag	Institut für exper. Pathol. dt. Univ., Krankenhausg.
13	Bieling, R.	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Weidmannstr. 43
14	Bierbaum	Privatdozent	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochschule
15	Binder	Leiter	Pforzheim	Bakt. Untersuchungsamt
16	Bischoff	Generaloberarzt, Prof.	Spandau	Stresowplatz
17	Bitter	Professor	Kiel	Hygien. Institut
18	Blumenthal	Dr. med.	Berlin N. 39	Institut „Robert Koch“
19	Boecker	Dr. med.	Berlin N. 39	" "
20	Boehncke	Professor	Berlin NW. 40	„Scharnhornstraße“ 13
21	Börnstein	Direktor	Gumbinnen	Med.-Untersuchungsamt
22	Bongert	Professor	Berlin W. 50	Pragerstraße 11
23	Bonhoff, H.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Marburg	Hygien. Institut
24	Braun	Professor	Frankfurt a. M.	" "
25	Breßlau, E.	"	Frankfurt a. M.	Georg Speyer-Haus
26	Březina	Privatdozent	Wien	Staatsamt f. Volksgesundh.
27	Bruns, H.	Professor	Gelsenkirchen	Institut f. Hyg. u. Bakter.
28	Bugge	Vorsteher	Kiel	Bakt. Inst. f. Tierseuchen
29	Burri	Professor	Bern	Auf dem Liebfeld
30	Bürgers	"	Düsseldorf	Hygien. Inst. der Akademie
31	Conradi, H.	"	Zwickau	Carolastr. 17
32	Czaplewski	"	Köln a. R.	Vorgebirgstr. 19
33	Dietrich	"	Köln-Lindenthal	Pathol. Institut
34	Dietrich, W.	Oberstabsarzt	Berl.-Lichterfelde	Friedrichstr. 3a
35	Doerr	Professor	Basel	Hygien. Institut
36	Doflein	"	Breslau	Zoologisches Inst.
37	Dold	"	Marburg a./L.	Institut E. v. Behring
38	Dresel	"	Heidelberg	Hygien. Institut
39	v. Drigalski	"	Halle a. Saale	Stadtarzt
40	v. Dungern, Freih.	"	Ludwigshafen a. Bodensee	—

9. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922. \*253

r.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
1	Eichholz, Wilhelm	Dr. med.	Darmstadt	Kekuléstr. 6
2	Eisler	Professor	Wien	Serotherap. Institut
3	Elkeles	Dr. med.	Charlottenburg	Neuer Fürstenbrunn. Weg 13/15
4	Erdmann, Rhoda	Privatdozentin	Berlin-Wilmersd.	Nassauische Str. 17
5	Ficker	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. experim. Therapie
6	Fischer	Polizeiarzt	Berlin NW. 40	Scharnhorststraße 13
7	Fornet	Oberstabsarzt a. D.	Saarbrücken	Feldmannstr. 59.
8	Friedberger	Professor	Greifswald	Hygien. Institut
9	Friedemann	"	Berlin	Bud. Virchow-Krkh.
10	Fromme	Professor	Witten a. R.	Stadtarzt
11	Frosch	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochschule
12	Fülleborn	Professor	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
13	Gärtner, A.	Geheimer Rat, Prof.	Jena	Magdelstieg 2
14	Gegenbauer	Oberbezirksarzt	Wien XVIII	Karl Beckgasse 39
15	Gehrke	Direktor	Stettin	Städt. Gesundheits-Amt
16	Gerlach, Franz	Direktor, Privatdozent	Mödling b. Wien	Staatl. Tierimpfstoffgewinnungs-Anstalt
17	Gersbach	Dr. med.	Frankf. a. M.	Hyg. Institut
18	Ghon	Professor	Prag	Pathol.-anat. Inst
19	Gildemeister, E.	Ober-Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
20	Gins, H. A.	Abteilungsleiter	Berlin N. 39	Institut „Rob. Koch“
21	Glage	Obertierarzt, Prof.	Hamburg	Kampstr. 31.
22	Gottschlich, E.	Professor	Gießen	Hygien. Institut
23	Grassberger	"	Wien IX	" "
24	v. Gruber	Geheimer Rat, Prof.	München	" "
25	Günther	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berl.-Lichterfelde	Hindenburgdamm 122
26	Haendel	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berl.-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
27	Hahn	Geh. Hofrat, Prof.	Freiburg i. B.	Hygien. Institut
28	Hailer	Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
29	Hartmann, M.	Professor	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. Biologie
30	Hartoch	Dr. med.	Petersburg	—
31	Hartung	Dr. med. et phil.	Dresden A	Liebigstr. 8 I.
32	Heck	Direktor	Coblenz	Med.-Untersuchungsamt
33	Heim, L.	Professor	Erlangen	Hygien. Institut
34	Heller	"	Dresden-A.	An der Mauer 2
35	Helly	Professor	St. Gallen (Schweiz)	Museumstr. 45
36	Hetsch	"	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
37	Heymann	Prof., Privatdozent	Berlin NW. 7	Hyg. Institut
38	Hilgermann	Professor	Saarbrücken 1	Inst. f. Hyg. u. Bakt.
39	Hilgers	Privatdozent	Königsberg i./Pr.	Hyg. Institut
40	Hoffmann, Wilh.	Professor	Berlin C. 2	Städt. Haupt-Gesundheitsamt.
41	Hoffmann, Erich	"	Bonn	Klin. f. Haut- u. Geschlechtskr.
42	Hübener	"	Luckenwalde	Karlstraße 40
43	Hübemann	"	Leipzig	Johannisallee 9
44	Huntemüller	Prof., Privatdozent	Gießen	Frankfurterstr. 101
45	Hüppe	Hofrat, Prof.	Dresden-A. 7	Eisenstockstr. 28
46	Jaeger	Professor	Coblenz	Triererstr. 115
47	Jacobitz	"	Beuthen i.O.-Schl.	Hygien. Institut
48	Jacobsthal	Privatdozent	Hamburg	Krankenhaus St. Georg
49	Joest	Obermedizinalrat, Prof.	Dresden-A.	Tierärztl. Hochschule
50	Joetten, Karl W.	Privatdoz.	Leipzig	Windmühlenweg 23 I
51	Joseph, K.	Dr. med. vet.	Höchst a. M.	Farbwerke
52	Kayser	Oberstabsarzt	Münster i./W.	Kanalstr. 32
53	Katze	Professor	Breslau 16	Med.-Unters.-Amt
54	Keck	Oberarzt	München	Bakt. Untersuchungsanstalt
55	Kersten, H. E.	Medizinalrat	Münster i. W.	Med.-Unters. Amt
56	Kirchner	Wirkl. Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof.	Berlin W. 30	Landsbuterstr. 35
57	Kirstein	Professor	Hannover	Med.-Unters.-Amt
58	Kisaskalt	"	Kiel	Hygien. Institut
59	Kiater	"	Hamburg	" "

254\* 9. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922.

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
100	Klein	Direktor	Düsseldorf	Med.-Untersuchungsamt
101	Kleine, F. K.	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
102	Kleinsorgen	Leiter	Gotha	Bakt. Untersuchungsamt
103	Klimmer	Obermedizinalrat, Prof.	Dresden	Reinickstr. 7
104	Klose	Stadtarzt	Wittenberge	Bahnstraße 15
105	Knorr	Oberarzt	Erlangen	Bakt. Untersuchungsamt
106	Knuth	Professor	Landsberg a. W.	Institut für Tierhygiene
107	Koch, Jos.	„	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
108	Kolle, W.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therap.
109	Konrich	Reg.-Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 40	Scharnhorststr. 35
110	Korff-Petersen	Professor	Berlin	Hygien. Institut
111	Kossel, H.	Geh. Hofrat, Prof.	Heidelberg	„Brasilien“
112	Kraus	Professor, Direktor	Butantan—Sao Paolo	Med. Poliklinik
113	Krause	Geh. Med.-Rat, Prof.	Bonn	Med. Poliklinik
114	Krumbein	Professor	Bern	Institut z. Erf. d. Inf.-Krit.
115	Kruse	Geh. Med.-Rat, Prof.	Leipzig	Hygien. Institut
116	Kuhn, Ph.	Professor, Direktor	Dresden-A.	Zelleeche Str. 28
117	Küster, E.	Prof.	Oberursel/Taunus	Pharmaz. Inst. v. L. W. Gau
118	Kutscher	Reg. u. Med.-Rat	Allenstein	Regierung
119	Landmann	Dr. med.	Darmstadt	Chem. Fabr. E. Merck
120	Landsteiner	Professor	New York	Rockefeller-Institut
121	Lange, Bruno	Stabsarzt a. D.	Berlin	Institut „Robert Koch“
122	Lange, Ludwig	Ober-Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
123	Lehmann	Geh. Hofrat, Professor	Würzburg	Hygien. Institut
124	Lentz	Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof., Ministerialrat	Berlin W. 66	Leipzigerstr. 3
125	Levinthal	Dr. med.	Berlin	Institut „Robert Koch“
126	Lichtenheld	Geh. Reg.- u. Veterinär	Weimar	Carl Alexanderstr. 11
127	v. Lingelsheim	Geh. Med.-Rat, Prof.	Bentzen(O.-Schl.)	Hygien. Institut
128	Lockemann	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Institut „Robert Koch“
129	Löns	Vorsteher	Dortmund	Hyg.-bakt. Institut
130	Lorenz	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Darmstadt	Mathildenpl. 17
131	Löwenstein	Professor	Wien IX/21	Serotherap. Institut
132	Lührs	Prof., Oberstabsveterinär	Berlin-Dahlem	Fabeckstr. 43
133	Maassen	Geh. u. Ober-Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Steglitz	Breitestr. 2
134	Mandelbaum	Dr. med.	München	Elisabeth-Str. 7
135	Manteufel	Ober-Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
136	Marmann	Reg.- u. Med.-Rat	Trier	Regierung
137	Markl	Sektionschef	Prag	Ministerium f. Volksges.
138	Martini, E.	Professor	Bogota	Columbien
139	Martini, E.	Dr. med. et phil.	Hamburg	Tropenhygien. Institut
140	Marx, E.	Professor	Frankfurt a. M.	Myliusstraße 59
141	Meinicke, Ernst	Direktor	Ambrock (Hagen)	Volksheilstätte
142	Meier, G.	Reg.-Arzt, Leiter	Halle a./S.	Typhus-Untersuchungsamt
143	Messerschmidt, Th.	Professor	Hannover	Baumstr. 3 A.
144	Meyer	Professor	Bremen	Hygien. Institut
145	Meyer, Kurt	Abteilungsvorsteher	Berlin	Rud. Virchow-Krkh.
146	Mießner	Professor	Hannover	Tierärztl. Hochsch.
147	Möllers, B.	Ober-Reg.-Rat, Prof.	Berlin NW. 23	Klopstockstr. 18
148	Morgenroth	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
149	Mohrmann	Reg.- u. Med.-Rat	Coblenz	Regierung
150	Much	Professor	Hamburg-Eppendorf	Krankenhaus
151	Müller, Reiner	„	Köln-Lindenthal	Hygien. Institut
152	Musehold	Obergeneralarzt a. D.	Berl.-Lichterfelde	Sternstr. 43
153	Neißer	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Hygien. Institut
154	Neufeld, F.	„	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
155	Nocht	Obermedizinalrat, Prof.	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
156	Nöller	Professor	Berlin	Tierärztliche Hochschule
157	Noetel	Abteilungsvorsteher	Landsberg a. W.	Hygien. Institut

9. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922. \*255

Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
Nushag	Technischer Direktor	Perleberg	Impfstoffwerk
Oettinger	Professor	Charlottenburg	Stadtmedizinalrat
Olsen	Privatdozent	Freiburg i./Br.	Hygien. Institut
v. Ostertag	Minist.- u. Geh. Reg.-Rat, Prof.	Stuttgart	Schwabstraße 126
Otto, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Rob. Koch“
Overbeck	Generaloberarzt a. D.	Schwerin i. Meckl.	Braugewürzstr. 6
Paltauf	Prof., Hofrat	Wien	Serotherap. Inst.
Paschen	Prof., Oberimpfarzt	Hamburg	Alte Rabenstr. 14
Petruschky	Professor	Danzig Langfuhr	Techn. Hochschule
Pfeiffer, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Breslau	Hygien. Institut
Pfeiffer, L.	Geh. Obermedizinalrat, Prof.	Schwerin i. Meckl.	Schelfstr. 29
Pfeiler	Professor	Jena	Forstweg Nr. 1
Pick, E. P.	„	Wien IX	Pharmakol. Inst.
Plaut, H. C.	„	Hamburg	Neue Rabenstr. 21
Plehn	„	Berlin W. 62	Kleiststr. 22
Poppe	Dr. med. et phil.	Charlottenburg	Bleibtreustraße 4 I.
Prausnitz, Carl	Professor	Breslau	Hygien. Institut
Prausnitz	Professor	Graz	„
Pibram, Ernst	„	Wien IX	Zimmermannngasse 3
Pröscholdt	Dr. med. vet	Züllchow (Pom.)	Gesundheitsamt d. Landwirtschaftskammer
Pusch	Kreismedizinalrat	Breslau	Augustastr. 110
Raubitschek	Professor	Czernowitz (Rum.)	Pathol. Institut
Raebiger	Direktor, Prof.	Halle a./S.	Freimfelderstr. 68
Rautenberg	Leiter	Erfurt	Bakt. Untersuchungsanstalt
Reichel	Professor	Wien IX	Hygien. Institut
Reichenbach	Geh. Med.-Rat, Prof.	Göttingen	„
Reichenow	Privatdozent	Hamburg	Tropenhygien. Institut
Reinhardt	Dr. med.	Leipzig	Astorstraße 17.
Reiter	Prof., Privatdozent	Rostock i. Meckl.	Hygien. Institut
Rimpau	Prof., Direktor	Solln/München	Bakt. Unters.-Anst.
da Rocha-Lima	Professor	Hamburg	Tropenhygien. Institut
Rosenthal, W.	Prof., Privatdozent	Göttingen	Hygien. Institut
Roth	Professor	Zürich	Englischeviertelstraße 54
Rothermundt	Privatdozent	Dresden	Dt. Kaiser-Allee 5
Ruß	Professor	Wien IX	Sensengasse 2
Ruge	Mar.-Obergeneralarzt a. D., Professor	Klotzsche b. Dresd.	Bahnhofstr. 6
Ruppel	„	Berlin SW. 68	Lindenstr. 35
Ruppert	„	La Plata	Argentinien
Sachs, H.	„	Heidelberg	Krebsinstitut
Scharr	Direktor	Berlin NW. 40	Bakt. Inst. d. Landwirtschaftskammer d. Prov. Brandenburg, Kronprinzen-Ufer Nr. 4
Schattenfroh	Professor	Wien IX	Hygien. Institut
Scheller	Professor	Breslau	„
Schiemann, O.	Abteilungsleiter	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
Schilling	Professor	Berlin N. 39	„
Schloßberger	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
Schmidt, Hans	Privatdozent	Hamburg	Mittelweg Nr. 45 I
Schmidt, Paul	Professor	Halle a. S.	Hygien. Institut
Schmitt	„	München	Veterinärstr. 6
Schmorl	Geh. Med.-Rat, Prof.	Dresden	Städt. Krankenhaus Friedrichstadt
Schnabel, A.	Abteilungsleiter	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
Schreiber	Direktor	Landsberg a./W.	Heinersdorferstr. 14
Schnürer, Jos.	Professor	Wien III	Tierärztl. Hochschule
Schuberg	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
Schürmann	Professor	Gießen	Hygien. Institut
Schütz	„	Kiel	„

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
213	Schwarz, L.	Privatdozent	Hamburg 36	Hygien. Institut
214	Seiffert	Dr. med.	Marburg/Lahn	Institut E. v. Behring
215	Seitz	Professor	Leipzig	Hygien. Institut
216	Seligmann E.	"	Berlin W. 15	Xantenerstr. 5
217	Selter	"	Königsberg i. Pr.	Hygien. Institut
218	Silberschmidt	"	Zürich	"
219	Sobernheim	"	Bern	Inst. 'z. Erf. d. Infekt.
220	Sommerfeld	"	Berlin W. 15	Kaiserallee 201
221	Stempell	"	Münster i. W.	Nordstr. 34
222	Stickdorn	Techn. Leiter	Landsberg a./W.	Bakt. u. Serum-Inst.
223	Sticker	Professor	Bad Honnef. a./Rh.	—
224	Süpfle, Karl	"	München	Hygien. Institut
225	Tiede	Leiter	Köln	Bakt. Inst. Schlachthaus
226	Titze	Geh. Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
227	Tjaden	Obermedizinalrat, Prof.	Bremen	Dobben 91
228	Trommsdorff, R.	Dr. med.	München	Bavariaring 20
229	Uhlenhuth	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Marburg a./L.	Institut E. v. Behring
230	Wagner	Direktor	Danzig	Med.-Untersuchungsamt
231	Waldmann	Leiter	Insel Riems bei Greifswald	Forschungs-Institut f. M. und Klauenseuche
232	Walter	Professor	Köslin i./Pom.	Kreismedizinalrat
233	Wankel	Direktor	Stettin	Med. Unters.-Amt
234	v. Wasielewski	Professor	Rostock i. Meckl.	Hygien. Institut
235	v. Wassermann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. exp. B.
236	Weber	Geh. Reg.-Rat, Präsident	Dresden	Landesgesundheitsamt
237	Weichardt	Professor	Erlangen	Hygien. Institut
238	Weidanz	Kreisarzt	Bremen	Frühling-Str.
239	Weleminsky	Dozent	Prag-Smichow	Hygien. Institut d. Deutsch. Universität
240	Wernicke	Geh. Med.-Rat, Prof.	Landsberg a. W.	Hygien. Institut
241	Woithe	Reg.-Rat, Direktor	Dresden-A.	Hygiene-Museum
242	Wolff	Professor	Tübingen	Hygien. Institut
243	Wunschheim	San.-Konsulent	Wien I	Volksges.-Amt im Reichsministerium
244	Zuelzer, Margarete	Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
245	Zwick	Professor	Gießen	Universität



## Inhalt.

- Amster**, Ein neues Züchtungsverfahren für Protozoen, S. \*166.
- Bender, W.**, u. **Prausnitz, C.**, Ueber die Beziehungen zwischen Temperatur und Komplementwirkung. 1. Mitteilung, S. \*219.
- Bieber, W.**, Neue Versuche über Diphtherie-Schutzimpfung mit einem modifizierten Behringschen TA, S. \*143.
- Breslau**, Die Ausscheidung entgiftender Schutzstoffe bei Ciliaten, S. \*87.
- Dold, H.**, Ueber den Wert kurvenmäßiger Ablesung der Luesreaktion. Mit 6 Kurven im Text, S. \*208.
- , Demonstration von „Trocken-Tropfen“-Bildern. Mit 6 Abbildungen im Text, S. \*235.
- Drosel, E. G.**, u. **Keller, W.**, Bakterien-tötende Kräfte im Serum von Gesunden und Kranken, S. \*240.
- Gildemeister, E.**, Weitere Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen, S. \*181.
- Gins, H. A.**, Neuere Ergebnisse der experimentellen Maul- und Klauenseucheforschung, S. \*159.
- Haller**, Die chemischen Grundlagen der Desinfektionswirkung, S. \*2.
- Hersberg**, Bakteriologische und physiologisch-chemische Untersuchungen mit o-oxy-jod-sulfon-benzolpyridin (Yatren). Ein Beitrag zur Reizkörpertherapie, S. \*238.
- Hilgers**, Ernährungszustand und Komplementgehalt beim Meerschweinchen, S. \*217.
- Koch, Jos.**, Die Tätigkeit und die Bedeutung der Kapillarendothelien bei der hämatogenen Allgemeininfektion, S. \*243.
- Kolle u. Schloßberger**, Chemotherapeutische Versuche bei Tuberkulose, sowie über Experimente mit Abortivbehandlung der Kaninchensyphilis, S. \*108.
- Kahn**, Weitere Ergebnisse der Erforschung der A-Formen bei Bakterien, S. \*199.
- Lange**, Demonstration eines Blutnährbodens, S. \*154.
- u. **Fränkel, M.**, Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Tuberkelbazillen, S. \*150.
- u. **Heuer**, Einfluß des Verdünnungsmediums auf Antikörperreaktionen, S. \*224.
- Levinthal, W.**, Morphologie der hämoglobinophilen Bazillen und die Influenzafrage, S. \*132.
- Mandelbaum**, Ein neuer Nährboden zur Diphtheriediagnose bzw. zur Differenzierung der echten Diphtheriebazillen. Farbstoffbildende Abkömmlinge der Diphtheriebazillen, S. \*148.
- Manteufel, P.**, Ueber Anaerobenzüchtung, S. \*248.
- Mießner**, Rauschbrand und Pararauschbrand, S. \*123.
- Morgenroth**, Zur Kenntnis der Arzneifestigkeit, S. \*110.
- Neufeld**, Desinfektionspraxis, S. \*28.
- Nöller**, Die Bekämpfung der hygienisch wichtigen tierischen Schädlinge, S. 37\*.
- Oehler, Rud.**, Dictyostelium mucoroides (Brefeld), S. \*155.
- Olitzki**, Die Unterscheidung des Bacillus breslaviensis vom Paratyphusbazillus, S. \*156.
- Prausnitz, Carl**, Der Bacillus mucosus anaerobius. Mit 4 Abbildungen, S. \*126.
- , Untersuchungen über den d'Herelleschen Bakteriophagen. (Erste Mitteilung: Die Natur des Bakteriophagen.) S. \*187.
- Raebiger, H.**, Ueber die rationelle Rattenvertilgung vom hygienischen und ökonomischen Standpunkt, S. \*156.
- Reichenbach**, Die theoretischen Grundlagen der Desinfektion. Mit 3 Kurven im Text, S. \*15.
- Schittenhelm, A.**, Ueber Theorie und Praxis der Proteinkörperwirkung, S. \*90.
- Schnabel**, Ueberempfindlichkeitsversuche an Bakterien, S. \*111.
- Schnürer**, Ueber Veränderungen säurefester Bakterien in Kulturen auf Saponin-haltigen Nährböden, S. \*150.
- Schumacher, J.**, Demonstration zum chemischen Aufbau der Hefezelle, S. \*206.
- , Die Prozesse der Zellfärbung, S. \*206.
- Seiffert, W.**, Ein Beitrag zur Variation der Bakterien und zum d'Herelleschen Phänomen, S. \*195.
- Seitz**, Die Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle, S. \*135.
- Selter, H.**, Ueber Tuberkulose-Schutzimpfung, S. \*149.

258\* 9. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg 1922.

- Süpfle**, Ueber das sogen. Arndt-Schulz-  
sche biologische Grundgesetz, S. \*112.
- Uhlenhuth** u. **Seiffert**, Zur Chemothera-  
pie der Kaninchensyphilis mit organi-  
schen Antimonpräparaten, S. \*177.
- Waldmann, O.**, u. **Trautwein, C.**, Ueber  
Infektion und Immunität bei Maul- und  
Klauenseuche, S. \*162.
- Weissenberg**, Die infektiöse Lymphocystis-  
krankheit der Fische in ihrer Bedeutung  
für die Auffassung von Zelleinschlüssen  
bei den sog. Chlamydozoenkrankheiten,  
S. \*169.
- Wolf, G.**, Weitere Untersuchungen über  
die Verbreitung der durch Fleckfieber-  
serum agglutinablen *Proteus* (X)-Stämme.  
(Zur Klärung der Weil-Felixschen  
Reaktion.) S. \*225.
- Zeisler**, Die Diagnostik der anaëroben  
Sporenbildner, S. \*117.
- Zuelser, Margarete**, Freilebende Wasser  
spirochäten als Krankheitserreger, S. \*171.

Ausgegeben am 18. November 1922.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über den Stoffwechsel der Bakterien.

### I. Die Bedeutung freier Aminosäuren, demonstriert an der Indolreaktion.

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

Von Erich Zdansky.

Die Indolreaktion hat in neuerer Zeit stark an praktischem Interesse eingebüßt und ist heute durch andere Identifizierungsmethoden mehr und mehr in den Hintergrund gedrängt worden. Die Ursache dafür liegt zum großen Teil darin, daß sie bei scheinbar gleichen Bedingungen nicht mit der für Identifizierungsmethoden wünschenswerten Regelmäßigkeit und Schnelligkeit auftritt.

Bald nach der ersten Beschreibung durch Bujwid und Dunham war man bemüht, die Verhältnisse so zu gestalten, daß sie regelmäßiger, prompter und intensiver in die Erscheinung träte. Stutzer und Burri waren die ersten, die — ohne den Chemismus der Indolbildung zu berücksichtigen — in ausgedehnteren Untersuchungen den Einfluß verschiedener Faktoren, insbesondere des verwendeten Handelspeptons, der Peptonkonzentration und der Reaktion des Nährmediums in den Kreis ihrer Betrachtungen zogen, ohne jedoch wesentliche Unterschiede feststellen zu können. Von besonderer Wichtigkeit aber war der von Gorini und Kruse erbrachte Nachweis, daß die Gegenwart von durch die betreffende Bakterienart vergärbaren Kohlehydraten die Indolbildung mehr oder weniger, ja vollständig hemme. Wir sind heute durch zahlreiche Untersuchungen (Marshall, Glenn, Fischer, Zunz und György, Nacktergael u. a.) über den Einfluß der verschiedenen Kohlehydrate gut unterrichtet, jedoch ist es bisher nicht gelungen, diese Erscheinung auch zu deuten. Das völlige Ausbleiben der Indolreaktion bei Anwesenheit von Glukose schien auf eine tiefgehende Aenderung des Stoffwechsels der Bakterien zu deuten. Man stellte sich zunächst vor, daß bei gleichzeitigem Angebot von Eiweißkörpern und ihren Derivaten und Kohlehydraten die Bakterien sich für die letzteren entschieden (Gorini), meinte auch, daß die starke Säuerung des Nährmediums die Indolbildung hemme, bis Fischer in Anlehnung an Auerbachs Nachweis, daß bei Gegenwart von Glukose das Bact. vulgare kein proteolytisches (gelatineverflüssigendes) Enzym bilde, auch das Ausbleiben der Indolreaktion im glukosehaltigen Nährmedium bei Bact. coli auf eine „Inaktivierung“ des proteolytischen Bakterienenzym zurückführte. Homer beschuldigt wieder die Bildung eines Glukose-Tryptophankomplexes, der für das Bact. coli nicht annehmbar sei.

Die gegebene Möglichkeit, den Eiweißumsatz durch leicht reproduzierbare Eingriffe zu ändern und diese Aenderung durch das Ausbleiben einer wohldefinierten und leicht nachweisbaren aromatischen Verbindung registrieren zu können, brachte es mit sich, daß die Indolreaktion vom Gesichtspunkt der Ernährungsphysiologie der Bakterien an Interesse gewann, was sie als Kriterium für eine Differenzierung der Keime verloren hatte.

Studien, die dem Stoffumsatz der Bakterien gewidmet sind, führten uns zu einigen Ergebnissen über das Auftreten von Indol, die hier kurz mitgeteilt sein mögen.

Neben Witte-Pepton kam das Pepton Roche zur Verwendung, und da zeigten sich wesentliche Unterschiede. Sowohl bei *Bact. coli* als auch bei *Vibrio cholerae* trat Indol in den Roche-Peptonkulturen regelmäßig bedeutend früher auf und erreichte auch bei den meisten untersuchten Stämmen eine weit höhere Konzentration als in den Kulturen in Witte-Pepton, gleichgültig wie das Pepton verarbeitet wurde, ob als Peptonwasser verschiedener Konzentration innerhalb der gebräuchlichen Grenzen von 0,5 bis 2 Proz. mit oder ohne Kochsalz oder als Nährbouillon.

Die folgenden gekürzten Tabellen mögen dafür als Beispiele dienen.

Tabelle I.

Gleiche Kölbchen mit gleichen Mengen einer 1-proz. Witte- bzw. Roche-Peptonlösung in Leitungswasser mit 0,5 Proz. Kochsalz wurden auf verschiedene H-Konzentrationen eingestellt, sterilisiert und hierauf mit gleichen Mengen einer 18-stünd. Kultur von *Vibrio El-Tor* beimpft.

Anfangs-pH	Witte			Roche		
	5,86	7,65	8,96	5,72	7,22	9,1
Indolbildung und H-Exponent nach 6 <sup>h</sup>	0 5,91	0 7,48	0 8,74	0 5,80	+	0 9,16
11 <sup>h</sup>	0 5,96	0 7,48	0 8,52	+	++	+
20 <sup>h</sup>	0 6,10	+	±	++	+++	+
72 <sup>h</sup>	+++ 7,50	++++ 8,32	++++ 8,57	++++ 8,28	++++ 8,66	++++ 8,74

Aus der Tabelle geht hervor, daß Indol in Pepton Roche schon nach 6 Std. deutlich nachweisbar war, während in Pepton Witte dies erst nach 20 Std. der Fall war. Erst nach 3 Tagen war in den Witte-Peptonkulturen etwa dieselbe Indolmenge vorhanden wie in den Roche-Peptonkulturen. Es ist ferner aus der Tabelle ersichtlich, daß sich Indol am frühesten bei der H-Konzentration zeigte, welche das Wachstum der Bakterien am meisten begünstigte. Bei dieser H-Konzentration waren auch die fermentativen Vorgänge am ausgiebigsten, was sich schon im Ablauf der H-Konzentrationsänderung kundgibt. Daraus ist das so frühzeitige Auftreten charakteristischer Stoffwechselprodukte gut verständlich.

Tabelle II.

Gleiche Kölbchen mit gleichen Mengen einer 0,5-proz. Witte- bzw. Roche-Peptonlösung in Leitungswasser ohne Kochsalzzusatz wurden auf verschiedene H-Konzentrationen eingestellt, sterilisiert und mit gleichen Mengen einer 18-stünd. *Coli-Bouillonkultur* (Stamm Vischer, Cystitis) beimpft.

Anfangs-pH	Witte			Roche		
	5,16	7,62	8,87	4,95	7,52	9,06
Indolreaktion nach 6 <sup>h</sup>	0	0	0	0	+	0
24 <sup>h</sup>	0	0	0	+	++++	++
35 <sup>h</sup>	±	0	0	±	++	++
83 <sup>h</sup>	+	±	±	++	++++	++++
10 Tagen	++	+	+	++++	++++	++++
End-pH	6,78	8,32	8,52	7,58	8,66	8,66

Hier ist der Unterschied der in den Kulturen auftretenden Indolmengen noch auffallender. Die Indolkonzentration blieb in Witte-Pepton konstant und dauernd hinter der in Roche-Pepton bedeutend zurück, trotz guten Wachstums auch in ersterem. Die ersten Spuren waren in Witte-Pepton erst am 2. Tage, in Roche-Pepton schon nach 6 Std. deutlich nachweisbar. Nicht bei jedem geprüften Stamm bestanden so große Differenzen, immer aber übertraf die Indolmenge in Pepton Roche die in Pepton Witte um ein Bedeutendes.

Es fragt sich nun, worauf diese Erscheinung beruht. Das bei gleicher H<sub>2</sub>S-Konzentration in Pepton Roche meist üppigere Wachstum von *Bact. coli* und *Cholera vibrio* ist für diese großen Unterschiede sicher nicht allein verantwortlich zu machen, vielmehr liegt die Ursache wohl in dem hohen Gehalt des Pepton Roche an Tryptophan. Dieses ist, wie sich leicht nachweisen läßt, nicht nur in Polypeptidform gepaart, sondern auch als freie Aminosäure in demselben enthalten. Wie bedeutungsvoll der Gehalt des Nährmediums an freien Aminosäuren für den Stoffwechsel der Bakterien ist, haben die Arbeiten der letzten Jahre, insbesondere der amerikanischen Autoren, gezeigt, und es ist wohl kein Zweifel, daß das im Pepton Roche sozusagen präformierte Tryptophan die Quelle für das in den ersten Stunden des Bakterienwachstums auftretende Indol ist. In anderen Präparaten, in denen freies Tryptophan fehlt oder nur in sehr geringen Mengen vorhanden ist, kann Indol erst gebildet werden, wenn durch die proteolytischen Enzyme der Bakterien Tryptophan aus seinen höher molekularen Verbindungen abgespalten ist.

Ein vorübergehendes Absinken der Indolmenge nach einem initialen Anstieg, wie er in Tab. II ersichtlich ist, kam öfters zur Beobachtung, und es wird nun mit genauen quantitativen Methoden zu untersuchen sein, ob nicht unter den gegebenen Verhältnissen auch bei den sogenannten Indolbildnern ein weiterer Abbau des Indols vorkommt. Die Ergebnisse vieler Autoren sprechen ja dagegen, jedoch scheint dies bei optimalen Bedingungen für den Bakterienstoffwechsel nicht ausgeschlossen.

Es würde sich so die jeweils in der Kultur enthaltene Indolmenge als Resultante aus Produktion und Verbrauch darstellen, zweier Faktoren, die in diesem Falle durch den Gehalt des Nährmediums an freiem Tryptophan bestimmt wären, welcher der Produktion in der ersten Phase des Bakterienwachstums einen Vorsprung vor dem Verbrauche sichert.

#### Literatur.

- Bujwid, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887. S. 52, u. Bd. 4. 1888. S. 494. — Dunham, *ibid.* Bd. 2. 1887. S. 337. — Stutzer u. Burri, *ibid.* Bd. 14. 1893. S. 9. — Gorini, Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. S. 790. — Kruse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894. S. 48. — Marshall, Journ. of Hyg. Vol. 7. 1907. p. 581. — Glenn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 481. — Fischer, Biochem. Zeitschr. Bd. 70. 1915. S. 105. — Zunz u. György, Journ. of Bact. Vol. 1. 1916. — Nacktergael, Compt. rend. Soc. Biol. T. 83. 1920. No. 27. — Auerbach, Arch. f. Hyg. Bd. 31. 1897. S. 311. — Homer, Journ. of Hyg. Vol. 16. 1916. p. 401.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die fusospirilläre Symbiose, die Gattung *Fusobacterium* (K. B. Lehmann) und *Spirillum sputigenum*.

(Zugleich ein Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle.)

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg (Geh. Hofrat Prof. Dr. K. B. Lehmann) und der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen (Prof. W. Weichardt).]

## II. Mitteilung.

### Die Gattung *Fusobacterium*.

Von Dr. med. Maximilian Knorr.

Mit 2 Tafeln und 2 Abbildungen im Text.

**Vorwort.** Die spindelförmigen, sporenfreien Bakterien, die in der Mundhöhle und in den verschiedensten Eiterungsprozessen gefunden sind, wurden von den Autoren, soweit ich sehen kann, regelmäßig als *Bacillus fusiformis* oder *Bacterium fusiforme* beschrieben. Sie hatten wohl das Gefühl, daß die von ihnen gefundenen Arten nicht immer ganz scharf miteinander übereinstimmten. Es hat aber bisher niemand übernommen, diese Arten auseinanderzuhalten. Ich habe 3, im folgenden näher zu beschreibende Formen genauer studiert und bin zur Ueberzeugung gekommen, daß sie als 3 Arten aufgefaßt werden müssen, die zwar untereinander nahe verwandt sind, aber von den übrigen bekannten Mikroorganismen weiter abstehen.

Es war mir deshalb sehr sympathisch, als Herr Geheimrat Lehmann eines Tages meinte, man sollte auf die 3 Formen, die ich isoliert habe, ein besonderes Genus *Fusobacterium* begründen. Das Genus *Fusobacterium* charakterisiert Herr Geh. Hofrat Lehmann: Stäbchen entweder an beiden Enden zugespitzt, oder an einem Ende rund, am anderen spitz und dann meist zu zweien zusammenliegend. Die Organismen sind absolut unfärbbar nach Gram, ausgesprochen anaërob, unbeweglich und immer sporenfrei. Sie zeigen Körner, die als Kerne gedeutet und je nach Stamm oder Art mehr oder weniger gut färberisch dargestellt werden können. Auf diese Definition paßt von den unter anderen Namen als fusiforme Bazillen beschriebenen Organismen höchstwahrscheinlich auch der *Bacillus necrophorus* Flügge (*Corynebacterium necrophorum* Lehmann u. Neumann, *Streptothrix necrophora* Kitt, *Bacillus necroseos* Salomonsen), ein Organismus, den ich bisher noch nicht studiert habe, dessen Studium ich mir aber vorbehalte.

Es besteht zweifellos manche Aehnlichkeit der Fusobakterien mit den Corynebakterien [vgl. *Corynebacterium fusiforme* bei Lehmann und Neumann (1)]. Da jedoch nie echte Verzweigung gesehen

wurde, können die Fusobakterien nicht als Aktinomyceten im Sinne von Lehmann und Neumann gelten.

### Die Gewinnung von Reinkulturen aus der menschlichen Mundhöhle.

Etwas Zahnbelag wurde mit physiol. Kochsalzlösung verrieben, nachdem im Originalpräparat und im Dunkelfeld die Anwesenheit von Fusobakterien festgestellt war. Von dieser Aufschwemmung wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Die Verdünnungen wurden mit 3-proz. neutralem Agar, dem Serum oder Ascites im Verhältnis 1:3 zugesetzt war, gemischt und sofort zu Platten ausgegossen. Nach dem Erstarren wurden Knorr'sche Anaërobenschalen angelegt, die 3—7 Tage bei 37° bebrütet wurden. Sobald die Kontrolle dieser Platten den Verdacht auf Anwesenheit von Fusobakterienkolonien ergab, wurden die Schalen geöffnet. Die Abimpfung isolierter Kolonien in L.L.B.<sup>1)</sup> mit Serumzusatz geschah unter Zuhilfenahme des Mikroskops. Von L.L.B.-Kulturen wurden nach 2—3-täg. Bebrütung nochmals Serumagarplatten anaërob und zur Kontrolle auf Verunreinigungen auch aërob angelegt. Von den anaëroben Platten wurden gegebenenfalls unter ständiger mikroskopischer Kontrolle isolierte Kolonien abgestochen. Die nun gewonnenen Kulturen konnten als Reinkulturen angesprochen werden. Auch während der Studien wurden die einzelnen Kulturen immer wieder durch Platten geschickt, um in bezug auf Reinheit ganz sicher zu gehen.

Mit dieser einfachen Methode gelang es alsbald, 4 Fusobakterienstämme in Reinkultur zu züchten. Die Beobachtungen an diesen Reinkulturen waren besonders wertvoll, weil es sich um 3 Arten handelte und die Reinkultur bereits nach 1—2 Passagen in künstlichen Nährböden gelang, so daß Anpassungserscheinungen noch nicht vorhanden sein konnten.

#### 1. Die Morphologie und Biologie der 3 Arten.

Das *Fusobacterium Plauti-Vincenti* stammte aus einem kariösen Molaren und wurde 2mal in Reinkultur gezüchtet; das *Fusobacterium nucleatum* aus Zahnbelag bei gesunder Mundhöhle und *Fusobacterium polymorphum* ebenfalls aus Zahnbelag, jedoch bei ausgeprägter Gingivitis.

##### 1. Die Morphologie.

Bezeichnend für das *Fusobacterium Plauti-Vincenti* ist die Doppelstäbchenform mit zugespitzten Enden und spindelförmiger Anschwellung in der Mitte, die durch Anlagerung der stumpfen Enden der beiden Stäbchen entsteht. Die Länge der Doppelstäbchen schwankt zwischen 8—16  $\mu$ , die Breite an der Spindel ist durchschnittlich 0,5 bis 1,0  $\mu$ . Präparate aus Serumagarkulturen lassen ohne weiteres die Diagnose stellen (Lichtb. 13). Manche Stäbchen sind leicht gekrümmt. In jungen Generationen und Kulturen beobachtet man hier und da Ketten und Fäden, die bis zu 25  $\mu$  lang sein können. Die Schlußglieder der Ketten laufen spitz aus, während die 5—6 Zwischenglieder sich mit eckigen oder abgerundeten Enden aneinanderreihen. Die Fäden lassen deutlich feine Septa erkennen. In fast allen Präparaten findet man Bruchstücke von Bakterien und aus längeren Verbänden gelöste Einzelkeime. Auf Degeneration und Involution weisen ungefärbte Stellen, Zytoplasmazerfall und Einschnürungen hin, besonders bei Färbung mit verdünnten Anilinfarben. Die ungefärbten Stellen erwecken bisweilen Verdacht auf Sporenbildung, der erst durch die spezifische Färbung widerlegt wird. In hochgeschichteten Serumagarkulturen fanden sich

1) L.L.B. = Leber-Leber-Brühe.

nach 14 Tagen 100—200  $\mu$  lange Fäden, die wie Spirochäten oder Spirillen aussahen, daneben starre Fäden in gleicher Größe und ganz groteske, wie Baroksäulen gedrehte Verbände.

Die Färbung gelingt in nassen und trockenen Präparaten mit Karbol-fuchsin, Karbol-Gentianaviolett und Methylviolett leicht, schwerer mit Methylenblau. In Trockenpräparaten erscheinen nach Fixierung mit Alc. abs. und Färbung mit Giemsa (1 Tropfen auf 2 ccm) im blau-blauvioletten Zytoplasma größere und kleinere, rundliche, leuchtend rot bis dunkelviolette Körnchen, teils in regelmäßigen, teils in unregelmäßigen Abständen, je nach Herkunft des Materiales, ohne daß sich bestimmte Gesetzmäßigkeiten finden ließen.

In ungefärbten Präparaten aus Nährflüssigkeiten liegen die Stäbchen in Nestern (vgl. Fig. 1) und sehen wie Kristalle aus. Doppelstäbchen finden sich vorwiegend in 24-stünd. Kulturen, später erscheinen immer mehr Gebilde, die die ausgesprochene Neigung der meisten Fusobakterienarten zur Vielgestaltigkeit zeigen; man vergleiche nur Lichtb. 10 mit 13, Taf. I. In solchen Kulturen ist manchmal das Zytoplasma körnig zerfallen und der Organismus erscheint als ein mit Körnern angefüllter Schlauch, da die Außenschicht an den Degenerationserscheinungen nicht teilnimmt. Nach 14 Tagen waren diese Körner noch durchweg gram-negativ. Einige Wochen später wurden auch grampositive gesehen.

Zuckerzusätze zu festen und flüssigen Nährmitteln verändern die geschilderten Verhältnisse nur wenig. Im allgemeinen tritt Degeneration und Involution früher ein.

Bezeichnend für *Fusobacterium nucleatum* ist ebenfalls die Spindelform, die nicht, wie bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti*, durch ein Doppelstäbchen, sondern (vergl. Lichtb. 14 u. Taf. II) bei einkörnigen Keimen durch das zentrale Körnchen verursacht wird. Bei Teilung des Keimes entstehen dann gleich große Tochterkörner, die an die Enden des Stäbchens rücken und so die Spindel plumper gestalten, da ja beide Enden des Stäbchens spitz zulaufen. Die Größe 1- und 2-körniger Keime beträgt ungefähr 4  $\mu$ , ihre Breite bis 1,0  $\mu$ ; die weniger zahlreichen 1-körnigen haben meist eine geringere Breite, ihre Enden sind feiner ausgezogen.

Aus Nährflüssigkeiten kann man die bezeichnendsten Präparate gewinnen. Auffallend ist die gute Darstellbarkeit der Körner, besonders mit Methylenblau und Giemsa, vor allem in nassen oder mit Alk. abs. fixierten Präparaten. Involutions- und Degenerationsformen erschienen erst in der 10. Generation in Traubenzuckernährbrühe. Das Bakterium wuchs hier sehr rasch, erschöpfte den Nährboden bald, so daß die Keime die Kraft nicht mehr hatten, sich zu teilen (Lichtb. 14 u. 15, Taf. I). Die starren Fäden lassen Verwechslung mit Spirillen nicht zu.

*Fusobacterium polymorphum* unterscheidet sich rein äußerlich von den beiden anderen Arten. Es ist 8—16  $\mu$  lang, also ungefähr ebenso groß wie ein Doppelstäbchen von *F. Plauti-Vincenti*, die Breite schwankt zwischen ca. 0,2—0,5  $\mu$ , je nach Kultur. Die Spindelform ist durch die sehr spitz auslaufenden Enden bedingt. Bei Lichtbild 9, Taf. I kommen leider diese Verhältnisse, da es sich um eine ältere Kultur handelt, nicht deutlich heraus. In allen Nährmitteln beobachtet man eine überraschende Vielgestaltigkeit (Lichtbild 9, 11 und 12, Taf. I). Die Zytoplasmastrukturen von „Normaltypen“ sind bei der meist geringen Breite färberisch schwer darzustellen. Man muß etwa doppelt so lange färben



wie bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti*, um den gleichen Ton zu erreichen. Am besten läßt man Karbolfuchsin 1:10 10 Min. wirken. Stets ist Neigung zur Fadenbildung vorhanden. Schon in jüngsten Generationen und Kulturen finden sich 150  $\mu$  lange Fäden, in älteren sind 300  $\mu$  lange nicht selten. Deutlich treten Plasmabrücken, die Fäden taillenförmig einschnürend, auf, die die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung annehmen. Mit Giemsa kann man im bläulichen Protoplasma unregelmäßige rötliche Gebilde, meist in bestimmten Abständen, darstellen.

In manchen Kulturen sah ich derart gewundene Fäden, daß ich glaubte, eine Mischkultur mit Spirillen zu haben (Lichtb. 11, Taf. I). In ungefärbten Präparaten aus Nährflüssigkeiten ist die Nesterbildung auffällig. Sie hat jedoch einen ganz anderen Typus, wie bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti* (vgl. Fig. 1 und 2). Bei Flüssigkeits-



Fig. 1. Tuschepräparat aus der Zahnfleischtasche eines Gesunden, 1000fach. (Ueberlassen von Herrn Prof. Dr. L. Heim.) Typ.: *Fusobacterium Plauti-Vincenti*.



Fig. 2. Ausstrich von Pulpagangrän, 1000fach. (Ueberlassen von Herrn Prof. Dr. L. Heim.) Typ.: *Fusobacterium polymorphum*.

bewegungen biegen sich die Fäden in eigentümlich starrer Weise, so daß man das Gefühl des Abbrechens hat. Der Stamm neigt nicht zu scholligem und körnigem Zerfall, wie *Fusobacterium Plauti-Vincenti*.

In Asziteserumbrühe (Kapillarzüchtung) wurden fast durchweg 100—200  $\mu$  lange Fäden beobachtet, die auffällige teratologische Wuchsformen schon nach 24-stünd. Bebrütung zeigten. So konnten Blähungen bis 2  $\mu$  Breite und darüber, mitten in einem Faden, der sonst durchweg 0,3  $\mu$  breit war, beobachtet werden. Peitschenschnurartige Windungen, Schleifen, die wunderlichsten Figuren, Spermatozoenformen waren zu sehen. Manche Kulturen sind gewissermaßen nach einer Richtung entartet, so zeigt Lichtb. 12, Taf. I fast durchweg auffallend dicke Individuen.

Sämtliche Arten waren in allen Kulturen gramnegativ. Weder Volutin noch Fett, weder Iogen noch Glykogen konnten mikrochemisch nachgewiesen werden. Nur mit der Heidenhainschen Eisenhämatoxylinmethode nach Zettnows Vorschrift gelang es, tief-schwarze Körner, die bei *Fusobacterium nucleatum* ein auffallend regelmäßiges Verhalten zeigten, nachzuweisen<sup>1)</sup>.

1) Im übrigen sei auf den folgenden Abschnitt „Die Kernfrage bei der Gattung *Fusobacterium*“ verwiesen.

Alle Arten waren in sämtlichen Generationen und Kulturen unbeweglich (Beobachtungen im Dunkelfeld, Beizung und Versilberung nach Zettnow unter Beimengung beigelter Kontrollkeime).

## 2) Die Biologie.

1) *Fusobacterium Plauti-Vincenti*. In Agarplattenkulturen mit Serumzusatz erscheinen bei Lackmus saurerer oder neutraler Reaktion schon nach 36 Std. bei  $37^{\circ} \frac{1}{4} - \frac{1}{2}$  mm große, gelblich-braune, verschwommene Pünktchen. Typisch ist das diffuse, mondnebelartige Aussehen, verursacht durch Eiweißfällung infolge der Säurebildung. Bei ca. 20-facher Vergrößerung ist die Mitte der Kolonie schwarz, undurchsichtig, nach dem Rande zu löst sie sich in ein Gewirr wurzelartig angeordneter Fäden auf, die am Ende eine knopfförmige Verdickung haben. Im Umkreise einer größeren Kolonie werden sämtliche Nachbarkolonien im Wachstum stark behindert und dadurch verschiedene Koloniformen hervorgerufen (Lichtb. 6, Taf. I). Bei der größeren Kolonie erkennt man 3 Zonen, das dunkle unregelmäßige Zentrum, die strahlige helle Zone und die durch knöpfchenartige Verdickung wiederum dunkle Außenzone.

Oberflächenkulturen konnten auch von der 8. Generation nicht erzielt werden.

Diagnostisch wichtig ist die Koloniform in Serumagarschüttelkulturen bei lichter Aussaat (Lichtb. 7, Taf. I). Lewkowitz (2) hat die gleiche Koloniform beschrieben und fotografiert.

Nach 8 Tagen waren 12 Kolonien angegangen, die beiden obersten mit dunklem Zentrum, aus dem eine buschförmige Zone im Halbkreise nur nach oben wuchs, 2 cm von der Oberfläche entfernt. Nachdem sich die Strahlen knopfförmig verdichtet hatten, bildete sich im Verlaufe weiterer 8 Tage eine neue Zone bei der zu oberst liegenden Kolonie aus, während die unterhalb liegende Ansiedlung nach 14 Tagen die Zonenbildung einstellte, um sich im Verlaufe der nächsten Wochen zwischen Glas und Agar auszubreiten. In der 4. Woche bildete die oberste Kolonie abermals eine neue Zone.

In schwach lackmussauerer bis phenolphth. alk. L.L.B.-Kulturen wächst der Keim nach 24—48 Std. unter Bildung eines grauweißen, leicht aufschüttelbaren, flockigen Bodensatzes, während die Flüssigkeit klar bleibt. Im allgemeinen wurde neutrale Reaktion bevorzugt. Es wurden allerdings 2 Kulturen in phenolphth. alk. L.L.B. beobachtet, bei denen nach 12 Std. ein so üppiges Wachstum eingetreten war, wie es sonst in keinem Nährmittel beobachtet wurde. Ähnliches wurde in einem zu gleicher Zeit und mit gleichem Material beimpften saueren L.L.B.-Röhrchen beobachtet.

In den meisten Nährflüssigkeiten mit Serumzusatz setzt nach dem Auftreten des Bodensatzes eine milchige Trübung ein, die alsbald dichter wird und mit der Koagulation des Eiweißes endet. Je nach Serumgehalt bleibt über der koagulierten Eiweißsäule eine mehr oder weniger große, klare Flüssigkeitsschicht stehen. Wenn auch die Säurebildung die Koagulation des Eiweißes größtenteils hervorruft, so müssen doch andere, vielleicht fermentative Prozesse zur Erklärung der Koagulation mitherangezogen werden, da in manchen Kulturen trotz starker Säurebildung die Koagulation ausblieb, so daß hier ein Fermentmangel vorzuliegen schien. Ueberimpfung von bebrüteten Kulturen nach Chloroformzusatz in Serumbrühe hatte keine Gerinnung zur Folge. Sonach scheint die Fermentproduktion an den lebenden Organismus gebunden zu sein.

Der Zusatz von Milchzucker, Rohrzucker, Lävulose, Mannit und Maltose rief bei den Kulturen keine andere Art des Wachstums hervor. Bei Zusatz von 1—2 Proz. Traubenzucker war das Wachstum stärker.

2) *Fusobacterium nucleatum*. In Serumagarplatten (1:2—4) erscheinen bei lackmusneutraler bis phenolphth. alk. Reaktion nach 36—72 Std. die bei Lichtb. 5, Taf. I abgebildeten Kolonien. Die Kolonien hatten nach 3 Tagen bereits den größten Durchmesser erreicht. Morphologisch sind die Ausläufer der Wetzsteinformen beachtenswert, die diff. diagn. gegenüber Kokkenkolonien in Frage kommen. Die Scheibenform wächst häufiger am Boden und in der Nähe der Oberfläche. Ohne weiteres unterscheiden sich, wie ein Blick auf die Tafel zeigt, diese Kolonienformen des *Fusobacterium nucleatum* von denen des *Fusobacterium polymorphum*.

Es gelang wochenlang nicht, Oberflächenkulturen zu bekommen. Von der 10. L.L.B.-Generation war die Aussaat auf Menschenblut und Aszitesagar erfolgreich. Das Wachstum begann nach 3 Tagen und hörte am 6. Tage auf. Die Kolonien sind  $\frac{1}{4}$ —1 mm große Scheiben, erhaben, nahezu farblos und schwach irisierend. In der Mitte erhebt sich ein leicht schwärzliches, granuliertes Zentrum. Die Randzone ist durchsichtig und der Rand scharf abgesetzt. Die Kolonie hat feine, granuliert Zeichnung. Sie erinnert entfernt an Streptokokkenkolonien. Die Kolonie ist leicht auf dem Nährboden verschiebbar und zerfällt beim Abimpfen in Bröckel (Lichtb. 4, Taf. I).

Der Stamm gedieh in lackmussaurer bis stark phenolphth. alk. L.L.B. Das Optimum des Gedeihens liegt um den Phenolphth.-Punkt. Das Wachstum ist nach 24—72 Std. in Form eines zart flockigen Niederschlages in der Kuppe des Reagenzglases sichtbar. Oft sind die Leberstückchen wie mit einem feinen sammetnen Belage überzogen. Die Keime konnten in der klaren, oberhalb des Bodensatzes stehenden Flüssigkeit nachgewiesen werden. Auffallend war das hier und da besonders üppige Wachstum, so daß die Kuppe des Reagenzglases 2 bis 3 mm hoch mit Flocken belegt war. — Traubenzuckerzusatz fördert das Wachstum.

3) *Fusobacterium polymorphum*. In lackmusneutralen bis phenolphth. alk. Agarplatten mit Serumzusatz gingen nach 48 bis 72 Std.  $\frac{1}{2}$  mm große Kolonien auf. Wie bei den anderen beiden Stämmen, diffundieren Stoffwechselprodukte rasch in den Nährboden und behindern das Wachstum später aufgehender Kolonien sehr erheblich. Vereinzelte 2—3 mm große Kolonien ließen so im weiten Umkreise kein oder nur kümmerliches Wachstum zu.

Bezeichnend ist die in Lichtb. 3, Taf. I festgehaltene Kolonie.\* Wie bei *Fusobacterium nucleatum* kommen aber auch hier Wetzsteinformen vor, die an manchen Stellen büschelförmige Ausläufer zeigen. Außerdem erscheinen Maulbeer- und Stärkekörner-ähnliche Kolonien, von denen ebenfalls büschelförmige Ausläufer ausgehen. In den Platten tritt anfänglich eine hauchartige Trübung ein, die alsbald wieder verschwindet. Oberflächenkulturen konnten auch nach 3 Mon. bei 3—5-täg. Ueberzüchtung noch nicht erhalten werden.

In hochgeschichtetem Serumagar 1:3 wuchsen nach 48—72 Std. uncharakteristische,  $\frac{1}{4}$  mm große, schwärzliche Kolonien mit unscharfem Rande, die völlig denen des *Fusobacterium nucleatum* glichen. Die Trübung des Nährbodens ist schleierartig, nicht milchig, wie bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti*. Sie tritt bei Traubenzucker-

zusatz schon nach 24 Std. ein. In solchen Kulturen ist der Nährboden diffus durchwachsen. Das Wachstum macht 1 cm von der Oberfläche halt.

In Schereschewsky-Nährboden, in dem die beiden anderen Arten nicht gedeihen, gehen sehr charakteristische Kolonien mit besenreiserartigen Ausläufern an (Lichtb. 1, Taf. I). Der Nährboden ist mondnebelartig getrübt.

In Nährflüssigkeiten wächst der Organismus wie *Fusobacterium Plauti-Vincenti*, jedoch klebt beim Aufschütteln der Bodensatz zusammen. Die Nährflüssigkeit bleibt klar, niemals trat Koagulation, höchstens eine leichte Trübung des zugesetzten Serums ein. Am besten wuchs der Organismus in L.L.B. In Nährbrühe mit Serumzusatz war nur in Kapillaren ein erfreuliches Wachstum zu beobachten. In Reagenzglaskulturen bildete sich nur ein dürftiger Bodensatz. Traubenzuckerzusatz verbesserte stets das Wachstum.

### Chemische Leistungen.

Von keiner Art wird Indol,  $H_2S$  und Gas gebildet. Alle rufen Säurebildung hervor, und zwar wurde im Mittel von *Fusobacterium Plauti-Vincenti* 0,3, von *Fusobacterium nucleatum* 0,15 - 0,3 und von *F. polymorphum* 0,2—0,4 ccm  $\frac{1}{10}$  n Säure in 1 ccm Nährflüssigkeit gebildet. Zuckerzusatz steigerte nur bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti* die Werte, besonders wenn Mannose oder Traubenzucker genommen wurde.

Gestankbildung. Bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti* und *polymorphum* wurde niemals, bei *F. nucleatum* nur bis zur 10. Generation keine Gestankbildung wahrgenommen.

Bei *F. nucleatum* machte sich in 10. Generation in Aszitesnährbrühe, ja selbst in gewöhnlichen Nährbrühekulturen, die in Kapillaren angelegt waren, ein eigentümlich süßlich fader Geruch bemerkbar. Da Verunreinigung vermutet, wurden alle stinkenden Kulturen einer genauen Prüfung mit dem Ergebnis der einwandfreien Reinkultur unterzogen. Die Geruchbildung trat bereits am 3. Tage auf, gleichzeitig angelegte L.L.B.-Kulturen mit und ohne Serum zeigten nach Wochen noch keinerlei Geruch. In L.L.B. ohne Organzusatz in Kapillaren nach Knorr (3) wurde jedoch Geruchbildung wahrgenommen. Es besteht ein biologischer Unterschied zwischen Kapillar- und Reagenzglaskulturen, wie ich auch bei anderen Mundanaëroben beobachtete und worauf die Möglichkeit, den Keim in gewöhnlicher Nährbrühe in Kapillaren züchten zu können, hinweist. Vielleicht ist das Auftreten des Gestankes auch eine Alterserscheinung. Da jedoch beim Vorhandensein von jüngeren Generationen die Kapillarmethode noch nicht ausgebildet war, ist ein sicherer Schluß nicht möglich.

Die Serophilie. *Fusobacterium Plauti-Vincenti* ist streng serophil, d. h. sein Gedeihen in künstlichen Nährmedien ist ohne Zusatz von unverändertem Eiweiß nicht möglich. Inaktiviertes Serum genügt ebenfalls; sobald der Gelzustand beginnt — das Serum kann noch durchsichtig und halb flüssig sein — sind die zum Gedeihen dieses Organismus nötigen Stoffe nicht mehr vorhanden. Kleine Mengen von unverändertem Eiweiß genügen zum Wachstum.

So gelingt es, von einer unverändertes Serum enthaltenden Kultur 1—2 Generationen in gewöhnlicher L.L.B. abzuzweigen. Ellermann (4) suchte diese Tatsache durch die Mitübertragung geringer Mengen unveränderten Eiweißes zu erklären. Man kann jedoch, zumal bei den in Frage kommenden geringen Mengen, die Mitübertragung gewisser vitaminartiger Stoffe, die zum Wachstum unbedingt notwendig sind, nicht ganz ausschließen. Scheinbar sind diese Stoffe im Serum enthalten und verlieren ihre Wirkung bei Beginn des Gelzustandes. Nach Zusatz von Mannose und Traubenzucker konnten einmal sogar 2 serumfreie Generationen abgezweigt werden. Das Wachstum

der 2. Generation war makroskopisch recht kümmerlich, das morphologische Aussehen der Keime zeigte keine Besonderheiten. Mehrfache Versuche, bei Abimpfung von Serumagarkulturen in serumfreien Nährböden Wachstum zu erreichen, gelangen nur bei Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker oder Mannose

Niemals gelang es, *Fusobacterium nucleatum* in serumfreien Nährböden auch mit Zuckerzusatz bei Beimpfung mit serumhaltiger Kultur zum Wachstum zu bringen. Zum Unterschiede gegen *Fusobacterium Plauti-Vincenti* trat nach einigen Fortführungen in Nährflüssigkeiten bei Zusatz eben gelatinösen Serums oder Aszites Wachstum ein. Die wachstumsfördernde Wirkung konnte durch Zusatz von Mannose und Traubenzucker erhöht werden. Dagegen wurden in serumfreier L.L.B. 2—3 Generationen erzielt, wenn das Impfmaterial für die 1. Generation einer phenolphth. alk. serumhaltigen Kultur entstammte und die serumfreie Nährflüssigkeit wiederum auf den Phenolphth.-Punkt eingestellt war. Ueberimpfte man in sauer reagierende Flüssigkeit, so konnte nur eine Generation abgezweigt werden. Bei Uebertragung von serumhaltiger saurer L.L.B. in serumfreie saure gelang ebenfalls nur die Abzweigung einer Generation.

Inwieweit hier Zufälligkeiten eine Rolle gespielt haben, oder ob tatsächlich die alkalische Reaktion mehr serumfreie Generationen ermöglichte, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden. Möglich ist, daß die wachstumsfördernden oder besser die zum Wachstum nötigen Stoffe (Vitamine?) durch Säure geschädigt werden. Es gelang ferner, von Serumkulturen 4 Generationen in Kapillaren mit gewöhnlicher Brühe fortzuzüchten. Die Möglichkeit, daß das ursprünglich in der 1. Generation mitübertragene Serum in den weiteren Kapillargenerationen eine schwächere Verdünnung erfuhr, als in Nährflüssigkeiten im Reagenzglas, wurde durch Uebertragung geringer Kulturmengen mit der Platinnadel zu umgehen versucht.

*Fusobacterium polymorphum* gedieh in halberstarrem Serum und Aszites bereits in den ersten Generationen und unterschied sich dadurch von den beiden anderen Stämmen. Dagegen gelang eine Uebertragung in serumfreie Nährmittel nie, obwohl, wie bei den anderen Arten, serumhaltiges Kulturmaterial verimpft wurde.

Die Lebensdauer des *Fusobacterium Plauti-Vincenti* beträgt in Nährflüssigkeiten 10—14, bei Zuckerzusatz 6—7 Tage; in Anaërobenschalen bleibt der Organismus nahezu 2 Mon. lebensfähig. Die Lebensdauer wurde durch Aufbewahrung bei 37° gegenüber Zimmertemperatur nicht beeinflusst. *Fusobacterium nucleatum* ist in Nährflüssigkeiten 3 Mon. und darüber lebensfähig, jedoch bestehen zwischen den einzelnen Kulturen weitgehende Unterschiede.

So gelang nach 3 Monaten die Weiterzüchtung aus saurer L.L.B. mit Serum und Traubenzuckerzusatz in neutrale, gleich zusammengesetzte L.L.B. nicht. Eine gleich alte Kultur, die nur Maltose statt Traubenzucker enthielt, wurde zu derselben Zeit mit Erfolg in diese Nährflüssigkeit verimpft. Letztere Kultur war nach 4 Wochen bei Aufbewahrung in Zimmertemperatur nicht mehr übertragungsfähig. Zuckerzusatz setzt die Lebensfähigkeit nicht wesentlich herab. Agarkulturen zeigten nach 3 Mon. noch Ueberimpfbarkeit. Es war gleichgültig, ob die Kultur bei Zimmertemperatur oder bei 37° aufbewahrt wurde. Lange aufbewahrte Kulturen konnten nur noch 1—2mal fortgeführt werden.

*Fusobacterium polymorphum* konnte in Serumagarschüttelkulturen mit Paraffin liqu.-Uberschichtung nach 3-monatlicher Aufbewahrung bei Zimmertemperatur noch erfolgreich verimpft werden. Auch 10 Wochen alte L.L.B.Kulturen, die die Hälfte der Zeit im Brutschrank waren, erwiesen sich als lebensfähig. Lang aufbewahrte Kulturen konnten nur noch 1—2mal fortgeführt werden. Keine Art wuchs unter 30° C, am besten zwischen 35—37°.

Keine Art war für weiße Mäuse nach subkutaner oder intraperitonealer Einverleibung (0,2—0,5 ccm) pathogen.

### Die Kernafrage bei der Gattung *Fusobacterium*.

Die Gattung *Fusobacterium* ermöglicht eingehendere Studien zur Kernfrage der Spaltpilze. Bisher habe ich Beobachtungen von Körnern nur kurz hervorgehoben, nun will ich versuchen, an *Fusobacterium nucleatum*, das zur Lösung der Kernfrage bei der Gattung *Fusobacterium* besonders geeignet erscheint, die Kernnatur der Körner zu beweisen.

Zunächst sei erwähnt, daß Arthur Meyer (5) das gesamte Schrifttum über Kerne bei Bakterien kritisch bearbeitet hat, so daß ein Eingehen auf einschlägige Arbeiten an dieser Stelle nicht nötig ist. Hier sollen nur Beobachtungen über Zellorgane der Fusobakterien niedergelegt sein. Hölling (6) u. a. sprechen von Zelleinschlüssen; da unter einem Einfluß etwas Zellfremdes zu verstehen ist, die Körner und insbesondere die Kerne aber ein Organ der Zelle darstellen, so habe ich auf den Ausdruck Zelleinschlüsse für die Gebilde grundsätzlich verzichtet.

P. Mühlens (7) schreibt: „Die Fusiformen besitzen meist wohlausgebildete Kerne, die sich durch Amitose vermehren. Die Zahl der Kerne beträgt 2, oft auch 1, 4 oder 8. Im Leben sind dieselben bei günstiger Einstellung als stärker lichtbrechende Stellen im homogenen Plasma zu erkennen. Bei größeren (älteren) Bazillen lösen sie sich in Chromidien auf.“ Einer späteren Arbeit (8) ist ein Lichtbild von Zettnow mit Darstellung dieser Kerne zugefügt. Mühlens machte seine Beobachtungen an einem dem *Fusobacterium Plauti-Vincenti* ähnlichen Keim. Leider fehlen zu seinen Behauptungen alle Beweise.

Hölling wollte die Beweise zu diesen Behauptungen erbringen, beging aber den gleichen Fehler wie Dobell 1911, indem er nach der Heidenhainschen Eisenhämatoxylinmethode gefärbte Ausstriche aus dem Darminhalt von Termiten untersuchte. So gilt denn auch für seine Untersuchungen, was A. Meyer über die von Dobell sagt: „Er isoliert keine der zu den Färbungen benutzten Formen, untersucht sie auch sonst nicht weiter, untersucht noch nicht einmal die Begeißelung, er färbt eben einfach, was der Darm enthält. So kann selbstverständlich keine Angabe von Dobell an einer Spezies nachgeprüft werden, auch kann Dobell niemals das Verhalten des Kernes in einer Spezies verfolgen, da er nie weiß, was in seinen Präparaten identisch oder verschieden ist. Er kann noch nicht einmal in allen Fällen mit Sicherheit sagen, ob die angefärbten Formen alle zu den Bakterien gehören.“

Bisher ist der sichere Beweis für das Vorkommen von Kernen bei Fusiformen noch nicht erbracht. Da ich bei *Fusobacterium nucleatum* die gleichen Beobachtungen machte, wie Mühlens bei seinem *Fusobacterium*, versuchte ich, die Kernnatur gewisser Zellorgane bei Fusobakterien zu beweisen, indem ich meinen Organismus auf die von Meyer aufgestellten Eigenschaften der Zellkerne der Bakterien hin prüfte. Das Ergebnis war:

1) Die Größe der Körner ist nicht genau zu bestimmen, da bei den spezifischen Färbungen die zwischen ihnen und der Außenschicht liegenden Farbteile durch Entfärbung nicht entfernt werden können, besonders nicht nach Fixierung mit Formol. In Lichtb. 6, Taf. II kommt eine etwas eckige Form der Körner dadurch zustande, daß sich Kernfarbstoff auch neben dem Kern in den feinen Räumen festsetzte. Ebenso sind Größenunterschiede hierauf zurückzuführen. Hölling hat ähnliche Beobachtungen gemacht. Im ungefärbten Präparat erscheinen die Körner gleich groß wie das Zytoplasma, ragen nicht über dieses hinaus und sind stärker lichtbrechend als das Zytoplasma. Im Dunkelfeld differenzieren sie sich von ihm wenig oder nicht.

2) Die Körner sind keine ergastischen Gebilde. Die gleiche Größe der Körner, ihre bestimmte regelmäßige Anordnung zu

1, 2 und mehr in geometrischer Reihe und die Teilungsvorgänge machen Reservestoffe unwahrscheinlich.

Da aber Grimme (5) besonders an Volutinkörnern ähnliche Teilungsvorgänge beobachtete, mußte durch mikrochemische Reaktionen Volutin ausgeschlossen werden. Feucht fixierte Präparate wurden mit Methylenblau 1:10 gefärbt und durch Zusatz von 1-proz. Schwefelsäure entfärbt. Niemals behielten die Körner die Farbe, sie bestehen also keinesfalls aus Volutin.

Da in feuchten Präparaten die Körner Methylenblau aufnehmen, sind Fettstoffe auszuschließen, da Methylenblau in Fett unlöslich ist.

Mit starker oder verdünnter Jod-Jodkaliumlösung ließ sich weder Glykogen noch Iogen nachweisen.

3) Die Körner unterscheiden sich färberisch streng vom Zytoplasma. Die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinmethode nach Zettnow (9) gab bessere, vor allem gleichmäßigere Resultate, als Meyers Formolfuchsinmethode. Die Körner erscheinen tiefschwarz im farblosen Zytoplasma. Nach Giemsa-Färbung ist das Zytoplasma zart blau, die Körner sind leuchtend rot. Während Meyer Kerne in Sporen bei *Bacillus tumescens* in Trockenpräparaten nie sichtbar machen konnte, gelang es mir, die Körner bei *Fusobakterien* auch nach Trocknung zu färben. Um dem Einwand zu begegnen, daß ich in den Trockenpräparaten etwas anderes dargestellt hätte als in den feuchten, färbte ich Parallelausstriche. Es erschienen aber in nassen und trockenen Präparaten (nach Fixierung mit Alk. abs.) genau die gleichen Bilder, so daß kein Anlaß vorlag, die Identität der dargestellten Gebilde zu bezweifeln, wenn auch Meyer die Darstellung von Kernen im Trockenpräparat für unmöglich hält. Alle anderen Befunde entsprechen den Forderungen, die Meyer für den Beweis der Kernnatur der fraglichen Gebilde verlangt.

Meine Befunde genügen auch den Bedingungen, die A. Hölling für die Anerkennung eines Kernes als solchen aufgestellt hat, nämlich:

- 1) Der Kern hat im allgemeinen seinen bestimmten Platz in der Zelle.
- 2) Die Kernteilung muß in allen ihren Phasen bis zum völligen Freiwerden der beiden Tochterkerne zu beobachten sein.
- 3) Die Kernteilung darf nur in geraden Zahlenverhältnissen vor sich gehen. Die Teilung der neuentstandenen Tochterkerne findet unter normalen Verhältnissen gleichzeitig statt, so daß die Kerne der Zelle in Zahlen 2, 4, 8 und 16 usw. auftreten; Kernzahlen von 6, 10, 12 usw. sollen Ausnahmen bilden.
- 4) Die Tochterkerne müssen unter sich von ungefähr gleicher Größe sein.
- 5) Die Kerne müssen sich mit den gebräuchlichen Kernfarbstoffen färben, so daß sich bei der häufig angewandten Giemsa- oder der polychromen Methylenblaufärbung, das Zellplasma blau, der Kern rot oder rotblau färbt. Bei der Heidenhainschen E. H.-Färbung werden die Kerne dunkel, und zwar entweder homogen, oder sie weisen, wenn Differenzierung gut gelungen ist, eine ganz bestimmte Struktur auf.
- 6) Unpaarige Zellelemente können nur dann als Kerne angesprochen werden, wenn ihre Herkunft von echten Kernen unzweifelhaft feststeht und Assimilationsprodukte, wie Volutin, Fetttröpfchen, die leicht Kerne vortäuschen, auszuschließen sind. Unpaarige Kerne treten nur auf in den Fällen, wo aus irgendwelchen Gründen ein Zerfall der Kerne in Chromidien stattgefunden hat.

Als 7. Punkt, ohne den alle 6 übrigen Punkte jede Beweiskraft verlieren, möchte ich für Bakterien aufstellen:

„Sämtliche Beobachtungen müssen an einer sicheren Reinkultur gemacht sein.“

Alle diese Punkte treffen für die Zelleinschlüsse bei *Fusobacterium nucleatum* zu. Ueber die Ausschließung von Reservestoffen wurde bereits berichtet. In Kürze seien noch die Teilungsvorgänge beschrieben. Hölling gewann aus der ganzen Art der Kernteilung den Eindruck, daß es sich nicht um eine einfache Kerndurchschnürung, sondern mehr um eine Art Auseinanderstimmung handle, eine Caryosome desmose, wie sie von manchen primitiven Protozoenkernen her bekannt ist. Viele Forscher sprechen nur dann von Kernteilung, wenn Mitosen, also sichtbare aktive Teilungsvorgänge vorliegen. Derartige Befunde sind natürlich bei der Kleinheit der Objekte nicht zu erheben.

Die Entwicklungsstadien der Kerne können an den beigegebenen Lichtbildern (Taf. II) verfolgt werden: 1) Der einkernige Keim hat den Kern in der Mitte (*a*). 2) Dieser Kern streckt sich (*b*) und schnürt sich durch *c*. Findet nun gleichzeitig eine Durchschnürung des Zytoplasma statt, dann entsteht ein neuer einkerniger Keim (*c*<sub>1</sub>). 3) Häufiger treten jedoch die Kerne an die Pole und es entsteht ein 2-kerniger Organismus (*d*)<sup>1)</sup>. 4) Die beiden polständigen Kerne können sich nun teilen. Entweder beide gleichzeitig, so entsteht ein 4-kerniges Stäbchen (*e*), dessen beide äußersten Kerne auch wieder das Bestreben haben, an die Pole zu rücken. Dadurch kommen die Kerne in ziemlich gleiche Abstände zu liegen. Es kommt nun vor, daß das Zytoplasma eines 2-kernigen Organismus sich erst dann durchschnürt, wenn die beiden polständigen Kerne sich teilen; es entstehen dann aus einem 2-kernigen Stäbchen zwei 2-kernige neue. Es braucht sich aber nur einer der Kerne eines 2-kernigen Stäbchens zu teilen (*f*); es entsteht dann ein 3-kerniges Stäbchen. Dieses Stadium besteht nur für kurze Zeit, weil alsbald die Teilung des anderen Kernes nachfolgt (*g*). Es ist ferner möglich, daß aus einem 2-kernigen Stäbchen ein 1-kerniges und ein 2-kerniges entsteht. Das ist ebenso selten, wie die Teilung von 4 in 8 und 16, 32 Kernen und kommt am ehesten in älteren Generationen vor, wenn die Keime den künstlichen Bedingungen angepaßt sind, was sich durch verschiedene biologische Erscheinungen (Verlust der Serophilie, Möglichkeit des Oberflächenwachstums) kundgibt. 2 solche Ketten finden sich auf Taf. I, Nr. 14 und 15. In manchen Kulturen degenerieren schon 4-kernige, in manchen erst 8-, 16-, 32-kernige Organismen. Die Kernsubstanz zerfällt.

Zum einwandfreien Nachweis der Kerne war nur *Fusobacterium nucleatum* geeignet. *Fusobacterium Plauti-Vincenti* und *polymorphum* zeigten Verhältnisse, bei denen die aufgestellten Kriterien nicht so klar erfüllt waren. Die Gründe hierfür kann ich nicht genau angeben, zumal Mühlens bei einer dem *Fusobacterium Plauti-Vincenti* ähnlichen Art die Kerne gut darstellte. Manche Arten und Stämme neigen sehr zur körnigen Degeneration des Zytoplasmas. Dadurch wird die Darstellung der Kerne mit Giemsa unmöglich, sie gelingt jedoch mit der Heidenhainschen E. H.-Methode

1) Leider ist das Zytoplasma zu zart gefärbt gewesen, um photographisch deutlich dargestellt werden zu können. In gewöhnlichen feuchten und auch in den Trockenpräparaten, von denen die Lichtbilder stammen, war das Zytoplasma ohne Schwierigkeiten zu erkennen.



noch leidlich. Andere Arten von Fusobakterien, wie *Fusobacterium polymorphum*, zeigen infolge ihrer Zartheit schwer sichtbar zu machende Kernverhältnisse. Bei der geringen Breite der Keime erscheinen die Kernsubstanzen auch selten rundlich, sondern langgestreckt. Diese Form ist sicherlich ein Kunstprodukt, das durch die bei *Fusobacterium nucleatum* schon genannten Fehlerquellen der Färbung entsteht und bei dünneren Organismen noch mehr hervortritt.

Meines Erachtens lagen auch bei *Fusobacterium Plauti-Vincenti* und *polymorphum* Kernsubstanzen vor. Auch Meyer berichtet, daß die einzelnen Arten bezüglich der Kerndarstellung keine gleichmäßigen Resultate geben.

### Versuche, die in dem Schrifttum beschriebenen Reinkulturen von Fusobakterien mit meinen 3 Arten in Beziehung zu bringen.

Ausführlich berichtete 1904 Beitzke (10) über die Fusiformen. Nur Veillon und Zuber (11) war damals die Reinkultur eines *Fusobacterium*s geglückt. Unterdessen sind mehrere Arbeiten über Reinkulturen erschienen, von denen allerdings manche der strengen Prüfung auf Reinheit nicht standhalten. Die mangelhafte Beschreibung rügt schon Baumgartner (12), der 1910 über Reinkulturen berichtete. Trotzdem begegnet man mangelhaften Beschreibungen und ihren unvermeidbaren Folgen auch in den letzten Jahren. Die morphologische und biologische Variabilität hat fast kein Autor entsprechend berücksichtigt und vollends nicht deren Ursachen festzustellen versucht. Infolge der großen Abhängigkeit von Morphologie und Biologie der Fusobakterien von der Generation ist schnelle Reinzüchtung der Fusobakterien wichtig, da nur dann eine bezeichnende Beschreibung möglich ist.

Da nun meistens derartige Angaben fehlen, ist man gezwungen, aus Abbildungen und der Kenntnis der veränderlichen Eigenschaften festzustellen, was als Merkmal der Art und was als Merkmal der Varietät anzusprechen ist. So kann Serophilie und fehlendes Oberflächenwachstum in der jungen Generation bezeichnend sein. Auch die Geruchsbildung ist keine Art- oder Gattungseigenschaft, sondern hängt von noch nicht näher bekannten Bedingungen ab. Unbeständig sind auch andere chemische Leistungen, besonders Gasbildung, die recht vorsichtig bewertet werden muß, zumal man in mancher Beschreibung unwillkürlich an Verunreinigung denken muß. Einzelne amerikanische Forscher berichten über aërobes Wachstum nach einigen Fortzüchtungen. Krankheitserregende Eigenschaften sind überhaupt niemals sicher nachgewiesen worden, da Tierversuche mit Mischkulturen oder unverhältnismäßig hohen Dosen nicht beweisend sind.

2 strittige Punkte, die Grambeständigkeit und die Beweglichkeit, möchte ich ebenfalls zusammenfassend vorwegnehmen. Alle Arbeiten mit Reinkulturen erwähnen die unbedingte Gramnegativität. Lediglich bei Betrachtung gefärbter Nativpräparate sahen einige Autoren, z. B. Leiner (13), grampositive Keime. Schwieriger liegt die Frage der Beweglichkeit. Bei Reinkulturen scheint, soweit man dies den einzelnen Beschreibungen entnehmen kann, auch nicht im Dunkelfeld Bewegung gesehen worden zu sein. Da Costa will bei frisch aus Eiter stammenden Stäbchen Bewegung gesehen haben, deren baldige Einstellung dann auf die nachteilige Einwirkung des Sauerstoffes zurück-

zuföhren wäre (W. N. Klimenko (14). P. Mühlens (15) berichtete über nach Zettnow dargestellte Geißeln und über Spirochäten ähnliche Geißelzöpfe, Seitengeißeln und dünne Zöpfe im Tuscheausstrich. Ob R. K. vorlagen, wird nicht gesagt. Ich möchte es unentschieden lassen, inwieweit man gewisse Abbildungen als Bewegungsorgane oder Kunstprodukte ansprechen darf. Mir ist es nie gelungen, Bewegungsorgane nachzuweisen. Herr Prof. Zettnow hatte die Liebenswürdigkeit, dies am übersandten *Fusobacterium nucleatum* zu bestätigen. An meiner Technik lag also der nicht gelungene Nachweis von Bewegungsorganen sicherlich nicht.

Am beständigsten erscheinen unter genügender Berücksichtigung der Polymorphie rein äußerliche Eigenschaften. Fast in allen Kulturen wird man neben „Modifikationen der Normaltypen“ diese selbst antreffen und schon damit viel gewonnen haben. Selbst die Art der Nesterbildung ist manchmal bezeichnend (vgl. Fig. 1 und 2 im Text). Wichtig ist ferner die Kolonieforn, da sie sich auch in älteren Generationen nicht zu verändern scheint und, wenigstens bei meinen 3 Arten, genügend eindeutig ist.

### 1. Art: *Fusobacterium Plauti-Vincenti*.

Normaltyp 9—16  $\mu$  lange, an der Basis 0,5—1  $\mu$  breite Doppelstäbchen mit abgerundeten, spitzen Enden. Einzelkeime sind an einem Ende rund oder eckig, am anderen spitz. Die Spindelforn entsteht durch das Zusammenhaften zweier Keime mit ihren runden oder eckigen Enden. Bei Kettenbildung sind die Zwischenglieder an beiden Enden abgerundet oder eckig, die beiden Endglieder am freien Ende spitz; die Fäden haben oft seichte Windungen, die an Spirillenketten erinnern. In Serumagar in hoher Schicht bei dünner Besäung erscheint die bezeichnende Kolonie der obersten Ansiedlung (Lichtb. 7, Taf. I). Ebenso charakteristisch die filzartige Kolonie in Serumagarplatten (Lichtb. 6, Taf. I), Trübung der Serumnährböden bis zur Undurchsichtigkeit, Koagulation des Serums in den Flüssigkeiten. Meine 2 Stämme gedeihen nur bei Zusatz unveränderten Serums. Hierher dürften gehören:

1) Die 1. Reinkultur von Lewkowicz (2) bei Nekrose menschlicher Mundhöhle. 1902. 2) 3 Stämme Ellermanns (16) aus normaler Mundhöhle und bei Stomatitis gangraenosa. 3) 3 Stämme Weaver und Tunnicliffs (17), die sie bei Angina ulceromembranacea, Stomatitis ulceromembranacea und bei Diphtherie erhalten hatten. 4) 2 Stämme Mühlens (7) aus normaler Mundhöhle und 2 bei Stomatitis ulcerosa. Später ist Mühlens die Reinkultur (8) nochmals gelungen. 5) 2 Stämme Runebergs (18), die bei Blinddarmentzündung und davon ausgehender Bauchfellentzündung reingezüchtet waren.

Lewkowicz hatte zwar, wie aus seinen Lichtbildern hervorgeht, einen in der Größe sehr schwankenden Stamm gezüchtet, doch stimmen Beschreibung und vor allem die bezeichnende Kolonieforn der oberen Kolonien dieser Art in Serumzuckeragar (vgl. Lichtb. 7, Taf. I) so überein, daß der Stamm L. hierher gehören muß. L. gelang die Züchtung auf der Oberfläche von Serumagarplatten. Auch Gerüchbildung wurde festgestellt.

Die unter 3 bis 4 genannten Stämme sind, wie aus den Arbeiten hervorgeht, ebenfalls dieser Art anzugliedern. So konnte Mühlens seine Stämme mit einem von Ellermann überschickten vergleichen und völlige Uebereinstimmung feststellen. Die biologischen Unterschiede, wie Geruchbildung, Oberflächenwachstum und ganz geringe Gasbildung bei Ellermanns Stämmen, auf die Mühlens nicht hinweist und Ellermann auch nur in seinen ersten Arbeiten verzeichnet, sind von den in der Einleitung gegebenen Gesichtspunkten aus zu betrachten. Wie für die 1. Reinkultur, sind auch für das Wachstum dieser Stämme unveränderte Eiweißstoffe notwendig. Ellermann wies dies auch für die Stämme Weaver und Tunnicliffs nach. Krankheitserregende Eigenschaften für Meerschweinchen, Mäuse und Kaninchen führen Lewkowicz und

Ellermann auf Giftwirkung zurück. Niemals konnten die Keime im kranken oder toten Tiere nachgewiesen werden. Mühlens fand die Keime nicht krankheitserregend. Dagegen sah Runeberg ähnliche Wirkung wie Ellermann und Lewkowicz bei Einverleibung sehr großer Mengen von Nährbrühekulturen. Er stellt Oberflächenwachstum, Geruchbildung in allen Nährmitteln, mangelnde Gasbildung und im übrigen die gleichen Eigenschaften wie die anderen Verff. fest. Die Keime bezeichnet er als „*Bacillus fusiformis* Vincent“ und berichtet von Medusenhaupt ähnlichen Kolonien auf der Oberfläche von Agar, Geruch in allen Nährmitteln und mangelnder Gasbildung.

Beim Fehlen von Abbildungen und genaueren Angaben bezüglich Züchtung ist die Zuteilung folgender Stämme zu dieser Art nur sehr unsicher:

a) Repaci (19) glaubt 2 Arten gefunden zu haben, die eine in normaler Mundhöhle, bei Leukoplacia specifica und Stomatitis catarrhalis, die andere bei Plaut-Vincentischer Angina. Bei mehrfacher Prüfung kam ich zur Ueberzeugung, daß R. nur eine Art in verschiedenen Generationen in Händen hatte, wofür die gleichen Größenverhältnisse, das Zustandekommen der Spindelform, ferner sonstige morphologische Angaben sprechen. Sie treffen für *Fusobacterium* Pl.-V. zu. Zur Aufstellung von 2 Arten glaubt sich R. berechtigt, da Indolbildung, krankheitserregende und fermentative Eigenschaften seinen Stamm I vom Stamm II unterscheiden. Beide Stämme sind nicht serophil. Der eine wächst auf Zuckeragar in rundlich opaken, grau gefärbten Kolonien mit erhabenem, lachsfarbigem Zentrum und regelmäßigem scharfen Rande, der andere gedeiht anscheinend nur in Nährböden. Die Kolonien sind 1–2 mm groß und haben Medusenhaupt ähnliches Aussehen. Bei beiden Arten fehlt Gasbildung, Geruch wird wahrgenommen. 10 ccm (!) intraperitoneal einem Meerschweinchen einverleibt, führt Tod unter kachektischen Erscheinungen herbei.

b) Auch Leiners (13) Stamm II aus septischer Rachendiphtherie steht dem *Fusobacterium* Pl.-V. zwar nahe, kann aber nicht ohne weiteres dieser Art zugeteilt werden. Der Keim ist ein gramnegatives, unbewegliches, verschieden langes, an den Enden zugespitztes Stäbchen. Er ist häufig als Doppelstäbchen, bisweilen auch in Form von aneinandergliederten Fäden gelagert. Er verläuft gerade oder leicht gebogen, lange Fäden zeigen auch schlingenartige Formen. Er gedeiht am besten in Serumagar, jedoch auch in Nährböden ohne Serum, was ich auf Beimpfung derselben mit serumhaltiger Kultur zurückführe, da der Keim in Serumnährböden „bedeutend besser“ gedieh. Auf Serumagarstrichplatten nach Ghon und Sachs rundliche Kolonien, zentral schollige Auflagerungen, peripher faserige Struktur. Nicht krankheitserregend für Kleintiere. Nach Leiner spricht gegen die Uebereinstimmung mit *Fusobacterium* Plauti-Vincenti vor allem die in Nativpräparaten beobachtete Grampositivität, Beweglichkeit und die fehlende Serophilie der Kulturen. Alles Punkte, die nicht stichhaltig sind.

c) Shmamine (20) hat auch anscheinend das *Fusobacterium* Plauti-Vincenti reingezüchtet. Zwei gute Lichtbilder sprechen dafür. Bemerkenswert ist, daß Shmamine in Nährmitteln mit Leberstückchen stinkenden Geruch bemerkte, den er niemals in Serumagar wahrnehmen konnte.

## 2. Art: *Fusobacterium nucleatum*.

4  $\mu$  lange bis 1  $\mu$  breite Stäbchen mit leicht nachweisbaren Kernen (s. Taf. II). Normaltyp 1- oder 2-kernig. Die Spindelform kommt durch Kerne zustande. Sie ist treffend mit Schiffchen oder Kanuform zu bezeichnen. Ketten und Fadenbildung fast nur in älteren Generationen mit eigentümlich steifem, eckigen Charakter (Lichtb. 14 und 15). Die Kolonie hat in Serumagarplatte Wetzsteinform, die mit kleinen Büscheln besetzt ist. Auch die Scheibenform kommt vor (Lichtb. 5). Bereits in jungen Generationen Wachstum in erhitztem Serum möglich. Ausfällungen dürfen jedoch noch nicht vorhanden sein. Auftreten von Oberflächenwachstum und Geruchbildung in älteren Generationen.

Nach längerem Studium des Schrifttums und der beigefügten Abbildungen bin ich noch immer der Meinung, daß das *Fusobacterium nucleatum* bisher noch nicht in Reinkultur gezüchtet ist. Freilich sind Stämme beschrieben, die manche Aehnlichkeit mit den meinen aufweisen, mit Sicherheit läßt sich jedoch nicht entscheiden, ob diese Stämme

zur Art *Fusobacterium nucleatum* oder *polymorphum* gehören, oder eigene Arten sind. Am wahrscheinlichsten scheint es, daß bei der morphologischen Uebereinstimmung der wetzstein- und linsenförmigen Kolonien beider Arten durch das Abimpfen oft Mischkulturen entstanden sind. Das schließe ich auch aus manchen Abbildungen, ohne daß ich mir den Vorwurf machen könnte, die Vielgestaltigkeit der Gattung *Fusobacterium* nicht genügend zu berücksichtigen.

a) Veillon und Zuber (11) züchteten bei Blinddarmentzündung einen ziemlich langen, spindelförmigen, nicht serophilen Organismus, der coliartig auf der Agaroberfläche wuchs und nicht serophil war. Sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 37° konnte er gedeihen.

b) Runeberg (18) glaubt nach eingehenden Untersuchungen an die Uebereinstimmung seiner 6 bei Blinddarmentzündung und deren Nebenkrankheiten reingezüchteten Stämme mit dem Veillon und Zubers. Nach seinen Beobachtungen ist der Keim jedoch nur 1,5—2,0  $\mu$  lang und 0,6—0,7  $\mu$  breit, Größenverhältnisse, wie sie aus der Beschreibung Veillon und Zubers nicht ersichtlich sind. Diploform entsteht, indem 2 Keime mit den Spitzen zusammenhängen. Im übrigen beobachtete Runeberg die gleichen biologischen Eigenschaften: Mangelnde Serophilie, geringe Gasbildung in Agar und Nährbrühe, Gestankbildung in allen Kulturen und fehlende Hämolyse. Oberflächenkolonien zeigen nach der Beschreibung ungefähr das Aussehen der in Lichtb. 4, Taf. I dargestellten Kolonien. Pathogenität konnte nicht einwandfrei nachgewiesen werden.

c) R. Klinger (21) gewann aus einem Hirnabszeß nach Bronchiektasie (Fall K.) ein *Fusobacterium* in Reinkultur, das er nur äußerst dürftig beschreibt. Es handelte sich um ein 5—7  $\mu$  langes Stäbchen mit zugespitzten Enden. Lichtbilder aus Zuckernährbrühe zeigen lange, durchschlungene Fäden (ähnlich *Fusobacterium polymorphum*), Lichtbilder aus Gelatine dagegen Formen, wie sie bei *Fusobacterium nucleatum* nicht selten sind. Der Stamm scheint serophil gewesen zu sein. Weitere Reinkulturen von *Fusobakterien* konnten bei Aktinomykose der Submaxillargegend (Fall 1), der Wange (Fall 2) und der Inguinalgegend (Fall 7) gewonnen werden. Die in 570-facher Vergrößerung beigegebenen Lichtbilder gestatten manche Ähnlichkeit mit Art II festzustellen.

d) Maresch (22) berichtet ebenfalls über 2 *Fusobakterien*reinkulturen bei pyämischen Prozessen nach Blinddarmentzündung. Die Kulturen könnten, da sich die Keime im Venenleiter der Leber in Reinkultur fanden, recht beweisend sein. Jedoch ist Beschreibung und Abbildung mangelhaft. Ohne Angabe der Vergrößerung sind Keime gezeichnet wie sie für *Fusobacterium nucleatum* bezeichnend sind. Maresch betont das Starre der fädigen Gebilde, stellt regelmäßig Körnerbildung, Serophilie, Wachstum bei 37°, fehlende Gasbildung und fötiden Geruch fest.

e) Ruth Tunnicliff (23) untersucht ihre angeblichen Reinkulturen, um das Hervorgehen der Spirillen aus fusiformen Stäbchen festzustellen. Textfig. 1 und 2 und teilweise die Beschreibung machen es wahrscheinlich, daß die aus gesunder Mundhöhle isolierten Stämme des *Fusobacterium nucleatum* oder *polymorphum* darstellen. Wie aus dem Auftreten von Spirillen hervorgeht, waren sie jedoch nicht rein.

f) Y. Ozaki (24) berichtet über einen aus normaler Mundhöhle reingezüchteten Keim, fügt aber leider keine Abbildungen bei, so daß trotz der guten Beschreibung die Artzuteilung unsicher ist. Der Keim ist 3,6—20,0  $\mu$  lang und 0,5—1,0  $\mu$  breit und hat fast immer zugespitzte Enden. Der Leib ver-chmälert sich in der mittleren Partie bei längeren Verbänden, ja es kommt sogar zur Trennung, so daß 2 an ihren feinen Enden zugespitzte Keime mit ihren abgerundeten Enden dicht aneinanderliegen. Das einzelne keulenförmige „Glieder“ kann auch allein vorkommen. Obwohl diese Beschreibung für das *Fusobacterium* Pl.-V. zu sprechen scheint, sprechen gegen die Zuteilung die wetzstein- und linsenförmigen Kolonien in Zuckeragarschüttelkulturen, allerdings ohne Serumzusatz. Ferner sind die Keime in Nährbrühe mit Zusatz von Organstücken nur 3,0—5,0  $\mu$  lang. Der Stamm ist nicht serophil und zeigt auf der Oberfläche von Zuckeragar Kolonien, wie sie im Lichtb. 4, Taf. I wiedergesehen sind. Stets entsteht ein fauliger Riechstoff, H<sub>2</sub>S und Indol. Keine Hämolyse auf Blutplatten. Angaben, in wievielter Generation die Reinkultur gelang, fehlen. Auffällig ist, daß der Stamm nie Säure bildete. Pathogenität für Meerschweinchen, Mäuse und Kaninchen fehlte. Wenn Ozaki die *Fusobakterien* in 2 Arten — serophile und nicht serophile — trennen will, so über-sah er, daß die Serophilie nur in jüngeren Generationen ein bezeichnendes Merkmal zu sein braucht und innerhalb der Serophilie große Unterschiede in bezug auf den Zustand der Eiweißstoffe bestehen.

g) W. P. Larson und M. Barron (25) züchteten ein *Fusobacterium* aus strömendem Blute. Der Kranke litt an Alveolarpyorrhoe und Nekrose des Oberkiefers. Der Stamm war anfänglich streng serophil und anaërob, verlor aber diese Eigenschaften im Laufe der Zeit. Die kanuförmigen Keime enthielten zwei purpurrote Körper, die noch mit den Enden zusammenhängenden je ein Körnchen. Der Arbeit sind mehrere Zeichnungen beigelegt, nach denen es wahrscheinlich ist, daß es sich um das *Fusobacterium nucleatum* handelt. Keine Pathogenität für Kleintiere (Mäuse, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen).

### 3. Art: *Fusobacterium polymorphum*.

10—20  $\mu$  lange, in jungen Kulturen etwa 0,2—0,3  $\mu$  breite Stäbchen, nicht zu Doppelstäbchen vereint. Der Normaltyp ist an beiden Enden scharf ausgezogen, wodurch eine gestreckte Spindelform entsteht. Diese Art zeigt die größte Neigung zur Polymorphie (Lichtb. 9, 11 u. 12, Taf. I). Typische Kolonien in Pyroserumagarplatten mit zarter, ziemlich breiter Krause am Rande (Lichtb. 3, Taf. I). Wetzsteinform der Kolonie findet man ebenfalls, sie ist von der des *Fusobacterium nucleatum* nicht zu unterscheiden. Besenreiserartiges Wachstum in halberstarrem Serum (Lichtb. 1). Selbst junge Generationen gedeihen nach Zusatz von Serum, das bis zur Trübung erhitzt war.

a) Ghon und Mucha (26) fanden im Eiter eines Gehirnabszesses ein *Fusobacterium* in Reinkultur. Es wurde somit eine wesentliche Bedingung, die Beobachtung in jungen Generationen, möglich. So stimmen auch die Ergebnisse mit meinem *Fusobacterium polymorphum* völlig überein. Erwähnenswert ist, daß erst nach 1½ Jahren der Stamm seine Serophilie verlor und Oberflächenkulturen überhaupt nie angingen. Gasbildung fehlte. Jedoch wird, abweichend von meinen Aufzeichnungen, leichter fötider Geruch festgestellt. Indol, Azeton, Essigsäure, Methylalkohol konnten nicht nachgewiesen werden. Die Kolonieform in Serumagar und erstarrter Hydrocelenflüssigkeit war die gleiche, wie bei meiner Art (vgl. Lichtb. 1 u. 3 meiner Taf. I). Der Stamm besaß keine krankheitserregenden Eigenschaften für Kleintiere. Die Arbeit ist die erste, die auf die Beziehung zwischen Generation und Biologie in manchen Punkten hinweist.

b) Kaspar und Kern (27) züchteten ein *Fusobacterium* aus Leberabszessen im Anschluß an Blinddarmentzündung (Fall I). Da die aëroben Aussaaten nicht angingen, scheint eine Reinkultur im Ausgangsmaterial vorgelegen zu haben. Nach Angaben der Verf. stimmt der Stamm morphologisch mit dem Ghon und Muchas überein, biologisch verzeichneten sie einige Unterschiede, wie Indol und Essigsäurebildung, fehlende Gerinnung der Milch und Gasbildung nach 3 Tagen in den untersten Partien der Zuckernährbrühe mit Pferdeserumzusatz. Nur beistimmen kann man, wenn der Gasbildung keine Bedeutung beigegeben wird. Aber auch andere chemische Leistungen genügen nicht, um eine Verschiedenheit mit Ghon- und Muchas-Stamm festzustellen. Bezüglich der Indolbildung sei auf die Arbeit Friebbers (28) verwiesen, da die Angabe fehlt, wie der Indolnachweis gelang. Die Ähnlichkeit, die Verf. für den Stamm mit dem Veillon und Zubers feststellen, kann ich nicht finden; denn, abgesehen von weitgehenden biologischen Unterschieden, spricht die Morphologie dagegen. Eine Mischkultur von *Fusobacterium nucleatum* und *polymorphum* ist auf Grund der beigegebenen Abbildungen möglich.

c) Maresch (22) züchtete bei einem Fall (Fall I) von eitriger Mittelohrentzündung mit anschließender Pyämie aus trombophlebitischem Eiter ein *Fusobacterium*, das sich bereits im Ausgangsmaterial in Reinkultur vorfand. Beschreibung und Abbildung gestatten die Zuteilung des Stammes zu dieser Art.

d) Shmamine (20) konnte aus der 6. Generation einer Pallidamischkultur in hochgeschichtetem Serumagar einen nadelförmigen Keim züchten, der nur in der 2. Generation Uebergangsformen zu den Spirochäten zeigte. Eine 3. Generation ging infolge Chloroformsterilisation des Serums nicht mehr an. Shmamine neigt nun „sehr“ zur Annahme, daß die nadelförmigen Keime ganz in Spirochäten übergehen. Wahrscheinlich arbeitete Shmamine mit einer Mischkultur, was bei der Gewinnung seiner Reinkultur durch Herausgleitenlassen des Agarzylinders und dem ähnlichen, nahezu gleichen Wachstum der Spirochäten und Nadelförmigen möglich war. Die Lichtbilder sprechen für diese Annahme; so zeigt Lichtb. 12 ähnliche Formen, wie sie bei *Spir. putigenum* vorkommen. War die Reinkultur des nadelförmigen Keimes jedoch ge-  
glückt, dann steht er dem *Fusobacterium polymorphum* sehr nahe.

Außerdem finden sich im Schrifttum noch mehrere Hinweise auf Reinkulturen von Fusobakterien, deren Zuteilung zu einer der drei aufgestellten Arten unmöglich ist.

So züchtete Rodella (29) aus menschlicher Mundhöhle ein *Fusobacterium*. Die erste Arbeit über diesen Keim war mir nicht zugänglich. Nur die spätere Beschreibung kann kurz wiedergegeben werden: Rodella weist auf die große Polymorphie hin, die eine Prüfung der morphologischen Eigenschaften nicht leicht mache. Rodella will bei seinem Keim Sporen nachgewiesen haben; leider fehlt die Angabe des Verfahrens. Auf die täuschende Ähnlichkeit mancher Blähformen mit Sporen habe ich bereits hingewiesen und verweise nochmals auf Lichtb. 10, Taf. I. Im übrigen war der Stamm nicht serophil, erzeugte Gestank, wuchs bei 37° und bildete in einfacher Nährbrühe, jedoch nicht bei Zuckerzusatz, Gas. Angaben über Züchtung und Generation fehlen.

Krumwiede, Ch. u. Pratt, J. (30) züchteten 5 Stämme bei Plaut-Vincentischer Angina, 3 bei Ohreiterung, 2 bei Noma, 2 bei Alveolarpyorrhoe, 2 aus kariösen Zähnen und 1 aus entzündetem Zahnfleisch. An 15 Zuckerarten wurden die fermentativen Eigenschaften untersucht, um festzustellen, ob gewisse Beziehungen zwischen Ursprung der Kultur und fermentativer Leistung beständen. Dies war nicht der Fall. Die Bakterien ließen sich jedoch in 2 Gruppen teilen, von denen die eine Saccharoseangriff, die andere nicht. Dextrose, Galaktose und Lävulose wurde von allen Stämmen angegriffen. Alle Stämme waren Indol-positiv, geruchbildend und anfänglich serophil. Aber auch später ist für dauernd gutes Wachstum Serum notwendig. Die Trennung der Spirochäten von den begleitenden Fusobakterien war dadurch möglich, daß die Spirochäten nur im koagulierten Pferdeserum gediehen, wo die Fusiformen zugrunde gingen.

Verff. geben ferner auch ein Züchtungsverfahren für Fusobakterien an, das darin besteht, den Serumagar in Petri-Schalendeckel auszugießen und mit der Kulturschale zur Herstellung der Anaerobiose zuzudecken. Verff. betonen, daß Aszites infolge seiner schwankenden Zusammensetzung ungleichmäßige Resultate gibt und empfehlen Pferdeserum. Die Anwesenheit unveränderten Serums sei die einzig sichere Methode zur Züchtung, wenn auch verschiedene Stämme in ihrer Fähigkeit, auf einfacheren Nährböden zu wachsen, differieren.

E. C. Rosenow und R. Tunnicliff (31) beschreiben einen Stamm aus pyämischen Herden bei Blinddarmentzündung. Nach der Beschreibung und den Abbildungen handelt es sich um eine Mischkultur von Fusobakterien mit Kokken und Spirillen.

G. F. Dick (32) berichtet über das Vorkommen von Fusobakterien bei verschiedenen Krankheiten. Im 1. Fall entstand nach Mandel- und Ohrentzündung Meningitis. Eine Reinkultur gelang nicht. Im 2. und 3. Fall ging eine Allgemeininfektion anscheinend von Bronchiektasie aus. Aus Meningitiseiter gelang angeblich die Reinkultur eines serophilen, anscheinend sehr vielgestaltigen *Fusobacterium*s, das nicht näher beschrieben wird. Weiterhin gelang es, aus peritonitischem Exsudat im Anschluß an eine Fehlgeburt ein *Fusobacterium* zu züchten, von dem ebenfalls genauere Beschreibung fehlt. Ferner konnte bei Lungengangrän und Empyem ein *Fusobacterium* in Reinkultur gezüchtet werden. Der Stamm war nicht serophil, sonst finden sich keine wesentlichen Angaben. Bei einem weiteren Fall von Empyem glückte die Reinkultur nicht.

E. Paul (33) konnte in 4. Generation Fusobakterien reinzüchten. Die Kulturen werden nicht beschrieben, da nur ihre Pathogenität geprüft werden sollte. Verff. glaubt, daß die Fusobakterien aus pathologischen Prozessen wirksamer seien, als Stämme aus normaler Mundhöhle. Die Stämme waren jedoch nur nach Verimpfung „großer Mengen“ pathogen.

Ob Costas (34) aërober Stamm, der 5mal aus normaler Mundhöhle reingezüchtet wurde, hierher gehört, erscheint fraglich. Die Möglichkeit, daß zu dieser Gattung auch aërobe Keime gehören können, ist nach den Ergebnissen amerikanischer Forscher, die den Uebergang zur Aërobiose bei Fusobakterien beobachteten, nicht abzuweisen. Morphologisch ist der Keim Costas dem *Fusobacterium* Pl.-V. ähnlich. Das Bakterium ist beweglich, gramnegativ und sporenfrei, wächst nur bei Bruttemperatur und zeigt Vorliebe für eiweißhaltige Nährböden; auf koaguliertem Serum tritt kein Wachstum ein. Tierpathogenität fehlt.

#### Zusammenfassung.

Es wurden 4 Fusobakterienstämme, die 3 Arten angehören, aus kariösen Zähnen oder Zahnbelägen reingezüchtet. Die Reinkultur gelang

in Serumagar, der zu Pyroplatten ausgegossen wurde. Da die *Fusobakterien* bei länger fortgeführten Züchtungen sich fast durchweg morphologisch und biologisch verändern, was häufig unberücksichtigt blieb und zur Aufstellung „neuer Arten“ geführt hat, wurden junge und ältere Generationen soweit möglich morphologisch und biologisch beobachtet. Aus diesen Studien und dem Schrifttum ergab sich die Notwendigkeit, eine Gattung *Fusobacterium* mit vorläufig 3 Arten aufzustellen. Es wurde versucht, die bisher beschriebenen Reinkulturen einer der 3 aufgestellten Arten *Fusobacterium Plauti-Vincenti*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium polymorphum* zuzuteilen. Ein eigener Abschnitt behandelt die Kernfrage bei *Fusobakterien*. Es gelang, beim *Fusobacterium nucleatum* Gebilde nachzuweisen, die als Kerne angesprochen werden müssen.

#### Literatur.

- 1) Lehmann, K. B., u. Neumann, R. O., *Bakt. Diagnostik*, 6. Aufl. — 2) Lewkowitz, X., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 41. S. 153. — 3) Knorr, M., *Ebenda.* Bd. 86. S. 596. — 4) Ellermann, V., *Ztschr. f. Hyg.* Bd. 56. S. 453. — 5) Meyer, A., *Die Zelle der Bakterien.* Jena (G. Fischer) 1912. — 6) Hoelling, A., *Arch. f. Protistenk.* Bd. 19. S. 239. — 7) Mühlens, P., u. Hartmann, M., *Ztschr. f. Hyg.* Bd. 55. S. 81. — 8) Mühlens, P., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 48. S. 523. — 9) Zettnow, E., *Ztschr. f. Hyg.* Bd. 90. S. 20. — 10) Beitzke, H., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* Bd. 35. S. 1. — 11) Veillon u. Zuber, *Arch. de méd. exp. T. 1.* 1898. p. 10. — 12) Baumgartner, E., *Erg. d. ges. Zahnheilk.* 1910. H. 2. — 13) Leiner, K., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 43. S. 119. — 14) Klimenko, W. N., *Ebenda.* Bd. 74. S. 487. — 15) Mühlens, P., *Ebenda. Abt. I. Ref.* Bd. 52. S. 613. — 16) Ellermann, V., *Ebenda. Abt. I. Orig.* Bd. 37. S. 729. — 17) Weawer u. Tunncliff, R., *The Journ. of inf. Dis.* Vol. 2. 1905. p. 446. — 18) Runeberg, B., *Arb. a. d. path. Inst. Helsingfors.* Bd. 2. 1908. S. 421 u. 463. — 19) Repaci, G., *Compt. rend. Soc. d. Biol.* 1909. p. 591. — 20) Shmamine, T., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 65. S. 311. — 21) Klinger, R., *Ebenda.* Bd. 62. S. 186. — 22) Maresch, R., *Ebenda.* Bd. 77. S. 130. — 23) Tunncliff, R., *The Journ. of inf. Dis.* Vol. 3. 1906. H. 1; siehe a. Vol. 8. 1911. p. 316. — 24) Ozaki, Y., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 62. S. 76. — 25) Larson, W. P., u. Baron, M., *Journ. of inf. Dis.* 1913. p. 429. — 26) Ghon, A., u. Mucha, V., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 49. S. 493. — 27) Kaspar, F., u. Kern, W., *Ebenda.* Bd. 55. S. 97. — 28) Frieber, W., *Ebenda. Orig.* Bd. 87. S. 254. — 29) Rodella, A., *Arch. f. Hyg.* Bd. 5. S. 329. — 30) Krumwiede, Ch., u. Pratt, J., *The Journ. of inf. Dis.* Vol. 13. 1913. p. 438; Vol. 12. p. 199. — 31) Rosenow, E. C., u. Tunncliff, R., *Ebenda.* Vol. 10. 1912. H. 1. — 32) Dick, G. F., *Ebenda.* Vol. 12. 1913. p. 191. — 33) Paul, E., *Dtsch. Mtschr. f. Zahnheilk. Jg.* 1909. S. 24. — 34) Costa, L., *Compt. rend. Soc. de Biol.* 1911. p. 814.

#### Tafelerklärung.

Die Aufnahmen Nr. 1—5, 8—11, 12 und 16 verdanke ich der Güte meines hochverehrten Lehrers, Herrn Univ.-Prof. Dr. L. Heim. Herr Prof. Dr. E. Zettnow, dem ich das *Fusobacterium nucleatum* sandte, hatte die Liebeshwürdigkeit, die Aufnahmen Nr. 14 und 15 zu machen.

Die Aufnahmen Nr. 6, 7, 10, 13 verdanke ich der Liebeshwürdigkeit von Herrn Dr. Peltason, Assistent an der med. Poliklinik in Würzburg.

#### Tafel I.

##### 1. *Fusobacterium Plauti-Vincenti*.

Lichtb. 6. Serumagarkultur 1:4 lackmusneutral, 3 Tage alt, Pyrokultur 20-fach.

Lichtb. 7. Serumagarkultur 1:4 lackmusneutral, 16 Tage alt, in hoher Schicht, Aufnahme im durchfallenden Licht im Reagenzglas, Kolonien 1 cm von der Oberfläche entfernt, ca. 3-fach.

Lichtb. 10. L.L.B.-Kultur mit Serumzusatz, 3 Tage alt, Karbolfuchsin 1:10, Trockenpräparat 800-fach.

Lichtb. 13. Serumagarkultur 1:3, lackmusneutral, 3 Tage alt, Karbolfuchsin 1:10, Trockenpräparat 800-fach.

### 2. *Fusobacterium nucleatum*.

Lichtb. 4. Oberflächenkultur auf Traubenzuckerazitesagar, phenolphth. alkalisch, 6 Tage alt, Pyrokultur 20-fach.

Lichtb. 5. Kolonie in Serumagar 1:4 lackmusneutral, 14 Tage alt, Pyrokultur 40-fach.

Lichtb. 14. Fuchsin-trockenpräparat aus Traubenzuckerbouillon 1000-fach.

Lichtb. 15. Siehe Nr. 14.

### 3. *Fusobacterium polymorphum*.

Lichtb. 1. 55 Tage alte Kultur in Schereschewski-Nährboden, Aufnahme im Reagenzglas im durchfallenden Licht, 40-fach.

Lichtb. 3. Kolonie in Serumagar 1:4 lackmusneutral, 14 Tage alt, Pyrokultur 40-fach.

Lichtb. 9. Karbolfuchsin-trockenpräparat aus 28-täg. Serumagarkultur 1:3 neutral, 1-proz. Traubenzuckerzusatz hohe Schicht, 1000-fach.

Lichtb. 11. Mischkultur mit *Spirillum sputigenum*, aus schwach lackmus-saurer 6-täg. L.L.B.-Kultur, nasses Präparat, Karbolfuchsin 1:10, 1000-fach.

Lichtb. 12. Nasses Fuchsinpräparat aus Aszites, Bouillonkultur 2 Tage alt, 1000-fach.

### 4. *Spirillum sputigenum* (zur nächsten Mitteilung).

Lichtb. 8. Karbolfuchsin-Trockenpräparat aus Nährbrühe mit Serumzusatz in Kapillare nach 2 Tagen, 1000-fach.

Lichtb. 16. Tuschepräparat aus L.L.B., schwach sauer, neutral, 6 Tage alt, 1000-fach.

### Tafel II.

Die Herstellung der Tafel übernahm in lebenswürdigster Weise die Firma Leitz. Sämtliche Aufnahmen sind mit gleicher Optik (Oelimmersion  $\frac{1}{4}$ , a und periplanatischem Okular 15 $\times$ ) gemacht. Die verschiedenen Vergrößerungen sind durch Aenderung der Balglänge erreicht. Als Filter wurde das Pikrinsäurefilter benutzt. Alle Aufnahmen sind vom gleichen Präparate gemacht. (Trockenpräparat aus 3 Tage alter L.L.B.-Kultur mit Serumzusatz, Fixierung mit Alk. abs., Färbung mit Giemsa.)

Die Buchstaben bezeichnen bestimmte Phasen der Kernentwicklung (siehe Beschreibung).

Lichtb. 1 1000 $\times$ ; Lichtb. 2 1200 $\times$ ; Lichtb. 3 1600 $\times$ ; Lichtb. 4 1500 $\times$ ; Lichtb. 5 1400 $\times$ ; Lichtb. 6 2800 $\times$ ; Lichtb. 7 1400 $\times$ .

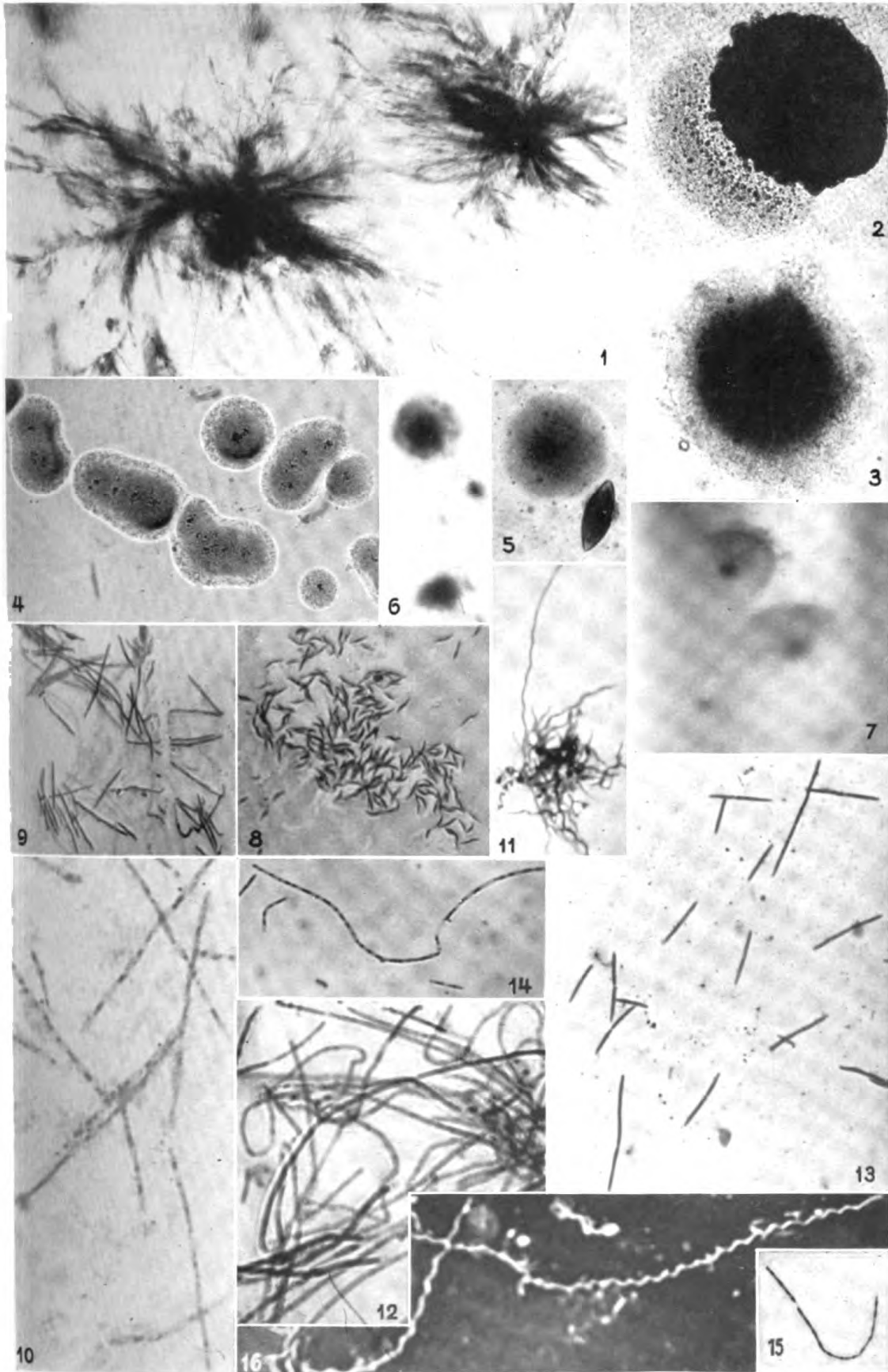
*Nachdruck verboten.*

## Infektionen der Harnwege durch *Staphylococcus albus* [Aus dem Stadtkrankenhaus zu Zittau (Leit. Arzt: Prof. Dr. Klieneberger).]

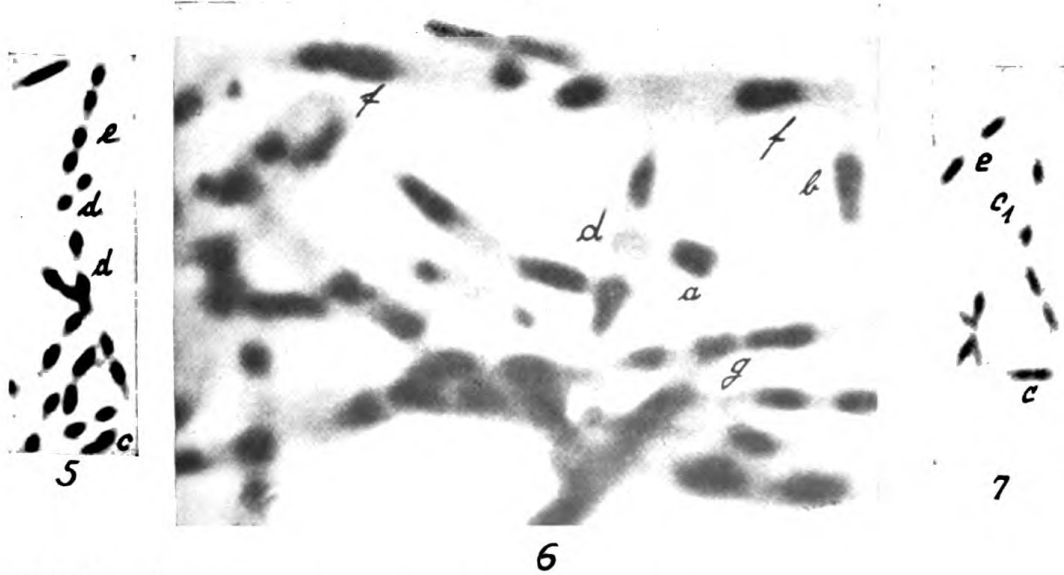
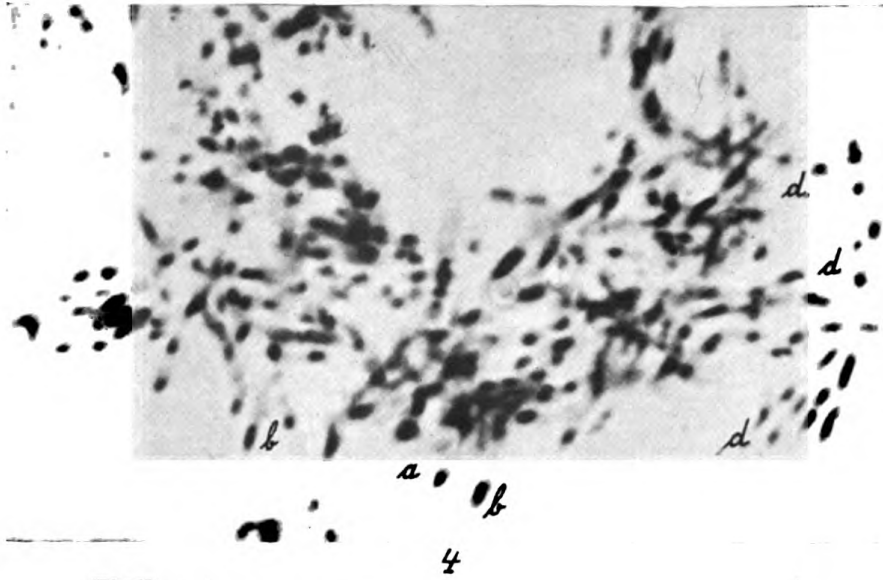
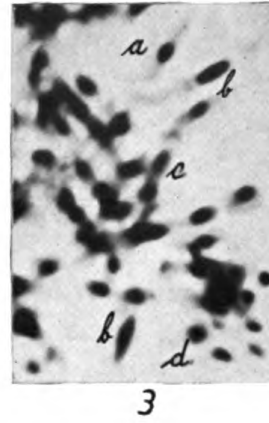
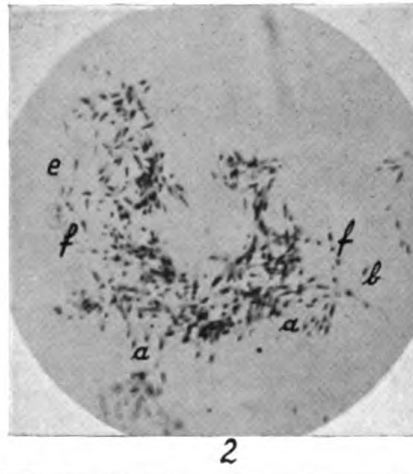
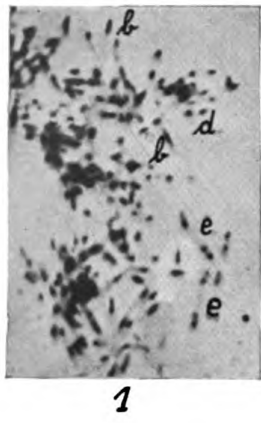
Von Dr. **Martin Schneider**, Assistenzarzt der inneren Abteilung.

Infektionen der Harnwege sind häufig, besonders durch das *Bacterium coli*, das von außen her, vom Darm, nach Meinung mancher Autoren auch auf hämatogenem Wege in die Harnwege gelangt und Cystitis bzw. Cystopyelitis hervorruft. Als weitere Erreger kommen (abgesehen von *Proteus*-Arten, Typhusbazillen, Pneumokokken u. a.) besonders Strepto- und Staphylokokken in Betracht. Von den Staphylokokken scheint, im Gegensatz zu anderen Entzündungen, die meist durch









E. Leitz fotogr.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



*Staphylococcus pyogenes aureus* bedingt sind, bei Infektionen der Harnwege häufig *Staphylococcus pyogenes albus* angetroffen zu werden, wenigstens fand er sich in mehreren, in letzter Zeit im hiesigen Stadt Krankenhaus beobachteten Fällen. Ich möchte besonders darauf hinweisen, da ich in der Literatur keine Angaben über die Häufigkeit des Vorkommens von *Staphylococcus aureus* im Verhältnis zu *Staphylococcus albus* bei diesen Erkrankungen gefunden habe. Einige kurze Auszüge aus den Krankengeschichten lasse ich folgen:

1) 32-jähr., mittelkräftiger Pat. Angeblich nach Erkältung zunehmende Lumbalschmerzen und Harndrang. Empfindliche Renalgegenden. Trüber Harn mit mäßiger Eiweißausscheidung. Urinsediment: spärliche Epithelien und rote, massenhaft weiße Blutkörperchen, viel Kokken. Kultur: *Staphylococcus albus*. Therapie: Hitze (Bäder, Sand, Diathermie), Salol, Injektionen von Autovakzine. Nach 2 Mon. völlig klarer Urin.

2) 17-jähr., etwas schwächerer Pat. Seit 2 Wochen Schmerzen in beiden Nieren-gegenden, seit 2 Tagen Blasenbeschwerden. Untere Nierenpole palpabel und leicht druckempfindlich. Oeftere, aber geringe, trübe Urinentleerungen mit geringer Eiweißausscheidung. Urinsediment: massenhaft weiße, spärlich rote Blutkörperchen, ziemlich viel Kokken. Kultur: *Staphylococcus albus*. Therapie: Wärme, Hexal, Autovakzine. Bei der Entlassung nach 9 Wochen nur noch vereinzelte Zellen im Urinsediment.

3) 20 jähr., kräftiger Pat. Nach Erkältung Schmerzen in beiden Seiten und leichter Druck in der Blasengegend. Geringe und trübe Harnentleerungen. Aus der Urethra entleert sich auf Druck etwas Eiter, der massenhaft Kokken enthält. Kultur: *Staphylococcus albus*. Ambulante Behandlung mit Wärme, Urotropin, Fol. uv. urs. In 3 Wochen geheilt.

Im Anschluß hieran möchte ich noch einen Fall von Sepsis erwähnen, der wahrscheinlich durch *Staphylococcus albus* bedingt war.

27-jähr., kräftiger Pat. von leicht septischem Aussehen. Geringe Angina catarrhalis. Fühlbare Milz. Rekurrerendes Fieber zwischen 37° und 40°. Widal negativ. Blutkultur steril. Nach 14 Tagen Auftreten von kleinen Furunkeln am Abdomen und an den Schläfen. Kultur des Eiters: *Staphylococcus albus*. Behandlung mit Trypaflavin und Autovakzine. Nach 5 Wochen völlig geheilt entlassen.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Aetiologie des Ferkelparatyphus.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der Tierärztlichen Hochschule in Budapest (Direktor: Hofrat Prof. Dr. F. v. Hutyra).]

Von ao. Prof. Dr. R. Manninger in Budapest.

In Ungarn wurden während der letzten 10 Jahre wiederholt enzootische Erkrankungen unter Ferkeln festgestellt, die klinisch und anatomisch dem zuerst von Glässer als Typhus und Paratyphus der Schweine bezeichneten Krankheitsbilde in jeder Hinsicht entsprachen. Da jedoch durch die bakteriologische Untersuchung niemals der *Bac. suis* pestifer Voldagsen (*Ferkeltyphusbazillus*) nachgewiesen werden konnte, der in Deutschland, wenngleich nicht der alleinige, jedenfalls aber der bei weitem häufigste Erreger der Krankheit zu sein scheint, so wurden im Institut eingehende Untersuchungen über die Aetiologie der Krank-

heit ausgeführt. Im Auftrage meines Chefs, Prof. v. Hutya, gestatte ich mir, das Ergebnis der diesbezüglichen Versuche mitzuteilen.

Im Laufe der 10 Jahre wurden Kadaver aus 57 Beständen bakteriologisch untersucht. Die Erkrankungen betrafen zum Teil Saugferkel im Alter von einigen Tagen bis 3 Wochen, zum Teil 2—4 Monate alte Ferkel. Unter älteren Tieren wurde die Krankheit in enzootischer Verbreitung bisher noch nicht festgestellt.

Pathologisch-anatomisch ließen sich je nach dem Alter und der Empfänglichkeit der betroffenen Tiere, sowie vermutlich je nach dem Virulenzgrad des Erregers verschiedene Veränderungen nachweisen.

Bei Saugferkeln wurde fast in jedem Falle akute Magendarm-entzündung, kleienartige Verschorfung eines längeren Darmabschnittes, mäßiger Milztumor und markige Schwellung der Gekrösymphknoten nachgewiesen. Der Verlauf war je nach den Beständen ziemlich verschieden. In der Regel erkrankten die Tiere gegen Ende der ersten Lebenswoche offensichtlich und verendeten nach 4—7-tägigem Durchfall; in manchen Fällen gingen die Tiere dagegen schon einige Tage nach der Geburt ein. In einem besonders bemerkenswerten Falle verendete eine Anzahl von Ferkeln bereits 48 Std. nach der Geburt, und auch hier ließ sich im Dünndarm bereits beginnende oberflächliche Verschorfung der Schleimhaut nachweisen.

Bei Absetzferkeln war der Zerlegungsbefund in Fällen mit kürzester Krankheitsdauer, wo der Tod binnen 2—3 Tagen nach den ersten Anzeichen der Erkrankung eintrat, oft fast vollständig negativ, nur die bisweilen hochgradige Milzschwellung erweckte Verdacht auf Paratyphus, sonst wurden meist außer akutem Milztumor geringfügige Zeichen einer Allgemeininfektion vorgefunden, wie vereinzelt punktförmige Blutungen in der Rindenschicht der Nieren, am Epikard und in den Lungen, sowie mäßige akute Schwellung einzelner Lymphknoten, namentlich im Bereiche des Rachengürtels, ferner wenig serofibrinöses Exsudat im Herzbeutel und in der Bauchhöhle, doch waren diese Veränderungen nicht immer in ihrer Gesamtheit vorhanden. In anderen weniger rasch, aber immerhin akut verlaufenden, innerhalb etwa 1 Woche zum Tode führenden Fällen ließen sich außer den schon angeführten Veränderungen akute Magendarm-entzündung mit hochgradiger Schwellung der Dickdarmfollikel, sowie in einigen Fällen zahlreiche stecknadelkopfgroße nekrotische Herde in der Leber nachweisen.

In den mehr chronischen Fällen mit einem Verlauf von über 2 Wochen wurde die Milzschwellung bisher in jedem Falle vermißt, und die Veränderungen beschränkten sich fast ausnahmslos auf den Verdauungskanal und auf die Gekrösymphknoten. Die Magenschleimhaut war im Bereiche des Fundusteiles gleichmäßig gerötet oder auf kleinen, bis pfenniggroßen Stellen oberflächlich abgestorben, seltener auch mit platten, gelblichbraunen, krupösen Auflagerungen bedeckt. Die Dünndarmschleimhaut war, besonders im Leer- und Hüftdarm, oberflächlich verschorft. Im Dickdarm ließen sich auf der geschwollenen Schleimhaut teils unregelmäßig geformte, leicht abstreifbare, gelblichbraune, fibrinöse oder der Unterlage fester anhaftende, käsige bröckelige Auflagerungen, teils runde, etwa pfennig- bis markstückgroße, mit einem Schleimhautwall umgebene, flache Geschwüre nachweisen. Die Gekrösymphknoten waren stets markig geschwollen, ausnahmsweise fanden sich in ihnen auch bis hanfkorngroße nekrotische Herde vor. Ob die in solchen Fällen häufig vorhandene schlaaffe Pneumonie mit zum Krankheitsbild des Para-

typhus gehört (Pneumoparatyphus) oder sich davon unabhängig entwickelt und dann nur als Nebenfund zu beurteilen wäre, mag einstweilen dahingestellt bleiben.

Mikroskopisch wurden in den Gekröslymphknoten regelmäßig Coli-ähnliche Stäbchen gefunden, in manchen Fällen konnten, allerdings nur in sehr spärlicher Zahl, auch in anderen Organen und im Blute Bakterien nachgewiesen werden. Da mikroskopisch die Unterscheidung der Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe unmöglich ist, so erübrigt sich die nähere Beschreibung der bakterioskopischen Befunde.

Kulturell ließen sich in jedem Falle *Suipestifer*-Bazillen nachweisen, und zwar, abgesehen vom Darminhalt, in den akuten Fällen mit Milzschwellung regelmäßig sowohl im Blute als auch in den verschiedensten Organen, in den mehr chronischen Fällen stets in den Gekröslymphknoten, ausnahmsweise auch im Blute. Die Reinzüchtung wurde auf der Drigalskischen Blauplatte vorgenommen, wo die blauen Kolonien bereits nach 24-stünd. Bebrüten festgestellt werden konnten. Die Prüfung der im übrigen beweglichen Bakterien auf verschiedenen Differentialnährböden ergab, daß sie Milchzucker und Saccharose nicht angriffen, dagegen Traubenzucker, Maltose und Mannit unter Säurebildung und Gasentwicklung zersetzten, Neutralrot reduzierten, Milch nicht zur Gerinnung brachten, kein Indol bildeten und Kahlbaum'sche Lackmusmolke anfangs röteten, nach 2—4 Tagen jedoch wieder bläuten. Auf Grund dieser Merkmale durften die Bazillen in die Paratyphusgruppe gereiht werden.

Agglutinationsversuche ergaben, daß es sich in jedem bisher untersuchten Falle um *Suipestifer*-Bazillen gehandelt hat. 15 Stämme, die zum Teil noch aus dem Jahre 1913 herkommen, zum Teil 1921 isoliert wurden, unterzog ich neuerdings nochmals einer eingehenden serologischen Prüfung. Die agglutinierenden Sera wurden durch intravenöse Behandlung von Kaninchen mit steigenden Dosen abgetöteter Bakterien hergestellt. Zur Immunisierung dienten je ein Stamm von *Bac. typhi*, *paratyphi A*, *paratyphi B* und *enteritidis* Gärtner, ferner ein Stamm („Bromberg“) des Ferkeltyphusbazillus, den mir Herr Prof. Dr. Pfeiler-Jena in lebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte, endlich 2 *Suipestifer*-Stämme, von denen der eine (St. „1915“) aus einem Gekröslymphknoten eines pestkranken Schweines, der andere (St. IV) aus dem Blute eines paratyphuskranken Ferkels gezüchtet wurde. Die Agglutinationsprüfung ergab (s. Tabelle), daß die aus paratyphuskranken Ferkeln isolierten Stämme durch Typhus-, Paratyphus A- und Enteritisserum überhaupt nicht und auch durch Paratyphus B-Serum nur wenig beeinflußt, dagegen sowohl von den *Suipestifer*-Seris als auch vom Ferkeltyphusserum bis oder fast bis zur Titergrenze, vereinzelt auch darüber hinaus agglutiniert wurden. Dergleichen agglutinierten die *Suipestifer*-Sera weder Typhus- noch Paratyphus A- und Gärtner-Bazillen und waren auch gegenüber den Paratyphus B-Bazillen zum Teil wirkungslos, beeinflussten dagegen sowohl sämtliche *Suipestifer*-Stämme, die aus pestkranken Schweinen und aus paratyphuskranken Ferkeln isoliert wurden, als auch die 2 Ferkeltyphusstämme von Prof. Pfeiler.

Hieraus ergibt sich, daß die Erreger des Ferkelparatyphus in unseren Fällen stets *Suipestifer*-Bazillen waren. Es muß folglich angenommen werden, daß in Ungarn der Ferkelparatyphus durch besonders virulente, typische

Tabelle.

Bezeichnung der Bakterienstämme	Typhus- serum 1:4000	Paratyphus A-Serum 1:4000	Paratyphus B-Serum 1:10000	Suipestifer- Serum (St. 1915) 1:4000	Ferkel- suipestifer- Ser. (St. IV) 1:2000	Ferkeltyph- Serum (St. Bromberg) 1:4000	Enteritis- Serum 1:4000
B. typhi	1:4000	1:1000	1:100	—	—	—	1:1000
B. paratyphi A	—	1:4000	—	—	—	—	—
"  "  BI	—	—	1:10 000	1:500	1:100 ±	—	—
"  "  BII	—	—	1:10 000	1:200	—	—	—
B. suipestifer (Schwei- nepest) 1915	—	—	1:500	1:4000	1:2000	1:4000	—
dgl. 1921	—	—	1:500	1:4000	1:2000	1:4000	—
B. suipestifer (Ferkel- paratyphus) I	—	—	1:500	1:4000	1:4000	1:2000	—
dgl. II u. V	—	—	1:500	1:4000	1:2000	1:2000	—
"  III u. X	—	—	1:200	1:4000	1:2000	1:4000	—
"  IV	—	—	1:500	1:8000	1:2000	1:4000	—
"  VI	—	—	1:500	1:2000	1:4000	1:4000	—
"  VII, IX, XI, XIII u. XIV	—	—	1:500	1:4000	1:2000	1:4000	—
"  VIII	—	—	1:500	1:8000	1:1000	1:4000	—
"  XII	—	—	1:200	1:4000	1:2000	1:2000	—
"  XV	—	—	1:200	1:2000	1:2000	1:2000	—
Ferkeltyphusbazillus Bromberg	—	—	—	1:2000	1:1000	1:4000	—
Ferkeltyphusbazillus L16	—	—	—	1:2000	1:1000	1:4000	—
B. enteritidis Gärtner	1:200	—	1:200	—	—	—	1:4000

Suipestifer-Bazillen verursacht wird. Damit soll freilich die Möglichkeit nicht in Abrede gestellt werden, daß in Ungarn gelegentlich auch andere Varietäten der Paratyphusgruppe Enzootien verursachen. jedenfalls dürften aber solche Fälle zu den Seltenheiten gehören.

Die pathogene Wirkung der Suipestifer-Bazillen wurde durch Fütterungsversuche festgestellt. Sie wurden mit 3 Stämmen ausgeführt:

Vom Stamm I, der am 14. Jan. 1913 aus einem Gekrölymphknoten eines 10 Tage alten Ferkels reingezüchtet wurde, bekamen am 1. Febr. 1913 4 Ferkel im Alter von 3 Monaten in Milch je eine 24-stünd. Agarkultur verabreicht. Drei der Tiere erkrankten 3 Tage nach der Infektion offensichtlich, es stellte sich Mattigkeit, Fraßunlust und Durchfall ein, nachdem die Körpertemperatur bereits 24 Std. nach der Verfütterung der Bakterien auf 40,1—41,2° C gestiegen war. Diese Tiere verendeten 5—14 Tage nach der Ansteckung. Ihr Körpergewicht sank inzwischen um 24—39 Proz. Bei der Zerlegung wurden pfenniggroße, krupöse Auflagerungen auf der entzündeten Magenschleimhaut, Schwellung der Peyerschen Platten, krupöse-diphtheroide Beläge auf der Dickdarmschleimhaut, insbesondere im Blinddarm, markige Schwellung der Gekrölymphknoten, ferner bei 2 Tieren schlaffe Hepatisation beider Spitzenlappen nachgewiesen. Auf der Blauplatte wuchsen aus der Milz und den Gekrölymphknoten feine blaue Kolonien, die als Suipestifer-Bazillen erkannt wurden. Das 4. Ferkel blieb, abgesehen von einer 24 Std. dauernden Temperatursteigerung auf 40,1° C am 2. Tage nach der Infektion, dauernd gesund; es nahm an Gewicht zu (das Gewicht betrug am 1. Febr. 1913 4600 g, am Tage der Entblutung, am 4. April 1913, 5050 g) und wurde auch bei der Zerlegung gesund befunden.

Mit dem am 19. März 1921 aus dem Blute eines Absetzferkels gewonnenen Stamm IX wurde am 17. Dez. 1921 ein 7 Tage altes, 2 kg schweres Ferkel gefüttert. Es erhielt in Milch  $\frac{1}{10}$  Oese einer 24-stünd. Kultur. Nach 48 Std. schnellte die Körpertemperatur auf 41,5° C und verweilte 3 Tage hindurch auf fieberhafter Höhe, worauf das Tier, bei dem sich mittlerweile Fraßunlust und Durchfall einstellte, entkräftet bei subnormaler Temperatur (37,7—37,9° C) noch 2 Tage am Leben blieb. Am 24. Dez. morgens wurde es tot aufgefunden. Die Zerlegung des nur noch 1,5 kg schweren Kadavers wies hochgradige akute Magenentzündung, einige punktförmige



Blutungen in der Rindenschicht der Nieren, akute Schwellung der verschiedensten Lymphknoten und der Milz, ferner serösen Erguß in den Herzbeutel nach. Aus dem Blute und den Gekröslymphknoten wurden *Suipestifer*-Bazillen in Reinkultur nachgewiesen.

Endlich wurde am 15. Dez. 1921 ein 6 Wochen altes, 4 kg schweres Saugferkel mit  $\frac{1}{10}$  Oese einer 24-stünd. Agarkultur des Stammes XV gefüttert. Der Stamm wurde 2 Tage vorher aus dem Blute eines Absetzferkels gezüchtet. Das infizierte Tier fieberte vom nächsten Tage an bis zum letzten Tage vor dem Eintritt des Todes, nur in den letzten 24 Std. stellte sich subnormale Temperatur ( $37,2^{\circ}$  C) ein. Die Abnahme der Freßlust machte sich schon am 16. Dez. bemerkbar, am nächsten Tage stellte sich Durchfall ein und am 23. Dez. ist das inzwischen auf 2,5 kg abgemagerte Tier verendet. Bei der Zerlegung wurden die Lymphknoten saftreich und mäßig gerötet gefunden, die Lymphknoten des Dünndarmes waren markig geschwollen und mit zahlreichen, bis stecknadelkopfgroßen nekrotischen Herden durchsetzt. Auf der Magenschleimhaut ließen sich viele hanfkorngroße Blutungen und einige pfenniggroße krupöse Auflagerungen nachweisen. Die Darmschleimhaut war besonders im Dünndarm entzündlich geschwollen und gerötet, im Dickdarm auf linsengroßen Stellen oberflächlich verschorft. Im Blute und in den Gekröslymphknoten wurden durch das Kulturverfahren *Suipestifer*-Bazillen nachgewiesen.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß echte *Suipestifer*-Bazillen bei Ferkeln auch ohne Mitbeteiligung des Pestivirus pathogene Eigenschaften entwickeln können. Es sind übrigens Erfahrungen gemacht worden, wonach typische *Suipestifer*-Bazillen mitunter auch beim Menschen, der sonst für sie nicht empfänglich zu sein scheint, schwere Erkrankungen hervorzurufen vermögen. Es sei in dieser Hinsicht nur auf die Erzindjan-Epidemie verwiesen, deren Erreger als *Suipestifer*-Bazillus erkannt wurde.

Typische *Suipestifer*-Bazillen werden übrigens auch in Deutschland, wengleich wohl seltener als in Ungarn, bei Ferkeln als Krankheitserreger angetroffen. Glässer prägte bereits 1908 neben dem Namen Schweinetyphus auch jenen des Schweineparatyphus, unter welchem Begriff die Krankheitsfälle zusammengefaßt werden sollten, deren Erreger biochemisch dem *Bac. paratyphi B* entsprechen. Obwohl aus Glässers Arbeiten nicht mit Sicherheit zu entnehmen ist, ob es sich bei seinen Schweineparatyphusstämmen um typische *Suipestifer*-Bazillen oder andere Vertreter der Paratyphus B-Gruppe gehandelt hat, so viel läßt sich dennoch sicher nachweisen, daß er auch echte *Suipestifer*-Bazillen in den Händen hatte. Dies geht unter anderem auch daraus hervor, daß sich ein Glässer-Stamm des Instituts Robert Koch in den Versuchen von Manteufel, Zschucke und Beger biochemisch und serologisch wie ein *Suipestifer*-Bazillus verhielt.

Den beschriebenen Krankheitsprozessen ähnliche Krankheitsbilder dürften übrigens ab und zu auch andere Vertreter der Paratyphusgruppe erzeugen. Hierauf weist eine Beobachtung von Schermer und Ehrlich hin, die auf einem Gute, wo auch Kälberparatyphus herrschte, Ferkel tödlich erkrankten sahen, aus denen sie dann Enteritisbazillen in Reinkultur züchteten.

Da somit sowohl *Suipestifer*-Bazillen als auch der *Bac. suipestifer* Voldagsen und gelegentlich Enteritisbazillen klinisch und anatomisch gleichartige Krankheiten zu verursachen vermögen, die auch in epidemiologischer Hinsicht eine gleichartige Beurteilung erfordern, so fragt es sich, ob eine Trennung dieser Krankheiten in nomenklatorischer Hinsicht gerechtfertigt erscheint.

Da der *Bac. suipestifer*, den man nach Pfeiler und Engelhardt auch als *Bac. paratyphi B suis* betrachten kann, ein Ver-

treter der Paratyphusgruppe ist, so liegt für die Suipestifer-Erkrankungen die Bezeichnung Paratyphus der Ferkel (Schweine) am nächsten. Nach Pfeiler dürfte allerdings der Name Paratyphus nur für Krankheitsfälle vergeben werden, die durch den *Bac. paratyphi B hominis* verursacht werden. Demgegenüber läßt sich aber einwenden, daß durch die Einschränkung des Begriffes Paratyphus durch den Zusatz „der Ferkel (Schweine)“ die Verschiedenheit der Krankheit vom Paratyphus des Menschen hinlänglich betont wird. Es wäre übrigens, besonders im Interesse des Praktikers, zweckmäßig, nicht nur die Suipestifer-Krankheit, sondern alle Erkrankungen der Ferkel, die durch Vertreter der Paratyphusgruppe verursacht werden, mit dem gemeinsamen Namen Paratyphus zu bezeichnen, wie dies Hutyra bereits vor Jahren vorgeschlagen hat. Diese Bezeichnung dürfte um so weniger Anstoß erregen, als sie auch dem Sinne Schöttmüllers, der bekanntlich den Namen Paratyphus schuf, entspricht. Schöttmüller hat beim Menschen als Paratyphus Krankheitsfälle bezeichnet, wo klinisch Abdominaltyphus vorlag, der Krankheitserreger jedoch in manchen Eigenschaften vom *Bac. typhi* abwich. Der Name Paratyphus war daher anfänglich ein klinischer Krankheitsbegriff, das „Para“ bezog sich, wie Jürgens treffend bemerkt, nicht auf den Begriff der Krankheit, sondern auf die bakterielle Ursache, und erst später wurde der Paratyphus ein ätiologischer Begriff, als sich herausstellte, daß der *Bac. paratyphi B*, sowie ihm ähnliche Bakterien auch bei anderen Gesundheitsstörungen eine Rolle spielen können. Die hier in Rede stehenden Krankheiten haben nun — *mutatis mutandis* — insofern Aehnlichkeit mit dem Abdominaltyphus des Menschen, als auch bei ihnen die Krankheit durch eine Bakteriämie eingeleitet wird, in deren Gefolge sich, falls die Tiere nicht während des septischen Stadiums eingehen (akute Krankheitsfälle), Darmgeschwüre entwickeln (chronischere Krankheitsfälle). Da jedoch die Krankheitserreger, selbst wenn eine Infektion mit dem Ferkeltyphusbazillus (*Bac. suipestifer* Voldagsen) vorliegt, keine Typhusbazillen sind, sondern der Paratyphusgruppe im weiteren Sinne angehören, so erscheint auch in dieser Hinsicht als Sammelbegriff die Bezeichnung Paratyphus angebracht.

Die Aufstellung eines Sammelbegriffes ist übrigens aus praktischen Gründen notwendig, da sonst der Praktiker überhaupt nicht in der Lage wäre, ohne Zuhilfenahme eines Laboratoriums auf Grund klinischer und anatomischer Erhebungen eine Diagnose zu stellen. Allerdings müßte dieser Sammelbegriff aufgespalten werden und der Krankheitsprozeß in Fällen, wo eine eingehende bakteriologische Untersuchung möglich ist, nach dem jeweiligen bakteriologischen Befund als Suipestifer-Paratyphus, Enteritisparatyphus oder als durch Voldagsen-Bazillen verursachter Paratyphus (= Ferkeltyphus) bezeichnet werden. Das Vorgehen würde sich in diesem Falle ebenso gestalten, wie unter anderem bei der Ruhr der Kälber, wo sich der Praktiker ebenfalls mit einem Sammelbegriff als Diagnose begnügen muß und die Stellung der speziellen ätiologischen Diagnose einem Laboratorium überlassen wird. Die Aufspaltung des Ferkelparatyphusbegriffes ist notwendig in prophylaktischer und therapeutischer Hinsicht. Soll nämlich in einem Bestande auch ein spezifisches Bekämpfungsverfahren eingeleitet werden, so ist hiervon Grundbedingung die genaue Kenntnis des jeweiligen Krankheitserregers, da die antigenen Eigenschaften der hier in Rede stehenden Bakterienarten und Varietäten verschieden sind oder dies wenigstens

sein können. Die Sonderstellung der Enteritisbazillen vom *Bac. sui-pestifer* und vom *Bac. sui-pestifer Voldagsen* ist erwiesen, die Artverschiedenheit des *Bac. sui-pestifer* vom *Voldagsen-Bazillus* aber nach den Untersuchungen von Pfeiler möglich, obwohl auf Grund der weitgehenden Uebereinstimmung der genannten Bakterien in agglutinogener Hinsicht vorderhand auch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, daß der *Voldagsen-Bazillus*, wie neuestens von Manteufel, Zschucke und Beger angenommen wird, eine gaslose *Sui-pestifer-Varietät* darstellt.

#### Literatur.

Glässer, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1907. S. 617, 629. — Hutyra, Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haust. Bd. 15. 1914. S. 338; Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 17. — Jürgens, Infektionskrankheiten. Berlin (Springer) 1920. — Manteufel, Zschucke u. Beger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 214. — Pfeiler, Tierärztl. Rundsch. 1920—1921. — Pfeiler u. Engelhardt, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 28. 1919. S. 434. — Schermer u. Ehrlich, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. S. 543.

*Nachdruck verboten.*

## Die Bedeutung der Konglutinations- und KH-Reaktion für die Serumdiagnose des Rotzes.

Von Dr. med. vet. et phil. **K. Poppe**,

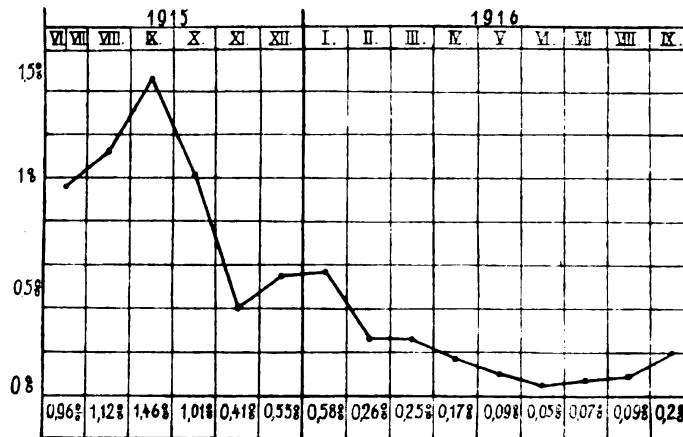
bayr. Stabsveterinär d. R. a. D., früherem Leiter der fahrbaren Blutuntersuchungsstelle Nr. 5, Abteilungsvorsteher am Bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Brandenburg.

Mit 1 Kurve im Text.

Die Anwendung der serodiagnostischen Methoden hat für die Durchführung der Rotzbekämpfung im deutschen Heere während des Weltkrieges Großes geleistet. Von allen Seiten ist anerkannt worden, daß ohne diagnostische Blutuntersuchung der Pferdebestände die Operationsfähigkeit des Heeres nicht in dem Maße möglich gewesen wäre. Die von der Heeresleitung zur Rotztilgung errichteten Blutuntersuchungsstellen haben während der Kriegsjahre ein so gewaltiges Material bearbeitet, wie es bisher zur Kontrolle von diagnostischen Untersuchungsverfahren kaum vorgelegen hat. Nach einer mit Benutzung des amtlichen Materials unlängst erschienenen Zusammenstellung über das Militär-Veterinärwesen im Kriege (Schulze und Otto) sind von den 25 militärischen Blutuntersuchungsstellen während der Jahre 1915—1918 insgesamt untersucht worden 13569041 Blutproben von Pferden, von denen 35948 als rotzkrank ermittelt wurden. Welchen Wert die Blutuntersuchung für die Rotztilgung im Heer gehabt hat, zeigt nachstehende Kurve. Diese betrifft Pferde ein und derselben Armee, die in 2 bis 3wöchigen Zwischenräumen so lange untersucht worden sind, bis keine serologisch reagierenden Pferde mehr gefunden wurden. Durch fortlaufende Blutuntersuchung ist es möglich gewesen, die Zahl der rotzkranken Pferde von 1,46 Proz. (Vormarsch in Polen und Litauen 1915) auf 0,05 Proz. (Stellungskrieg in Rußland 1916) herabzudrücken (Poppe).

Als Untersuchungsverfahren waren die Komplementbindung und die Agglutination neben der Malleinaugenprobe amtlich vorgeschrieben. Einstimmigkeit herrscht über den Wert der Komplementbindung nach Schütz und Schubert. Es ist nicht zuviel gesagt, daß ohne diese Methode der Erfolg der Rotzbekämpfung im deutschen Heere in Frage gestellt gewesen wäre. Die Agglutination tritt demgegenüber sehr zurück und hat nur untergeordnete Bedeutung. Als Ergänzung der amtlich vorgeschriebenen Methoden sind die Präzipitation, die Konglutinations- und die KH-Reaktion herangezogen worden. Die Präzipitation kommt für die praktische Rotzdiagnose nicht in Frage. Dagegen liegen über die von Pfeiler und seinen Mitarbeitern empfohlene Konglutinations- und KH-Reaktion (abgeänderte Komplementablenkung nach Schütz und Waldmann) zahlreiche Untersuchungen vor, die die Bedeutung dieser Methoden beweisen.

Die Anwendbarkeit der Konglutinationsmethode zur Serumiagnose des Rotzes wurde erstmalig von Pfeiler und Weber im Jahre 1912 empfohlen. Das Urteil über den Wert dieser Methode ist auf Grund von weiteren Untersuchungen, die jetzt vorliegen, dahin zusammenzufassen, daß die Konglutination als wertvolle Ergänzung der Komplementbindungsreaktion und nächst dieser als leistungsfähigste



Kurve 1. Zahl der durch Blutuntersuchung als rotzkrank ermittelten Pferde einer Armee.

Methode angesehen wird (Biermann, Gräub, Marcis, Michin, M. Müller, Nußhag, Parth, Pfeiler, Pfeiler und Weber, Pohle, Poppe, Reeser, Stranigg, Waldmann). Nach Andersen soll das Konglutinationsverfahren sogar absolut empfindlicher und auch Rotz gegenüber empfindlicher sein als die Komplementbindung. Giese vertritt dagegen die Ansicht, daß der Anwendung der Konglutinationsmethode für die Rotztilgung nur eine untergeordnete Bedeutung zukommt. Die von verschiedenen Seiten vertretene Meinung, daß Pfeiler eine Ueberlegenheit der Konglutinations- und KH-Reaktion über die Bindungsmethode behauptet habe, findet in den Mitteilungen von Pfeiler keine Bestätigung, der vielmehr die Anwendbarkeit dieser beiden Methoden auf gewisse Fälle beschränkt wissen will. Uebereinstimmung besteht jedoch allgemein darüber, daß die Anwendung der Konglutination bei der Untersuchung von Seren mit antikomplementären Eigenschaften (Pferde, Esel, Maulesel, Maultiere) und in Fällen von sogenannter nicht-spezifischer Ablenkung bei der Komplementbindung wertvolle Dienste leistet. Es ist das besondere Verdienst von Pfeiler, auch darauf hingewiesen zu haben, daß die Konglutinationsreaktion dann noch für Rotz positiv ausfällt, wenn die Agglutinine und die komplementbindenden Antikörper im Blute rotzkranker Pferde nicht mehr nachzuweisen sind. In diesen Fällen handelt es sich meist um chronischen Rotz, dessen Feststellung für die Serumiagnose des Rotzes im Heere erhöhte Bedeutung erlangt hat (Biermann, Pfeiler, Pfeiler und Weber, Nußhag, Poppe, Zschiesche und Biermann). Waldmann stellt dagegen die besondere Eignung der Konglutination für die Ermittlung chronisch rotz-

kranker Pferde in Abrede und hält dieses Verfahren nur zur Untersuchung der Seren von Eeeln, Maultieren und Mauleseln sowie von Pferden geeignet, die einen hohen Antikomplementgehalt aufweisen.

Die KH-Reaktion nach Pfeiler und Scheyer (Komplementablenkung + Hämagglutination) sowie die auf den gleichen Grundsätzen beruhende sogenannte abgeänderte Komplementablenkung nach Schütz und Waldmann sind ebenfalls für die Feststellung der chronischen Rotzfälle und zur Unterscheidung der nichtspezifischen von der spezifischen Komplementbindung herangezogen worden (Kranich und Kliem, Pfeiler und Scheffler, Poppe), während Waldmann ihre Bedeutung gleichfalls nur für die Untersuchung von Seren mit hohem Antikomplementgehalt anerkennt.

Meine Tätigkeit als Leiter der fahrbaren Blutuntersuchungsstelle Nr. 5 hat mir Gelegenheit gegeben, über den Wert der Konglutinations- und der KH-Reaktion eingehende, über 3 Jahre sich erstreckende Beobachtungen zu sammeln. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, sind beide Methoden in einer großen Anzahl von Blutproben nebeneinander ausgeführt worden. Die Untersuchung von etwa 15000 Einzelproben hat das zur Beurteilung des Wertes der Konglutinations- und KH-Reaktion dienende Material geliefert.

### 1. Konglutinationsreaktion.

Bordet und seine Schüler (Gay, Streng) haben seinerzeit eine besondere Wirkungsweise des Rinderserums festgestellt, die darin besteht, daß das normale Rinder- serum bei Gegenwart von frischem Pferdeserum als Komplement die Fähigkeit hat, Schafblutkörperchen stark auszuflocken. Diese Eigenschaft bezeichnen sie als Konglutination und führen ihr Zustandekommen auf ein im normalen Rinder- serum enthaltenes Rinderkolloid zurück. Bordet und Streng haben diese Eigenschaften des Rinder- serums weiter geprüft und mit dem Namen Konglutinine diejenigen Substanzen belegt, die Blutkörperchen bei Anwesenheit von Komplement (Alexin) zusammenballen und ausflocken. Diese konglutinierenden Substanzen finden sich nicht nur im Rinder- serum, sondern im Serum der meisten Wiederkäuer in verschiedener Stärke (Streng). Ehrlich sowie Sachs und Bauer haben die Konglutinine mit den Normalambozeptoren des Rinder- serums gleichgestellt, wohingegen Bordet und Streng festgestellt haben, daß das Konglutinin auch nach der Entfernung des Ambozeptors im Rinder- serum erhalten bleibt, mithin von ihm verschieden ist. Nach Bordet hat der im Rinder- serum wirksame Stoff, das Rinderkolloid oder Konglutinin, weder den Charakter eines Ambo- zeptors noch den eines Komplements. Die Wirkungsweise der Konglutinine ist demnach nicht eindeutig geklärt. Außer auf rote Blutkörperchen wirken die Konglutinine des Rinder- serums auch auf Bakterien. Es ist daher versucht worden, die Bakterien- konglutination als diagnostische Reaktion auszuarbeiten (Streng), ohne daß die Frage entschieden wurde, ob es sich hierbei um eine reine Konglutination oder um eine Bak- terienagglutination handelt. Pfeiler und Weber haben sich bemüht, die Bazillen- konglutination für die Zwecke der Rotzdiagnose ebenfalls nutzbar zu machen, ihre Ver- suche aber wieder aufgegeben, da diesem Verfahren nicht die gebührende Sicherheit zukommt.

Auf Grund der Untersuchungen von Bordet und seinen Mitarbeitern lag es nahe, die Konglutination als serodiagnostische Methode zu verwenden. Während der Grund- gedanke der Komplementablenkung im Sinne Wassermanns in der Bindung des Komplements besteht, die bei dem später hinzugesetzten hämolytischen System Ver- wendung findet, besteht diese Methode darin, daß an Stelle der Hämolyse eine Kon- glutinationsreaktion tritt. Streng hat die Konglutination zur Diagnose der Syphilis einzuführen versucht und stellt sie der Wassermannschen Reaktion gleich (90 bis 95 Proz. übereinstimmende Fälle). Karvonen hat die Brauchbarkeit für diese Zwecke bestätigt und hält sie sogar für zuverlässiger und schärfer als die Wassermann- Reaktion. Die gleiche Auffassung vertreten Siebert und Mironescu. Andere Unter- sucher geben ihre Übereinstimmung mit der Wassermann- Reaktion zwar ebenfalls zu, lehnen die allgemeine Anwendung der „Reaktion nach Karvonen“ genannten Methode für die Syphilisdiagnose aber ab, da die Beurteilung der Ergebnisse schwierig und weniger sicher ist, weil die Normalambozeptoren gegen Schafblut im Menschen- serum störend wirken (Dallafavera, Hecht, Jakobaeus, Reeser). Die dia- gnostische Verwertbarkeit der Konglutinationsreaktion zum Nachweis von Typhus-, Paratyphus-, Dysenterie- und Choleraantikörpern hat Luger bewiesen. Für die Serum- diagnose des Rinderabortus ist dagegen festgestellt, daß die Komplementbindungsreaktion

zuverlässiger arbeitet (Reeser). Auch zur Unterscheidung der Eiweißstoffe von verschiedenen Pflanzen und Pflanzenspielerarten hat sich die Konglutination als brauchbar und als sicherer erwiesen als die Präzipitation (Sauli). Zur Serumdiagnose des Rotz ist die Konglutinationsreaktion von Pfeiler und Weber zuerst herangezogen worden. Bei ihren ersten Untersuchungen haben sie zunächst festgestellt, daß bei 5 rotzkranken und bei 2 rotzfreien Pferden Konglutination und Komplementbindung übereinstimmende Ergebnisse lieferten. Bei einem weiteren Pferde aus einem rotzverdächtigen Bestande ergab sich nun die sehr beachtenswerte Tatsache, daß dieses Pferd bei wiederholter Komplementbindung und Agglutination negativ, bei der Konglutination aber auf Rotz positiv reagierte und bei der Zerlegung ausgedehnte alte Veränderungen der Rotzkrankheit aufwies. In vergleichenden Untersuchungen von 100 und später von 300 Serumproben haben Pfeiler und Weber die Spezifität der Konglutinationsreaktion bewiesen, wobei wiederum 3 Pferde mit chronischem Rotz ermittelt wurden, die bei negativer Bindungsreaktion und Agglutination bei der Konglutination positiv reagierten. Die Bedeutung der Konglutination für die Unterscheidung der spezifischen von der nichtspezifischen Ablenkung konnte durch weitere Untersuchungen ebenfalls von Pfeiler und Weber dargetan werden. Diese für die serologische Rotzdiagnose bedeutungsvollen Feststellungen von Pfeiler und Weber haben eine Reihe von Nachuntersuchungen zur Folge gehabt, die fast ausnahmslos den Wert der Konglutination bestätigt haben (s. o.). Beiläufig sei erwähnt, daß die Konglutination auch für die Rotzdiagnose beim Menschen Anwendung gefunden hat (Gildemeister und Jahn, Poppe).

Das Wesen der Konglutinationsreaktion besteht also darin, daß zum Nachweis der im Blute rotzkranker Pferde vorkommenden Antikörper (Rotzambozeptoren) an Stelle eines hämolytischen ein konglutinierendes System zur Anwendung kommt. Der Konglutinationsversuch verläuft in der Weise, daß das Untersuchungsserum mit spezifischem Antigen (Rotzbazillenextrakt) und Komplement (Pferdeserum) zur Bindung gebracht und dann das konglutinierende System (inaktiviertes Rinderserum + Schafblutkörperchen) zugesetzt wird. Sind im Untersuchungsserum Rotzantikörper vorhanden, dann wird das Komplement an den Komplex Antigen + Antikörper gebunden. Das Rinderkonglutinin ist dann nicht in der Lage, eine Konglutination der Schafblutkörperchen zustande zu bringen. Handelt es sich andererseits um das Serum eines gesunden Pferdes, so tritt eine Bindung Antigen an Antikörper, da Rotzantikörper fehlen, nicht ein und das nichtgebundene Komplement steht dem Rinderkonglutinin zur Konglutination der Schafblutkörperchen zur Verfügung. Das Ausbleiben der Konglutination (Hemmung) zeigt demnach die positive Konglutinationsreaktion, das Eintreten der Konglutination dagegen den negativen Ausfall der Reaktion an. Die Hemmung der Konglutination entspricht der Hemmung der Hämolyse, die Konglutination hingegen der Hämolyse bei der Komplementbindung.

Die Technik der Konglutination ist von Pfeiler und Weber für die Rotzdiagnose angegeben, von Gräub, Mogwitz und Buß, M. Müller, Nußhag, Pohle weiter ausgearbeitet worden. Alle Untersucher vertreten die Ansicht, daß eine möglichst genaue gegenseitige Einstellung der einzelnen Reagentien zur Erzielung einwandfreier Untersuchungsergebnisse unerlässlich ist. Hinsichtlich der Technik der Reaktion bestehen einige Verschiedenheiten. Bei der Pfeiler-Weberschen Methode werden Untersuchungsserum, Antigen (Rotzbazillenextrakt) und ausgewertetes Komplement je in der Menge von 0,1 ccm zur Bindung gebracht und hierauf 1 ccm Rinderkonglutinin sowie 3 Tropfen Schafblutkörperchen (5 Proz.) zugefügt, so daß das Volumen 1,3 ccm beträgt. Mogwitz und Buß sowie Michin haben etwa die gleiche Versuchsanordnung gewählt. Größere Volumina bevorzugten Andersen (2,5 ccm), Gräub (3—4 ccm), Nußhag (2,2 ccm), Pohle (2,0 ccm). An Stelle von Rotzbazillenextrakt empfehlen Andersen, Gräub, Michin das Mallein. Die Bindungszeit beträgt zwischen 15 und 30 Min., die Konglutinationszeit etwa die doppelte Zeit bei Zimmerwärme oder im Brutschrank (Wasserbad) bei 38°. Zur schnelleren Sichtbarmachung des Eintritts der Reaktion ist empfohlen worden, die Röhren zu zentrifugieren (Mogwitz und Buß, Nußhag, Pohle) und die Reaktion in Agglutinationsröhrchen von 13 mm lichter Weite und 95—100 mm Länge anzustellen.

Bei nachstehenden Versuchen hat sich diese Art von kleinen Reagenzgläsern als sehr zweckmäßig erwiesen. Die Versuchstechnik war die von Pfeiler und Weber beschriebene. Die Bindungszeit betrug 15 Min., die Konglutinationszeit 30 Min. im Brutschrank bei 38° oder auf dem Wasserbad von 56°, wonach die Röhren 2 Min. bei 1000 Umdrehungen zentrifugiert wurden. Bei positiver Reaktion (Hemmung der Konglutination) haben sich die Schafblutkörperchen als kleines, scharfberandetes kreisrundes Häufchen abgesetzt, das beim Aufschütteln die Flüssigkeit gleichmäßig trübt, so daß sie ihre ursprüngliche schwach rötliche Färbung annimmt. Bei negativer Reaktion (Konglutination) haben sich dagegen die Blutkörperchen als feiner, zackiger

Schleier oder als Häufchen mit gekerbter Umrandung niedergeschlagen. Beim Schütteln läßt sich der Niederschlag in Form von zusammengeballten Blutkörperchen aufwirbeln, die dann in der fast klaren Flüssigkeit als Klümpchen wieder zu Boden sinken.

1) Prüfung des konglutinierenden Systems. Jedes als Konglutinin zu verwendende Rinderserum wurde zunächst auf seine konglutinierenden Eigenschaften geprüft. Da das normale Rinderserum außer Konglutininen auch Hämagglutinine enthält, die im Hauptversuch mit den im Pferdekompement und inaktivierten Untersuchungsserum enthaltenen Hämagglutininen gegen Schafblut infolge Summation störend wirken können (M. Müller, Pohle), wurde jedes Rinderserum zunächst auf Hämagglutinine geprüft. Es ergab sich, daß bei Verwendung nicht zu frischer Rinderseren und bei Kompement von den gleichen Pferden, deren Serum an sich nicht hämagglutinierend wirkt, dieser Fehler nicht besonders ins Gewicht fiel. Bei Prüfung von etwa 50 Normalseren der verschiedensten Rinderrassen (Polen, Litauen, Siebenbürgen, Rumänien, Ukraine) waren Hämagglutinine gegen Schafblut im Vergleich zu den Konglutininen nur in bedeutend geringerer Menge vorhanden.

Das durch diesen Vorversuch als brauchbar erkannte Rinderserum wurde bei 54° inaktiviert und durch Zusatz von 0,3 Proz. Karbolsäure konserviert. Das im Versuch befindliche Rinderserum wurde täglich bei jeder Versuchsreihe auf seine konglutinierende Fähigkeit bei Anstellung der Systemkontrolle geprüft, wobei festzustellen war, daß konservierte, gut konglutinierende Rinderseren 3, auch 4 Monate voll reaktionsfähig waren.

Die Prüfung des Rinderserums (Konglutinins) geschah in der Weise, daß 2 Reihen von Röhrchen mit Verdünnungen von 5—4—3—2—1—0,5 und 0,2 Proz. (je 1 ccm) und die eine Reihe mit 0,1 ccm, die andere Reihe mit 0,05 ccm Pferdekompementserum beschickt, mit Kochsalzlösung auf 1,3 ccm aufgefüllt, mit 2 Tropfen Schafblutaufschwemmung (3-proz.) versetzt und hierauf 15 Min. im Brutschrank bei 38° gehalten wurden. Nachdem die Röhrchen 2 Min. bei 1000 Umdrehungen zentrifugiert waren, wurde das Ergebnis abgelesen. Ergab z. B. 0,5 Proz. Rinderserum mit 0,1 und 0,05 ccm Kompement eine vollständige Konglutination, so wurde etwa die 5-fache Menge (= 2,5 Proz.) als Gebrauchsdosis des Konglutinins gewählt, vorausgesetzt, daß die Konglutininkontrolle ohne Kompement in der doppelten Menge (= 5 Proz.) eine Konglutination der Schafblutkörperchen nicht bewirkte und auch im Versuch mit der als wirksam erkannten Extraktmenge der gleiche Befund festzustellen war. Nicht jedes der geprüften Rinderseren erwies sich als Konglutinin brauchbar. Nur solche Rinderseren wurden in Versuch genommen, die eine deutliche und schnell eintretende Konglutination auslösten.

Ebenso wurde die Wertigkeit des Pferdekompements bestimmt, indem fallende Mengen des Pferdeserums mit konstanter Konglutininmenge geprüft wurden. Dieser Versuch gestaltete sich nach Tabelle I (S. 34).

Im vorliegenden Falle würde 0,04 ccm Pferdekompement die Gebrauchsmenge für das Konglutinin (2,5-proz.) darstellen.

Da der Kompementtiter der einzelnen Pferdeseren sehr verschieden und auch zeitlichen Schwankungen unterworfen ist, wurden stets dieselben Pferde als Kompementspender benutzt. Dies ließ sich ohne besondere Schwierigkeit durchführen, weil der Blutuntersuchungsstelle während ihrer 3-jährigen Tätigkeit dieselben Dienstpferde zur Verfügung

Tabelle I. Komplementauswertung.

Röhrchen	Komplement	NaCl-Lösung	Inaktiviertes Rinderserum, 2,5-proz. (Konglutinin)	Blutkörperchen, 3-proz.	Ergebnis*) nach 15 Min. bei 38° und Zentrifugieren
1	0,1 ccm	0,2 ccm	1 ccm	2 Tropfen	—
2	0,08 „	„ dgl.	„ dgl.	„ dgl.	—
3	0,06 „	„	„	„	—
4	0,05 „	„	„	„	—
5	0,04 „	„	„	„	—
6	0,03 „	„	„	„	+
7	0,02 „	„	„	„	++
8	Kontr. 0,1 ccm	1,2 ccm	—	„	++

\*) Es bedeutet: ++ vollständige Hemmung der Konglutination  
 + unvollständige „ „ „  
 — keine Hemmung, also Konglutination.

standen. Von 13 näher geprüften Pferden zeigten sämtliche einen Komplementtiter von 0,03 ccm und darüber bei Prüfung ohne Rotzbazillenextrakt im Konglutinationssystem. Wurde das Komplement aber bei Gegenwart von Rotzbazillenextrakt ausgewertet, so ist festzustellen gewesen, daß 3 Pferde überhaupt als Komplementspender nicht geeignet waren, da ihr Serum selbst in hohen Dosen mit Extrakt Konglutinationshemmung zeigte. Die Schwankung der guten Komplementpferde bewegte sich bei gleicher Extraktmenge zwischen 0,03—0,06 (Flink), 0,05 bis 0,08 (Kastor), 0,04—0,07 (Ludwig), 0,05—0,07 (Pollux), 0,04—0,05 (Franziska). Die genaue Komplementauswertung ist daher für jeden Versuch von der größten Wichtigkeit. Meist war das Komplement bei Aufbewahrung im Eisschrank bis zu 3 Tagen nach der Entnahme brauchbar. In der Regel wurde das Blut den Pferden an dem einen Tag entnommen, worauf nach Abscheidung und Zentrifugieren des Serums die Auswertung am 2. Tage erfolgte.

Die als Indikator dienenden Schafblutkörperchen waren auf die gleiche Weise gewonnen wie für die Komplementbindung. Als Gebrauchsmenge dienten 2—3 Tropfen der 2—3-proz. Aufschwemmung, die mittels gleicher Tropfpipetten den Röhrchen zugesetzt wurden. Durch einen Vorversuch wurde erst ermittelt, wieviel Tropfen notwendig waren, um in 1,3 ccm Kochsalzlösung einen blaßrötlichen Farbton hervorgerufen.

2) Prüfung des Rotzbazillenextraktes. Zur Verwendung kamen ausschließlich die für die Komplementbindung benutzten Extrakte: Kochsalzaufschwemmungen von auf Glycerinagar gezüchteten und bei 60° abgetöteten Rotzbazillen, karbolisiert, 24 Std. geschüttelt und klar zentrifugiert. Die Auswertung des Extraktes erfolgte einerseits auf seine eigenhemmenden Eigenschaften und andererseits mit Rotz- und Normalserum. Dieser Versuch wurde, wie Tabelle II und III (S. 35) zeigen, durchgeführt.

Tabelle II ergibt, daß 3 Proz. die nichthemmende Menge des Extraktes darstellt. Mit dieser und der darunter liegenden (2 Proz.) wird nun der Bindungsversuch mit Rotz- und Normalserum angesetzt. Tabelle III zeigt, daß die 3- und 2-proz. Extraktverdünnung mit Rotzserum vollständige Hemmung der Konglutination zustande bringen. Da aber 0,02 ccm Normalserum mit 3-proz. Extrakt unvollständige Hemmung ergibt, ist nur die 2-proz. Extraktverdünnung als Gebrauchsmenge für den Versuch zu verwenden.



Tabelle II. Extraktauswertung.

Röhren	Rotz- bazillen- extrakt	Kom- plement	NaCl- Lösung	Bin- dungs- zeit	Konglu- tinin 2,5-proz.	Blut- körperch. 3-proz.	Konglu- tinations- zeit	Ergebnis nach Zentri- fugieren
1	0,1 ccm 5 %	0,05 ccm	0,15 ccm	bei	1 ccm	2 Tropfen		++
2	0,1 " 4 "	dgl.	dgl.		dgl.	dgl.		+
3	0,1 " 3 "	"	"	15 Min.	"	"		—
4	0,1 " 2 "	"	"	38°	"	"		—
5	0,1 " 1 "	"	"		"	"	30 Min.	—
6	0,1 " 0,5 "	"	"		"	"	38°	—

Tabelle III. Extraktauswertung mit Rotz- und Normalserum.

Röhren	Rotz- serum ccm	Nor- mal- serum ccm	Extrakt	Kom- ple- ment ccm	NaCl- Lö- sung ccm	Bin- dungs- zeit	Konglu- tinin 2,5 %	Blut- körperch. 3-proz.	Konglut.- zeit	Ergebnis nach Zentri- fugieren
1	0,1	—	0,1 ccm 3 %	0,05	0,05	bei	1 ccm	2 Tropfen		++
2	"	—	0,1 " 2 "	"	0,05		dgl.	dgl.		++
3	—	0,1	0,1 " 3 "	"	0,05	15 Min.	"	"	38°	—
4	—	0,02	dgl.	"	0,13		"	"		+
5	—	0,1	0,1 ccm 2 %	"	0,05		"	"		—
6	—	0,02	dgl.	"	0,13	15 Min.	"	"	38°	—

3) Hauptversuch. Der Hauptversuch gliedert sich in die tägliche Auswertung des Komplements und die Einstellung mit Rotz- und Normalserum. Anfänglich wurde die tägliche Auswertung des Rotz-bazillenextraktes bei konstanter Komplementmenge (0,1 bzw. 0,05 ccm) geübt und Rotz- und Normalserum auf die ermittelte Extraktmenge eingestellt. Die Auswertung des Komplements hat dagegen größere Vorteile und verringert Fehlergebnisse.

Das Pferdekompement wird in fallenden Mengen mit einem Rotz- und einem Normalserum eingestellt (Tabelle IV).

Tabelle IV.  
Einstellung des Komplements mit Rotz- und Normalserum.

Röhren	Rotz- serum	Normal- serum	Extrakt 2-proz.	Komple- ment	NaCl- Lösung	Bin- dungszeit	Konglu- tinin 2,5-proz.	Blut- körper- chen 3-proz.	Kongluti- nations- zeit	Ergebnis nach Zentri- fugieren
1	0,1 ccm	—	0,1 ccm	0,08 ccm	0,02 ccm		1 ccm	2 Tropfen		—
2	dgl.	—	dgl.	0,06 "	0,04 "		dgl.	dgl.		+
3	"	—	"	0,05 "	0,05 "	15 Min.	"	"	38°	++
4	"	—	"	0,04 "	0,06 "		"	"		++
5	"	—	"	0,03 "	0,07 "		"	"		++
6	—	0,1 ccm	0,1 ccm	0,08 ccm	0,02 ccm		1 ccm	2 Tropfen		—
7	—	dgl.	dgl.	0,06 "	0,04 "		dgl.	dgl.		—
8	—	"	"	0,05 "	0,05 "	15 Minuten	"	"	30 Minuten	—
9	—	"	"	0,04 "	0,06 "		"	"		—
10	—	"	"	0,03 "	0,07 "		"	"		++
11	—	0,02 ccm	"	0,06 "	0,04 "		"	"		—
12	—	dgl.	"	0,05 "	0,05 "		"	"		—
13	—	"	"	0,04 "	0,06 "		"	"		+
14	—	"	"	0,03 "	0,07 "		"	"		++

Kontrollen: 0,1 ccm Rotzserum ohne Extrakt + konglutinierendes System: —  
0,2 " Extrakt + Komplement mit Bindung + Ambozeptor: —

3\*

Aus Tabelle IV ist zu ersehen, daß 0,05 ccm diejenige Komplementmenge ist, die mit Rotzserum vollständige Hemmung der Konglutination zeigt, während diese Menge mit 0,1 und 0,02 ccm Normalserum typische Konglutination auslöst. Die Menge von 0,04 Komplement ist zu gering, weil mit 0,02 ccm Normalserum unvollständige Hemmung (+) eintritt. Die Prüfung mit 0,02 ccm Normalserum ist nicht außer acht zu lassen, da verschiedentlich Normalseren in dieser geringen Menge Hemmung ergeben, während 0,1 ccm nicht hemmt. Die Prüfungsdosis des Untersuchungsserums, das wie üblich 40 Min. bei 56—58° inaktiviert wird, beträgt 0,1 ccm und weniger. Größere Mengen zu verwenden, ist, wie durch Versuche ermittelt wurde, nicht ratsam, da in manchen Fällen 0,2 ccm eines einwandfreien Rotzserums keine vollständige Hemmung mehr gibt. Landsteiner erklärt diese Erscheinung damit, daß beim Inaktivieren entstandene kolloide Stoffe auf den Verlauf der Reaktion störend wirken (antireaktive Stoffe). Da derartige unvollständige Hemmungen bei Verwendung von nicht inaktiviertem frischem Rotzserum, das dann gleichzeitig als Komplement wirkt, nicht auftreten, so führt Waldmann das hemmende Verhalten der Seren auf solche beim Inaktivieren der Serums entstehende antireaktive Stoffe im Sinne von Landsteiner zurück. Für die Einstellung ist ferner zu beachten, daß nicht zu alte Kontrollseren benutzt werden, da derartige Seren spontane Hemmung bewirken können. Diese Feststellung deckt sich mit der von Pfeiler, Weber und Schömmel, die außerdem darauf hingewiesen haben, daß konservierte Seren im Laufe der Zeit konglutinationshemmend wirken können. Das Untersuchungsserum im aktiven Zustande zu verwenden, wie Schern angibt, ist nicht zu empfehlen, da die in den einzelnen Seren enthaltene Komplementmenge zu verschieden ist, um einwandfreie Ergebnisse bei der Konglutination zu erhalten.

Die Einstellung im Hauptversuch kann bei Verwendung von Pferdeseren von bekanntem Komplementgehalt auch so gehandhabt werden, daß Komplement und Extrakt gegeneinander eingestellt werden. Für diese Art der Einstellung, die unter der genannten Voraussetzung zuverlässig ist, gibt Tabelle V ein Beispiel.

Tabelle V. Einstellung von Extrakt und Komplement gegeneinander.

	Extraktmenge	Kompl. I (Franziska)			Kompl. II (Flink)		
		0,03	0,05	0,07	0,03	0,05	0,07
Rotzserum 0,1 ccm	0,01	++	++	++	++	++	++
Normalserum 0,1 ccm	0,01	—	—	—	—	—	—
„ 0,02 „	0,01	+	±	—	+	—	—
Extraktkontrolle (mit Bindung)	0,02	+	—	—	+	—	—
Rotzserum 0,1 ccm	0,005	++	++	+	+	—	—
Normalserum 0,1 ccm	0,005	—	—	—	—	—	—
„ 0,02 „	0,005	+	—	—	—	—	—
Extraktkontrolle (mit Bindung)	0,01	+	—	—	+	—	—

Tabelle V zeigt, daß das Komplement I in der Menge von 0,07 ccm mit 1-proz. Extrakt und in der Menge von 0,05 ccm mit 1/2-proz. Extrakt arbeitet. Komplement II ist in der Menge von 0,05 ccm nur mit 1-proz. Extrakt brauchbar; 1/2-proz. Extrakt ist nicht zu verwenden, da diese

Extraktmenge zu gering ist und mit Rotzserum nur eine unvollständige Hemmung auslöst.

## II. KH-Reaktion (Hämagglutination).

(Abgeänderte Komplementablenkung nach Schütz und Waldmann.)

Diese Reaktion beruht auf der von Ehrlich und Sachs gemachten Feststellung, daß inaktiviertes Rinderserum bei Gegenwart von Pferdekompiment Blutkörperchen vom Meerschweinchen zur Lösung bringt. Durch dieses System kann also ebenfalls die Komplementablenkung sichtbar gemacht werden.

Pfeiler und Scheyer bezeichnen dieses Verfahren als KH-Reaktion (= Komplementablenkung + Hämagglutination), worunter sie eine Reaktion verstehen, bei der nicht nur einfache Ablenkung des Komplements an der Senkung der roten Blutkörperchen, sondern der gleichzeitige Eintritt der Hämagglutination beobachtet wird. Diese Methode ist von Pfeiler und Scheyer zur Feststellung der Syphilis, von Pfeiler und Scheffler zur Rotzdiagnose herangezogen und zur Ermittlung des chronischen Rotzes empfohlen worden. Schütz und Waldmann haben eine auf denselben Grundsätzen beruhende Reaktion als abgeänderte Komplementablenkungsmethode beschrieben, deren Anwendbarkeit vor allem für den serologischen Nachweis des Rotzes bei Seren mit antikomplementären Eigenschaften (Esel, Maultier) möglich ist. Die diagnostische Bedeutung der KH-Reaktion für die Rotzdiagnose ist dann von Kranich und Kliem, Kranich und Löffler, Poppe bestätigt worden.

Die KH-Reaktion besteht in der gleichzeitigen Verwendung des Hämolytins und Hämagglutinins als Indikator für die Komplementablenkung (Fedders). Bei der Ablenkung (positive Reaktion) tritt Hemmung der Hämolyse und gleichzeitige Hämagglutination, also das Umgekehrte wie bei der Konglutination ein, während die negative KH-Reaktion Hämolyse ergibt.

Zur Anwendung ist die von Pfeiler und Scheffler beschriebene Versuchstechnik gekommen. Die Reaktion wurde in den gleichen Röhrchen wie die Konglutination angesetzt. Das Volumen betrug 1,2 ccm, die Bindungszeit 15 Min., die Lösungszeit 30 Min. im Brutschrank bei 38°. Zur besseren Sichtbarmachung wurden die Röhrchen nach Ablauf der Reaktion 2 Min. bei 1000 Umdrehungen zentrifugiert. Bei positiver Reaktion (Hemmung der Hämolyse) haben sich die Meerschweinchenblutkörperchen am Boden des Röhrchens als feiner Niederschlag abgesetzt, der sich beim Schütteln als zusammenhängende Blutkörperchenhäufchen aufwirbeln läßt. Bei der negativen Reaktion ist kein Niederschlag vorhanden, sondern die Flüssigkeit vollständig klar und schwach gelblich gefärbt (Hämolyse).

1) Prüfung des KH-Systems. Das als Ambozeptor dienende bei 54° inaktivierte Rinderserum wird in der Menge von 0,01 — 0,015 — 0,02 — 0,025 — 0,03 — 0,035 — 0,04 — 0,045 — 0,05 — 0,06 ccm mit der konstanten Menge von 0,05 ccm Pferdekompimentserum gemischt, mit Kochsalzlösung auf 1,2 ccm aufgefüllt, mit einem Tropfen Meerschweinchenblutaufschwemmung versetzt und nach vorherigem Schütteln 15 Min. im Brutschrank belassen. Als Gebrauchsdosis wird etwa die doppelt lösende Menge verwendet, d. h., wenn z. B. 0,015 vollständig gelöst hatte, 0,03 = 0,1 ccm der Verdünnung 1:3, vorausgesetzt, daß 0,03 ohne Komplement nicht löst. Als Komplement wurden die gleichen Pferdeseren wie für die Konglutination verwendet. Die Einstellung des Komplements erfolgte vor jedem Hauptversuch mit Rotzbazillenextrakt. Von den 13 zur Verfügung stehenden Dienstpferden waren einige als Komplementseren sowohl für die Konglutination als auch für die KH-Reaktion geeignet (Flink 0,05 — 0,08, Pollux 0,06 — 0,07, Ludwig 0,05 — 0,08, Franziska 0,04 — 0,05, Kastor 0,05 — 0,08), andere dagegen nur für die KH-Reaktion brauchbar (Lida 0,05 — 0,08). Da aktives Pferdeserum außerdem auf Meerschweinchenblutkörperchen hämolytisch wirkt, so wurde hierauf stets eine Kontrolle angesetzt. Diese Fehlerquelle läßt sich umgehen, wenn eine nicht zu geringe Ambozeptor-

menge, dagegen eine möglichst geringe Komplementmenge zum Versuch genommen wird. Zur Herstellung der Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung werden bei der Entblutung der Meerschweinchen 1–2 ccm Blut in sterilem Gläschen aufgefangen, mit Glasperlen geschüttelt und wie üblich einigemal mit Kochsalzlösung gewaschen. Zum Versuch wurde meist eine 1-proz. Blutkörperchenaufschwemmung benutzt, die mittels gleicher Tropfpipetten den Röhrchen zugesetzt wurde, so daß die Flüssigkeit nur schwach rot gefärbt erscheint.

2) Die Prüfung des Rotzbazillenextraktes ist für die KH-Reaktion nicht von der Wichtigkeit wie für die Konglutination. Sämtliche Reaktionen wurden mit der Extraktverdünnung 1:10 (10-proz.) oder 1:5 (20-proz.) des für die Komplementbindungsreaktion gebrauchten Rotzbazillenextraktes ausgeführt. Zahlreiche Komplementtitrierungen haben ergeben, daß bei brauchbaren Pferdekomplesentseren die 20-proz. Extraktmenge meist die erforderliche Dosis ist.

3) Hauptversuch. Die Auswertung des Pferdekomplesents wurde täglich mit Extrakt vorgenommen. Dieser Versuch ist in Tabelle VI dargestellt.

Tabelle VI. Komplementauswertung mit Extrakt.

Röhrchen	Komplement	NaCl-Lösung	Extrakt 1:5	Inaktives Rinderserum (Ambozeptor) 1:3	Meerschweinchenblut 1-proz.	Ergebnis *) nach 15 Min. bei 38° und Zentrifugieren
1	0,1 ccm	0,9 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	1 Tropfen	—
2	0,08 "	0,92 "	dgl.	dgl.	dgl.	—
3	0,07 "	0,93 "	"	"	"	—
4	0,06 "	0,94 "	"	"	"	—
5	0,05 "	0,95 "	"	"	"	—
6	0,04 "	0,96 "	"	"	"	—
7	0,03 "	0,97 "	"	"	"	+
8	0,02 "	0,98 "	"	"	"	++
9	Kontr. 0,1 ccm	1,1 "	—	—	"	++

\*) Es bedeutet: ++ vollständige Hemmung (Hämagglutination),  
+ unvollständige Hemmung,  
— Lösung.

Nach diesem Versuch würde 0,04 ccm die geringstlösende Komplementmenge sein. Da aber festgestellt ist, daß die geringstlösende Komplement-

Tabelle VII. Einstellung des Komplements mit Rotz- und Normalserum.

Röhrchen	Rotzserum ccm	Normalserum ccm	Extrakt 1:5 ccm	Komplement ccm	NaCl-Lösung ccm	Bindungszeit	Rinder-Ambozeptor 1:3	Meerschweinchenblut 1-proz.	Lösungszeit	Ergebnis nach Zentrifugieren
1	0,2	—	0,1	0,07	0,73	15 Minuten bei 38°	0,1 ccm	1 Tropfen	30 Minuten bei 38°	+
2	"	—	"	0,06	0,74		dgl.	dgl.		++
3	"	—	"	0,05	0,75		"	"		++
4	—	0,2	0,1	0,07	0,73		"	"		—
5	—	"	"	0,06	0,74		"	"		—
6	—	"	"	0,05	0,75		"	"		+
7	—	0,02	0,1	0,07	0,73		"	"		—
8	—	"	"	0,06	0,74		"	"		—
9	—	"	"	0,05	0,75		"	"		++

Kontrollen: 0,2 ccm Rotzserum ohne Extrakt + KH-System: —  
0,1 ccm Extrakt 1:5 + Komplement (mit Bindung) + Ambozeptor: —

menge für den Bindungsversuch mit Untersuchungsserum nicht ausreicht, so ist zur Einstellung von Rotz- und Normalserum ein Ueberschuß von 0,02–0,03 ccm, im vorliegenden Falle also 0,06 und 0,07 ccm (vergleichsweise auch 0,05 ccm) genommen.

Die Einstellung von Rotz- und Normalserum wird dann nach Tab. VII (S. 38) vorgenommen.

Tabelle VII ergibt, daß 0,06 ccm die Komplementmenge ist, die mit Rotzserum vollständige Hemmung, mit Normalserum (auch bei 0,02 ccm) Lösung zeigt. Die Menge von 0,05 ccm Komplement ist deshalb nicht brauchbar, da mit Normalserum unvollständige (bei 0,02 ccm sogar vollständige) Hemmung auftritt, während andererseits 0,07 ccm einen Komplementüberschuß enthält, wodurch nur eine unvollständige Hemmung mit Rotzserum zustande kommt.

Die Prüfungsdosis des inaktivierten Untersuchungsserums ist 0,2 ccm, mit der in jedem Falle sowohl nach der positiven wie nach der negativen Seite eindeutige Ergebnisse zu erzielen waren. Beiläufig sei erwähnt, daß auch das aktive Untersuchungsserum ohne Komplementzusatz für die Zwecke der KH Reaktion sich verwenden läßt. Die Benutzung des natürlichen Komplements bietet für die praktische Rotzdiagnose die gleiche Schwierigkeit, die sich auch bei den verschiedenen Modifikationen der Wassermannschen Reaktion ergeben haben.

### III. Untersuchungsergebnisse.

Die Blutuntersuchungsstelle Nr. 5 hat seinerzeit 737 997 Blutproben untersucht, von denen auf Grund der damals maßgeblichen Grundsätze 2873 Pferde (= 0,39 Proz.) als rotzkrank und weitere 4663 Pferde (= 0,63 Proz.) als serologisch rotzverdächtig festgestellt wurden. Als Untersuchungsverfahren kamen bei jeder Probe die Komplementbindungsreaktion, ferner bei einer sehr erheblichen Anzahl die Agglutination und bei etwa 15 000 Einzelproben die Konglutinations- und KH-Reaktion zur Anwendung. In diesen 15 000 Proben sind mehrere Tausend nachweislich gesunde Pferde enthalten, die zur Kontrolle beider Methoden untersucht wurden. Die Konglutinations- und die KH-Reaktion wurden nebeneinander ausgeführt bei den Blutproben, die 1) bei der Komplementbindung oder Agglutination positiv oder teilweise positiv reagierten, 2) bei der Bindungsreaktion ein nicht eindeutiges Ergebnis zeigten (verzögerte Hämolyse, in Zersetzung befindliche Blutproben usw.), 3) bei einer früheren Untersuchung positiv oder teilweise positiv, bei einer späteren aber rotznegativ reagiert hatten, 4) durch den klinischen Vorbericht als von rotzverdächtigen Pferden stammend bezeichnet wurden, und schließlich 5) ein antikomplementäres oder ein nichtspezifisches Verhalten bei der Komplementbindung ergaben, insbesondere bei Proben von Eseln, Maultieren und Mauleseln.

Von den 2873 durch die Blutuntersuchung rotzkrank erklärten Pferden wurden 2729 mittels Konglutinations- und 2419 mittels KH-Reaktion geprüft, davon waren positiv bei der Konglutination 93,3 Proz. und bei der KH-Reaktion 94,3 Proz. Unter Berücksichtigung des Zerlegungsbefundes wurden folgende Zahlen ermittelt. Die Konglutinationsreaktion war bei 2552 rotzkranken Pferden in 88,1 Proz., die KH-Reaktion bei 2217 Pferden in 89,1 Proz. positiv ausgefallen, während die Komplementbindung bei diesen Pferden in 99 Proz. positiv war. Vergleicht man hiermit die von anderen Untersuchern erhaltenen Befunde, so er-

geben sich die in nachstehender Uebersicht eingetragenen Zahlen, wobei, soweit wie möglich, auch die bei der Bindungsreaktion ermittelten Befunde berücksichtigt sind.

## a) Ergebnisse der Konglutinationsreaktion.

	rotzkranke Pferde	rotzfreie Pferde	Kongl.-Reaktion	Komplement- bindung	
Andersen Biermann	14 6-7000	211 .		übereinstimmend fast stets übereinstimmend	
Gräub	darunter (rotzverdächtige) 3000 rotzkranke und rotz- freie Pferde			ohne Fehlresultat	
Marcis	23	26	87 Proz. positiv negativ	.	
Michin	41	159	positiv negativ	positiv negativ	
Nussbag rotzverdächtig:	15 81	.	86,7 Proz. positiv	100 Proz. positiv	
Parth	67	.	50,6 " " " " " "	42 " " " " " "	
Pfeiler u. Weber	45 3	162	88,1 " " " " " "	positiv negativ	
		.	7,4 " " " " " "	positiv negativ	
		45	100 " " " " " "	{ positiv " " " " " "	{ positiv negativ
		1 6	" " " " " "	" " " " " "	positiv "
	(Mallein sbk.) 3000 rotzkranke und rotz- freie Pferde			übereinstimmend	
Pohle	125	8021		in 99,6 Proz. übereinstimmend	
Poppe	2552 <sup>1)</sup>	.	88,1 Proz. positiv negativ	.	
Reeser	5	etwa 5000	positiv	negativ	
Stranigg	35	.	positiv	positiv	
Waldmann	134	47	übereinstimmend	negativ	
		.	übereinstimmend		

## b) Ergebnisse der KH-Reaktion.

	rotzkranke Pferde	rotzfreie Pferde	KH-Reaktion	Komplement- bindung
Kranich und Kliem	150	.		übereinstimmend
Pfeiler und Scheffler	5000 rotzkranke und rotz- freie Pferde			übereinstimmend
Poppe	2217 <sup>1)</sup>	.	89,1 Proz. positiv negativ	.
Waldmann	134	etwa 5000	übereinstimmend	.

Es ist mithin zu folgern, daß die Konglutinations- und die KH-Reaktion bei einem erheblichen Teil der rotzkranken Pferde (etwa 90 Proz.) einen positiven Ausschlag geben. Bei rotzfreien Pferden fallen beide Reaktionen in der Regel negativ aus. Die von Parth bei rotzfreien Pferden mit der Konglutination erhaltenen Fehlergebnisse von 7,4 Proz. werden von ihm darauf zurückgeführt, daß die Konglutination nur in den Fällen angewendet worden sei, in denen mit den übrigen Verfahren ein klares Ergebnis nicht erhalten wurde.

1) Durch Zerlegung bestätigte Pferde.

Ueber das Versagen der Konglutinations- und der KH-Reaktion bei nachgewiesenen rotzfreien Pferden sind folgende Feststellungen gemacht worden. Unter insgesamt 2308 durch Blutuntersuchung als rotzkrank erkannten Pferden, die getötet und vorschriftsmäßig zerlegt worden sind, fanden sich 59 Pferde (= 2,6 Proz.), bei denen Rotz nicht nachzuweisen oder eine zweifelsfreie Diagnose nicht durch die Zerlegung zu stellen war. Von diesen 59 durch Blutuntersuchung als rotzkrank erklärten, durch die Zerlegung aber nicht bestätigten Pferden hatten positiv reagiert 52 bei der Konglutinations- und 44 bei der KH-Reaktion (59 bei der Komplementbindung). Wenn auch nicht in jedem dieser Fälle die Zerlegungsdiagnose zu Recht bestehen mag, so ist doch immerhin mit einem gewissen Versagen der Konglutinations- und der KH-Reaktion zu rechnen, das aber für die Bindungsreaktion in gleicher Weise zutrifft. Demgegenüber stehen die Fälle, die bei der Bindungsreaktion vollkommen negativ reagierten und demzufolge nach den Vorschriften als rotzfrei zu begutachten gewesen wären, bei der Zerlegung aber als rotzig infiziert festgestellt wurden. Pfeiler und Weber hatten bereits 3 (4) rotzkrank Pferde ermittelt, bei denen die Bindung negativ, die Konglutinationsreaktion hingegen positiv ausgefallen war. Nachdem diese Befunde bekannt gegeben waren und auf ihre Wichtigkeit, besonders für die Feststellung des chronischen Rotzes hingewiesen worden war, wurde bei den systematischen Blutuntersuchungen hierauf besonders geachtet. Um derartige Fälle zu ermitteln, wurde den Blutproben, die bei der Bindung einmal schwach positiv, bei späterer Untersuchung aber

Konglutinations- und KH-Reaktion positiv, übrige Reaktionen negativ. Zerlegung: Rotz.

Lfd. Nr.	Pferd Nr.	Aggl.	Bindung	Kongl.-Reakt.	KH-Reakt.	Mall. A.P.	Zerlegung	Bemerkungen
1	191	—	—	++	+	+	Leberrotz	Tötung empfohlen dgl.
2	198	—	—	++	+	—	Lungenrotz	
3	195	—	—	—	++	—	Rotz	klinisch verdächtig verendet
4	3	—	—	++	—	+	"	
5	20	—	—	++	+	—	"	
6	Sturm	—	—	++	++	+	"	5 Tage nach Blutentnahme Hautrotz
7	61	—	—	++	++	+	Lungen-, Leber-, Milzrotz	Ukrainepferd
8	1069	—	—	++	—	—	alter Nasen- und Lungenrotz	
9	6276	—	—	++	++	?	Lungenrotz	"
10	4820	—	—	++	++	+	"	
11	2162	—	—	+	—	+	"	"
12	166	—	—	—	++	+	Nasenrotz	
13	9479	—	—	—	+	+	Lungenrotz	"
14	2646	—	—	++	—	—	Nasenrotz	
15	2233	—	—	++	++	+	Rotz	(klin. verdächtig) Ukrainepferd
16	1235	—	—	++	+	+	"	"
17	1987	—	—	—	++	+	Leber, Lymphdrüsenrotz (5 Woch.)	
18	2015	—	—	++	++	+	Lungenrotz (4 Wochen)	"
19	1531	—	—	+	—	—	Lungenrotz	
20	2280	—	—	++	+	—	Rotz	"
21	428	—	—	++	++	—	Lungenrotz	
22	4769	—	—	+	—	+	Rotz	"

negativ reagiert hatten, sowie den als ansteckungsverdächtig bezeichneten Pferden aus akut verseuchten Truppenteilen besondere Aufmerksamkeit zugewandt. Die Blutproben von solchen Pferden wurden daher stets auch mittels der Konglutinations- und KH-Reaktion geprüft. Es konnten 22 rotzranke Pferde ermittelt werden, bei denen die Agglutination und Bindungsreaktion negativ, die Konglutinations- und KH-Reaktion oder eine von beiden dagegen positiv ausgefallen waren (das Ergebnis der Malleinaugenprobe ist beigelegt):

Vorstehende Zusammenstellung zeigt, daß von 22 rotzranke Pferden ohne Agglutination und Bindung 18 bei der Konglutinations- und 16 bei der KH-Reaktion positiv reagierten. Diese Fälle sind den von Pfeiler und Weber mitgeteilten an die Seite zu stellen, die bei 3 (4) rotzigen Pferden die Serumdiagnose ebenfalls nur mittels Konglutination stellen konnten. Auffallend war, daß unter diesen 22 rotzranke Pferden sich 14 in der Ukraine ermittelte Fälle befunden haben, bei denen es sich meist um chronische oder in Heilung befindliche rotzige Veränderungen gehandelt hat. Außer diesen durch die Zerlegung kontrollierten Pferden sind weitere 21 Pferde ermittelt worden, von denen 20 nur bei der Konglutinations- und KH-Reaktion und eines nur bei der Konglutination reagierten. Bei diesen Seren handelte es sich teils um solche mit verzögerter Lösung bei der Bindungsreaktion, teils um getrübe und stark zersetzte Blutproben, teils um Pferde, die sonst verdächtig waren. Daß auch ein Teil dieser Pferde, trotzdem über ihre Tötung und Zerlegung nichts bekannt geworden ist, rotzkrank gewesen ist, geht aus dem Umstande hervor, daß bei 6 von diesen Pferden die Malleinaugenprobe nachweislich positiv ausgefallen ist.

Die Erfahrungen, die mit der Konglutinations- und KH-Reaktion an einem großen Untersuchungsmaterial gemacht wurden, haben ferner gelehrt, daß bei gleichzeitig positivem Ausfall der Bindungsreaktion, der Konglutinations- und der KH-Reaktion es sich meist um Blutproben von rotzig infizierten Pferden handelt, die dann bei einer späteren Blutuntersuchung den Vorschriften entsprechend auf Grund vollständiger Komplementablenkung (0,05 oder 0,02 +++) als rotzkrank erklärt wurden. Andererseits ergaben Serumproben von nachweislich rotzfreien Pferden, die bei der Bindungsreaktion nur geringe Werte (0,2 ++) zeigten, bei der Konglutinations- und der KH-Reaktion in der Regel negative Befunde. Das laufende Untersuchungsmaterial bot hierfür viele Beispiele, von denen ein Pferd mit besonders interessantem Blutbefund erwähnt werden soll. Ein 14mal in Zwischenräumen von je 2–4 Wochen untersuchtes Pferd ergab während der ganzen Untersuchungsdauer einzig und allein mittelstarke Komplementbindung (0,2 +++, 0,1 ++), während die Konglutinations- und die KH-Reaktion sowie die Malleinaugenprobe dauernd negativ ausfielen. Nach Monaten stellte es sich zufällig heraus, daß es sich um ein schwer rädekrankes Pferd handelte, so daß hierin anscheinend die Erklärung für dieses eigentümliche Verhalten bei der Bindung zu suchen war (die Untersuchung auf nichtspezifisch bindende Antikörper wurde damals noch nicht ausgeführt). Die dauernd negativ bleibende Konglutinations- und KH-Reaktion ist daher von Wichtigkeit für die Beurteilung solcher scheinbar spezifischer Bindungsreaktionen, die durch pathologische Zustände nichtrotziger Art verursacht werden (die Prüfung mit nichtspezifischen Extrakten ist in solchen Fällen von noch größerer Bedeutung).



Eine strittige Frage ist, ob die Konglutinations- und die KH-Reaktion zur Ermittlung der chronischen Rotzfälle sich besonders eignen, und ob diese Reaktionen noch positiv ausfallen, wenn die übrigen Reaktionen negativ sind. Als festgestellt ist anzusehen, daß die Rotzantikörper bei sicher rotzkranken Pferden mittels der Bindungsreaktion nicht dauernd nachzuweisen sind. Die laufenden Untersuchungen an einem großen Material rotzverdächtiger und später rotzkrank erklärter Pferde haben diese Beobachtung vielfach bestätigt. Es ist daher zu fordern, daß Pferde, bei denen im Laufe der Untersuchung die ablenkenden Stoffe nicht mehr durch die Bindungsreaktion, sondern nur durch die Konglutinations- und KH-Reaktion nachzuweisen sind, als rotzverdächtig zu behandeln sind. Andererseits wurde aber auch ermittelt, daß die durch die Konglutinations- und KH-Reaktionen nachweisbaren Antikörper bei rotzkranken Pferden nicht immer vorhanden sind, wobei sich allerdings ergeben hat, daß den durch diese Methoden feststellbaren Reaktionsstoffen anscheinend eine größere Konstanz zukommt als den durch die Komplementbindung nachweisbaren. Bei den in vorstehender Zusammenstellung aufgeführten 22 rotzkranken Pferden, die einzig und allein durch den positiven Ausfall der Konglutinations- und KH-Reaktion oder einer dieser beiden Methoden ermittelt worden sind, wurden teils chronische rotzige Veränderungen, teils Verkalkung der Rotzknötchen beobachtet, die meist als abgeheilte Rotz angesprochen wurden. Beiläufig sei erwähnt, daß bei einheimischen russischen Pferden Heilungsvorgänge schneller und in stärkerem Grade einzusetzen pflegen als bei deutschen Pferden (angeborene erhöhte Resistenz der russischen Pferde gegen Rotz). Beispiele dafür, daß bei negativer Bindungsreaktion die Konglutinations- und KH-Reaktion positiv ausfallen können, ohne daß eine chronische Infektion vorliegt, sind die Fälle lfd. Nr. 17 und 18 obiger Zusammenstellung, bei denen nur frische rotzige Veränderungen nachzuweisen waren.

Wichtigere Einzelbeobachtungen mittels der Konglutinations- und der KH-Reaktion wurden folgende gemacht. In Fällen von sog. paradoxer Hemmung bei der Komplementbindung (0,2 +, 0,1 ++, 0,05 ++++), die durch die im Pferdeserum sehr selten vorkommenden Hämolyse gegen Schafblut bedingt ist, gibt der positive Ausfall der Konglutinations- und der KH-Reaktion ebenfalls den Ausschlag, daß Rotz vorliegt. Bei den von rotzkranken Pferden stammenden Blutproben, die Agglutination zeigten, fiel die Konglutinationsreaktion fast stets positiv, die KH-Reaktion negativ aus, während Konglutinations- und KH-Reaktion beide in der Regel positiv waren, wenn Agglutination nicht vorhanden war. Was die mittels der verschiedenen Verfahren nachweisbare Menge von Antikörpern anbelangt, so wurde festgestellt, daß Seren mit einem geringen Gehalt an Rotzantikörpern bei der Konglutinations- und der KH-Reaktion meist noch in kleineren Serummengen reagierten als bei der Bindungsreaktion. Rotzseren mit großem Bindungsvermögen ergaben dagegen in der Regel vollständige Hemmung der Konglutinations- und KH-Reaktion bis zu den kleinsten Serummengen. Besonders darauf ist hinzuweisen, daß Seren von rotzfreien Pferden, die längere Zeit aufgehoben worden sind, positiv bei der Konglutinations- und KH-Reaktion reagieren und somit zu einer fälschlichen Verdachtserklärung Veranlassung geben können. Es ist daher zu fordern, die Seren in möglichst frischem Zustand zu untersuchen und sich in Zweifelsfällen durch Ansetzen von Kontrollen davon zu überzeugen, daß eine spontane Hemmung bei der Konglutination

und der KH-Reaktion nicht eintritt. Bis zu 8 Tagen ist aber nicht zu befürchten, daß spontan hemmende Stoffe im Pferdeserum auftreten. Als Einstellserum sind daher nur solche Normal- und Rotzseren für die Konglutinations- und KH-Reaktion zu verwenden, die auch in niedrigen Serummengen einwandfrei negativ oder positiv reagieren.

Eine ausschlaggebende Bedeutung haben die Konglutinations- und KH-Reaktion, wenn es sich um Seren handelt, die ein antikomplementäres oder nichtspezifisches Verhalten bei der Bindungsreaktion aufweisen. Soweit zahlenmäßige Angaben vorliegen, wurden bei den laufenden Untersuchungen 191 Seren von Pferden ermittelt, die bei der Bindung außer Ablenkung mit Rotzbazillenextrakt teils Serumeigenhemmung (in der Kontrolle) und eine nichtspezifische Ablenkung auch mit anderen Bazillenextrakten (122 Seren), teils nur nichtspezifische Ablenkung (64 Seren), teils nur Serumeigenhemmung (5 Seren) zeigten. Die Konglutinations- und KH-Reaktion fielen in diesen Fällen negativ aus. Während die Eigenhemmung und das nichtspezifische Verhalten bei der Bindungsreaktion den Ausschlag geben, daß die Bindung als nichtspezifisch anzusehen und Rotz demnach auszuschließen ist, war bei 35 Seren das nichtspezifische Verhalten nur mittels Konglutinations- und KH-Reaktion nachzuweisen. Von besonderer Wichtigkeit sind noch die Fälle, wo infolge der antikomplementären Eigenschaften des Serums eine einwandfreie Diagnose mittels der Bindungsreaktion nicht möglich ist. Drei Fälle mit vollständiger Bindung (++++) und daneben Eigenhemmung (+++) wurden ermittelt, bei denen die Konglutinationsreaktion (die KH-Reaktion wurde nicht angestellt) dauernd positiv ausfiel. Diese 3 Pferde wurden auf Grund der positiven Konglutinationsreaktion für rotzkrank erklärt und bei der Zerlegung rotzig befunden. Der Ausfall der Konglutination ist mithin entscheidend, ob die Komplementbindung mit Rotzbazillenextrakt bei Seren, die Eigenhemmung, aber keine nichtspezifische Hemmung aufweisen, als spezifisch zu bewerten ist oder nicht.

Für die Untersuchung der Blutproben von Eseln, Maultieren und Mauleseln hat sich die Ausführung der Konglutinations- und KH-Reaktion als notwendig erwiesen in Fällen mit spezifischer Bindung, bei denen ein antikomplementäres Verhalten aber nicht nachzuweisen war. Unter 297 Seren von Eseln wurden 251 festgestellt, die bei Anstellung der Bindungsreaktion mit Rotzantigen Komplementbindung zeigten; bei 160 war daneben ein antikomplementäres und nichtspezifisches Verhalten, bei 63 war neben der spezifischen auch eine nichtspezifische Bindung vorhanden. Konglutinations- und KH-Reaktion fielen bei diesen 223 Seren negativ aus. Die besondere Bedeutung der Konglutinations- und KH-Reaktion zeigte sich jedoch in den restlichen 28 Fällen (11 Proz.), die weder ein antikomplementäres noch ein nichtspezifisches Verhalten, sondern einzig und allein nur Bindung mit Rotzbazillenextrakt aufwiesen. Diese Esel hätten als rotzverdächtig oder als rotzkrank erklärt werden müssen, falls der negative Ausfall der Konglutinations- und KH-Reaktion nicht das Gegenteil bewiesen hätte. Von 126 Maultieren zeigten 96 positive Bindungsreaktion mit spezifischem, daneben 58 auch mit nichtspezifischem Antigen und 21 außerdem Serumeigenhemmung; 17 Seren (= 18 Proz.) konnten nur auf Grund der Konglutinations- und KH-Reaktion als rotzfrei begutachtet werden. Seren von Mauleseln wurden 31 untersucht, von denen 18 mit Rotzantigen bei der Bindung positiv reagierten. Von diesen 18 Seren ergaben außerdem 2 Seren Ablenkung

mit nichtspezifischem Extrakt und 13 sowohl Eigen- als nichtspezifische Hemmung, während bei den übrigen 3 (= 17 Proz.) der negative Ausfall der Konglutinations- und KH-Reaktion entscheidend war, daß die Bindung nur als scheinbar spezifisch anzusehen und eine Rotzinfektion auszuschließen war.

Der negative Ausfall der Konglutinations- und KH-Reaktion bei Seren, die ein antikomplementäres oder ein nichtspezifisches oder ein nur scheinbar spezifisches Verhalten zeigen, ist mithin von diagnostischer Wichtigkeit, wenn zu entscheiden ist, ob die Komplementbindung mit Rotzbazillenextrakt in den genannten Fällen als spezifisch oder nichtspezifisch zu bewerten ist. Da Seren mit antikomplementären oder nichtspezifischen Eigenschaften manchmal wechselnd reagieren — einmal Eigenhemmung und nichtspezifische Hemmung, ein andermal nur Hemmung mit Rotzantigen —, so ist aus einer dauernd rotznegativ bleibenden Konglutinations- und KH-Reaktion zu schließen, daß eine nur scheinbar spezifische Hemmung vorliegt. Für die Untersuchung von Eseln, Maultieren und Mauleseln, wo dieser Wechsel zwischen Eigenhemmung und scheinbar spezifischer Hemmung häufiger zu beobachten ist, haben Konglutinations- und KH-Reaktion bei der Erklärung von Rotz oder Rotzverdacht mithin den Ausschlag zu geben.

Die Frage, ob die Konglutinations- und KH-Reaktion zur Ermittlung der Fälle von chronischem Rotz, in denen die Bindungsreaktion negativ sein kann, sich besonders eignen, ist auf Grund der oben genannten 22 Fälle mit negativer Ablenkung zu bejahen. Die laufenden Untersuchungen haben aber gezeigt, daß auch die mittels Konglutinations- und KH-Reaktion nachweisbaren Antikörper im Blut chronisch rotzkranker Pferde verschwinden und dann plötzlich wieder auftreten können. Bei einer Anzahl rotzverdächtig und später rotzkrank erklärter Pferde wurde versucht, diesen Verhältnissen nachzugehen. Diese Pferde wurden in Zwischenräumen von je 2—3 Wochen häufig (2-, 3-, 4mal, einige Pferde 6—8—10mal, sogar 17mal) mittels Agglutination, Bindung, Konglutinations- und KH-Reaktion systematisch untersucht, wobei folgende Werte ermittelt wurden:

	Agglutination	Bindung	Kongl.-Reaktion	KH-Reaktion
I. Untersuchung	32 Proz.	92 Proz.	70 Proz.	60 Proz.
Untersuchung nach				
10—33 Tagen	43 „	100 „	84 „	90 „
I. Untersuchung	10 „	100 „	47 „	43 „
Untersuchung nach				
18—70 Tagen	23 „	93 „	93 „	80 „
I. Untersuchung	7 „	100 „	57 „	64 „
Untersuchung nach				
etwa 100 Tagen	14 „	100 „	100 „	93 „
I. Untersuchung	—	100 „	71 „	43 „
Untersuchung nach				
100—260 Tagen	15 „	100 „	100 „	86 „

Diese Zusammenstellung zeigt, daß zwischen der ersten Untersuchung und den späteren Untersuchungen eine dauernde Zunahme der mittels Komplementbindung, Konglutinations- und KH-Reaktion nachweisenden Rotzantikörper festzustellen war. Nur in den mittleren Zeiträumen (18—70 Tage) ist eine Abnahme der komplementbindenden Antistoffe zu ermitteln gewesen. Ob diese Abnahme auf einer Gesetz-

mäßigkeit beruht, ist an der Hand dieser Untersuchungen nicht zu entscheiden. Tatsache ist jedenfalls, daß die Reaktionskörper im Blute rotzkranker Pferde Schwankungen unterworfen sind. Die Blutuntersuchung auf Rotz hat auf diese Umstände Rücksicht zu nehmen, um Fehldiagnosen zu vermeiden.

#### IV. Schlußsätze.

1) Die Konglutinationsreaktion sowie die KH-Reaktion nach Pfeiler und Scheyer (abgeänderte Komplementablenkung nach Schütz und Waldmann) sind für die Serumdiagnose des Rotzes brauchbare Methoden.

2) Die Konglutinationsreaktion fiel bei 2729 durch die Blutuntersuchung für rotzkrank erklärten Pferden in 93,3 Proz., die KH-Reaktion bei 2419 rotzkranken Pferden in 94,3 Proz. positiv aus. Von durch die Zerlegung rotzig befundenen Pferden hatte die Konglutinationsreaktion bei 88,1 Proz., die KH-Reaktion bei 89,1 Proz. ein positives Ergebnis. Beide Reaktionen haben daher annähernd den gleichen Wert.

3) Die Leistungsfähigkeit der Konglutinations- und KH-Reaktion ist jedoch geringer als die der Komplementbindung, die für die diagnostische Blutuntersuchung auf Rotz an erster Stelle steht.

4) In gewissen Fällen sind jedoch die Konglutinations- und KH-Reaktion der Komplementbindung überlegen. Es wurden 22 rotzkranken Pferde ermittelt, deren Feststellung nur durch die Konglutinations- und KH-Reaktion möglich gewesen ist.

5) Die Frage, ob sich die Konglutinations- und die KH-Reaktion vornehmlich zur Ermittlung des chronischen Rotzes eignen, läßt sich an der Hand des vorliegenden Untersuchungsmaterials nicht beantworten. Es wurde aber festgestellt, daß die mittels Konglutination und in geringerem Grade die mittels KH-Reaktion nachweisbaren Rotzantikörper anscheinend eine größere Konstanz zeigen als die komplementbindenden.

6) Für die Untersuchung von Seren mit antikomplementärem oder nichtspezifischem Verhalten, namentlich von Eseln, Maultieren und Maul-eseln, haben Konglutinations- und KH-Reaktion ausschlaggebende diagnostische Bedeutung.

#### Literatur.

Andersen, Ueber die Verwertung der Konglutinationsreaktion für diagnostische Proben beim Rotz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1913. S. 394.) — Biermann, Ueber den Wert der Konglutination als serologische Untersuchungsmethode bei der Rotzkrankheit. (Ztschr. f. Vet.-K. Bd. 29. 1917. S. 38.) — Bordet et Gay, Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 25. 1906. p. 467.) — Bordet et Streng, Les phénomènes d'adsorption et la congutinine du sérum de boeuf. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. S. 260.) — Dallafavera, Sulla sierodiagnosi della sifilide per mezzo della reazione di congutinatione (metodo di Karvonen). (Ebenda. Abt. I Ref. Bd. 55. 1912. S. 621.) — Fedders, Ueber die agglutinierende Wirkung hämolytischer Immunsere und die gleichzeitige Verwertung des Hämolsins und Hämagglutinins als Indikatoren bei der Komplementablenkungsreaktion. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 21. 1914. S. 598.) — Giese, Die Diagnose und Bekämpfung der Rotzkrankheit mit Hilfe der Malleinisierung und der Blutuntersuchung. (Arb. a. d. Reichs-Gesundh.-Amt. Bd. 52. 1920. S. 468.) — Gilde-

meister u. Jahn, Beitrag zur Rotzdiagnose beim Menschen. (Berl. klin. Woch. 1915. S. 627.) — Gräub, Ueber die Verwertbarkeit der Ophthalmoreaktion und der Konglutination zur Rotzdiagnose. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 59. 1917. S. 129.) — Hecht, Konglutinationsreaktion nach Karvonen. (Berl. klin. Woch. 1912. S. 58.) — Jakobaeus, Ueber die Anwendungsmöglichkeit von Konglutinationsreaktionen mit Ochsen Serum bei Wassermanns Reaktion. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 8. 1911. S. 445.) — Karvonen, Ueber die Serodiagnose der Syphilis mittels Konglutinationsreaktion. (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 108. 1912. S. 108 u. 415.) — Kranich u. Kliem, Zur KH-Reaktion bei Rotz. (Ztschr. f. Vet.-K. Bd. 27. 1915. S. 289.) — Landsteiner, Kolloide und Lipoide in der Immunitätslehre. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 2. S. 1241.) — Luger, Zur Verwertbarkeit der Konglutinationsreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 390.) — Marcis, Zur Feststellung der Rotzkrankheit mit der Konglutinationsprobe. (Wien. Tierärztl. Monatsschr. 1916. S. 396.) — Michin, Ueber die Serodiagnose der Rotzkrankheit mittels der Konglutininreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 223.) — Mogwitz u. Buss, Ein Beitrag zur Konglutination. (Ztschr. f. Vet.-K. Bd. 29. 1917. S. 333.) — Müller, Max, Die Bewertung der Blutuntersuchung und der Malleinreaktion bei der diagnostischen Rotztilgung vom Standpunkte der Beziehung der rotzigen Infektion zum Blute und zur Lymphe. (Ebenda Bd. 28. 1916. S. 273.) — Nußhag, Ueber die Konglutination. (Ebenda. Bd. 28. 1916. S. 408.) — Parth, Vergleichende Untersuchungen über die Diagnose des Rotzes. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 29. 1918. S. 319.) — Pfeiler, Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. Einleitung. (Berl. tierärztl. Woch. 1914. S. 741.) — Ders., Eine Entgegnung auf die Ausführungen von Schütz „Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit“. (Ebenda. 1916. S. 301, 313, 327, 340, 354.) — Ders., Ergebnisse der Untersuchung von 100 mittels der KH-Reaktion zum Zwecke der Feststellung der syphilitischen Infektionen geprüften Serumproben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 62.) — Ders. u. Scheffler, Zur Unterscheidung malleinierter von rotzkranken Pferden mittels der Blutuntersuchung. (Berl. Tierärztl. Woch. 1914. S. 782.) — Dies., Die Technik der KH-Reaktion zur Feststellung der Rotzkrankheit bei den Equiden. (Ebenda. 1915. S. 121.) — Pfeiler u. Scheyer, Ueber die gleichzeitige Verwendung des Hämolysins und Hämagglutinins als Indikatoren bei der Komplementablenkungsreaktion zur Feststellung der Syphilis. (Münch. med. Woch. 1915. S. 393.) — Pfeiler u. Weber, Versuch einer neuen serodiagnostischen Methode bei der Rotzkrankheit. (Berl. Tierärztl. Woch. 1912. S. 785.) — Dies., Ueber den Wert der Bazillenkonglutinationsmethode für die Erkennung der Rotzkrankheit. (Ebenda. 1912. S. 873.) — Dies., Vergleichende Untersuchungen der Sera von 100 Pferden mittels der Agglutinations-, Komplementablenkungs- und Konglutinationsmethode. (Ztschr. f. Infekt.-Krankh. d. Haust. Bd. 12. 1912. S. 397.) — Dies., Die Technik der Konglutinationsreaktion zur Ermittlung der Rotzkrankheit. (Mitteil. d. Kaiser Wilh.-Institut. f. Landw. in Bromberg. Bd. 5. 1913. S. 25.) — Dies., Bericht über die in Bromberg im Etatsjahre 1912/13 ausgeführten Blutuntersuchungen zur Ermittlung der Rotzkrankheit. (Ebenda. Bd. 6. 1914. S. 227.) — Dies., Ueber die Wirkung des Malleins bei gesunden Pferden und die Bedeutung der Konglutinationsreaktion für die Erkennung der Rotzkrankheit. (Ztschr. f. Infekt.-Krankh. d. Haust. Bd. 15. 1915. S. 209.) — Dies., Die serologische Feststellung der Rotzkrankheit bei Eseln, Mauleseln, Maultieren sowie Pferden mit sogenannter nichtspezifischer Hemmung der Komplementablenkung. (Ebenda. Bd. 16. 1915. S. 311.) — Dies. u. Schömmel, Bemerkungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1914. S. 320.) — Pohle, Die Serodiagnose des Rotzes vermittels des Konglutinationsverfahrens. (Ebenda. 1917. S. 411 u. 424.) — Poppe, Ergebnisse der serologischen Rotzbekämpfung im Felde. Bewertung der verschiedenen Untersuchungsverfahren. (Ebenda. 1919. S. 171.) — Reeser, Die Konglutinationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 64. 1916. S. 203.) — Sauli, Ueber den Nachweis von verschiedenartigem pflanzlichem Eiweiß durch die Konglutination. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 9. 1911. S. 359.) — Schern, Technik der veterinären Serodiagnostik. Berlin 1915. — Schütz, Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1915. S. 481.) — Ders. u. Waldmann, Der serologische Nachweis der Rotzkrankheit bei Eseln und Maultieren. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 40. 1914. S. 503.) — Schulze u. Otto, Das Militär-veterinärwesen im Kriege 1914/1918. (Ztschr. f. Vet.-K. Bd. 33. 1921. S. 150 u. 193.) — Siebert u. Mironescu, Ueber die Bruchbarkeit der Syphilisreaktion nach Karvonen. (Dtsch. med. Wochenschr. 1911. S. 2084.) — Stranigg, Zur Diagnose des Rotzes durch Konglutination. (Ztschr. f. Infektionskr. d. Haust. Bd. 14. 1913. S. 166 u. 297.) — Streng, Ueber das Vorkommen der Konglutinine in den Seren verschiedener Tiere, besonders der Wiederkäufer. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 2. 1909. S. 415.) — Ders., Die Konglutination und die Diagnose der Syphilis. (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Bd. 51. 1911. S. 279.) — Waldmann, Untersuchungen über die

Brauchbarkeit der Konglutinationsmethode für die Serodiagnose der Rotzkrankheit der Pferde. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 40. 1914. S. 382.) — Ders., Die Bedeutung der neueren Komplementablenkungsmethoden für die Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Ebenda. Bd. 42. 1916. S. 194.) — Ders., Entgegnung auf die Ausführungen Dr. Pfeilers. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1916. S. 570.) — Zschiesche u. Biermann, Das Schwinden der ablenkenden Substanzen aus dem Blute rotziger Pferde. (Ztschr. f. Vet.-K. Bd. 29. 1917. S. 145.)

*Nachdruck verboten.*

## Die trypanozide Wirkung von Bayer 205 auf *Trypanosoma equiperdum*.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung der Tierseuchenstelle der Veterinäranstalt Jena (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Hobstetter), Tierseuchenstelle der Thüringischen Landesanstalt für Viehversicherung (Vorstand: Prof. Dr. Pfeiler).]

Von Kurt Hesselbach, approbiertem Tierarzt,

### I. Geschichtliches und Zoologisches über Trypanosomen.

Der Name *Trypanosoma* erscheint zum 1. Mal 1843, und zwar nennt Gruby, zit. nach Kolle-Wassermann (1), einen Flagellaten des Froschblutes *Trypanosoma sanguinis*. Doflein (2) stellt dann 1901 die Trypanosomen als einzige Gattung der Familie Trypanosomidae für alle Blutparasiten mit undulierender Membran auf. Im Lehrbuch der Protozoenkunde von Doflein (3) erscheint die Familie: Trypanosomidae in der 1. Unterklasse: Flagellata, diese in der 1. Klasse: Mastigophora, dem 1. Unterstamm: Plasmodroma des Stammes: Protozoa.

Die Trypanosomen haben längliche Gestalt, bandartig abgeplatteten Körper, sind an beiden Enden zugespitzt oder doch spitz zulaufend und sind eingeißelig. Der Körper zeigt vielfach eine spirale Drehung. Nach Doflein (3) befindet sich die Geißel am Vorderende; die Frage, welches Körperende als das vordere zu bezeichnen sei, ist vielfach erörtert worden. Koch (1) hielt das geißeltragende Ende für das Hinterende, Wasielewski und Senn (4) für das Vorderende. Prowazek (6) unterscheidet bei der Analyse der Bewegungen scharf zwischen 1) der eigentlichen Körperbewegung und 2) der Bewegung der mit einer undulierenden Membran zusammenhängenden Geißel.

Durch die Körperkontraktionen könne sich das Tier gleichsam nach vorwärts bohren, während andererseits meistens unter der zum Teil auch formgebenden Tätigkeit der Geißel die Bewegung mit dem geißeltragenden Ende erfolge. Die Bewegungsrichtung könne also für die Orientierung der Körperenden nicht maßgebend sein; es gehe aber aus der Entwicklungsgeschichte der Trypanosomen hervor, welches Ende das Vorder- bzw. das Hinterende sei, indem der Blepharoplast, der Bewegungskern, erst aus dem zentralen Kern heraustrete, um nach dem geißelfreien Ende hinzuwandern, so sei das letztere auch das Hinterende.

Der Zentralfaden der Geißel setzt sich als Randfaden einer undulierenden Membran bis zu dem Blepharoplasten fort. Der Randfaden und die Hüllschicht (Pellicula) des Körpers bilden die formgebenden Elemente, welche das Körperplasma in der typischen Gestalt erhalten. Unter der Hüllschicht liegt nach Angaben vieler Autoren ein Fibrillensystem, die sog. Myoneme, das nach Prowazek (5) durch Abspaltung des Blepharoplasts vom eigentlichen Zellkern gebildet wird. Dieses steht zu den Körperkontraktionen bei der Bewegung in der Weise in Verbindung, als es gegen dieselben gewissermaßen als Antagonist wirkt, wodurch die charakteristische schlangelnde Bewegung zustande kommt. Die Bewegung erfolgt sowohl vor- als auch rückwärts; sie erfolgt einmal durch die peitschenschnurartig schlagende Geißel und den wimpelartig wogenden Körper, wobei die Geißel wohl den Hauptanteil an der eigentlichen Lokomotion hat.

Das Plasma zeigt eine oft deutlich erkennbare alveoläre Anordnung, manchmal sind aber auch kleine lichtbrechende Körnchen (Granula) sichtbar, die, nach Giemsa (7) gefärbt, blau in verschiedenen Abstufungen erscheinen. Nach Swellengrebel (8) kommen im Innern mancher Trypanosomen stabartige Verdichtungen vor, die vom Blepharoplasten durch den Kern nach vorn sich erstrecken und besonders bei den erwachsenen Exemplaren gut ausgebildet sind; an diesen „Axialfäden“ entlang sind Reihen von Volutinkörnchen gelagert.

Der Kern ist rund oder oval und meist in der Mitte gelegen; nach Giemsa gefärbt, nimmt er Chromatinfarbe an.

Der Blepharoplast, der sog. 2. Kern, in der Nähe des geißelfreien Endes gelegen, ist meist rund, bisweilen auch oval oder stäbchenförmig und nimmt, nach Giemsa gefärbt, ebenfalls Chromatinfärbung an. Rabinowitsch und Kempner (9) nannten ihn Nucleolus, Plimmer und Bradford (10), im Gegensatz zum eigentlichen Kern, dem Makronucleus, Mikronucleus. Sie stellten bei Färbung nach Ehrlich (18), einer von Romanowski 1891 modifizierten und von Zimmermann 1898 vervollkommneten Färbung mit einer Mischung von Methylenblau und Erythrosin fest, daß der Makronucleus sich durchsichtig karmoisinrot, der Mikronucleus tiefrot und das Protoplasma sich zart blau färbt; eine Methode, die davon abhängt, daß, wenn basische und saure Farbstoffe in gewissem Verhältnis miteinander gemischt werden, ein dritter neutraler Körper gebildet wird, welcher eine besondere Farbenreaktion mit Chromatin hat. Wasielewski und Senn (4) nannten den Blepharoplasten Geißelwurzel, Lavarán und Mesnil (19) Centrosom, Webber, zit. nach Kolle-Wassermann (1), führte die allgemein übliche Bezeichnung Blepharoplast ein.

Neben dem Blepharoplasten ist oft in den Präparaten eine Vakuole sichtbar; sie wird von vielen Autoren für ein Kunstprodukt gehalten. Doflein (3) ist der Meinung, daß ihr regelmäßiges Vorkommen an derselben Stelle auf einen Zusammenhang mit dem Bau der Trypanosomen hinweist.

Die regelmäßige Vermehrungsform der Trypanosomen ist die Längsteilung; ehe die Körpermasse sich spaltet, ist meist eine Verdoppelung vom Kern, Blepharoplasten und von undulirender Membran nachzuweisen. Die beiden Tochtertrypanosomen bleiben mit den Hinterenden noch eine Zeitlang verbunden, erst mit der Zeit reißt die schmale Verbindungsbrücke durch. Außer der einfachen Längsteilung gibt es bei einzelnen Trypanosomenarten auch multiple Teilung, Rosettenbildung, z. B. bei *Trypanosoma Lewisii*.

## II. Spezielles über Beschälseuche und ihren Erreger.

Nach Mense (12) werden die durch Trypanosomen verursachten Krankheiten Trypanosomosen genannt. Es ist dies eine Krankheitsgruppe, die bei sämtlichen Haussäugetieren vorkommt, in vielen Ländern, besonders in Afrika und Indien, schwerste Verheerungen anrichtet und in manchen Landesteilen das Halten von Nutzvieh beinahe vollständig ausschließt. Kein Wunder daher, daß diese Krankheiten in den letzten 2 Jahrzehnten eine Beachtung gefunden haben, wie sie wohl kaum einer anderen Krankheitsgruppe zuteil geworden ist.

Mense teilt die Trypanosomen ein in solche, die durch Glossinen übertragen werden, und in solche, bei denen dies nicht der Fall ist. Er erblickt in der Entwicklungsart in den Glossinen die einzig rationelle und natürliche Grundlage für die Einteilung der durch Glossinen übertragenen Trypanosomen.

Es sollen nun hier nicht sämtliche Trypanosomenarten erwähnt werden, sondern mit Rücksicht auf das Thema nur das *Trypanosoma equiperdum*, der Erreger der Beschälseuche.

Das *Trypanosoma equiperdum* erzeugt die Dourine oder die Beschälseuche, eine Infektionskrankheit der Pferde und Esel, deren natürliche Uebertragung durch den Deckakt geschieht.

Die Länge des Parasiten beträgt 25–28 Mikra; seine größte Breite 2,6 Mikra. Die Bewegung ist lebhaft schlängelnd, wobei sich besonders das Hinterende beteiligt, das manchmal spitz, manchmal stumpf erscheint. Der freie Teil der Geißel ist etwa 6–7 Mikra lang. Der Blepharoplast ist deutlich. Eine sog. Vakuole neben dem Blepharoplasten ist ziemlich regelmäßig nachweisbar.

Die Vermehrung geschieht durch Längsteilung, und zwar Zweiteilung, seltener multiple Teilung.

Versuchstiere, wie Mäuse, Kaninchen, Hunde, Ratten, Meerschweinchen sind empfänglich, jedoch gelingt die 1. Infektion kleiner Versuchstiere von kranken Pferden aus in vielen Fällen nicht oder nur selten. Einmal angepaßt an den Körper kleiner Versuchstiere, ist die Tierpassage eine leichte.

Die Beschälseuche ist eine ausgesprochene Geschlechtskrankheit; sie wird in der Natur, wie schon erwähnt, wohl ausschließlich nur durch

den Deckakt übertragen. Die Krankheit, die fast stets chronisch und meistens tödlich verläuft, macht sich im 1. Stadium durch Veränderungen an den Geschlechtsorganen bemerkbar; später treten solche auf der Haut und am Nervensystem hinzu.

Die Beschälseuche wurde mit der Syphilis des Menschen identifiziert; von anderer Seite wurde sie auch als Genitalrotz aufgefaßt. Klarheit über die Natur der Krankheit brachte die Entdeckung von Rouget [zit. nach Mense (12)], der 1894 Trypanosomen im Blute eines dourinekranken Pferdes fand. Der Erreger wurde eingehender 1901 von Doflein (2) unter dem Namen *Trypanosoma equiperdum* beschrieben.

Nach Friedberger und Fröhner (13) stammen die ersten Nachrichten über die Beschälseuche von Ammon, der sie 1796 auf dem Gestüt Trakehnen zum 1. Mal beobachtete. In den folgenden Jahrzehnten herrschte die Seuche dann in verschiedenen Teilen Deutschlands (Hannover, Schlesien, Ostpreußen) und verursachte schwere Verluste.

Seit 1852 war Deutschland frei von der Seuche, bis sie 1906 durch eine aus Rußland stammende Stute erneut nach Ostpreußen eingeschleppt wurde. Sie verbreitete sich in verschiedenen Kreisen Ostpreußens; ihre Unterdrückung durch Ankauf kranker und verdächtiger Pferde sowie Anwendung der im Reichsviehseuchengesetz vorgesehenen veterinärpolizeilichen Maßregeln gelang aber bald.

Die Beschälseuche ist in Europa außer in Deutschland auch in Frankreich, der Schweiz, Oesterreich-Ungarn, Italien, Spanien, Rumänien, der Türkei und in Rußland nachgewiesen worden. Ferner kommt sie in Algier, Marokko, Tunis, Tripolis, Syrien, wahrscheinlich auch in Kleinasien vor. In den Vereinigten Staaten ist eine Reihe von Seuchengängen seit den 80er Jahren konstatiert worden.

Während sie seit Mitte des 19. Jahrhunderts, mit Ausnahme der kleinen Invasionen in Ostpreußen 1906, aus Deutschland vollständig geschwunden war, ist sie nach Deutschland wieder durch den Weltkrieg, wie die Arbeiten von Möller (14) und Salfelder (15) beweisen, eingeschleppt worden.

Der Krankheitsverlauf bei Pferden läßt sich in mehrere Abschnitte zerlegen. Die meisten Autoren (Zwick und Fischer, Fröhner u. a.) unterscheiden 2 Stadien.

1. Stadium. Nach einer Inkubationszeit von 5 Tagen bis etwa  $1\frac{1}{2}$  Mon. (nach der Infektion) zeigen sich die ersten Krankheitserscheinungen. Die Krankheit beginnt mit einer Schwellung der Genitalschleimhaut.

Bei Hengsten schwillt der Schlauch ödematös an. Die Schwellung ist nicht schmerzhaft und dehnt sich allmählich auf den Hodensack, Unterbauch und auf die Unterbrust aus; darauf wird auch der Penis von der Schwellung betroffen. Aus der Harnröhrenmündung entleert sich eine schleimige Masse, in der die Trypanosomen zuerst nachgewiesen werden können. Die Tiere drängen häufig zum Urinieren, der Geschlechtstrieb ist erhöht. Auf der Harnröhrenschleimhaut sowie auf Eichel und Penis entwickeln sich häufig kleine Knötchen und Geschwüre, die unter Zurücklassung von weißen narbigen Flecken abheilen. Bei Stuten schwellen die Schamlippen und die Scheidenschleimhaut an. Ein eitrig-schleimiger Ausfluß ist meist vorhanden; es entwickeln sich Knötchen, Bläschen und Geschwüre auf der Scheidenschleimhaut und deren Umgebung. Die Schleimhaut ist in der Regel fleckig gerötet und mit einem trüben, rötlich-gelben Schleim bedeckt. Besonders charakteristisch sind die Pigmentdefekte, die sog. Krötenflecke, die sich an der Scham, am After und Euter, bei Hengsten am Schlauch und Hodensack ausbilden.

2. Stadium. Dasselbe setzt etwa 4—6 Wochen nach der Infektion ein, nachdem in manchen Fällen eine scheinbare Besserung eingetreten war. Es beginnt mit einem urticariaähnlichen Hautausschlag in Form von pfennig- bis handflächengroßen Quaddeln. Diese treten mit Vorliebe auf der Kruppe, an der Brustwand, am Halse, an der Unterbrust und am Unterbauch auf; sie sind gewöhnlich rundlich bis länglich. Aus den Quaddeln entwickeln sich nicht selten durch Einsinken des Zentrums ringförmige Schwellungen, die sog. Taler- oder Ringflecke. Meist entstehen sie rasch und verschwinden ebenso rasch wieder oder verbleiben bis zu etwa 8 Tagen. Häufig sind sie halbkreisförmig oder kreisförmig mit einem Durchmesser von 5—15 cm.

Gleichzeitig mit diesen Hautveränderungen, manchmal auch etwas später, tritt eine Erkrankung des Nervensystems in die Erscheinung. Zuerst äußert sie sich in einer Ueberempfindlichkeit, die die Tiere schon bei leichter Berührung zu heftiger Abwehrbewegung veranlaßt. Diese Hyperästhesie geht allmählich in Lähmung einzelner Nerven



über. Am häufigsten betroffen werden der Nervus ischiadicus, tibialis, peroneus, cruralis, obturatorius, facialis, oculomotorius und recurrens. Diese motorische Lähmung hat den Charakter einer Parese; eine Paralyse wird nicht beobachtet. Die Parese der Nachhand äußert sich in schwankendem Gang, schwierigem Aufstehen und Niederlegen, einseitiger oder beiderseitiger Lahmheit, häufigem Stolpern, Ueberköten, Zusammenbrechen usw. Die Facialislähmung hat ein Herunterhängen der Lippen sowie eine Verengung der Nasenlöcher zur Folge.

Als wichtiges Symptom ist ferner die hochgradige Abmagerung der Tiere — trotz guter Freßlust — zu erwähnen. Sie ist wohl die Folge einer Einwirkung der Toxine auf den Organismus.

Fieber ist kein regelmäßiges Symptom bei der chronischen Beschälseuche. Die Temperatur steigt nie sehr hoch; am Morgen beträgt sie häufig 38,5° C und am Abend 39,0° C. Vereinzelte Fieberanfalle kommen jedoch vor.

Man beobachtet ferner Anschwellungen der Lymphknoten, besonders des Kehlgangs. Weitere Symptome sind Katarrhe der Nasenschleimhaut und der Lidbindehäute.

Der Verlauf der Krankheit ist jedenfalls in nördlichen Gegenden immer chronisch. Der Tod tritt meistens erst nach einigen Monaten bis 2 Jahren ein. In den südlichen Ländern verläuft die Beschälseuche häufig akut.

Die Diagnose der Beschälseuche ist nicht immer auf Grund der klinischen Merkmale zu stellen, obwohl die Krankheit in ihrem Verlauf einige charakteristische Symptome aufweist. Gesichert wird die Diagnose durch den mikroskopischen Nachweis der Trypanosomen, wenn dieser positiv ausfällt. Da die Parasiten im Pferdeblut nur selten aufzufinden sind, stellt man Präparate aus Quaddelinhalt oder Scheidenschleim bzw. Harnröhrenschleim her. Jedoch spricht der negative Ausfall der Untersuchung noch nicht gegen Beschälseuche, da auch in diesen Säften die Trypanosomen zeitweise fehlen können.

Die Schwierigkeit des Nachweises der Beschälseuchetrypanosomen war die Veranlassung zu dem Bestreben, die Diagnose auf serologischem Wege zu stellen. Man bediente sich hierbei der Methoden der Agglomeration, der Agglutination, der Präzipitation, der Komplementbindung, der K.H.-Reaktion nach Pfeiler (verbesserte Komplementablenkung nach Schütz-Waldmann), ferner der Konglutination und der Lipoidbindungsreaktion sowie der Lipoidpräzipitation (Dahmen).

### III. Die bisher gegen die Trypanosomen angewandten Heilmittel.

An Heilmitteln gegen die Trypanosomen sind bisher verschiedene Präparate erprobt worden. Arsenikverbindungen und Benzidinfarbstoffe haben sich nach Mesnil und Nicolle (16), Ehrlich (17), Laveran und Mesnil (19) als stark wirkende Mittel erwiesen. Trypanrot hat sich nach Ehrlich und Shiga (18) im Tierversuch als ein Reagens bewährt, welches sehr stark abtötend auf die im Kreislauf befindlichen Trypanosomen wirkt.

Die größten Erfolge wurden durch Anwendung des von Thomas und Breinl (20) eingeführten Atoxyls erzielt. Robert Koch (22) hat auf seiner Expedition zur Erforschung der Schlafkrankheit, ebenso wie Uhlenhuth (21), Laveran und Mesnil (19) u. a., bei Trypanosomenkrankheiten große Erfolge mit Atoxyl gehabt. Ob es aber möglich ist, vollkommene Heilung durch Atoxylbehandlung zu erzielen, ist noch unsicher, was auch von den anderen oben erwähnten Mitteln gilt. Jedenfalls konnte das Atoxyl bisher als das wichtigste chemotherapeutische Mittel gegen die Trypanosomen bezeichnet werden, wenn auch in nicht wenigen Fällen immer wieder Rezidive auftraten. Ähnliche Wirkungen hatten auch Arsenophenylglycin und Salvarsan. Wirksamer als die letztgenannten Präparate erwiesen sich intravenöse Injektionen von Tartarus, kombiniert mit Atoxylbehandlung und Trixidin intramuskulär, jedoch konnte eine Therapie magna sterilisans auch hiermit nicht erzielt werden.

Das Auftreten der Dourine im Regierungsbezirk Erfurt und später in Thüringen hat den deutschen Veterinärmedizinern Gelegenheit gegeben, eine eingreifende Behandlung dieser Trypanosomenkrankheit mit ver-

schiedenen Mitteln zu versuchen und durch die Anwendung von Bayer 205 die Seuche chemotherapeutisch energisch zu bekämpfen. Dadurch sind für die Bekämpfung der Schlafkrankheit, der Nagana und Surra die praktischen Grundlagen gegeben worden.

Während sich Walther (23), Ellinger (24), David (25) u. a. damit befaßten, die bereits bekannten Präparate Tartarus, Atoxyl, Arsinosolvin, Salvarsan, Neosalvarsan in der Praxis zu versuchen, hat Pfeiler (26) als erster das Präparat „Bayer 205“ für die Behandlung der Beschälseuche vorgeschlagen und alsbald in der Veterinäranstalt in Jena bzw. in gemeinsamen Versuchen mit Tierärzten in der Praxis in größerem Umfang angewandt.

Die Behandlung Walthers (23) erstreckte sich auf die kombinierte Einverleibung von Arsinosolvin, Atoxyl und Tartarus; er hat, was auch Pfeiler (26) bezeugt, erreicht, daß ein Teil der kranken Pferde monatelang nach der Infektion in einem guten Futterzustande und arbeitsfähig erhalten wurde; es kann aber kein Zweifel darüber bestehen, daß trotz der Anwendung dieser Mittel eine Therapie magna sterilisans nicht erreicht wurde und Rezidive in großer Zahl aufgetreten sind.

Ellinger (24) hat in Aufnahme der Walther'schen Angaben dann bei latent kranken Tieren folgende Art der Behandlung vorgeschlagen:

1) Provokation der Trypanosomen durch 3malige Verwendung von Adrenalin- (Suprarenin-)lösung 1:10 000, und zwar pro die et pro dosi 20—30 ccm subkutan; auf diese Weise sollten die Trypanosomen aus ihren Verstecken im Knochenmark usw. heraus in die periphere Blutbahn gelockt werden.

2) Sterilisation des kranken Körpers von Trypanosomen unter Zuhilfenahme von Tartarus stibiatus purissimus (alle 3 Tage 3 g gelöst in 150 g physiol. Kochsalzlösung intravenös).

3) Roborisierung durch Anwendung von Atoxyl in Dosen von je 5 g subkutan in 6-tägigen Pausen bis zur Gesamtmenge von 20 g in 24 Tagen.

Aber auch dieses kombinierte Verfahren hat immer wieder zu Rezidiven geführt und ist von Ellinger verlassen worden.

Auch das Urteil von David (25) über die Bedeutung von Neosalvarsan geht dahin, daß es allein auch bei Anwendung sehr hoher Dosen (bis 27 g) anscheinend zu keinem Dauererfolg führt.

Nach Pfeiler (26) bestanden für die Anfangstherapie mit „Bayer 205“ 2 Möglichkeiten; entweder bei zu geringer Dosierung Rezidive entstehen zu sehen und dadurch die Behandlung von vornherein in Mißkredit zu bringen oder die Krankheit zu kupieren. Zu letzterem waren aber größere Dosen notwendig; sie bei dem wertvollen Pferdmaterial ohne Vorprüfung an Versuchspferden, die nicht zu haben waren, anzuwenden, war nicht angängig. Er mußte sich daher mit immer steigenden Dosen vortasten, von denen er annahm, daß sie, an sich noch ungiftig, durch Kumulativwirkung zur Abtötung der Trypanosomen ausreichen würden; dabei mußte er rasch vorgehen, um die Trypanosomen nicht „205-fest“ werden zu lassen; denn damals war noch nicht bekannt, daß eine solche „205-Festigkeit“ im allgemeinen nicht eintritt. Fälle von anscheinender absoluter Giftfestigkeit gegenüber „205“ sind später von Pfeiler beobachtet worden (31). Hier sind die Trypanosomen offenbar überhaupt nicht durch das Präparat oder nur durch ganz große Dosen zu beeinflussen. Ein derartiger Fall ist von Walther und Pfeiler (27) beschrieben worden. Erwähnenswert ist, daß in solchen Fällen auch andere Präparate keine Wirkung gezeigt haben (z. B. Tartarus, Atoxyl; Pfeiler, mündliche Mitteilung).

Das 1. von ihm behandelte Pferd — eine Stute rheinisch-belgischen Schlages, 1160 Pfund — war nach ergebnisloser Behandlung mit verschiedenen Präparaten (u. a. Tartarus stibiatus und Atoxyl) soweit heruntergekommen, daß es meist nur noch im Liegen sein Futter verzehrte. Beim Traben zeigten sich schwere ataktische Erscheinungen, so daß das Pferd hinten überkötete bzw. zusammenbrach. Beim Führen im Schritt zeigten sich Schwankungen im Kreuz, Zucken (wie beim Hahnentritt), namentlich hinten rechts; im Stehen schilderte das Pferd abwechselnd auf allen Vieren.

An weiteren Symptomen war zur Zeit des Beginns der Behandlung diffuse Schwellung des Euters zu beobachten; jede der beiden Hälften war etwa mannsfaustgroß. Die Kehlganglymphknoten waren leicht schmerzhaft, fest, etwa walnußgroß, Lappung nicht fühlbar. Außerdem war neben einer ablassenden, über Widerrist und Schulter disseminierten Urticaria eine starke Ueberempfindlichkeit der Haut sowie Nervosität bzw. Unleidlichkeit bei sonst großer Abgeschlagenheit vorhanden. Früher waren andere charakteristische Krankheitserscheinungen (Ringflecke) festzustellen gewesen. Der Blutbefund (Komplementablenkung) war positiv.

Dem Pferde wurden am 20. Sept. 1920 zum 1. Mal 2 g „205“, in 500 ccm destill. Wasser gelöst, verabfolgt. Die Temp., die vor der Injektion 38,1 betrug, zeigte nach 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Std. 38,2, nach 6 Std. 38,6, ein Wert, der am nächsten Tage nachmittag gegen 5 Uhr wieder erreicht wurde. Sonstige Reaktionserscheinungen waren nicht wahrzunehmen.

2 Tage später erhält das Tier 3 g „205“ intravenös in 100 ccm destill. Wasser. Temp. nach 1 Std. 37,7, Puls 48, Atmung 14. Die Futteraufnahme war gut, der Allgemeindruck jedoch schlechter. Das Pferd äußerte starke Mattigkeit. Der linke Kehlganglymphknoten erschien stärker schmerzhaft, auch etwas vergrößert.

Am 23. Sept. 1920 trat die Zunahme des Umfanges der Lymphknoten noch stärker hervor. Die oben geschilderten Bewegungsstörungen zeigten sich gleichfalls stärker, nur das Euter erschien verkleinert. Das Pferd erhielt, da es das Präparat an sich gut vertragen hatte, nunmehr 4 g „205“ intravenös.

Der Allgemeindruck war am 24. Sept. frischer, das Euter weiter verkleinert; seröser Nasen- und Augenausfluß; die Hautempfindlichkeit ließ nach; das Gewicht war auf 1152 Pfd., also um 8 Pfd. zurückgegangen. Die Stute erhielt 5 g „205“ intravenös. Die Temp. beträgt 3 Std. nach der Infusion 38,9.

Das Tier hat demnach in einer Zeit von 5 Tagen insgesamt 14 g „205“ erhalten, also über 1 g auf den Ztr. Körpergewicht, ohne daß objektiv wahrnehmbare Störungen in der Futteraufnahme, der Herztätigkeit, Atemfrequenz oder sonst im Befinden eingetreten wären. Das Tier machte in den nächsten Tagen einen matten Eindruck, lag fast dauernd und war schwer aufzutreiben. Gewisse Anzeichen sprachen für eine Besserung lokaler Krankheitserscheinungen (Rückgang der Kehlganglymphknoten), doch bestand z. B. am 26. Sept. der Eindruck, daß das Euter etwas an Umfang wieder zugenommen hatte. Das Schildern blieb nach wie vor bestehen. Die Temperatur war in der fraglichen Zeit öfter leicht febril, im übrigen der vor der Behandlung ermittelten gleich.

Vom Oktober an, also 10 Tage nach Beginn der Behandlung (Gewicht 1130 Pfd.), machte sich nun eine deutliche Besserung bemerkbar. Das Pferd lag nicht mehr so viel, zeigte regsten Appetit, freieres Wesen, ging willig an der Longe ohne Peitsche, auf bloßen Anruf und freiwillig im Trab. Die Bewegungen der Hinterhand wurden dabei immer geregelter, die Kehlganglymphknoten schollen weiter ab. Lediglich die Lidbindehäute waren höher gerötet.

Am 2. Okt. wurden dem Pferd weiter 0,5 g „205“ in 10 ccm dest. Wasser subkutan an der rechten Halsseite gegeben, um die Möglichkeit dieser Applikation zu prüfen. Die Injektionsstelle blieb für einen Tag schmerzhaft geschwollen.

Das Gewicht beträgt am 4. Okt. 1126 Pfd. (hochgeschürzter Leib); es ist also trotz subjektiver und objektiver Besserung zu einer weiteren Gewichtsabnahme gekommen. Dies führt Pfeiler (26) möglicherweise auf die tägliche Bewegung an der Longe bzw. darauf zurück, daß das Pferd tagsüber im Freien in einer größeren Laufbox zur Förderung seiner Bewegung gehalten wird. Ueberköten und Ataxien sind nicht mehr vorhanden. Der Gang wird immer straffer und für die Rasse des Pferdes drahtiger, der Trab sehr geräumig.

Am 7. Okt. stellt sich hinten rechts eine ausgesprochene Lahmheit ein, die aber schon vorher vorhanden war und den Eindruck des Spates machte.

Die Temperatur beträgt zu dieser Zeit nur noch selten über über 38,5; im allgemeinen zeigt sich gegenüber dem Aug. und Sept. eine fallende Tendenz. Das Pferd wird im Sensorium immer freier; während es bei Aufnahme der „205“-Behandlung infolge seiner Ueberempfindlichkeit Personen unvorhergesehen trat oder drückte, ist es Mitte Oktober von großer Frische und Lebhaftigkeit. Der Appetit ist kaum zu befriedigen, das Haar wird glänzend.

Am 15. Okt. (Gewicht 1138 Pfd., also die erste Zunahme), zeigt sich eitriger Scheidenausfluß in kleinen Tröpfchen, der bei mikroskopischer Untersuchung frei von Trypanosomen ist und neben zahlreichen Bazillen Epithel- und Eiterzellen in großer Menge enthält.

Ende Oktober (Gewicht 1166 Pfd., Zunahme um 40 Pfd.) wird der linke Kehlkopf-lymphknoten wieder etwas walnußgroß, der rechte ist etwas kleiner. Das Tier erhält daher nochmals 5 g „205“ intravenös und am 4. Nov. 1 g. Am 5. Nov. wird es vom

Besitzer abgeholt (Gewicht 1200 Pfd.) Das Tier hat mithin in den letzten Wochen ohne eigentliche plastische Behandlung 70 Pfd. zugenommen.

Der gleiche Behandlungsgang wie bei diesem Pferde ist auch bei anderen Pferden von Pfeiler angewandt worden, und zwar mit dem gleichen Erfolg.

Pfeiler faßt seine Erfolge mit der Behandlung mit „205“ dahin zusammen, daß er sagt: der Weg für eine wirksame Behandlung der Beschälseuche in der Praxis und mit ihr aller Wahrscheinlichkeit auch für andere Trypanosomenkrankheiten mit Hilfe der Chemotherapie sei nun gewiesen. Die Aussichten für die Behandlung der Beschälseuche seien ungleich günstigere als bei der Syphilis des Menschen.

Pfeiler (26) hat auf Grund seiner Versuche das „205“ auch zur Prophylaxe der Beschälseuche in der Praxis, namentlich bei Hengsten, empfohlen. „205“ ist im Laufe der Deckperiode 1921 und 1922 daraufhin vielfach von den thüringischen Tierärzten prophylaktisch gespritzt worden. Im allgemeinen sind 2–3 g intravenös mehrmals gegeben worden. Nach Versuchen Pfeilers bleibt „205“ nicht länger als durchschnittlich 120–150 Tage wirksam, so daß zweckmäßig schon nach 3 Mon. eine Wiederholung der Spritzung innerhalb ein und derselben Deckperiode stattzufinden hat (32).

Versuche mit „205“ waren vor Pfeilers Feststellungen in der Praxis noch nicht gemacht worden, lediglich Haendel und Joeten (28) haben bei einem künstlich infizierten Esel einen Versuch angestellt, der in folgender Weise verlief:

Am 6. Sept. 1917 wurde ein 1 $\frac{1}{2}$  Jahre alter weiblicher Esel mit der Blutmenge zweier mit Trypanosomen stark infizierter Mäuse intravenös gespritzt. Vom 4. Tag danach hatte er positiven Blutbefund und Fieber. Nach 4–6 Wochen kam es bei fortwährendem Fieber zum Auftreten typischer Krankheitserscheinungen (Talerflecke, Schwellung und Rötung der Scheidenschleimhaut und der Mundschleimhaut, Entzündung der Augen), außerdem machte sich Abnahme der Freßlust und eine immer mehr zunehmende Mattigkeit bemerkbar. Am 18. Okt. erhielt der Esel 1,5 g „205“ intravenös; vom Tage nach der Behandlung blieb der Blutbefund wieder negativ, die Temperatur war zur Norm gefallen und die verschiedenen Krankheitserscheinungen schwanden allmählich. Als sich am 1. und 2. Nov. wieder eine leichte Temperaturerhöhung bemerkbar machte, erhielt das Tier nochmal 2 g des Präparates intravenös. Seitdem zeigte das Tier keine Krankheitserscheinungen mehr, der Blutbefund war auch bei Kontrolle durch Mäuseimpfung stets negativ und die Temperatur dauernd normal.

Veranlaßt durch Pfeiler (26), hat Salfelder (15) das „205“ in 16 Fällen in der Praxis angewandt, darunter in 6 Fällen von Rezidiven nach vorheriger Anwendung von Neosalvarsan, Atoxyl und Trypaflavin. Er gab es im Verhältnis von 1,0:30,0 in Aqua destillata intravenös, und zwar in Mengen von zusammen 9,0 bis höchstens 27,0 g, im Durchschnitt zusammen 19,0–21,0 g; es wurde stets gut vertragen; außer in 2 Fällen, wo vorübergehend eine Pododermatitis eintrat, wurden keinerlei Nebenerscheinungen beobachtet.

Mit Ausnahme eines Tieres, das wegen zu weit vorgeschrittener Parese notgeschlachtet werden mußte, erscheinen nach Salfelder (15) sämtliche mit „205“ behandelten Tiere klinisch geheilt, bis auf einige Residuen der Facialislähmung, bei denen aber auch ein deutlicher Rückgang in den Lähmungserscheinungen eingetreten und Aussicht auf vollständige Beseitigung der Krankheitssymptome vorhanden ist.

Auch die Beobachtung des Blutbildes bei diesen Pferden spricht für reparatorische Vorgänge im Tierkörper im Sinne einer Parasitenvernichtung.

Die von Mießner und Berge (30) später veröffentlichten Versuche an Pferden erstrecken sich auf 6 Tiere, von denen 5 künstlich infiziert und nur 1 natürlich krank war.

Mießner und Berge (30) kommen, ebenso wie Pfeiler und Salfelder (15), zu dem Ergebnis, daß „205“ ein ausgezeichnetes Heilmittel gegen die durch Trypanosoma equiperdum hervorgerufene Beschälseuche ist.

Die übrigen Arbeiten mit „205“ beschränken sich auf Versuche an Mäusen, Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen.

Haendel und Joetten (28) haben hierbei ebenfalls festgestellt, daß das Präparat „205“ eine außerordentlich hohe trypanozide Wirkung besitzt, wobei sie bei den besonderen Eigenschaften des Mittels der Hoffnung Ausdruck geben, damit auch unter praktischen Verhältnissen Trypanosomeninfektionen vielleicht nicht nur heilen, sondern auch verhüten zu können.

Mayer und Zeiß (29) prüften ebenfalls „205“ eingehend gegen Trypanosomenkrankheiten an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen und stellten auch Versuche über die Wirkung desselben in vitro an. Sie fassen ihre Ergebnisse, wie folgt, zusammen:

„205“ erwies sich im Versuche bei Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen als unfehlbares Heilmittel auf der Höhe der Infektion mit Trypanosoma Brucei, equiperdum, equinum, gambiense und rhodesiense. Das Mittel wird subkutan, intravenös und intrastomachal verabfolgt. Die wirksamen Dosen sind für das betreffende Tier ganz ungiftig, da die Grenze der Wirksamkeit in einem bisher von keinem Mittel bekannten Maße von der Grenze der toxischen Dosis entfernt ist. 0,00006 g ist bereits für Mäuse Heildosis, 0,01 toxische Dosis, der chemotherapeutische Quotient somit etwa 1:167.

Geheilte Tiere sind noch lange Zeit nach der Behandlung gegen neue Infektion mit jedem der geprüften Trypanosomenstämme geschützt. Bei mittelstarken Dosen (z. B. 0,003 g bei Mäusen) dauert dieser Erfolg im Durchschnitt 3 Mon.; je kleiner die Heildosis war, desto kürzer dauert der Schutz.

Im prophylaktischen Versuch zeigen sich mit „205“ vorbehandelte Tiere entsprechend lang, also bei starker Dosis auch monatelang, gegen Infektion mit den geprüften Stämmen geschützt.

Der Schutz kommt demnach dadurch zustande, daß das Mittel monatelang im Körper in wirksamer Form vorhanden ist. In vitro hat das Mittel keinerlei stärker schädigende Wirkung auf Trypanosomen:

1) In 1-proz. Lösung: Nach 60 Min. waren die Trypanosomen noch gut beweglich, ohne irgendwie am Protoplasma geschädigt zu sein; nach 90 Min. war die Mehrzahl vollständig unbeweglich geworden, einzelne lebten und schlugen matt mit der Geißel. Eine Körnelung des Protoplasmas oder abgerundete Formen waren nicht festzustellen.

2) In 2-proz. Lösung: Nach 45 Min. hatten sich die Geißeln bei einigen Exemplaren abgelöst, nach 60 Min. waren die Bewegungen noch viel geringer wie in 1-proz. Lösung während der gleichen Beobachtungszeit; nach 75 Min. bewegten sich nur noch ganz wenige, während nach 90—120 Min. fast alle unbeweglich lagen, einzelne aber noch mit der Geißel schlugen.

3) Die in 3-proz. Lösung angestellten Beobachtungen unterschieden sich nicht von den bei 2 Proz. notierten. In den Kontrollen mit Aqua destillata waren nach 45 Min. keine Bewegungen mehr zu sehen im Gegensatz zu den 1—3-proz. Lösungen von „205“.

Außer den eben erwähnten chemotherapeutischen Versuchen mit „205“ an Pferden haben Mießner und Berge (30) das Präparat noch auf seine bakterizide und trypanozide Wirkung in Laboratoriumsversuchen an Mäusen, Meerschweinchen, Hunden, sowie in vitro erprobt. Sie kommen zu folgender Schlußbetrachtung:

1) Eine bakterizide Wirkung in vitro kommt dem Präparat „205“ nicht zu. 2) 1-proz. „205“-Lösungen vermögen Trypanosoma equiperdum in vitro nach Verlauf 1 Std. zu schädigen und in 2 Std. vollkommen abzutöten. 3) Die Trypanosomen verschwinden aus dem Blut einer mit 0,005 g „205“ behandelten Maus nach 12 Std., nachdem ihre Zahl von der 5. Std. ab allmählich abnimmt. 4) Die Todesdosis von „205“ liegt für Mäuse zwischen 0,01—0,02 g. 5) Bei mit dem Präparat vorbehandelten Mäusen ging eine bis 30 Tage hernach ausgeführte Trypanosomeninfektion nicht an. 6) Gleichzeitig mit 0,005 g „205“ und Trypanosomen behandelte Mäuse blieben gesund. 7) Mit 0,005 g bzw. 0,01 g subkutan auf der Höhe der Trypanosomeninfektionen behandelte Mäuse bzw. Meerschweinchen und intravenös mit 1,2 oder 4 g behandelte Pferde waren in 12—14 Std. trypanosomenfrei. 8) Bei einem chronisch kranken, mit „205“

(10 g Gesamtdosis) behandelten Pferde gelang es, eine künstliche Reinfektion des Tieres mit Trypanosomen 2 Mon. nach der Behandlung zu erzeugen. 9) Mit 0,005 g „205“ von Trypanosomen geheilte Mäuse erwiesen sich nach 2½ Mon. einer neuen Infektion mit Trypanosomen gegenüber geschützt. 10) Rezidive sind bisher bei allen einmal mit „205“ behandelten Mäusen, Meerschweinchen und Pferden in einer 2—4-mon. Beobachtungszeit ausgeblieben. 11) Im Serum infizierter und dann mit „205“ behandelter Pferde waren Schutzstoffe durch den Tierversuch nicht nachzuweisen.

Mießner und Berge (30) kommen auf Grund ihrer Versuche zu dem Ergebnis, daß dem Präparat „205“ eine ganz hervorragende trypanozide Wirkung zuzusprechen sei, die sich vor den bisherigen Präparaten noch dadurch vorteilhaft auszeichne, daß sie auch von längerer Dauer zu sein scheint.

#### IV. Eigene Untersuchungen mit „Bayer 205“.

„Bayer 205“ ist ein von den Farbfabriken Bayer & Co. in Leverkusen hergestelltes Präparat, dessen chemische Zusammensetzung von der Fabrik wegen der gegenwärtigen Lage der deutschen Industrie dem Ausland gegenüber nicht preisgegeben werden kann. Nach Versuchen von Pfeiler (26) enthält dasselbe weder Quecksilber, noch Arsen, noch andere ähnliche anorganische Bestandteile.

„205“ ist ein lockeres, weißliches Pulver, dessen Farbe nach meinen Feststellungen bisweilen etwas ins Rötlich-bräunliche übergeht; es löst sich leicht in Aqua destill. und in physiol. Kochsalzlösung, wobei allerdings zur Vereinfachung der vollständigen und leichten Lösung zu beachten ist, daß man das Pulver auf das Wasser schichtet, da sonst umgekehrt am Boden der Flaschen kleine Klümpchen, die sich nur schwer verteilen, übrig bleiben. Zur Ueberführung einiger Restklümpchen in Lösung gehört zuweilen etwas Geduld. Erhöhung der Flüssigkeitsmenge begünstigt die Lösung, sie tritt aber auch bei stärkerer Konzentration ein. Die Lösungen sind geruchlos, von leicht bitterem Geschmack und je nach Konzentration von mehr oder weniger gelber Farbe. Bei Prüfung mit Lackmuspapier reagieren sie neutral. Sie sind, vor Licht geschützt, wochenlang haltbar. Das Präparat ist reizlos und läßt sich in verschiedener Weise (subkutan, intravenös und intraperitoneal) anwenden. Es muß, weil es hygroskopisch ist, in luftdicht verschlossenen Flaschen trocken aufbewahrt werden [Pfeiler (26)].

Die von mir angestellten Versuche wurden in folgender Weise vorgenommen

I. Prüfung der Wirkung von „205“ auf *Trypanosoma equiperdum* in vitro.

II. Heilversuche an mit *Trypanosoma equiperdum* infizierten Meerschweinchen unter besonderer Berücksichtigung der Wirkung des Präparates auf die Parasiten in biologischer und morphologischer Beziehung.

„205“-Dosen: 1) 0,02 g, 2) 0,04 g, 3) 0,06 g, 4) 0,08 g.

III. Prophylaktische Einwirkung des Präparates bei mit 0,04 g „205“ vorbehandelten Meerschweinchen.

Infektion: 1) 1 Tag nach der Injektion des Präparates, 2) 3 Tage nach der Injektion des Präparates, 3) 6 Tage nach der Injektion des Präparates, 4) 10 Tage nach der Injektion des Präparates.

Während bei den unter I. genannten Versuchen nur die Lebensfähigkeit bzw. die Beweglichkeit der Trypanosomen im dicken und dünnen Tropfen, und zwar bei: 1) 0,1-proz., 2) 0,5-proz., 3) 1-proz., 4) 2-proz., 5) 3-proz., 6) 5-proz., 7) 7½-proz., 8) 10-proz. Lösung geprüft wurde, erfolgte die Prüfung auch bei den unter II und III genannten Versuchen in nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparaten.

1) Feststellung der Wirkung von „205“ bei Trypanosomen im Reagenzglas.

Für die Versuche wurden Meerschweinchen im mittleren Gewicht von 250 g mit 1 ccm in steriler physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmten Trypanosomen, die von auf der Höhe der Infektion stehenden Meerschweinchen gewonnen war, infiziert. Die Tiere wurden täglich auf das Auftreten der Parasiten im Blute untersucht.

Zu diesem Zwecke wurde das Ohr mit Alkohol desinfiziert, darauf mit steriler Schere ein Schnitt in die Randpartie des Ohres gelegt und die austretenden Blutstropfen in steriler Kapillarpipette aufgefangen. Ein Tropfen des stark parasitenhaltigen Blutes — die Tiere standen bei dem für meine Versuche verwandten Trypanosomenstamm durchschnittlich nach 5—10 Tagen auf der Höhe der Infektion — wurde in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgefangen. Je 1 Tropfen des so verdünnten, stark trypanosomenhaltigen Blutes in Kochsalzlösung wurde auf dem Deckglas mit den entsprechenden Konzentrationen von „205“-Lösungen gut vermischt und im hängenden dünnen Tropfen beobachtet. Die so entstehenden Verdünnungen entsprachen somit der halben Menge der ursprünglich angegebenen „205“-Verdünnung. Im Text ist stets die Ausgangsverdünnung als Wert angegeben. Es versteht sich, daß der trypanozide Effekt auf die halbe Menge der jeweils verwandten Konzentration umzurechnen ist.

Die Ausführung der Kontrollprüfungen in reiner Kochsalzlösung und Aqua destillata, d. h. ohne Zusatz von „205“, wurde in gleicher Weise vorgenommen. Das Ergebnis derselben ist weiter unten beschrieben. Hier seien zunächst die „205“-Versuche vorweggenommen:

1) Bei der Untersuchung in 0,1-proz. „205“-Lösung waren die Trypanosomen nach 3 Std. noch gut beweglich, wobei allerdings beobachtet wurde, daß die Bewegungen nach 1 Std. Beobachtungszeit schwächer und späterhin wieder lebhafter wurden, eine Beobachtung, die wegen ihrer Bedeutung hier vorweggenommen werden soll, da sie auch in den Tierversuchen fast durchgehend mit gewissen zeitlichen Abweichungen gemacht werden konnte.

2) Bei der Untersuchung in 0,5-proz. Lösung war gegen den Versuch in 0,1-proz. Lösung (s. unter 1) keine Abweichung feststellbar.

3) Versuch in 1-proz. Lösung: Nach 10—30 Min. läßt die Beweglichkeit der Trypanosomen in geringem Grade nach; nach 40 Min. haben die Trypanosomen eine äußerst große Beweglichkeit, indem sie blitzschnell durch das Gesichtsfeld fahren; das gleiche Bild bot sich nach 60—100 Min.

Zur Ueberprüfung dieses Verhaltens wird ein frisches Präparat angefertigt. Der Vergleich des letzteren mit dem ersteren hatte das Ergebnis, daß die Beweglichkeit der Trypanosomen im frischen Präparat weniger lebhaft war als in dem älteren Beobachtungspräparat.

Die Beobachtungen werden bis zu 200 Min. fortgesetzt, es tritt keine Veränderung ein, d. h. lebhafteste Beweglichkeit bleibt bestehen.

Der Versuch wurde mit derselben Konzentration der Lösung einige Tage später vorgenommen. Während jedoch bei dem 1. Versuch das Präparat in Aqua destill. gelöst war und eine Zimmertemp. von 25° C vorlag, war beim 2. Versuch das Präparat in physiol. Kochsalzlösung zubereitet, und es bestand eine Zimmertemp. von nur 22° C. Das Ergebnis war, daß nach 20 Min. die Bewegung der Trypanosomen etwas schwächer wurde, nach 45 Min. noch mehr nachließ, nach 60 Min. nur noch schwaches Schlagen mit der Geißel festzustellen war und nach 90 Min. schon einzelne Trypanosomen starr

im Präparat lagen; endlich nach 100 Min. war eine Bewegung der Trypanosomen überhaupt nicht mehr zu ermitteln.

4) Versuch in 2-proz. Lösung: Nach 10 Min. war die Beweglichkeit der Trypanosomen nicht allzu groß; 3—6 Parasiten bilden einen Knäuel, der einer Rosette ähnlich sieht (Agglomeration); nach 25 Min. wird die Beweglichkeit der Trypanosomen noch geringer, einige liegen bereits ohne Bewegung oder machen nur noch zuckende Bewegungen, ähnlich einem schlagenden Herzen; im Protoplasma werden hellere Punkte sichtbar, die Beobachtungszeit nach 50—90 Min. hatte kein anderes Ergebnis; erst nach 120 Min. war im Präparat keine Beweglichkeit der Trypanosomen mehr feststellbar.

Da die Lösung von „205“ im eben angeführten Versuch mit Aqua destillata hergestellt war, wurde 3 Tage später bei gleicher Zimmertemp. ein weiterer Versuch mit dem in physiol. Kochsalzlösung gelösten Präparat vorgenommen. Die Trypanosomen haben hierbei schon nach 90 Min. Beobachtungszeit keine Bewegung mehr. Der Versuch bestätigt mithin die Beobachtung des 1., daß der Verlust der Beweglichkeit der Trypanosomen in Kochsalzlösung rascher eintritt als in Aqua destillata, wenn den Flüssigkeiten „205“ in verschiedener Konzentration zugesetzt wird.

5) Versuch in 3-prom. Lösung: Auch hier wurden zur weiteren Verfolgung der eben mitgeteilten Beobachtung Lösungen des Präparates in beiden Flüssigkeiten benutzt; die Temperatur war ebenfalls dieselbe wie bei den Versuchen unter 4. Beide Male war gegen den Versuch in 2-proz. Lösung eine Abweichung nicht feststellbar.

6) Versuch in 5-proz. Lösung: Während die Beweglichkeit der Trypanosomen nach 5 Min. eine äußerst lebhaft zu nennen war, hat dieselben nach 15 Min. schon bedeutend nachgelassen; nach 50 Min. war nur noch schwaches Schlagen mit der Geißel feststellbar. und nach 60 Min. liegen alle starr.

7) Versuch in 7 $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung: Es wurden bei einer Zimmertemp. von 19—20° C 3 Versuche in 7 $\frac{1}{2}$ -proz. physiol. Kochsalzlösung vorgenommen, die das Ergebnis hatten, daß 10 Min. nach Herstellung des Präparates die Beweglichkeit der Trypanosomen eine sehr schwache war; nach 30 Min. trat Agglomeration ein; einige Trypanosomen liegen schon unbeweglich; nach 50 Min. ist die allgemeine Beweglichkeit der Trypanosomen ganz schwach; sie schlagen nur noch matt mit der Geißel; nach 60 Min. liegen sie alle starr.

Derselbe Versuch wird 15 Tage später bei einer Zimmertemp. von 21° C unter Benutzung derselben, im dunklen Schrank aufbewahrten Lösung wiederholt, wobei in mehreren hergestellten Präparaten die Beobachtung gemacht wurde, daß bereits 5 Min. nach Herstellung der Präparate nur noch ganz schwache Bewegungen der Trypanosomen unter mattem Schlagen mit der Geißel stattfanden und nach 25 Min. alle Trypanosomen vollständig bewegungslos waren.

Ich führe den Unterschied des schnelleren Absterbens der Trypanosomen darauf zurück, daß nicht etwa eine Veränderung in der Lösung der Konzentration des Präparates durch die 15-tägige Aufbewahrung (Verschluß der Röhrchen mit Gummistopfen) eingetreten ist, sondern vielmehr darauf, daß bei den 1. Versuchen ein Meerschweinchen benutzt worden ist, dessen Trypanosomen eine größere biologische Aktivität (Stadium der Vermehrung) hatten, während bei den Versuchstieren nach 15 Tagen vielleicht Trypanosomen zur Verwendung kamen, die sich infolge Abklingens des Trypanosomenrezidivs im Stadium der Rückbildung bzw. Degeneration befanden.

8) Versuch in 10-proz. Lösung: Es werden 4 Versuche mit 10-proz. Lösung des Präparates bei einer Zimmertemp. von 19—20° C vorgenommen. Alle hatten das gleiche Ergebnis, nämlich daß nach 2—5 Min. alle Trypanosomen ohne Bewegung waren. Dieselben sehen bedeutend dünner und schlanker aus als unbeeinflusste Trypanosomen; es hat den Anschein, als ob das Präparat das Protoplasma der Parasiten angegriffen hat.

Wiederholung dieses Versuches mit derselben dunkel aufbewahrten Lösung nach 15 Tagen führte zu dem gleichen Resultat.

Zur Kontrolle wurden Versuche auf die Lebensdauer bzw. Beweglichkeit des Trypanosoma equiperdum in Aqua destill. und in 0,85-proz. physiol. Kochsalzlösung vorgenommen.

In Aqua destill. wurden folgende Beobachtungen gemacht: Bei den in Zwischenräumen von 15 Min. angestellten Versuchen (Zimmertemp. 22° C) waren bis zu 90 Min. keine Veränderungen in der Beweglichkeit der Parasiten wahrzunehmen. Im hängenden Tropfen zeigte sich nach 100 Min., daß 4—5 Trypanosomen zusammenhingen und einen Knäuel bildeten. Da nicht zu erkennen war, ob es sich hierbei um Teilungsvorgänge



handelte, wurde aus dem hängenden Tropfen ein Ausstrichpräparat angefertigt und nach Giemsa gefärbt. Bei der Untersuchung dieses gefärbten Präparates konnte festgestellt werden, daß es sich nicht um Teilungsvorgänge, sondern um einen Degenerationszustand handelte, bei dem die Parasiten sich ähnlich wie bei der Agglomeration mit den Hinterenden zusammenziehen und einen Knäuel bilden.

Die weiteren Beobachtungen der Beweglichkeit der Trypanosomen in Aqua destill. ergaben, daß nach 120 Min. einzelne Trypanosomen dick aufquellen und am Blepharoplasten einen hellen Punkt zeigten; bei anderen Trypanosomen trat 3- und unregelmäßig 4eckige Gestalt ein, die Geißel war noch beweglich, indem sie um den aufgequollenen eckigen Körper herumschlug; wieder andere Trypanosomen waren noch unverändert und gut beweglich; nach 150 Min. sind immer noch einzelne Trypanosomen beweglich und erst nach 180 Min. lagen alle starr.

In physiol. Kochsalzlösung wurde die Beobachtung gemacht, daß das Absterben der Trypanosomen erst nach 240 Min. eintrat.

## 2. Feststellung der Wirkung von „Bayer 205“ auf Trypanosomen im Tierkörper (therapeutische Versuche).

Zu diesen Versuchen werden Meerschweinchen benutzt, die mit Blut von positiv befundenen anderen Meerschweinchen intraperitoneal infiziert worden sind. Diese Passagetierte werden bei stark positivem Blutbefund mit dem Präparat „205“ intraperitoneal in den weiter unten angegebenen Mengen gespritzt.

Die Technik bei Anfertigung der Präparate ist folgende: Es wird Blut aus einer Ohrvene des Versuchstieres entnommen und zur Anfertigung des frischen Präparates auf den Objektträger gebracht, mit einem Tropfen physiol. Kochsalzlösung verdünnt und mit einem Deck-

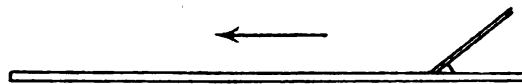


Fig. 1.

glas bedeckt. Zur Anfertigung des gefärbten Präparates wird ebenfalls ein Tropfen Blut auf das eine Ende des sorgfältig mit Alkohol gereinigten, neuen Objektträgers gebracht und mit einem Deckglas nach dem entgegengesetzten Ende des Objektträgers in der bekannten Weise ausgestrichen, daß das Deckglas in einem spitzen Winkel zu dem Objektträger mit dem einen Rand auf den Tropfen Blut aufgesetzt wird und mit demselben nach dem anderen Ende des Objektträgers hingefahren wird (s. Fig. 1).

Nachdem der Ausstrich lufttrocken geworden ist, wird er mit Alkohol fixiert; die Färbung wird erst vorgenommen, wenn der Alkohol verdunstet ist; zur Färbung dient Giemsa-Lösung (1 Tropfen Giemsa auf 1 ccm Aqua destill.); das Präparat wird vollständig mit dieser Lösung begossen; dieselbe bleibt genau 30 Min. auf dem Objektträger und wird dann abgegossen. Eine Abspülung mit Wasser findet nicht statt, sondern das Präparat wird nur mit Fließpapier abgetupft, bleibt zum Trocknen liegen und wird dann untersucht.

Die Färbung der Trypanosomen nach Giemsa hat den Vorteil, daß das Protoplasma sich blau färbt, während der Kern und der Blepharoplast sich rot färben, d. h. Chromatinfärbung annehmen.

1) Der 1. Versuch zur Prüfung des „205“ im Tierkörper wird mit einem Meerschweinchen im Gewichte von 290 g vorgenommen. Das auf der Höhe der Infektion befindliche Tier erhält 0,02 g „205“ intraperitoneal. Die bei der Beobachtung der einzelnen Präparate erzielten Er-

gebnisse sollen hierunter beschrieben werden, und zwar unter a) für das lebende Präparat, unter b) für das gefärbte Präparat. Die Beobachtungen erfolgten in Intervallen von je  $\frac{1}{2}$  Std.

Verhalten der Trypanosomen nach  $\frac{1}{2}$  Std.:

a) Die Trypanosomen sind gut beweglich; Veränderungen sind an ihnen nicht wahrzunehmen.

b) Die Parasiten zeigen deutliche Erscheinungen der Auflösung, sie machen gegen normale, nicht beeinflusste Trypanosomen einen etwas vergrößerten und lichterem Eindruck.

Der Kern ist nicht so leuchtend rot gefärbt, wie bei den nicht beeinflussten Parasiten; der Kontur ist unscharf, verwaschen, die chromaffine Substanz verwaschen granuliert. In der Kernsubstanz einzelner Trypanosomen sind kleine, vakuolenartige Gebilde zu erkennen (Kernvakuolen), die weniger rot getönt sind.

Der Blepharoplast ist oft in Zweiteilung, die beiden Blepharoplasten oder ihre Teile hängen durch eine „Verbindungsbrücke“ zusammen, die bei einzelnen Trypanosomen nicht besteht; bei der Mehrzahl der Trypanosomen erkennt man die Verbindung noch in Form eines rot gefärbten „Steges“ von  $\frac{1}{2}$ —2  $\mu$  Länge; um einzelne Blepharoplasten herum bzw. in ihrer Nachbarschaft liegen meist eiförmig gestaltete, ziemlich stark abgesetzte, ungefärbte Vakuolen („Blepharoplastenvakuolen“), die, da sie in der Regel von blaugefärbten Plasmamassen umgeben sind, bläulich konturiert erscheinen. Liegen 2 Blepharoplastenvakuolen vor, so berühren sie sich häufig mit ihren Endpolen in einem meist stumpfen Winkel.

Die blaufärbbare Substanz des Plasmas ist am Rande verdichtet, während die Mitte den Farbstoff im großen und ganzen weniger bzw. nur an bestimmten Stellen annimmt. Dieses Verhalten des Plasmaleibes soll in folgendem als „Konturschattierung“ bezeichnet werden. Die lichtereren Teile im Plasma ziehen sich oft in der Längsrichtung zum Teil durch den ganzen Parasiten hin, quer unterbrochen vom Kern oder in der Längsrichtung von einer blau gefärbten Plasmalinie, so daß eine Zweiteilung vorzuliegen scheint; derartige Parasiten sind meist verbreitert. Die heller gefärbten, in der Längsrichtung verlaufenden Stellen machen gelegentlich, namentlich wenn sie nicht zu groß sind, den Eindruck von Vakuolen („Plasmavakuolen“).

Die undulierende Membran ist in den gefärbten Präparaten, im Gegensatz zu den frischen Präparaten, in der Regel nicht zu erkennen („anscheinende Membranlosigkeit“). Der Geißelfaden erscheint meist etwas stumpfer und plumper wie beim normalen Trypanosoma („Geißelquellung“). Das Blutbild bei den Meerschweinchen ist in diesem Zeitpunkt noch normal.

Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) Die Trypanosomen sind noch gut beweglich; Veränderungen sind an ihnen noch nicht wahrzunehmen. b) Die Parasiten erscheinen gegenüber normalen Trypanosomen bzw. den in den Präparaten nach  $\frac{1}{2}$  Std. beobachteten noch weiter vergrößert und lichter; der Kontur des Kerns ist noch mehr verwaschen als zuvor.

Der Blepharoplast ist bei einer großen Anzahl von Trypanosomen in Zweiteilung. Ungeteilte Blepharoplasten haben nicht mehr bestanden. Die blaufärbbare Substanz hat sich am Rande noch mehr verdichtet. Es besteht weiter „anscheinende Membranlosigkeit“ und „Geißelquellung“. Das Blutbild zeigt wiederum keine Veränderungen.

Verhalten der Trypanosomen nach  $1\frac{1}{2}$  Std.:

a) Die Trypanosomen sind weiter gut beweglich; es wird keine Veränderung an ihnen wahrgenommen. b) Die Auflösung der Parasiten schreitet weiter fort. Der Kern ist nur noch als Schatten erkennbar.

Bildung von „Plasma-, Kern-Blepharoplastenvakuolen“.

Das Blutbild hat sich verändert; es wird eine Vermehrung der basophilen Lymphozyten und der neutrophilen, gelapptkernigen Leukozyten festgestellt, unter den letzteren fallen einige auf, die eine eosinophile Körnelung aufweisen.

Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Die Beweglichkeit der Trypanosomen ist immer noch unverändert. b) Die Parasiten werden immer lichter. Im Blutbild wird eine Vermehrung der Leukozyten

(neutrophile und eosinophile) und der basophilen Lymphozyten festgestellt. Bei 450-facher Vergrößerung sind 2—8 Leukozyten bzw. Lymphozyten in einem Gesichtsfeld zu sehen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Trypanosomen sind immer noch gut beweglich. Während an ihnen keine Veränderungen wahrzunehmen sind, finden sich im frischen Blutbild auffallend viel weiße Blutkörperchen. b) Die Färbbarkeit der Parasiten ist noch geringer geworden. Neben „Kernvakuolen“ findet man feine rote Granula im Kern sowohl als auch über den ganzen Parasiten verteilt. Der Blepharoplast ist außer der angeführten Zweiteilung nicht verändert. Die „Konturschattierung“ ist noch mehr ausgeprägt. Das Blutbild zeigt eine weitere Vermehrung der zuletzt beschriebenen Leuko- und Lymphozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Im frischen Präparat ist keine Veränderung eingetreten. b) Ebenso sind im gefärbten Präparat wesentliche Veränderungen nicht wahrzunehmen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Auch nach 3 $\frac{1}{2}$  Std. ist im frischen Präparat in der Beweglichkeit der Parasiten eine Veränderung nicht wahrnehmbar. b) Der Parasit ist nur als Kontur zu erkennen. Die Konturschattierung hat also noch mehr zugenommen, die Leiber erscheinen ganz licht. An der Stellé des Kernes befinden sich nur noch feine Granula. Außer Zweiteilung des Blepharoplasten befinden sich an ihm keine Veränderungen. Ebenso ist das Blutbild gegen vorher nicht verändert.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 4 Std.:

a) Die Trypanosomen, die immer noch gut beweglich sind, erscheinen jetzt aufgequollen. b) Der Parasit erscheint noch mehr in Auflösung, er wird gegen normale Trypanosomen immer größer und macht einen immer lichtereren Eindruck. Der Kern, von dem als Rest noch feine Körnchen zu sehen sind, ist bei einzelnen Trypanosomen, ebenso wie der Blepharoplast, deutlich in 2 Teile geteilt.

Die ganze Struktur der Trypanosomen ist verwischt, die Abgrenzung der einzelnen Paratenteile gegeneinander kaum noch zu erkennen.

Im Blutbild ist keine weitere Veränderung eingetreten, d. h. die Leukozyten sind noch in großer Zahl vorhanden. (Vgl. Fig. 3.)

#### Verhalten der Trypanosomen nach 4 $\frac{1}{2}$ Std.:

a) An den Trypanosomen ist gegen die vorige Schilderung nichts zu erwähnen. b) Die Auflösung der Parasiten macht weitere Fortschritte; dies zeigt sich hauptsächlich darin, daß die Konturschattierung immer zunimmt.

Sonst ist keine Veränderung eingetreten, insbesondere sind auch die Leukozyten und Lymphozyten nicht mehr vermehrt.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 5 Std.:

a) Die Trypanosomen, die allerdings den Eindruck machen, als ob sie an Zahl abgenommen hätten, sind immer noch gut beweglich; aufgequollene, dickere Formen sind weiter feststellbar. b) Die Färbbarkeit der Trypanosomen wird immer schlechter; auch die Konturen sind nur noch matt zu erkennen. Im gefärbten Präparat fällt die geringe Zahl der Trypanosomen noch mehr auf wie im frischen. Auch das Blutbild zeigt bezüglich der Leukozytose keine Veränderung mehr.

2) Dem 2., auf der Höhe der Infektion befindlichen Meerschweinchen, das ein Gewicht von 330 g hat, werden 0,04 g „205“ intraperitoneal injiziert. Die Beobachtungszeit der einzelnen Präparate erfolgt wiederum in  $\frac{1}{2}$ -stünd. Zwischenräumen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist weniger lebhaft, sonstige Veränderungen sind an ihnen noch nicht wahrzunehmen. Das Blutbild zeigt gegen das normale insofern eine Veränderung, als bereits weiße Blutkörperchen in erhöhter Zahl vorhanden sind.

b) Die Erscheinungen der Auflösung der Parasiten treten bereits nach  $\frac{1}{2}$  Std. deutlich hervor, die Parasiten machen einen vergrößerten und helleren Eindruck (vgl. Fig. 4a).

Während bei nicht beeinflussten Trypanosomen der Kern leuchtend rot gefärbt und gegen seine Umgebung scharf abgegrenzt ist, zeigt derselbe eine verwaschene Rötung und Granulation (vgl. Fig. 4a), außerdem „Kernvakuolen“.

Der Blepharoplast befindet sich bei einzelnen Trypanosomen in Zweiteilung (vgl. Fig. 4a) bei anderen ist er als Stäbchen ausgezogen; um den Blepharoplast herum, bzw. in dessen Nachbarschaft befinden sich „Blepharoplastenvakuolen“; es besteht ferner anscheinende Membranlosigkeit und „Geißelquellung“.

Die „Konturschattierung“ prägt sich noch deutlicher aus als bei dem Versuch mit 0,02 g „205“, ferner sind „Plasmavakuolen“ vorhanden (vgl. Fig. 4a).

Im Blutbild befinden sich einige basophile Lymphozyten und neutrophile gelappt-kernige Leukozyten und zwar in jedem 3. bis 4. Gesichtsfeld bei einer 450-fachen Vergrößerung je einer.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) In der Beweglichkeit der Trypanosomen ist keine Veränderung eingetreten; die Leukozytose ist etwas verstärkt. b) Das Protoplasma ist schattiert, gekörnt. Der Kern ist noch stärker beeinflusst als zuvor und kaum noch als solcher zu erkennen. Der Blepharoplast ist meist in Zweiteilung. Außerdem ist Vakuolenbildung vorhanden. Im Blutbild ist gegenüber der letzten Veränderung insofern eine Veränderung eingetreten, als sich in jedem zweiten Gesichtsfeld ein, bisweilen auch zwei Lympho- und Leukozyten finden.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $1\frac{1}{2}$ Std.:

a) Im frischen Präparat keine Veränderung. b) Die Färbbarkeit des Parasiten ist geringer. Ueber den ganzen Körper finden sich die Reste des ganzen Kernes als feine Körnchen verteilt. Im Blutbild fallen kleinere und größere Trümmer von roten Blutkörperchen auf. Leukozyten und Lymphozyten sind bedeutend vermehrt; namentlich sind von ersteren in manchen Gesichtsfeldern deren 6—7 vorhanden.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Das frische Präparat ist unverändert. b) Die Kern- und Protoplasmastruktur verblaßt immer mehr. Die Ausbildung von Vakuolen tritt stärker in Erscheinung. Im Blutbild keine wesentliche Veränderung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $2\frac{1}{2}$ Std.:

a) In der Beweglichkeit der Trypanosomen ist keine Veränderung wahrnehmbar, nur werden öfter 2 Trypanosomen aneinanderhängend befunden (geringgradige Agglomeration). Die Leukozytose hat insofern zugenommen, daß weiße Blutkörperchen in Haufen von 4—6 Stück zusammenhängend gefunden werden.

b) Während an den Trypanosomen eine wesentliche Veränderung gegen die vorherige Beobachtung nicht eingetreten ist, hat sich das Blutbild wesentlich verändert; in einzelnen Gesichtsfeldern werden bei der gleichen Vergrößerung wie zuvor 4—6, zuweilen bis zu 8 in den meisten Gesichtsfeldern Lympho- und Leukozyten gefunden.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Beweglichkeit der Trypanosomen wird wieder lebhafter, sie scheinen aufgequollen. b) An den Parasiten ist nur als Veränderung zu nennen, daß sie sich schlechter färben. Außer Trümmern von roten Blutkörperchen werden in jedem Gesichtsfeld 2—4 Leuko- und Lymphozyten gefunden. a) Während bisher nur einzelne Trypanosomen zu 2 aneinanderhängend festgestellt wurden, werden jetzt 3—6 aneinanderhängend gefunden. Die Agglomeration hat sich also verstärkt. Einzelne Trypanosomen scheinen noch mehr verdickt. b) Sowohl an den Parasiten als auch im Blutbild kann eine Veränderung nicht nachgewiesen werden; auch im Ausstrichpräparat ist die Agglomeration insofern zu erkennen, als die Parasiten, wenn auch nicht direkt zusammenhängend, so doch in Trupps zusammenliegend gefunden werden.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $3\frac{1}{2}$ Std.:

a) Keine Veränderung. b) Die Färbbarkeit der Trypanosomen wird immer schwächer. Während die Kernsubstanz als feine Granula über den ganzen Parasiten

verteilt ist, werden am Blepharoplasten außer 2-Teilung auch 3- und 4-Teilung festgestellt. Die Leukozytose tritt nicht mehr so stark in Erscheinung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $4\frac{1}{2}$ —6 Std.:

a) Die Beobachtung der frischen Präparate zeigt nach  $4\frac{1}{2}$ , 5,  $5\frac{1}{2}$ , 6 Std. keine weitere Veränderung. b) Die Färbbarkeit wird in den gleichen Beobachtungszeiten immer geringer. Die Trypanosomen erscheinen nur noch als Schatten, nur der Blepharoplast mit seinen Teilungsvorgängen ist noch deutlich zu erkennen (vgl. Fig. 4b).

Während nach  $4\frac{1}{2}$ -stünd. Beobachtung nur eine geringgradige Vermehrung der Lympho- und Leukozyten festzustellen ist, hat bei der 5-,  $5\frac{1}{2}$ - und 6-stünd. Beobachtung die Zahl der Lympho- und Leukozyten bedeutend zugenommen; es werden in einzelnen Gesichtsfeldern bis zu 18 Stück gezählt, und zwar werden einmal außer basophilen Lymphozyten und neutrophilen polynucleären Leukozyten auch eosinophile Leukozyten in großer Zahl wahrgenommen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 7— $7\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Zahl der Trypanosomen hat abgenommen. b) Einzelne Trypanosomen sind nur noch als Trümmer zu erkennen, auch hat ihre Zahl abgenommen. Das Blutbild zeigt weiter keine Veränderung.

Die beiden Versuchstiere, die mit 0,02 bzw. 0,04 g „205“ behandelt worden sind, werden 3 Wochen lang weiter auf Trypanosomen untersucht und hierbei festgestellt, daß sie frei von diesen Parasiten gefunden werden.

3) Das 3. auf der Höhe der Infektion sich befindende Meerschweinchen, das ein Gewicht von 240 g hat, erhält 0,06 g „205“ intraperitoneal.

Die Beobachtungszeit der einzelnen Präparate erfolgt wiederum in  $\frac{1}{2}$ -stünd. Zwischenräumen bis zu  $3\frac{1}{2}$  Std.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Beweglichkeit der Parasiten ist lebhaft, es sind an ihnen keine Veränderungen wahrzunehmen. b) Die Parasiten zeigen noch deutlichere Erscheinungen der Auflösung als bei 0,04 „205“ und machen im Gegensatz zu normalen, nicht beeinflussten Trypanosomen einen immer stärker vergrößerten und immer lichterem Eindruck (vgl. Fig. 5a). Die Vakuolenbildung sowohl am Kern als auch am Blepharoplast und am Protoplasma tritt noch mehr in Erscheinung; ebenso ist auch die Konturschattierung stark ausgeprägt. Im Blutbild ist noch keine Veränderung eingetreten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) Die Trypanosomen zeigen nur noch eine schwache Bewegung, einige liegen sogar unbeweglich. Die weißen Blutkörperchen sind vermehrt. b) Kern und Blepharoplast werden bei einzelnen Trypanosomen in 2-Teilung gefunden, andere zeigen keine weitere Veränderung. Im Blutbild zahlreiche polynucleäre Leukozyten und einzelne Lymphozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $1\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Trypanosomen sind wieder beweglicher, sonst ist an ihnen sowie in der Zahl der weißen Blutkörperchen eine Veränderung nicht eingetreten. b) Die chromafine Substanz des Kernes ist verwaschen, ebenso ist die Färbbarkeit des Protoplasmas geringer geworden. Im Blutbild ist keine weitere Veränderung eingetreten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Die Trypanosomen sind beweglich wie normal und zu 2 bis 5 Stück agglomeriert. b) Die Kernsubstanz ist gänzlich verschwommen, der Blepharoplast nicht selten in Vielteilung (vgl. Figur 5 b); die Protoplasmasubstanz ist schwach gefärbt. Die Agglomeration der Parasiten ist trotz des erfolgten Ausstriches deutlich zu erkennen. Die Leukozyten haben an Zahl abgenommen, die Lymphozyten sind vermehrt.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $2\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Trypanosomen sind weiter beweglich. Die Agglomeration ist noch stärker ausgeprägt als zuvor; es werden bis zu 10 Stück aneinanderhängend gesehen. Die Zahl

der weißen Blutkörperchen hat sich bedeutend vermehrt, dieselben werden in Haufen zusammenliegend vorgefunden. b) Einzelne Parasiten erscheinen dick aufgetrieben. Die Chromaffinität der different färbaren Substanzen ist sehr gering.

Der Kern ist als solcher überhaupt nicht mehr zu erkennen.

Die Struktur des Protoplasmas erscheint durch Vakuolenbildung zerrissen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Trypanosomen sind nur noch schwach beweglich und scheinen an Zahl geringer zu werden; während man bezüglich der Zahl bisher sagen konnte, das Tier ist +++ positiv, kann man es jetzt nur noch als + bis ++ positiv bezeichnen. Agglomeration ist nicht mehr vorhanden. b) Die Trypanosomen sind nur noch als Schatten zu erkennen. Ihre Zahl ist, trotzdem in frischen Präparaten weniger zu erkennen waren, im gefärbten Präparat gegen die in den vorhergehenden Präparaten nicht geringer geworden. Der Widerspruch in den Ergebnissen a) und b) erklärt sich dadurch, daß viele Trypanosomen im frischen Präparat ihre Beweglichkeit verloren haben und ihre Zahl daher geringer erscheint, als sie in Wirklichkeit ist.

Im Blutbild sind basophile Lymphozyten und neutrophile Leukozyten in jedem Gesichtsfeld zu 2—3 festzustellen.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Beweglichkeit und die Zahl der Trypanosomen ist noch geringer geworden. Bezüglich der Positivität kann man nur noch von ± bis + sprechen. b) Die Trypanosomen sind so blaß geworden, daß sie nur noch in ihren Umrissen zu erkennen sind; einzelne sind über den ganzen Körper hin rot granuliert. Der Blepharoplast, der meist in Zweiteilung sich befindet, ist allein noch gut erhalten. Die Zahl der Lymphozyten und Leukozyten in einzelnen Gesichtsfeldern beträgt 5—6, ja bis zu 10. Die Leukozyten gehören dem neutrophilen Typus an.

Während die Meerschweinchen des 1. und 2. Versuchs 3 Wochen lang auf das Vorhandensein von Trypanosomen untersucht werden konnten, war dies hier nicht möglich, weil das Tier am nächsten Tag bereits verschied (Giftwirkung, stürmischer Trypanosomen-Verfall?).

4) Das vierte, auf der Höhe der Infektion befindliche Meerschweinchen sollte 0,08 g „205“ intraperitoneal bekommen, erhielt aber nur, da sein Körpergewicht nur 135 g betrug, die Hälfte; dies dürfte aber im Vergleich zu dem Gewicht der bei den ersten 3 Versuchen benutzten Tieren einer Gabe von 0,08 g „205“ gleichkommen. Die Beobachtung wurde bis zu 3 $\frac{1}{2}$  Std. ausgedehnt, wo das Tier während der Untersuchung einging.

#### Verhalten der Trypanosomen nach $\frac{1}{2}$ Std.:

a) Die Trypanosomen sind gut beweglich; außer geringgradiger Agglomeration sind keine Veränderungen an ihnen wahrzunehmen. b) Die Parasiten sind bereits stark degeneriert; der Körper ist stark aufgequollen und nimmt bisweilen Seckige Formen an. Der Kern ist stark beeinflusst, verwaschen gefärbt; der Blepharoplast meist in Zweiteilung.

Es besteht ausgeprägte „Vakuolenbildung“.

Im Blutbild befindet sich keine Veränderung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) Die Trypanosomen sind weniger gut beweglich, Agglomeration ist nicht nachweisbar; auch ist im Blutbild eine Veränderung nicht eingetreten. b) Die Trypanosomen zeigen deutliche Teilungsformen; an einzelnen hat sich der Randfaden abgelöst. Fast sämtliche Parasiten haben starke „Vakuolenbildung“, wobei aber auch beobachtet wird, daß einzelne Trypanosomen noch gut erhalten sind. Andere erscheinen nur noch als an den Hinterenden dick aufgequollene „Schatten“, nur der Blepharoplast hebt sich noch deutlich ab (vgl. Fig. 6a).

Im Blutbild ist keine Veränderung eingetreten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 $\frac{1}{2}$ Std.

a) Die Beweglichkeit der Trypanosomen ist wieder lebhafter; Agglomeration ist in geringem Grade vorhanden. b) Die Auflösung der Parasiten schreitet deutlich fort.

Ueber den ganzen Körper ist „Vakuolenbildung“ wahrnehmbar. Die Kernsubstanz ist vollständig zerrissen; sie ist in deutlich erkennbaren roten Körnchen über den ganzen Parasiten verteilt. Im Blutbild zeigen sich nur einzelne Lymphozyten und Leukozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Die Trypanosomen sind sehr gut beweglich, Agglomeration ist nur vereinzelt festzustellen. b) Die Parasiten sind nur noch schlecht bzw. ganz ungleichmäßig gefärbt. Die Kernsubstanz ist nicht mehr scharf umschrieben, teilweise in Granula über den ganzen Körper versprengt und teilweise im alten Sitz noch schwach angedeutet. Im Blutbild ist keine Veränderung vorhanden.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 1/2 Std.:

a) Die Trypanosomen sind gut beweglich, die Agglomeration wird stärker, im Blutbild zeigen sich weiße Blutkörperchen in erhöhtem Maße. b) Die Trypanosomen sind teilweise nur noch als Schatten zu erkennen, es ziehen sich durch den ganzen Körper lichte Streifen hindurch, was offenbar auf Teilungsvorgänge schließen läßt.

Einzelne Trypanosomen erscheinen aufgerollt (Kontraktionsformen).

Starke Leukozytose.

Das Meerschweinchen ist äußerst matt; Anzeichen des Exitus.

Es werden mit dem Blut des stark positiven Tieres 2 gesunde Meerschweinchen durch intraperitoneale Einverleibung infiziert, um festzustellen, ob die bereits stark beeinflussten Trypanosomen noch in der Lage sind, gesunde Tiere krank zu machen. Es sei hierbei erwähnt, daß in der Tat eines von den beiden infizierten Tieren nach 18 Tagen, das andere nach 22 Tagen angegangen war. Es dürfte dies darauf zurückzuführen sein, daß einzelne Trypanosomen sich doch widerstandsfähiger gegen „205“ erweisen und, wenigstens nach 2 1/2-stünd. Einwirkung von „205“, auf unbeeinflusste Meerschweinchen übertragen, in der Lage sind, sich lebensfähig zu erhalten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Trypanosomen sind weniger gut beweglich, sonst ist eine Veränderung nicht eingetreten. b) Das gefärbte Präparat zeigt im Vergleich zu der Untersuchung im vorhergehenden Zeitraum keine Veränderung; nur ist die Leukozytose nicht mehr ganz so stark ausgeprägt.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 1/2 Std.:

a) Die Trypanosomen sind nur noch matt beweglich, Agglomeration ist nicht mehr vorhanden. Einzelne Parasiten erscheinen plump, birnenförmig, der Geißelfaden ist nicht mehr vorhanden oder gekürzt (vgl. Fig. 6b). b) Die Färbbarkeit des Parasiten ist noch geringer geworden, die schon geschilderten hellen Streifen haben sich noch weiter stärker ausgeprägt, es scheint dies der Ansatz zu Teilungen zu sein. Der Tod des Tieres ist eingetreten.

### 3) Feststellung der prophylaktischen Einwirkung von „Bayer 205“ auf Trypanosomen im Tierkörper.

Zur Ausführung der folgenden Versuche wurden 4 fast gleich große Meerschweinchen verwandt. Die Tiere wurden mit 0,04 g „205“ subkutan gespritzt und dann den obengenannten Versuchen entsprechend nach 1, 3, 6 und 10 Tagen mit Trypanosomen intraperitoneal infiziert. Darauf wurden die Tiere in 1-stünd. Zwischenräumen in der Weise untersucht, daß mittels Kapillarpipette die in die Bauchhöhle gespritzten Trypanosomen wieder herausgehoben und damit frische und Ausstrichpräparate angefertigt wurden.

Unter a) erfolgt wie bei den früheren Versuchen die Beschreibung des frischen Präparates, unter b) die des gefärbten Präparates.

#### 1) Wirkung der Prophylaxe nach einem Tage.

Die Beobachtung des 1 Tag nach der Behandlung mit „205“ mit Trypanosomen infizierten Meerschweinchens hatte folgendes Ergebnis:

### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) die Trypanosomen sind gut beweglich, sie machen schüttelnde, zitternde Bewegungen. Die undulierende Membran ist sehr deutlich sichtbar. Die Erythrozyten haben starke Stechapfelform. b) Die Trypanosomen sehen sehr schlank aus, sonstige morphologische Veränderungen sind an ihnen nicht nachweisbar.

### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) An den Trypanosomen ist keine Veränderung bezüglich der Art ihrer Beweglichkeit eingetreten. Die weißen Blutkörperchen sind stark vermehrt. b) Die Trypanosomen haben die gleiche Gestalt wie zuvor. Der Kern ist schon etwas beeinflusst; zuweilen hat man den Eindruck, als ob eine Zweiteilung bevorstände. Der Blepharoplast zeigt bei einzelnen Parasiten auch schon Zweiteilung. Der Randfaden ist bei einzelnen Trypanosomen abgelöst. Es beginnt am Protoplasma Konturschattierung einzutreten. Bedeutende Vermehrung der gelapptkernigen neutrophilen Leukozyten, in vielen Gesichtsfeldern bei einer 450-fachen Vergrößerung bis zu 8 Stück; einige basophile Lymphozyten.

### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Beweglichkeit der Parasiten ist etwas matter geworden, es besteht unter Zittern und Schütteln ein heftiges Schlagen mit der Geißel. Im Blutbild finden sich zahlreiche, in Haufen zusammenliegende Blutkörperchen. Die Stechapfelform der roten Blutkörperchen besteht weiter. b) Die Parasiten, deren Form weiter eine schlanke ist, zeigen jetzt deutliche Erscheinungen der Beeinflussung. Der Kern ist nicht mehr so leuchtend rot gefärbt, sondern sieht so aus, als ob er eine mehr ins violette gehende Farbe angenommen hätte; an einzelnen Kernen sind schon Kernvakuolen sichtbar. Blepharoplastenvakuolen und Plasmavakuolen sind ebenfalls an den meisten Trypanosomen zu erkennen. Im Blutbild ist gegen vorher eine Veränderung nicht eingetreten.

### Verhalten der Trypanosomen nach 4 Std.:

a) Die Trypanosomen sind nur noch sehr schlecht beweglich, die Art der Bewegung ist wie zuvor zitternd, schüttelnd. Das Blutbild ist unverändert. b) Die Beeinflussung des Parasiten schreitet weiter fort. Die Bildung von Kern-, Blepharoplasten- und Plasmavakuolen wird stärker; ebenso tritt die Konturschattierung deutlicher in Erscheinung. Die blauviolette Tönung des Kernes ist auch jetzt wieder sichtbar. Sehr viele neutrophile Leukozyten, weniger Lymphozyten.

### 2) Wirkung der Prophylaxe nach 3 Tagen.

Der 2. Versuch, der 3 Tage nach der prophylaktischen Behandlung erfolgte, hatte folgendes Ergebnis:

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist schüttelnd, zitternd, das Schlagen mit der Geißel ist ein heftiges; die undulierende Membran ist gut sichtbar. Erythrozyten von ausgeprägter Stechapfelform, weiße Blutkörperchen wenig vermehrt. b) An den Parasiten ist eine geringgradige Beeinflussung eingetreten. Der Kern ist nicht mehr ganz rot, sondern nur rötlich mit einem bläulichen Schimmer gefärbt und macht den Eindruck, als ob bereits Teilungsvorgänge vorhanden wären. Die Blepharoplasten befinden sich bei vielen Trypanosomen bereits in Zweiteilung, bei einzelnen sind sie stäbchenförmig ausgezogen. Das Plasma zeigt eine feine Körnelung, in der Geißel scheint die Plasmasubstanz meist gleichmäßig bläulich, und zwar dunkler als der sonstige Parasitenleib. Außerdem werden an einzelnen Trypanosomen Plasmavakuolen festgestellt. Der Randfaden mit der undulierenden Membran ist oft noch deutlich sichtbar. Im Blutbild zeigt sich keine besondere Veränderung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Die Bewegungen der Parasiten sind lebhafter als zuvor, sie sind ebenfalls schüttelnd, zitternd. Vermehrung der weißen Blutkörperchen. b) Parasiten noch stärker beeinflusst, von schlanker Form (vgl. Fig. 7a). Die Kernsubstanz erscheint aufgelöst, der Kontur des Kernes ist unscharf, verwaschen (vgl. Fig. 7a). Es bestehen „Blepharoplasten-“ und „Plasmavakuolen“ (vgl. Fig. 7a). Die blaufärbbare Substanz des Plasmas ist am Rande verdichtet, so daß der ganze Parasit in der Mitte einen lichterem Eindruck macht. Leukozyten und Lymphozyten in einem Gesichtsfeld bis 12—15 Stück.



#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist etwas matter, schüttelnd, dieselben sind stärker aufgequollen; Leukozyten und Lymphozyten stark vermehrt. b) Die Trypanosomen sind sehr schlank, der Kern ist verwaschen rot. Der Blepharoplast bei mehreren Trypanosomen in Zweiteilung, außerdem an den Blepharoplasten „Vakuolenbildung“. Das Plasma ist granuliert, es besteht ausgeprägte Konturschattierung. Das Blutbild ist insofern verändert, als in einem Gesichtsfeld bis 25 Stück Leukozyten zu zählen sind.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 4 Std.:

a) Die Trypanosomenbewegungen sind teils zitternd auf der Stelle, teils lebhaft vorwärts schnellend; die Körper sind aufgequollen. b) Die Trypanosomen sind sehr schlank. Außer am Kern, wo lichte Stellen (Kernringe) sichtbar sind, ist keine Veränderung an den Trypanosomen eingetreten. Andere Trypanosomen, die gleichfalls schlanke Formen haben, lassen einen Kern nicht mehr erkennen. Reste der Kernsubstanz scheinen in Form von Sprengkörpern über den Leib der Trypanosomen verteilt, besonders im Geißelende tritt dies hervor. Das Plasma erscheint schattiert (vgl. Fig. 7b).

#### Verhalten der Trypanosomen nach 5 Std.:

a) Die Trypanosomenbewegung ist fast normal, die Leukozytose noch verstärkt. b) Die Trypanosomen sind sehr stark beeinflusst, sie gleichen nur mehr einem Schatten. Die Kernsubstanz ist im ganzen Trypanosomenkörper versprengt. Der Blepharoplast ist vielfach in Zweiteilung. Im Blutbild ist keine Veränderung.

#### 3) Wirkung der Prophylaxe nach 6 Tagen.

Der prophylaktische Versuch nach 6 Tagen hatte folgendes Ergebnis:

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

a) Die Trypanosomen bewegen sich lebhaft in zitternder Art und Weise. Die roten Blutkörperchen haben stark ausgeprägte Stechapfelform. b) Der Parasit ist sehr schlank, erscheint aber schon stark beeinflusst. Die Kernsubstanz ist bei einzelnen Trypanosomen schon granuliert. Am Blepharoplasten ist noch keine Abnormität feststellbar. Am Plasma ist bereits deutliche Konturschattierung eingetreten. Der Randfaden ist an einzelnen Trypanosomen abgelöst. Im Blutbild keine Veränderung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist immer noch lebhaft zitternd, schüttelnd. Weiße Blutkörperchen in großen Haufen sichtbar. b) Trypanosomen immer noch schlank, intensiv gefärbt, das Hinterende ist bei einzelnen Trypanosomen abgerundet. Im Kern finden sich lichte Punkte (kleine Kernvakuolen), vom Kern sind Sprengstücke im Plasma verteilt. Im Plasma sind infolge Konturschattierung lichte Stellen wahrnehmbar, außerdem besteht geringgradige Geißelquellung. Bei einzelnen Trypanosomen „Blepharoplastvakuolen“ und Blepharoplasten in Zweiteilung.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist immer noch zitternd, schüttelnd. Die Trypanosomen sind nicht mehr so schlank wie vorher; das Hinterende ist zum Teil keulenförmig verdickt. Blutbild wie sonst. Weiße Blutkörperchen in großen Haufen zusammenliegend. b) Die Trypanosomen sind stark degeneriert, Hinterende abgerundet und oft keulenförmig, Kern verwaschen, nicht mehr scharf gegen die Umgebung abgesetzt. Der Blepharoplast in Zweiteilung mit Blepharoplastvakuolen oder nicht mehr sichtbar (vgl. Figur 8a). Leukozyten und Lymphozyten in einem Gesichtsfeld bis zu 12 Stück, einige eosinophile Leukozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 4 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist nicht mehr so lebhaft, auch scheinen sie nicht mehr so stark aufgequollen; starke Leukozytose. b) Trypanosomen sind schlanker, deutliche Degeneration der Formen. Kernsubstanz granuliert, verwaschen rot. Am Blepharoplast findet sich keine Veränderung gegenüber den früheren Verhältnissen. Im Plasma rote Granula, die auf zersprengte Stücke vom Kern aus zurückzuführen sind. Lymphozyten und Leukozyten sowie Uebergangsformen in großer Zahl.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 5 Std.:

a) Bewegung der Trypanosomen wieder lebhafter, stark zitternd. Weiße Blutkörperchen sehr zahlreich. b) Degeneration der Trypanosomen schreitet

weiter fort. Am Kern befinden sich ausgeprägte Kernvakuolen, die bei einzelnen Trypanosomen mehr Kernringen gleichsehen (vgl. Fig. 8b).

#### Verhalten der Trypanosomen nach 6 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen wird wieder schwächer, ist aber immer noch zitternd, außerdem besteht zuckendes und heftiges Geißelschlagen, das Hinterende ist keulig aufgetrieben. b) Die Trypanosomen sind am Hinterende stark aufgequollen. In der Kernsubstanz befinden sich in den meisten Trypanosomen dunkelrot gefärbte Punkte, während die übrige Kernsubstanz nur noch ganz schwach als Schatten erscheint. Am Blepharoplast und am Plasma keine neuen Veränderungen. Neutrophile Leukozyten und basophile Lymphozyten in großen Haufen zusammenliegend zu 15–20 Stück in einem Gesichtsfeld.

4) Wirkung der Prophylaxe nach 10 Tagen: Bei dem prophylaktischen Versuch nach 10 Tagen soll nicht unerwähnt gelassen werden, was im übrigen auch für den Versuch nach 6 Tagen gilt, daß zur Infektion des Versuchstieres Blut von einem nur schwach positiven Meerschweinchen verwendet wurde; die Zahl der in dem Präparat vorhandenen Parasiten war daher nur eine sehr geringe.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 1 Std.:

Die Beobachtungen decken sich im allgemeinen mit den nach 6 Tagen erzielten Ergebnissen. Die Parasiten haben, was betont sei, eine sehr schlanke Form, zeigen aber sonst die bekannten deutlichen Zeichen der Auflösung. Der Blepharoplast ist noch nicht in Teilung, doch sind schon Blepharoplastenvakuolen nachweisbar. Die blaufärbbare Substanz des Plasmas ist am Rande verdichtet und granuliert; es besteht scheinbare Membranlosigkeit. In jedem Gesichtsfeld 2–5 basophile Lymphozyten und 1–2 gelapptkernige neutrophile Leukozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 2 Std.:

a) Es ist keine Veränderung gegen zuvor eingetreten. b) Die Parasiten sind etwas stärker geworden, nicht mehr ganz so schlank wie zuvor. Kernvakuolen, Blepharoplastenvakuolen und Plasmavakuolen wie sonst. Die früher beschriebenen lichten Teile ziehen sich in diesem Präparat in der Längsrichtung durch den ganzen Parasiten hindurch und werden nur durch den Kern und einige blaugefärbte Plasmalinien unterbrochen. Das Blutbild hat sich verändert, die Lymphozyten sind weniger geworden, die gelapptkernigen neutrophilen Leukozyten haben sich vermehrt, es finden sich 2–7 in einem Gesichtsfeld, ferner wurden auch einige neutrophile Leukozyten mit starker eosinophiler Körnelung beobachtet.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 3 Std.:

a) Die Trypanosomen sind unter Zittern und Schütteln lebhaft beweglich, erscheinen aber etwas aufgequollen. Im Blutbild keine Veränderung. b) Vermehrung der Leukozyten, in jedem Gesichtsfeld 2–12 Stück.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 4 Std.:

a) Die Trypanosomen sind weniger gut beweglich, die Art der Bewegung ist immer noch zitternd und schüttelnd. Die undulierende Membran ist zackig, das aufgequollene Trypanosoma sieht aus wie eine Kaulquappe mit zackigem Rand. Sonst keine Veränderung nachweisbar. b) Der Parasit wird weiter stark beeinflusst. Die Kernsubstanz ist bei den meisten Trypanosomen zerrissen oder verwischt, der Parasit aufgequollen (vgl. Fig. 9a). Der Blepharoplast ist in Zweiteilung, bisweilen sind die beiden Blepharoplasten durch einen Steg verbunden. Das Plasma ist granuliert. In einigen Gesichtsfeldern bis zu 4 eosinophile, polynukleäre Leukozyten.

#### Verhalten der Trypanosomen nach 5 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist wieder lebhafter und immer noch stark zitternd. Außerdem ist eine weitere Vermehrung der weißen Blutkörperchen feststellbar. b) An den Parasiten ist nur die eine weitere Veränderung feststellbar, daß sie sich immer lichter färben.

### Verhalten der Trypanosomen nach 6 Std.:

a) Die Bewegung der Trypanosomen ist immer noch stark zitternd, die Parasiten scheinen aufgequollen. b) Die Beeinflussung der Parasiten wird immer stärker, sie erscheinen stark verbreitert. Die färbbaren Substanzen lassen immer mehr nach. Der Plasmaleib ist granuliert. Das Hinterende ist an einzelnen Trypanosomen abgestumpft (vgl. Fig. 9b) und der Blepharoplast nicht mehr zu erkennen. Die Plasmahülle an einzelnen Parasiten erscheint zerrissen, die Geißel nicht mehr vorhanden. Lymphozyten und Leukozyten liegen in großen Haufen zusammen.

### Verhalten der Trypanosomen nach 7 Std.:

a) Die Bewegungen sind nur noch schlagend zitternde und finden nur noch auf der Stelle statt, sonst keine Veränderungen. b) An den Trypanosomen selbst ist außerdem, daß die Färbbarkeit immer geringer wird, keine Veränderung eingetreten.

Die basophilen Lymphozyten und die neutrophilen gelapptkernigen Leukozyten liegen in großen Haufen zusammen, ebenso werden in manchen Gesichtsfeldern eosinophile polynukleäre Leukozyten gezählt.

## Zusammenfassung der Ergebnisse.

I. Die schädigende Wirkung des „Bayer 205“ auf Trypanosomen in vitro zeigt sich besonders bei den hochprozentigen Konzentrationen. Während bis zur 1-proz. Lösung im Vergleich zu den Kontrollpräparaten der Trypanosomen in Aqua destill. eine starke Beeinflussung nicht eintritt, ist sie bei 2–5-proz. Konzentrationen schon auffallend, sie tritt deutlich hervor in 7 $\frac{1}{2}$ -proz. und 10-proz. Konzentration. Die Trypanosomen sind bei diesen Lösungen des „205“ nach 25–60 Min. (7 $\frac{1}{2}$ -proz.), bzw. sogar nach 5 Min. (10-proz.) bewegungslos.

Diese Beobachtungen geben gewisse Anhaltspunkte für die Dosierung des Präparates bei der Bekämpfung der einzelnen Trypanosomenkrankheiten der großen Haustiere in der Praxis. Die bei der Anwendung anderer chemotherapeutischer Präparate gemachte Erfahrung, daß bei der Bekämpfung von durch Protozoen bedingten Infektionskrankheiten von vornherein möglichst große Dosen zu verwenden sind, finden auch durch diese Versuche eine experimentelle Begründung, die uns lehrt, tunlichst massive Dosen für die Behandlung von Patienten zu gebrauchen.

II. Die in biologischer und morphologischer Hinsicht beobachteten Beeinflussungen der Trypanosomen im Tierkörper zeigen, daß „205“ eine schwere Schädigung der Trypanosomen hervorruft. Die schädigende Wirkung findet an sehr vielen Parasiten zunächst ihren offenbaren Ausdruck in einer Reizwirkung: In ebenso vielen Parasiten kommen dazu Teilungsvorgänge, die aber nicht im normalen Sinne weiterverlaufen, sondern unterbrochen werden, ehe die Teilung vollzogen wird. Dementsprechend ist der Blepharoplast auf zahlreichen Trypanosomen doppelt vorhanden, bzw. in mehrfacher Verdoppelung begriffen. Diese Teilungsvorgänge vollenden sich aber nicht. Daher sind nur verhältnismäßig wenige Kernteilungen und noch weniger Plasmateilungen in den Parasiten zu beobachten. Die unmittelbar trypanozide Wirkung des „205“ unterbricht die biologischen Vorgänge im Parasiten.

Dem entsprechen morphologische Veränderungen, die im mikroskopischen Bilde unter Verwendung der Giemsa-Färbung festgehalten werden können und schwere degenerative Veränderungen in den Parasiten erkennen lassen. Der Kern erscheint in solchen degenerierten

Trypanosomen strukturlos, bzw. in vorgeschrittenen Degenerationsstadien vollständig zerrissen und seine chromaffinen Bestandteile über den ganzen Körper der Trypanosomen zersprengt.

Bemerkenswert ist bei diesen therapeutischen Versuchen, daß auch hier wieder mit zunehmender Konzentration der Lösungen die Veränderungen in den Parasiten früher und durchschlagender eintreten. Sie greifen schließlich auf den ganzen Körper über. Die Funktion der Geißel wird gelähmt, die undulierende Membran zeigt andere Bewegungsformen als bei unbeeinflussten Trypanosomen. Die Trypanosomen quellen auf: ihre Chromaffinität ändert sich, sie gehen zugrunde. Der Vorgang läßt sich mit dem der Bakteriolyse vergleichen und kann als Trypanolyse bezeichnet werden.

Keines der mit „205“ vorbehandelten Meerschweinchen hat je wieder ein Trypanosomenrezidiv gezeigt. Die therapeutische Wirkung des „205“ wird also auch durch diese Versuche in Uebereinstimmung mit den bei der praktischen Anwendung gemachten Erfahrungen bewiesen.

Werden die an sich schon geschädigten Trypanosomen (0,08 g „205“) aus dem mit „205“ überschwemmten Körper frühzeitig, nach  $3\frac{1}{2}$  Std., entfernt, und auf unvorbehandelte Tiere übertragen, so können sie sich, bzw. einzelne resistenteren Individuen, wieder erholen, um bei diesen die Infektion wieder auszulösen.

III. Auch die prophylaktischen Versuche zeigen die große Bedeutung des Präparates für den Kampf gegen die Trypanosomenkrankheiten. „Bayer 205“ setzt uns in die Lage, die Trypanosomen unschädlich zu machen, wenn sie nach der medikamentösen Behandlung in den Tierkörper gelangen. Im Gegensatz zu den therapeutischen Versuchen hat sich bei den prophylaktischen Prüfungen des Präparates gezeigt, daß vor der Infektion schon unter dem Einfluß von „205“ stehende Meerschweinchen ein anderes Verhalten der Parasiten zeigen, wie therapeutisch behandelte Meerschweinchen. Während in den therapeutischen Versuchen (bei auf der Höhe der Infektion stehenden Meerschweinchen mit auf das beste entwickelten Trypanosomen) eine durch die erste Heilwirkung gesteigerte Vitalität wichtige biologische Vorgänge, wie den der Vermehrung, auszulösen scheint, denen dann erst die Schädigung der Parasiten unter Aufquellung und vollständiger Destruktion folgt, zeigen prophylaktisch behandelte Tiere zwar diese Trypanolyse auch zum Schluß, die vitalen Vorgänge treten dabei aber in den Hintergrund; es kommt nicht zu so lebhaften Teilungsvorgängen. Die Vergiftung der wenigen, nicht auf die Höhe ihrer Vitalität gelangenden Trypanosomen zeigt uns Parasiten von ausgesprochen schmalen Typus ohne jede oder nur auf den Blepharoplasten beschränkte Andeutungen einer Teilung. Dementsprechend sind die Trypanosomen schlank, sie erscheinen unter der sie sofort anfassenden Wirkung des Präparates zusammengezogen, als schmale, jedenfalls nicht als Quellformen. Die Geißelbewegungen ebenso wie die der undulierenden Membran lassen einen ganz anderen Typus erkennen: sie sind zitternd, schüttelnd, als ob die Trypanosomen „im Fieber frören“. Erst später treten die trypanoziden Vorgänge stärker in Erscheinung; es kommt aber auch zu einer Aufquellung der Parasiten, dem Verlust der Geißel, dem Mangel der distinkten Chromaffinität u. a. In diesem Stadium gehen die Parasiten zugrunde. Keines der für die prophylaktischen Versuche dienenden Tiere ist an einem Trypanosomenrezidiv erkrankt.

Die Ergebnisse der vorbeschriebenen Versuche zeigen den Weg für die Wirkung, Behandlung und Prophylaxe nicht nur der durch Try-



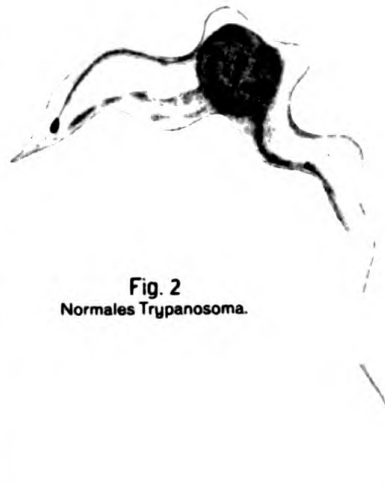


Fig. 2  
Normales Trypanosoma.

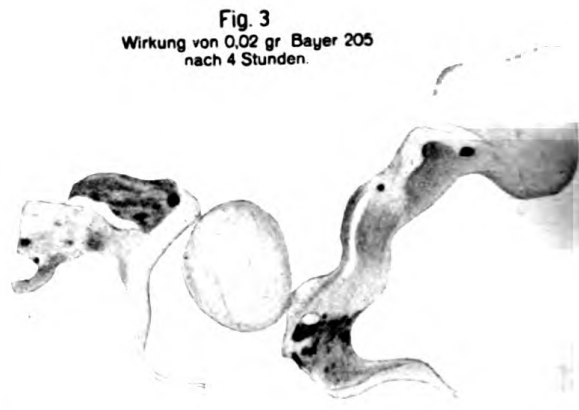


Fig. 3  
Wirkung von 0,02 gr Bayer 205  
nach 4 Stunden.

Fig. 4 a  
Wirkung von 0,04 gr Bayer 205  
nach ½ Stunde.



Fig. 4 b  
Wirkung von 0,04 gr Bayer 205  
nach 4 ½ Stunden.



Fig. 5 a  
Wirkung von 0,06 gr Bayer 205  
nach ½ Stunde.



Fig. 5 b  
Wirkung von 0,06 gr Bayer 205  
nach 2 Stunden.



Verlag von G

Fig. 6a  
Wirkung von 0,08 gr Bayer 205  
nach 1 Stunde.



Fig. 6b  
0,08 gr Bayer 205  
1/2 Stunden.

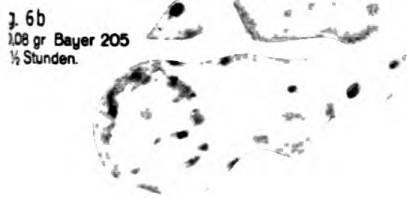


Fig. 7a  
Wirkung bei 3 tägiger Prophylaxe  
nach 2 Stunden.



Fig. 7b  
Wirkung bei 3 tägiger Prophylaxe  
nach 4 Stunden.



Fig. 8a  
bei 6 tägiger Prophylaxe  
nach 3 Stunden.



Fig. 9a  
Wirkung bei 10 tägiger Prophylaxe  
nach 4 Stunden.

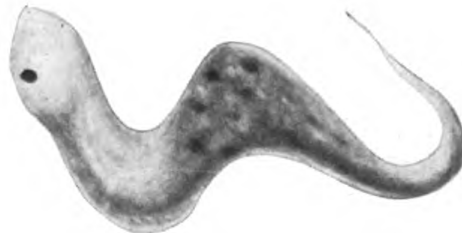


Fig. 8b  
bei 6 tägiger Prophylaxe  
nach 5 Stunden.



Fig. 9b  
Wirkung bei 10 tägiger Prophylaxe  
nach 6 Stunden.



er in Jena.





panosoma equiperdum hervorgerufenen Krankheiten, sondern auch anderer Trypanosomenkrankheiten, wie der Schlafkrankheit, Nagana, Surra u. a.; denn in den Versuchen anderer Autoren an kleinen Tieren hat sich die Wirkung des Präparates auch auf die Erreger dieser Seuchen bewiesen. Durch die Versuche an beschälseuchekranken Pferden ist aber die Wirkung des Mittels auf natürlich kranke Individuen dargetan, so daß der vorstehende allgemeine Schluß gerechtfertigt erscheint.

#### Literatur.

- 1) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 7. Jena (G. Fischer) 1913. — 2) Doflein, Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena (G. Fischer) 1901. — 3) Ders. Lehrb. d. Protozoenkunde. Jena (G. Fischer) 1909, 1911, 1916. — 4) Wasielewski u. Senn, Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900. S. 444.) — 5) Prowazek, zitiert nach Kolle-Wassermann. Bd. 7. 1913. — 6) Ders. Kritische Bemerkungen z. Trypanosomenproblem. (Arch. f. Schiff- u. Tropenhyg. Bd. 13. 1909. S. 301.) — 7) Giemsa, Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylene-Azur-Methyleneblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nechtschen Chromatinfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. S. 308). — 8) Swellengrebel, La volution chez les trypanosomes. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 64. 1908. p. 38.) — 9) Rabinowitsch u. Kempner, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. S. 251.) — 10) Plimmer u. Bradford, Vorläuf. Notiz des bei der Tsetsekrankheit (Fly Disease oder Nagana) gefundenen Parasiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 26. 1899. S. 440.) — 11) Laveran u. Mesnil, Trypanosomes et trypanosomiasis. 1904. — 12) Mense, Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 6. 1921. — 13) Friedberger u. Fröhner, Lehrb. d. spez. Pathol. u. Ther. d. Haust. 1908. — 14) Möller, Die Beschälseuche in Polen. (Monatsh. f. Tierhik. Bd. 30. 1920. S. 481.) — 15) Salfelder, Epidemiolog. u. klin. Beobachtg. sowie chemo-therap. Versuche b. d. i. Thür. i. d. Jahr. 1919/21 herrschend. Beschälseuche d. Pferde. [Inaug. Dissert.] 1921. — 16) Mesnil u. Nicolle, Traitement des trypanosomiasis par les couleurs de Benzidine (Ann. Inst. Past. T. 20. p. 417 u. 513.) — 17) Ehrlich, Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 9—12.) — 18) Ehrlich u. Shiga, Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankung. (Ibidem. 1904. Nr. 13 u. 14.) — 19) Laveran u. Mesnil, Recherches sur le traitement et la prévention du Nagana. (Ann. Inst. Past. 1902. Nr. 11.) — 20) Thomas u. Breinl, zit. n. Doflein. 1909. — 21) Uhlenhuth u. Woithe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine, mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. 1908. S. 403.) — 22) Koch, Beck u. Kleine, Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Schlafkrankheit im Jahre 1906/07 nach Ostafrika entsandten Kommission. (Ibidem. Bd. 31. 1911. S. 101.) — 23) Lichtenheld u. Walther, Ueber Nagana (Tsetse) und Beschälseuche, insbes. ü. Behandlg. erkrankt. Pferde. (Dtsch. tierärztl. Wo. 1921. S. 147.) — 24) Ellinger, Neuere Behandlungsmethode gegen die Beschälseuche der Pferde. (Berl. tierärztl. Wo. 1920. S. 492.) — 25) David, Zur Behandlung der Beschälseuche mit Neosalvarsan. (Ibidem. 1920. S. 520.) — 26) Pfeiler, Mitteilungen der Tierseuchenstelle der Thür. Landesanstalt für Viehvericherung. Nr. 3, 5—8. — 27) Walther u. Pfeiler, Ein Fall einer gewissen „205-Festigkeit“ bei einer beschälseuchekranken Stute. (Dtsch. tierärztl. Wo. 1921. S. 173.) — 28) Haendel u. Joetten, Ueber chemotherapeutische Versuche mit „Bayer 205“, einem neuen trypanoziden Mittel von besonderer Wirkung. (Berl. klin. Wo. 1920. S. 821.) — 29) Mayer u. Zeiß, Versuche mit einem neuen Trypanosomenheilmittel (Bayer 205) bei Menschen und tierpathogenen Trypanosomen. (Archiv f. Schiff- u. Tropenhyg. Bd. 24. 1920. S. 257—294.) — 30) Mießner u. Berge, Chemotherapeutische Versuche mit „Bayer 205“ bei Beschälseuche (Dtsch. tierärztl. Wo. 1921. S. 113.) — 31) Pfeiler, Kasuistische Mitteilungen über ein anscheinendes Versagen der Bayer 205-Behandlung bei an natürlicher Beschälseuche leidenden Pferden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 48.) — 32) Ders., Prophylaxe bei Beschälseuche. (Mitteil. d. Tierseuchenstelle d. Thür. Landesanstalt f. Viehvericherung. 2. Jgg. Nr. 2.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über Blastocystis.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bonn  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Priv.-Doz. Dr. F. W. Bach und Dr. K. H. Kiefer,  
Assistenten des Instituts.

Mit 1 Tafel.

### I. Geschichtliches.

Der eigenartige Organismus, der heute fast allgemein mit dem Namen *Blastocystis* bezeichnet wird, ist bereits 1881 von Cunningham (14) beschrieben und abgebildet worden. Vielleicht schon früher; denn nach Cunninghams Ansicht, der sich später Alexeieff (1) angeschlossen hat, kann es sich in älteren Arbeiten über Cholera von Brittan (7) wie Swayne (55) bei den von diesen 1849 beschriebenen „annular bodies“ (Brittan) und „cholera cells“ (Swayne), ebenso wie bei den von Hallier (26) 1867 in seinen Cholerastudien angeführten Gebilden, zum Teil um *Blastocystis*-Formen gehandelt haben.

Brittans wie Swaynes Veröffentlichungen konnten wir im Original nicht einsehen, Alexeieff ist aber der Meinung, daß es sich bei Swayne zum Teil um *Ascaris*-Eier handeln könnte. Die Hallierschen Bilder berechtigen dagegen unserer Ansicht nach nicht zu der Annahme, daß hier *Blastocystis* vorliegt, noch weniger aber die Beschreibung der von ihm erhobenen Befunde. Hallier fand die Sporen seines Cholerapilzes, unter denen sich angeblich *Blastocystis* verbergen sollte, erst bei der nach Jahr und Tag vorgenommenen Untersuchung eines Cholerastuhles. Die echte *Blastocystis* verschwindet aber, wie aus dem folgenden hervorgeht, bereits innerhalb 24 Std. aus dem Stuhle. Von Cunningham ist dagegen *Blastocystis* unzweideutig richtig abgebildet und vortrefflich beschrieben. Cunningham bringt den Organismus mit Amöben und Flagellaten (wahrscheinlich *Trichomonas*), die er „zoospores“ nennt, in eine eigenartige Beziehung. Er glaubt, daß die *Blastocystis*-Zellen ein Bindeglied zwischen Amöben und Flagellaten darstellen, insofern als sich in Darmamöben die *Blastocystis*-Zellen entwickeln, frei werden und hieraus wieder Flagellaten hervorgehen. Allerdings führt er den Beweis für den letzten Punkt seiner Hypothese nur indirekt; gesehen hat er den Vorgang der Flagellatenbildung nicht. Dagegen beschreibt er das Auftreten von körperlichen Gebilden in Amöben, die von freien (*Blastocystis*-)Formen seiner Ansicht nach nicht zu unterscheiden waren und die von den Amöben entwickelt würden, wobei er die Möglichkeit ablehnt, daß hier eine Einwanderung fremder Körper in die Amöbe vorliege. Vielleicht handelt es sich hier aber doch um einen Amöbenparasiten, vielleicht auch um rote Blutkörperchen oder sonstiges phagozytirtes Material (*Blastocystis*?)<sup>1)</sup>. Uebrigens ist von Cunningham der eigenartige Organismus schon mit einem Namen belegt worden. Er schreibt nämlich: „The monadic, amoebal and sporoid bodies, so abundant in many choleraic excreta, are all developmental forms of one species of parasite which I propose to call *Protomyxomyces coprinarius*“. Cunninghams Hypothese ist deswegen interessant, weil bereits hier schon die Ansicht auftaucht, *Blastocystis* als Vorstufe eines Flagellaten aufzufassen, die später bei v. Prowazek und jüngst wieder bei Chatton eine Rolle spielt! Cunninghams Angaben sind weiterhin auch noch deswegen wertvoll, weil er Formen beschreibt, die den von Alexeieff 30 Jahre später gesehenen auffallend gleichen, und weil er Kulturversuche anführt, mit denen man sich erst in den letzten Jahren wieder beschäftigt hat.

1) Eine sehr interessante Abbildung einer von *Tetratrichomonas prowazeki* Alex. aufgenommenen *Blastocystis*-Zelle haben Kofoid und Swezy (63) veröffentlicht.

Eine Reihe älterer Arbeiten nach Cunninghams Veröffentlichung, in denen der Organismus erwähnt wird, führen Alexieff (1), v. Prowazek (46) wie Gäbel (21) an. Auf diese ältere Literatur, die wir zum größten Teile durchgesehen haben, soll im folgenden nur bei Bedarf eingegangen werden; es finden sich nur gelegentlich wertvollere Angaben, häufig ist es unserer Ansicht nach nicht möglich, mit Sicherheit in den Abbildungen die heutige Blastocystis wiederzuerkennen [z. B. Roos (49)].

Zu besonderer Bedeutung gelangte der Organismus erst, als er in Zusammenhang mit *Trichomonas intestinalis* gebraucht und als Zyste dieses Flagellaten aufgefaßt wurde. Den Anlaß hierzu gaben vor allem Schaudinns (1903, 53) und v. Prowazeks (1904, 45) Arbeiten, besonders des letzteren Untersuchungen über die Kopulation von Darmflagellaten, speziell von *Trichomonas intestinalis* der Ratte in seiner großen Arbeit über parasitische Flagellaten. v. Prowazeks Beschreibung des Reservestoffkörpers der Kopulationszyste, dessen Anwachsen zu außerordentlicher Größe, die Beschreibung der Struktur der Zyste, wonach das Protoplasma in äußerst dünner Schicht, die bei einzelnen Exemplaren nur aus einer Alveolarlage bestehen dürfte, den in einer Vakuole ruhenden Reservekörper umhüllt, und die Angabe von der gelegentlichen Teilung der Zyste durch einfache Einschnürung trugen wohl wesentlich zu dieser Annahme bei. Die Bilder, die v. Prowazek seiner Arbeit beifügt, ebenso und noch mehr die Abbildungen, die Bohne und v. Prowazek (1908, 6) als Enzystierungsformen (Teilung einer Autogamiezyste) von *Trichomonas intestinalis* des Menschen veröffentlichten, entsprechen äußerlich zum größten Teil den heutigen Blastocystis-Formen. Vor allem lassen dann weitere Arbeiten v. Prowazeks (1911, 1912; 46, 47) erkennen, daß er Blastocystis-Formen als *Trichomonas*-Zysten angesehen hat; Worte und Bilder treffen durchaus für Blastocystis zu. v. Prowazek (46) beschreibt in einer dieser Veröffentlichungen (1911) 2 Arten von Zysten, die er als Vermehrungs- und Autogamiezysten auffaßt und die seiner Ansicht nach auf einen durch die Außenwelt bedingten Saisondimorphismus hindeuten sollen. Die ersteren besitzen keine derbe Zystenmembran und vermögen sich zu teilen, die letzteren, selten anzutreffenden, scheiden dagegen eine derbe Zystenmembran aus.

Ucke (1908, 58) konstruiert im gleichen Jahre einen seiner Meinung nach sicheren Zusammenhang zwischen typischen Blastocystis-Formen und vegetativen *Trichomonaden* und bezeichnet sie als *Trichomonas*-Zysten. Seiner Meinung nach soll durch enorme Vergrößerung einer „Vakuole“ der vegetativen *Trichomonas* unter Abrundung des Tieres die „Cyste“ hervorgehen. Ebenso sehen, zumeist in Anlehnung an v. Prowazek, Bensen (1907, 5), Gäbel (1914, 21), James (1915, 29) die heutigen Blastocystis-Formen als *Trichomonas*-Zysten an. James [zit. nach Swellengrebel (56)] will angeblich bei Infektion von Katzen mit Blastocystis *Trichomonaden* im Stuhl beobachtet haben, eine Angabe, die sehr mit Vorsicht aufzunehmen ist, da an eine latente, spontane *Trichomonas*-Infektion des Versuchstieres zu denken ist. Auch Rodenwaldt (50) ist in seiner ersten Bearbeitung der parasitischen Darmflagellaten (1911) der Meinung, daß diese „Zysten“ in den Entwicklungskreis von Organismen wie *Trichomonas* und *Trichomastix* gehören, wenn auch schon aus seiner Darstellung ein leiser Zweifel herauszulesen ist.

Diese Zweifel mehrten sich, als von verschiedenen Untersuchern für *Trichomonas* Zysten beschrieben wurden, die ein ganz anderes Aussehen zeigten und die einer Zyste dieses Flagellaten besser entsprechen konnten, als die von anderer Seite dafür gehaltenen Formen. Vielleicht hatten schon Galli-Valerio (1900, 1907; 22, 23) und älteren Untersuchern echte *Trichomonas*-Zysten vorgelegen, wahrscheinlich auch Wenyon (1907, 60). Durchaus abweichende Enzystierungsvorgänge beschrieb aber zuerst genauer Dobell (1908, 16)<sup>1)</sup> bei *Trichomonas batrachorum* und bestritt vor allem die Zugehörigkeit der heutigen Blastocystis-Formen zu *Trichomonas*. Wie Brug (8) mit Recht hervorhebt, war es ferner sehr auffallend, daß Bensen (1910, 5) wohl für *Trichomonas intestinalis* Zysten abbildete, die den Blastocystis-Formen entsprachen, dagegen für *Trichomonas vaginalis* eine andere Art Zysten beschrieb, auffallend deswegen, weil bei 2 so nahe verwandten, von manchen sogar für identisch gehaltenen Arten 2 so stark voneinander abweichende Enzystierungsprozesse vorhanden sein sollten. Abgesehen von Dobell wurden die Zweifel an der Echtheit der *Trichomonas*-Zysten hauptsächlich in indirekter Weise begründet. Sehr bestimmt hat sich dann vor allem Wenyon (1910, 8) dagegen ausgesprochen, daß die „Zysten“ in den Entwicklungsgang von *Trichomonas* gehörten, und zwar aus folgenden Gründen: 1) sei noch nicht sicher beobachtet worden, daß die sogenannten Autogamiezysten aus *Trichomonas* entstünden, 2) habe man aus den Zysten noch nicht *Trichomonas* hervorgehen sehen, 3) gehe das Vorkommen der

1) Abbildungen siehe z. B. bei Doflein, Lehrb. d. Protozoenkunde. 4. Aufl. 1916. S. 594.

Zysten nicht parallel mit dem von *Trichomonas*; höchstens könne es sich bei den Zysten um abnormale oder degenerierte Formen von *Trichomonas* handeln.

Wenyon traf die *Blastocystis* in einem Fall von Infektion mit *Macrostoma* (*Chilomastix*) *mesnili* an, bei dem *Trichomonas* fehlte und bei dem echte Zysten dieses neu beschriebenen Flagellaten vorhanden waren. Seiner Ansicht nach tragen die *Blastocystis*-Zellen die Zeichen degenerativer Veränderungen an sich<sup>1)</sup>.

Das Nichtparallelgehen des Vorkommens von *Blastocystis* und *Trichomonaden*, das übrigens schon Cunningham verzeichnet, hat auch Rodenwaldt (51) zu Zweifeln veranlaßt. Ebenfalls 1910 teilte er v. Prowazek mit, daß er in Afrika Fälle von *Trichomonas*-Infektion ohne Vorhandensein von sogenannten Zysten, wie auch das umgekehrte Verhalten gesehen habe, eine Beobachtung, die er auch später im Orient hat wiederholen können, wo ebenfalls beide Formen unabhängig voneinander vorkamen. Gäbel (21) verzeichnete diese Beobachtung auch bei einem seiner Patienten, glaubt aber die Verhältnisse in der Weise deuten zu müssen, daß unter der Wirkung von Medikamenten die vegetativen Formen verschwänden und nur die Zysten übrig blieben oder die Organismen zur Zystenbildung angeregt würden.

1910 erschienen nun von Alexeieff (1) eingehende Studien über diese sogenannten „*Trichomonas*-Zysten“, die eine wesentliche Änderung in der Anschauung von der Natur dieser Gebilde zur Folge hatten. Das Material zu seinen Studien stammte aus dem Darm von Molchen (hauptsächlich *Triton cristatus*, daneben auch *Triton marmoratus*). Zuerst ebenfalls geneigt, die zystenartigen Gebilde mit Protozoen in Verbindung zu bringen (*Entamoeba ranarum*), gewann Alexeieff allmählich die Ansicht, daß es sich überhaupt nicht um tierische, sondern um pflanzliche Gebilde handle. Wegen gewisser Beobachtungen bei *Bodo lacertae* wurde er allerdings wieder schwankend, entschied sich aber in einer weiteren Arbeit (2) endgültig für die pflanzliche Natur der sog. „*Trichomonas*-Zysten“ und belegte sie mit dem nun fast allgemein gebräuchlichen Namen *Blastocystis enterocola*. Für die pflanzliche Natur der „Zysten“ führt Alexeieff folgende Gründe an: 1) eine schleimige Hülle der Organismen erinnert an die Kapsel gewisser *Blastomyceten*, 2) sprechen ein eigenartiger Knospungsvorgang und 3) die Anwesenheit einer Art von *Porus germinativus* in gewissen sekundären Zysten für *Blastomyceten*verwandtschaft. Gewisse sexuelle Vorgänge (Synkarion, Kopulation) dienen ihm später (3) noch dazu, seine Ansicht von der Verwandtschaft mit *Blastomyceten* zu stützen; ebenso Beobachtungen an einer Hefe *Schizosaccharomyces octosporus* und Uebereinstimmungen mit dem Bau eines von Pérez (43) in Hautpusteln von Tritonen gefundenen, angeblich den Entomophytoreen nahestehenden Organismus, *Dermocystis* (*Dermocystidium*) *pusula*.

Der Entwicklungsgang von *Blastocystis* verläuft nach Alexeieff (1) folgendermaßen: Die Zysten (*kystes primaires*, die ehemaligen *Trichomonas*-Zysten teilen sich, 2-kernig geworden, durch Abschnürung in 2 Tochterzellen (*division plasmotomique*). Nachdem wahrscheinlich ein sexueller Akt zwischen 2 Zysten vorausgegangen ist (zuerst als Autogamie aufgefaßt, später als Kopulation mit Synkarionbildung), bilden die großen Zysten durch einen eigenartigen Knospungsvorgang (*processus de bourgeonnement multiple*) kleine sekundäre Zysten aus, 1-kernig, mit dicker Hüllmembran. Diese faßt Alexeieff als Dauerformen auf, die die weitere Infektion vermitteln. Alexeieff unterscheidet also eine Schizogonie und eine Sporogonie. Bei dieser Anschauung ist natürlich die Bezeichnung der primären Cysten (= sogenannte *Trichomonas*-Zysten) als Zysten nicht mehr am Platze, so daß er sie später (3) als „*Kystoides*“ bezeichnet. Sie bezeichnet er, da er den Organismus zu den *Ascomyceten* stellt, als *Asci*, während die aus der Knospung hervorgegangenen Gebilde (*kystes secondaires*), die biologisch Zysten entsprechen, (*Asco*-), Sporen darstellen sollen. Über das weitere Schicksal dieser letzten Formen äußert sich Alexeieff nicht direkt, an ihnen beobachtete er gelegentlich Eindellungen, die seiner Meinung nach einen „*porus germinativus*“ darstellen könnten; er vermutet, daß erst unter dem Einfluß der Verdauungssäfte eine Weiterentwicklung dieser sekundären Zysten erfolge und verweist auf Beobachtungen von Dobell (1908, 15), der in dem Darminhalt von *Rana temporaria* „*curious organisms*“ beobachtete, die seinen *kystes secondaires* gleichen und die Dobell zu langen Schläuchen auskeimen und in eckige Stücke hat zerfallen sehen. Alexeieff glaubt, die Dobellschen Formen mit seinen *kystes secondaires* in Verbindung bringen zu können; sehr wahrscheinlich handelt es sich hier — wie auch Dobell angibt — um Hefen oder um hefenähnliche Schimmelpilze.

1) Wenyon (61) schien es 1910 „most probable that these bodies are products of an abnormal development ultimately terminating in death“, eine Ansicht, die in Hinsicht auf die später geäußerte Hypothese von Kuenen und Swellengrebel beachtenswert ist.

Das Pérezsche Dermocystidium pusula ist 1913 von Weißenberg (59) bei Triton cristatus wiedergefunden worden und von Moral (40) wie von Pérez (44) im gleichen Jahre (1913) eingehender beschrieben worden. Die Zeichnungen Morals ähneln den Bildern von Blastocystis, auch seine Angaben über Größe, Färbbarkeit, und Reaktion des Innenkörpers (ca. 6 $\mu$ ; mattgraue Färbung mit schwarzem Zentrum bei Heidenhain-Färbung; der Innenkörper gibt keine Fett- oder Glykogenreaktion, sondern ist wohl eiweißartiger Natur). Ebenso überraschen die Abbildungen von Pérez. Man glaubt nichts anderes, als eine Blastocystis-Zelle vor sich zu haben. Das gleiche gilt auch für die nähere Beschreibung (Größe 8–10 $\mu$ ; Innenkörper gibt keine Fett-, Glykogen-, Stärkereaktion usw.)

Große Ähnlichkeit mit Dermocystidium pusula besitzt Dermocystidium branchialis Léger. Es stellt nach Ansicht von Weißenberg (1921, 59) „entweder eine echte Haplosporidie dar, oder ist zum mindesten als eine Form zu bezeichnen, die nach unserer heutigen Kenntnis bei keiner anderen Gruppe von Mikroorganismen mit mehr Recht untergebracht werden könnte als bei den Haplosporidien“. Dermocystidium branchialis ist von Léger (35) und von Dunkerly (19) als Kiemenparasit der Forellen gefunden worden. Die Beschreibung der in den Cysten enthaltenen sporenartigen Körperchen weist auffallend viele Analogien mit der vom Bau der Blastocystis auf (Plasma auf einen Randbezirk beschränkt, einen bläschenförmigen Kern mit großem Karyosom enthaltend, siegelringartig dem kugeligen, stark glänzenden Innenkörper anliegend; der Innenkörper verhält sich wie ein Albuminoid, färbt sich nach Dunkerlys Angabe mit Eisenhämatoxylin schwarz).

Die auffallende Ähnlichkeit der hier erwähnten Organismen mit Blastocystis-Zellen veranlaßt alle Untersucher, auf Blastocystis hinzuweisen.

Die von Alexeieff (1) des weiteren für eine Ähnlichkeit mit Blastocystis angeführten, von Dogiel (17) beschriebenen und abgebildeten Zysten einer Peridinee (Gymnodinium lunula) unterscheiden sich aber von Blastocystis sehr durch die außerordentliche Größe (ca. 96–122  $\mu$  nach Dogiels Abbildungen).

Der Ansicht von Alexeieff schlossen sich sofort vor allem französische Autoren an und faßten die Blastocystis nicht mehr als Flagellaten-Zysten, sondern als selbständigen, und zwar zu den niederen Pilzen gehörenden Organismus auf. Chatton und Lalung-Bonnaire (1912, 11) stellen sie in die Nähe der Chrydideen, ebenso hält Brumpt (1912, 10) die sogenannten Trichomonas-Zysten für Blastomyceten, ja er unterscheidet bereits verschiedene Arten (Blastocystis hominis, cercopitheci, bufonis, sanguisugae), je nach dem Fundorte, ohne besondere Artcharaktere näher zu begründen, im Gegensatz zu Alexeieff, der glaubt, daß es nicht nötig sei, verschiedene Arten von Blastocystis anzunehmen. Ebenso findet sich in der neueren und neuesten ausländischen Literatur die Auffassung von der Pflanzennatur der Organismen vertreten, z. B. Flu<sup>1)</sup> (1918, 20), Stitt (1920, 54), Wenyon (1915, 62), Mathis (1913, 38), Low (1916, 36), Dopter und Sacquépée (1921, 18), Kofoid, Kornhauser u. Swezy (1919, 67).

Unter dem Einfluß der Arbeit von Alexeieff wird auch von Seiten deutscher Forscher die Ansicht von der Zugehörigkeit der Zysten zu Trichomonas fallen gelassen, wenn auch eine gewisse Zurückhaltung gegenüber der Ansicht von der Pflanzennatur zu bemerken ist. Im allgemeinen beschäftigen sich die Arbeiten der folgenden Zeit weniger mit Blastocystis als mit der Frage nach dem Aussehen der echten Trichomonas-Zysten. Jollos (1913, 30) betont, daß die Anschauung von der Pilznatur der sogenannten Zysten seiner Ansicht nach noch nicht durch genügend stichhaltige Gründe bewiesen sei. Auch Gäbel (21) äußert sich ähnlich. Kuczynski (1914, 32) findet bei Huhn, Ratte, Kröte die Alexeieffschen Stadien wieder; er ist eigentlich der einzige, der Alexeieffs Angaben bestätigt, ohne aber auf die Pilznatur der Gebilde näher einzugehen. Die Zugehörigkeit der Blastocystis-Formen zu Trichomonas lehnt auch er ab und betont, daß er „niemals auch nur morphologische Brücken“ zwischen den vegetativen Trichomonas-Formen und den sogenannten Zysten finden konnte. Im gleichen Jahre (1914) hat auch v. Prowazek (48) selbst die Ansicht von der Identität der sogenannten Blastocystis-Formen mit Trichomonas-Zysten aufgegeben und nur seine Beobachtungen für Trichomastix lacertae aufrecht erhalten. Uebrigens hatte er selbst 1912 (47) bemerkt, daß er die Enzystierung menschlicher Trichomonaden zu den fraglichen Zysten nie direkt beobachten konnte. Im übrigen finden sich die sogenannten Zysten nur noch aus historischen Gründen bei Trichomonas erwähnt und als „sogenannte Trichomonas-Zysten“ aufgeführt [z. B. Neumann-Mayer (41), Hartmann-Schilling (27), Rodenwaldt (51)]. Vor allem hat eine Reihe Arbeiten der letzten Jahre insoweit Klarheit geschaffen, als durch sie die echten Zysten von Trichomonas bekannt geworden sind. Bei

1) Flu war 1916 noch nicht recht überzeugt.

tierischen Trichomonaden wurden sie von M. Mayer (39, 1919/20) für *Trichomonas* der Maus), Brug (8) (*Trichomonas* des Meerschweinchens), Nöller (42) (*Trichomonas* des Hamsters) beschrieben<sup>1)</sup>, bei menschlichen nach Rodenwaldts Angabe von Lynch (37). Die echten *Trichomonas*-Zysten zeichnen sich im wesentlichen dadurch aus, daß in der Zyste die Organellen des Tieres zum Teil sichtbar sind.

Der Grund, daß die *Blastocystis*-Zellen für enzystierte Trichomonaden gehalten worden sind, ist einmal darin zu suchen, daß, wie Rodenwaldt sagt (51), kaum ein Fall von *Trichomonas*-Infektion vorkam, in dem sich nicht zugleich auch diese „Zysten“ fanden. Neuerdings berichtet aber Young (66, 1922), daß er bei ausgedehnten Stuhluntersuchungen wohl *Blastocystis*, dagegen niemals *Trichomonas* (aber *Chilomastix*) gefunden habe. Es wäre denkbar, daß krankhafte Zustände im Darne ebenso wie für Protozoen auch für *Blastocystis* einen guten Boden zur Ansiedelung abgeben. Zum anderen sind echte *Trichomonas*-Zysten auch trotz des reichlichsten Vorkommens der vegetativen Formen relativ selten zu Gesicht zu bekommen<sup>2)</sup>. Es liegen die Verhältnisse für die Zystenbildung wohl ebenso wie für die Teilung der Tiere, von denen Kuczynski (32) sagt, daß ein immanenter Rhythmus sie beherrsche.

Als Beispiel für die Schwierigkeit, echte Zysten trotz anscheinend günstigster Umstände zu finden, mögen die von Brug (8) mitgeteilten Beobachtungen dienen. Brug konnte bei einem Meerschweinchen, das ihm das beste Untersuchungsmaterial für vegetative Formen bot und dessen Coecum von Trichomonaden wimmelte, im unteren Colon und Dickdarm keine einzige Zyste finden, traf sie dagegen in enormer Anzahl nur in den zwei letzten, im Rektum vorhandenen Kotbällchen an. Brug sagt daher, daß er die Zysten nie gefunden hätte, wäre das Tier etwas später getötet worden, nachdem es diesen Kot entleert hätte.

Die Frage: *Blastocystis* = *Trichomonas*-Zyste erscheint somit dahin geklärt, daß die merkwürdigen Gebilde mit *Trichomonas* nichts zu tun haben. Immerhin haben sie ihre Rolle als Entwicklungsstadien von Flagellaten doch noch nicht ganz ausgespielt; denn jüngst hat wieder Chatton (1917, 12), der früher für ihre Pilznatur eingetreten war, behauptet, daß er die Entwicklung von „Zysten“ in seltenen Fällen zu bodoähnlichen Flagellaten beim Gecko (*Tarentola mauritanica*) beobachtet habe.

Nach Chattons Angaben sind die *Blastocystis*-Formen des Gecko (microsphères) in Form und Struktur die gleichen wie die bei den Säugern anzutreffenden, nur können sie sehr viel größer werden (15–100  $\mu$ ). Teilung der Kugeln und Weiterentwicklung der Teilstücke kann in jeder Größe erfolgen. Gelegentlich kommt es zu einer Art „épidémie de sporulation“, veranlaßt anscheinend durch reichliche Ernährung (abundante alimentation) nach einer langen „Fastenperiode“ (longue période de jeûne). Chatton hat dieses Ereignis unter 400 *blastocystis* behafteten Geckonen nur 3mal beobachtet. Indem das Randplasma (Syncytium cortical) der Mikrosphäre sich verdickt, bilden sich zwischen den stärker hervortretenden Kernen Furchen nach Art einer Blastula. Der flüssige Inhalt der Vakuole dient zur Ernährung der sich bildenden Zellen. In diesem Stadium zeigt sich ein Oszillieren des Inhalts infolge freier Geißeln dieser Zellen. In einem weiteren Stadium dreht sich dann die ganze Blastula durch eine Art Zittern der randständigen, schon gut ausgebildeten Zellen. Schließlich, in wenigen Minuten, löst sich das ganze in kleine Flagellaten auf, die in der Hülle umherwimmeln, daraus herauschlüpfen und aktiv frei davonschwimmen. Diese Flagellaten tragen 2 Geißeln, etwas exzentrisch am stumpfen Ende, eine Schlag- und eine Schleppgeißel. Ihr Bau entspricht im allgemeinen dem von Bodo, jedoch von freilebenden oder halb parasitischen Bodo-Formen durch das Fehlen eines Kinetonucleus unterschieden. Außerdem sollen diese Flagellaten weder imstande sein, feste Partikel zu verdauen, noch sich zu teilen; sie sind nicht wie verwandte Bodoniden „éléments végétatifs“, sondern „il sont réduits au rôle d'éléments reproducteurs“. Weiterhin gibt Chatton an, daß die „flagellispores bodoniformes“ sich entweder asexuell oder durch Kopulation (Anfänge dazu will Chatton beobachtet haben) fortpflanzen könnten, aus denen „microsphères végétatives“ oder einkernige oder Dauerzysten entstünden. Eine abweichende Entwicklung der großen Mikrosphären im Innern soll außerdem nicht zu flagellaten-

1) Nöller gibt ausdrücklich an, daß *Blastocystis*-Formen fehlten.

2) Noch 1917 schrieben Hartmann und Schilling (27), daß die Zysten von *Trichomonas* intest. (des Menschen) nicht bekannt seien ebenso 1919 Kofoid, Kornhauser und Swezy (67).

ähnlichen Formen führen, sondern zu kleinen rundlichen Gebilden, die sich frei machen, sich auch mit fester Membran umgeben zu können scheinen und eventuell echte Zysten sind (seiner Ansicht nach Alexeieffs Stadien). Die Mikrosphären (= Blastocystis) sind also keine Zysten, Chatton bezeichnet sie als Mastigonten, die Flagellaten als Mastigozoitien, den Vorgang als Mastigogenese, der ein charakteristisches Entwicklungsstadium eines von ihm neu aufgestellten Genus *Schizobodo* ist<sup>1)</sup>.

Die höchst eigenartige Schilderung dieser Verhältnisse läßt die *Blastocystis* jedenfalls in einem besonderen Lichte erscheinen!

Ganz im Gegensatz zu den neueren Beobachtungen Chattons steht nun die von Swellengrebel (56) wie die von ihm und Kuenen (34, 1917) geäußerte Ansicht von der Natur der *Blastocystis*-Zellen, für die sich Andeutungen schon bei Wenyon (61) finden. Unter Hinweis auf Scott Macfie (52, 1915), der erneut die Frage aufgeworfen hatte, ob *Blastocystis* nicht in Zusammenhang mit Darmamöben zu bringen sei, hat Swellengrebel (56) mit Nachdruck darauf aufmerksam gemacht, daß ihm beim Menschen kein Fall begegnet sei, wo nicht gleichzeitig auch andere Darmparasiten vorhanden gewesen seien. Obgleich Swellengrebel ausdrücklich es ablehnt, daß *Blastocystis* etwa in den Entwicklungskreis von *Trichomonas* oder *Chilomastix* gehört, bringt er den Organismus insofern mit ihnen in Zusammenhang, als er glaubt, *Blastocystis* sei „a peculiar form of degeneration to which representatives of different genera of intestinal protozoa may be liable“. Die Herkunft der *Blastocystis* kann seiner Ansicht nach also aus verschiedenen Quellen abgeleitet werden (*Limax*-Amöben, *Chilomastix*).

Kuenen und Swellengrebel (1917, 34) gehen dann aber noch einen Schritt weiter; denn sie lassen es in ihrer gemeinsamen Arbeit offen, welche Zellen durch Degeneration zu *Blastocystis*-Formen verändert sind. Sie geben eigentlich unumwunden zu, daß sie etwas sicheres über die Art dieser Formen nicht sagen könnten, sie betonen, daß man es bei der sogenannten *Blastocystis* nicht mit einem *Blastomyceten* oder überhaupt mit einem selbständigen Organismus zu tun habe, sondern mit einem eigenartigen Produkt von Nekrobiose von bestimmten Zellen, Körperzellen des Wirtes (Darmepithelzellen) oder Darmparasiten oder vielleicht beider.

Ihre Ansicht begründen Kuenen und Swellengrebel vornehmlich durch das ärberische Verhalten der Zellen zu Eosin, da hierbei sich *Blastocystis* vielfach wie ein toter Körper betrage, selbst wenn man die Fäzes unmittelbar nach dem Absetzen untersuche, etwas was bei (echten) Zysten und selbst bei tierischen Organismen wie Amöben nicht oder nicht so allgemein der Fall sei und noch viel weniger bei den in manchen Fäzes so zahlreichen *Blastomyzeten* (wozu ja auch die *Blastocystis* gehören solle). Sie geben auch an, keine echte Zystenmembran beobachtet zu haben<sup>2)</sup>.

In diesem Zusammenhange erscheint eine Bemerkung von Kruse und Pasquale (31) über ihnen durchaus unklare Gebilde, in deren Abbildung man die typischen *Blastocystis*-Zellen wiedererkennen kann, höchst interessant. Sie meinen, „man könnte daran denken, daß hier Wanderzellen (sogenannte Schleimkörperchen) unter dem Einflusse der Verdauungssäfte eine besondere Art von Degeneration eingegangen wären“. Ihrer Ansicht nach ähnelt die äußere Hülle den Schleimkügelchen, die aus aufquellenden Epithelzellen auszutreten pflegen.

Die letzte der uns (allerdings nur im Referat) bekannt gewordenen Arbeiten von Barret (1921, 4), die sich mit *Blastocystis* beschäftigt, lehnt aber wiederum die Ansichten von Chatton wie von Kuenen und Swellengrebel ab. Barret behauptet, daß es ihm durch kulturelle Verfahren geglückt sei, die Pilznatur der rätselhaften Zellen zu erweisen, indem er in Kulturen Sprossung und Zweiteilung beobachten konnte. *Blastocystis* soll demnach weder die Zyste noch die Degenerationsform eines Protozoons sein, ein Punkt, den er besonders erwähnt, da er die Zellen in einem Falle von *Balantidium*-Infektion beim Menschen beobachtete.

1) Alexeieff (1) hat in seiner 1. Arbeit über diesen Gegenstand die Zysten mit *Bodo lacertae* (aus *Salamandra maculosa*) in Verbindung bringen zu müssen geglaubt, allerdings, wie er vorsichtig in einer Fußnote sagt, „non sans un petit accroc“. Die Angaben Chattons bedürfen daher dringend der Bestätigung.

2) Was man als *Blastocystis* im Stuhle findet, könnten also vom Orte ihrer eigentlichen Lebenstätigkeit abgestoßene und bereits im Darm in ungünstige Lebensverhältnisse geratene Zellen sein, die das Zeichen des Todes bei ihrem Erscheinen in der Außenwelt mehr oder weniger deutlich an sich tragen. Das Vorhandensein von Teilungsformen brauchte kein Gegengrund für diese Annahme zu sein, übrigens halten K. und S. diese zumeist für Kunstprodukte.

## II. Eigene Untersuchungen.

Unsere vorliegenden Untersuchungen beziehen sich auf die im menschlichen Stuhle vorkommende *Blastocystis*. Wir haben uns mit Absicht auf menschliches Material beschränkt, da uns das Studium des rätselhaften Organismus beim Menschen vornehmlich interessierte und weil wir zudem nicht über hinreichendes Tiermaterial verfügten. Außerdem veranlaßten uns gelegentlich vorgenommene Untersuchungen bei Tieren (Molchen, Ratten, Hühnern) zu großer Vorsicht, die durch das Studium der Literatur noch verstärkt wurde, da hier eher als beim Menschen Verwechslungen mit ähnlichen körperlichen Gebilden anderer Herkunft möglich sein können. Chatton (12) allerdings hält menschlichen Stuhl für Untersuchungen über *Blastocystis* nicht geeignet, angeblich weil hier die Entwicklung stillstehe. Solange aber die höchst eigenartigen Befunde Chattons nicht bestätigt sind, scheint uns kein Grund vorzuliegen, menschliches Material von vornherein von einer Untersuchung auszuschließen. Zudem scheint es noch gar nicht einmal so ganz sicher zu sein, ob das, was bei Tieren als *Blastocystis* beschrieben wurde, immer identisch mit dem beim Menschen vorkommenden Organismus ist; z. B. Swellengröbel (56) findet es fraglich, ob Alexeieffs *Blastocystis enterocola* den menschlichen Formen entspricht.

Das Vorkommen von *Blastocystis* ist bei verschiedenartigsten Tieren beobachtet worden: Affen [v. Prowazek (47), Brumpt (10), Mathis (68), Blacklock und Adler (65)], Ratten [Alexeieff (2), Kuczynski (32)], Mäusen [Galli-Valerio (24)], Hühnern [Kuczynski (32), Grassi (25)], Geckonen [Chatton (12)], Kröten und Molchen (Kuczynski, Brumpt, Alexeieff), Schaben [Chatton (12), Yakimoff und Miller (64)]<sup>1)</sup>, Egel[n [Chatton (1; 11)]<sup>2)</sup>.

Veranlaßt wurden unsere Untersuchungen durch gelegentlich massenhafte Funde von *Blastocystis* bei einigen darmerkrankten Personen, die wir längere Zeit (zum Teil jahrelang zu beobachten in der Lage waren, und durch das Vorhandensein des Organismus bei einigen gesunden Personen, von denen uns Stuhlproben dauernd zur Verfügung standen.

### A. Untersuchungstechnik.

Zur Untersuchung gelangten nur frisch abgesetzte menschliche Faeces; ältere Stühle sind, wie aus dem Folgenden hervorgeht, nicht zu gebrauchen. Mit Kochsalz- oder Ringerlösung aufgeschwemmtes Stuhlmaterial im ungefärbten Präparat zu beobachten, ist unbedingt erforderlich. Farbzusätze zum Zwecke der sog. Vitalfärbungen, auf deren Ergebnisse im folgenden näher eingegangen werden soll, erwiesen sich uns für die Beurteilung mancher Strukturen sehr wertvoll. Für die Herstellung von Dauerpräparaten haben wir uns ausschließlich der Feuchtfixierung mit Schaudinn's Sublimatalkohol (mit und ohne Essigsäurezusatz) bedient, Trockenausstriche nur aus besonderen Gründen angefertigt. Die Färbung erfolgte mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin oder mit Delafield-Hämatoxylin und nach Giemsa (feuchte Giemsa-Färbung).

1) Yakimoff u. Miller fanden in Petersburg die Schaben in 29% mit *Blastocystis* infiziert.

2) Neveu-Lemaire's Schweinecoccid, *Eimeria jalina*, soll nach Nieschulz (69) *Blastocystis* sein.



## B. Morphologie der Blastocystis.

### a) Das ungefärbte Präparat (Fig. 1—16).

Im frischen ungefärbten und unfixierten Stuhlpräparat erscheint die Blastocystis-Zelle als ein rundliches Gebilde, an dem sich 2 Hauptpartien unterscheiden lassen: eine meist runde, stark lichtbrechende, häufig etwas gelblich gefärbte, große, homogene Scheibe und ihr anliegend ein oft schmaler, oft aber auch breiter, schwach lichtbrechender, ungefärbter Saum von mehr oder weniger deutlich strukturierter Beschaffenheit. Die Sonderung in diese 2 Partien, deren verschiedenes Lichtbrechungsvermögen sowie ihr gegenseitiges Größenverhältnis sind für die typische Blastocystis äußerst charakteristisch.

Die Blastocystis-Zellen finden sich teils einzeln, oft aber auch in Gruppen, alle Größen umfassend, in den Präparaten vor.

1. Die Größe. Die Größe der Organismen wechselt stark, Abgesehen von den sog. Teilungsformen, zeigten die einfachen Blastocystis-Zellen in unseren Fällen Abmessungen von ungefähr 6—17  $\mu$ , meist überwogen Formen von ca. 12—15  $\mu$ .

Die wechselnde Größe wird von allen Untersuchern betont. Für menschliche Blastocystis geben z. B. Cunningham (14) 3,5—9,2  $\mu$ , Kofoid u. Mitarb. (67) 3—20  $\mu$ , Kuenen und Swellengrebel (34) 5—8  $\mu$  und 13—14  $\mu$  (auch mehr) an, Chatton und Lallong-Bonnaire (11) wie Dopter und Sacquépée (18), Mathis (68) 10—15  $\mu$ . Für tierische Blastocystis verzeichnet Alexeieff (1) als durchschnittliche Maße 15—25  $\mu$  neben 6 und 30—35  $\mu$  (Triton), Chatton (12) beobachtete aber bei seiner Gecko blastocystis Größen von 15—100  $\mu$ .

2. Der Innenkörper. Die im ungefärbten Präparate so auffallende, stark lichtbrechende, zentrale Partie der Blastocystis-Zelle ist nach unseren Beobachtungen körperlich als mehr oder weniger gewölbte Scheibe aufzufassen; eine wirkliche Kugel ist sie wohl kaum, wie sie vielfach von verschiedenen Untersuchern bezeichnet wird. Häufig wird auch der Ausdruck Vakuole dafür gebraucht, nicht gerade glücklich, da mit diesem Worte gleichsam etwas Negatives charakterisiert wird, während es sich hier, wie auch aus den Färbungen hervorgeht, um einen substantiellen Körper handelt. Von v. Prowazek und Bohne (6) wird der Körper als Reservestoffballen bezeichnet. Der beste, weil nichts präjudizierende Ausdruck für diese Gebilde dürfte die Bezeichnung „Innenkörper“ sein, den auch Alexeieff (1, 2) neben der Bezeichnung „vacuole centrale“ gebraucht (corps interne). Dieser Innenkörper soll nach der Angabe von Kuenen und Swellengrebel (34) bei fortgesetzter Beobachtung unter dem Mikroskop verschwinden, so daß dann die Blastocystis-Zelle wie eine hohle Kugel aussieht. Nach Swellengrebel's (56) Beobachtungen soll dies schon in wenigen Min. der Fall sein. Gäbel (21) glaubt, daß der Innenkörper, wohl infolge Schrumpfung, leicht herausfallen könne, so daß also eine helle Zone übrig bleibe, eine Erscheinung, die er zur Erklärung der Uckeschen Siegelringform der Blastocystis heranzieht. Unserer Ansicht nach zu Unrecht, da höchstens Uckes (58) Abbildungen der Blastocystis zu dieser Ansicht verleiten können, während die Beschreibung dazu keine Veranlassung gibt (hellrosa gefärbte Kugel bei Karbolthionin-Eosinfärbung). Des weiteren geben Swellengrebel (56) wie auch Kuenen und Swellengrebel (34) an, daß bei Zusatz von 5-proz. Formalin

der Innenkörper sofort verschwinden solle, während die plasmatischen Randpartien stark lichtbrechend und gut sichtbar würden. Die Wirkung des Formalins auf die Randpartien haben auch wir beobachtet, sie werden, wohl durch Gerinnungsvorgänge, körnig und treten dadurch deutlicher hervor, während der Innenkörper unserer Ansicht nach unverändert bleibt, aber durch den Wechsel im Lichtbrechungsvermögen beider Teile nicht mehr so stark ins Auge fällt. Ebenso haben wir uns auch nicht von seinem schnellen Verschwinden im unbehandelten Präparat überzeugen können. Nach unseren Aufzeichnungen bleibt der Innenkörper im mit Wachs umrandeten, dauernd beobachteten Deckglaspräparat mindestens 7—8 Std. erhalten, er läßt sich auch nach dieser Zeit vital mit Neutralrot und nach Sublimat-Alkohol-Fixation mit Heidenhains Hämatoxylin in charakteristischer Weise färben.

Der Innenkörper selbst stellt sich im allgemeinen als eine homogene Masse dar. Von verschiedenen Untersuchern sind gelegentlich gewisse Strukturen beobachtet worden. Cunningham (14) erwähnt ein feingewölkttes Aussehen mit mehr oder weniger distinkter Vakuolisierung, Chatton (12) (bei Gecko-Blastocystis) „des filaments, des grains ou des bâtonnets“, die er als Koagulationserscheinungen oder Sekretionsstörungen auffaßt, Flu (20) sah bei Vitalfärbung mit Neutralrot manchmal Strukturen in Form von feinen Körnern und Fäden. (Ueber Strukturen des Innenkörpers bei Färbungen s. später.) Auffallende Strukturen im frischen Präparat haben wir nicht beobachtet.

Die innere Scheibe ist nicht immer kreisrund, sondern oft oval oder eingebuchtet und unregelmäßig verzerrt. In besonderen Fällen zeigt sie sich eingeschnürt (Fig. 13, 14).

3. Die plasmatischen Randpartien. Ein plasmatischer, schwach lichtbrechender Außenkörper umzieht entweder als schmaler Saum den ganzen Innenkörper, oder liegt ihm nur teilweise an. Derartige Teilsäume haben, wie dies Swellengrebel (56) treffend ausgedrückt hat, die Form einer Mondsichel (crescent). Sie umgeben oft zu zweien oder dreien den Innenkörper (Fig. 6, 8, 11), in ihnen liegen stärker aufleuchtende Körnchen, von denen eines meist besonders groß und deutlich hervortritt und den Anschein eines bläschenförmigen Kernes erweckt. Häufig liegen mehrere gleichgroße Körnchen in diesen Säumen nebeneinander, oder diese besitzen eine anscheinend grobalveoläre Struktur. Größe, Zahl und Stellung dieser Körnchen ist oft recht wechselnd, wengleich sich manchmal auch gewisse Gesetzmäßigkeiten zu ergeben scheinen, worauf bei der Besprechung der gefärbten Präparate näher eingegangen werden soll.

Die äußere Begrenzung der plasmatischen Außenpartien des Organismus ist, wie schon erwähnt, sehr zart; doppelte Konturierung des Randes haben wir nicht beobachtet, überhaupt nichts, was nach einer Zystenmembran aussieht. Auch Alexeieff (1) schreibt von Tritonblastocystis, daß die „couche périphérique plasmatique“ durch eine einfach konturierte Membran nach außen hin scharf geschieden sei. Bohne und v. Prowazek (6) nehmen dagegen eine, wenn auch nicht sehr dicke, so doch deutlich doppelt konturierte Zystenmembran an; v. Prowazek (46) vertrat seinerzeit den Standpunkt, das zwei Arten von Zysten existierten, von denen die sogenannten Vermehrungszysten (= Blastocystis) keine derbe Zystenmembran, die Autogamie-Zysten dagegen eine solche besäßen. Swellengrebel (56) leugnet das Vorhandensein einer Zystenmembran.

Verschiedene Untersucher haben ferner angegeben, daß die gesamte Blastocystis-Zelle noch von einer schleimartigen Hülle umgeben sei, die unmittelbar der plasmatischen Außenzone anliege. Bereits der erste Untersucher der Blastocystis, Cunningham (14), vermerkt, daß bei Lagerung der Organismen in Gruppen eine intercelluläre, gelatinöse Basis zu beobachten sei, ebenso spricht Wenyon (zit. nach Flu [20]) von einer Art gelatinöser Hülle, innerhalb der mehrere Blastocystis zusammenliegen sollen; ähnliches hat auch Flu (20) gesehen. Swellengrebel (56) lehnt dagegen das Vorhandensein eines „cyst-wall“ um den plasmatischen Ring ab, in ihrer gemeinsamen Arbeit sprechen Kuenen und Swellengrebel (34) nur davon, daß sie Blastocystis-Gruppen in gewebeartigen Zusammenklumpungen, speziell in der schleimigen Umhüllung von harten Skybala, beobachtet hätten, eine Angabe, die also die Möglichkeit offen läßt, daß eine schleimige Hülle nicht der Blastocystis-Zelle eigentümlich zu sein brauche, sondern vom Darmschleime des Kranken herrühren könne. Bohne und v. Prowazek (6) beschreiben dagegen eine schleimartige Außenzone der Blastocystis-Zelle, ebenso Alexeieff (1) bei Tritonblastocystis. Alexeieff sagt, daß sich um jede Zelle eine konzentrische Zone befinde, „où il n'y a absolument rien“. Er folgerte daraus, daß die sogenannten Zysten eine Hülle besäßen (une sorte de capsule gélatinée très transparent = couche gélatinée oder mucilageuse). Diese „Kapsel“ bildet eines seiner Argumente für die pflanzliche Natur dieser Gebilde. Uebrigens gibt in einer späteren Arbeit v. Prowazek (46) an, daß die damals von ihm als Trichomonas-Zysten aufgefaßten Gebilde nur anfangs eine Schleimhülle besäßen. Bei unseren Beobachtungen hatten wir manchmal den Eindruck, als ob eine Art unfärbbarer Hülle zu bemerken sei, aber nicht unbedingt immer. Ähnlich äußern sich auch Kofoid, Kornhauser und Swezy (67).

4. Teilungsformen. Häufig finden sich neben den einfachen Blastocystis-Formen auch solche, die, auseinandergezogen und in der Mitte eingeschnürt, den Eindruck von Teilungen erwecken (Fig. 13). Die früher rundliche Scheibe kann dabei sehr weitgehend eingeschnürt sein. Den hierbei entstehenden Hälften liegt dann die helle plasmatische Zone mit je einem oder mehreren Körnchen an jedem Pole mondsichelförmig an. Außerdem findet man gelegentlich auch noch unregelmäßiger gestaltete Gebilde mit breiten Plasmasäumen, die zwei stark lichtbrechende Scheiben getrennt enthalten (Fig. 7).

Diese sogenannten Teilungsformen werden ebenfalls von allen erwähnt (formes en biscuits, krakeling vormen, Bretzel- oder Hantelformen) und von den meisten als Vermehrungsvorgänge gedeutet. Kuenen und Swellengrebel (34) dagegen wollen diese Gebilde als Kunstprodukte auffassen; sie glauben, daß durch mechanische Einwirkungen die sehr biegsamen Blastocystis-Zellen solche Formen annehmen. Von der Elastizität der Zellen haben wir uns auch überzeugen können, und durch mechanische Einwirkungen (Druck auf das Deckglas) wohl starke Deformitäten, aber doch nie die exakten Teilungsformen hervorgehen sehen, wie man sie schon im ganz frischen Stuhl beobachtet. Es müssen wohl schon innere Ursachen sein, die derartig scharf begrenzte Figuren erzeugen; denn rein mechanisch würde ein zeitweilig durch Druck deformierter, ehemals kugelförmiger Körper nicht die veränderte Gestalt beibehalten, sondern zur Kugelgestalt zurückstreben. Damit soll aber in Hinsicht auf die Hypothese Kuenen

und Swellengrebels noch nicht behauptet sein, daß die inneren Ursachen für diese Formgestaltung denen entsprechen, die im biologischen Sinne eine Teilung veranlassen. Swellengrebel (56) erklärt die Teilung in seiner, im gleichen Jahr erschienenen Arbeit als bedingt durch „unbalanced condition“, veranlaßt durch Hypertrophie der Kugel und kombiniert mit einem graduellen Verschwinden des einschließenden Zytoplasmas, welches die Kugel veranlaßt, in zwei oder mehrere Teile auseinanderzubrechen. Die von Swellengrebel des weiteren angeführte „filamentöse Differenzierung“ des Zytoplasmas bei den Teilungsformen ist uns nicht aufgefallen, wohl aber, wie Swellengrebel erwähnt, daß die Teilungsformen bei sehr großen Blastocystis auftreten. Die Häufigkeit, in der man diese Teilungsformen antrifft, wechselt bei ein und derselben Person zu verschiedenen Zeiten sehr. Manchmal findet man kaum eine Teilung, zu anderer Zeit dagegen häufiger.

5. Entwicklungsstadien. Formen, die den von Alexeieff (1) bei Triton beschriebenen „kystes secondaires“ oder dem zu diesen Gebilden führenden „bourgeonnement multiple“ entsprechen konnten, haben wir nicht angetroffen, ebensowenig Vorgänge, die Chatton (12) von seiner Gecko-Blastocystis beschreibt. Zuzugeben ist, wie Chatton dies meint, daß das vom Menschen stammende Material vielleicht hierzu nicht geeignet ist, falls sich derartige Vorgänge in den höheren Partien des Darmes abspielen sollten. Dieser Frage läßt sich beim Menschen nur unter besonderen Umständen nähertreten, bei gelegentlichen Operationen oder Sektionen kurz nach dem Tode. Swellengrebel (56) hat ebenfalls in seinen Fällen die Alexeieffschen Formen der Weiterentwicklung nicht beobachten können und glaubt sogar, daß die Alexeieffsche Blastocystis gar nicht identisch sei mit der beim Menschen zu beobachtenden. Auch Flu (20) hat nur sogenannte Zweiteilung, aber ebenfalls nicht die sogenannte Alexeieffsche Sporulation gefunden. Kuczynski (32) will dagegen bei Tieren jene Stadien gesehen haben, auch v. Prowazek (47) gibt ein Bild wieder, das einer Sekundärzyste Alexeieffs entsprechen soll (Material vom Orang-Utang). Immerhin bleibt es im höchsten Grade auffällig, daß von so verschiedenen Untersuchern beim Menschen nicht wenigstens die Sekundärzysten beobachtet worden sind, die als echte Zysten (im biologischen Sinn) doch nach Alexeieff (2) als „formes de résistance“ der Weiterverbreitung des Organismus in der Außenwelt dienen sollen. Außerdem ist es merkwürdig, daß bei so akuten Darmprozessen, wie z. B. bei einigen unserer Fälle oder infolge der Gabe von Abführmitteln (Cascara, Magnesiumsulfat), wie dies Swellengrebel (56) getan hat, nicht gelegentlich Entwicklungsstadien, aus den oberen Partien des Darmes gewissermaßen ausgeschwemmt, im Stuhl zur Beobachtung kommen sollten, analog den Verhältnissen bei vegetativen Formen der in höheren Darmabschnitten lebenden Protozoen. Auch wenn ein gewisser Rhythmus die Zystenbildung beherrscht, so ist es mehr als sonderbar, wenn beim Menschen ein Zufall allen Untersuchern den Anblick von „Zysten“ vorenthalten habe. Daß so etwas immerhin möglich sein kann, lehrt allerdings die Geschichte der echten *Trichomonas*-Zysten.

Von Flu (20) ist weiterhin noch eine Art Knospung (knopvorming) beschrieben worden, wie sie für Blastomyceten typisch sein soll. Ähnliche merkwürdig verzerrte Formen, wie er sie abbildet, haben wir niemals angetroffen, sind auch von niemandem weiter bisher beschrieben worden.

## b) Das gefärbte Präparat.

1) Vitalfärbungen (Fig. 17—22). Bei der Frage nach der chemischen Natur des Innenkörpers spielt die Vitalfärbung mit Jod eine wichtige Rolle; die Angaben der verschiedenen Untersucher widersprechen sich. In Uebereinstimmung mit Swellengrebel (56), Kuenen und Swellengrebel (34) haben wir keine Braunfärbung auf Zusatz von jodhaltigen Lösungen erhalten und bezweifeln daher, sowie auch nach dem negativen Ausfall der Bestschen Färbung, die Glykogenatur des Innenkörpers. Cunningham (14) bezeichnet die Masse als ölig, Swellengrebel (56) als hyalin, Alexeieff (1) hält sie aber für glykogenartig<sup>1)</sup>, ebenso Bohne und v. Prowazek (6), da sie sich mit Jodjodkali braun färben soll. Dieser Ansicht haben sich zum Teil auch andere Untersucher der menschlichen Blastocystis angeschlossen.

Bohne und v. Prowazek (6) erhielten eine Braunfärbung bei Zusatz von Jod nach Behandlung mit Alkohol, um die Zystenmembran durchgängig zu machen. Daraus geht hervor, daß die Braunfärbung nicht so ohne weiteres gelingen sein kann. Aber auch Flu (20) bezeichnet die Farbe nach Zusatz von Lugolscher Lösung als mahagonibraun, Swellengrebel (56) dagegen gibt an, daß nur der plasmatische Ring sich gelblich färbt, die „Kugel“ aber ungefärbt bleibe. Kuenen und Swellengrebel (34) benutzen sogar die Unfärbbarkeit des Innenkörpers mit Jodjodkali direkt als differentialdiagnostisches Mittel gegenüber Verwechslungen mit Endolimax-Zysten, bei denen Braunfärbung des Reservestoffkörpers zu erzielen ist. Die Angaben der letzteren Untersucher können wir für unser Material bestätigen. Auch wir beobachten Braunfärbung von Endolimax-Zysten, während gleichzeitig der Blastocystis-Innenkörper hell blieb<sup>2)</sup>. Wir fanden nie eine auffallende Braunfärbung, die man als Glykogenreaktion hätte auffassen können. Zu beachten ist, daß der Innenkörper oft schon selbst eine bräunliche Farbe besitzt (allerdings nie so stark wie die oft gleichfalls im Stuhl vorhandenen roten Blutkörperchen), so daß eine gewisse Braun-

1) Die ersten Angaben Alexeieffs (1) beziehen sich auf Blastocystis von Triton, da er aber keine besonderen Arten von Blastocystis unterschieden wissen will, also wohl auch auf die des Menschen. — In einer neueren Arbeit (1916) über Mitochondrien bei einigen Protisten, in der Blastocystis behandelt, die Herkunft dieses Materials aber nicht besonders erwähnt wird, gelangt Alexeieff zu höchst merkwürdigen Befunden über die Rolle der Mitochondrien bei Blastocystis. Sie sollen bei der „Askosporenkeimung“ (Bildung der Kystes secondaires = echte Zysten) die Rolle von „glykoplastes“ spielen, indem sie analog den Amyloplasten bei der Stärkebildung Glykogen sezernieren. In dem Innenkörper der Kystoides (= Blastocystis) der gewöhnlichen Anschauung (s. o.) unterscheidet er neben dem Glykogen noch ein Metaglykogen, eine polymere Substanz des Glykogens, in der Form von „blocs“ oder mehr diffus verteilt in der Randpartie des Innenkörpers. Wie weit diese Ansicht vom rein chemischen Standpunkte aus zutrifft, läßt sich aus der Arbeit nicht ersehen, da eingehendere mikrochemische Untersuchungen nicht mitgeteilt werden.

2) Hier scheint uns eine gewisse innere Unstimmigkeit in den Angaben von Kuenen und Swellengrebel zu bestehen. Wenn Swellengrebel z. B. Blastocystis aus Limax-Amöben hervorgehen läßt, bei denen nach den Angaben in seiner Arbeit mit Kuenen der Reservestoffkörper Braunfärbung, also Jodreaktion zeigt, so müßte er es eigentlich auch bei den aus den Limax-Amöben hervorgegangenen Blastocystis tun. Eine Jodreaktion des Blastocystis-Innenkörpers lehnen aber Kuenen und Swellengrebel ab. Oder meinen vielleicht Kuenen und Swellengrebel mit dem schnellen Verschwinden des Innenkörpers der Blastocystis, daß es sich hier um Lösung des Glykogens im wässrigen Medium handele, da frische Stuhlpräparate doch meist mit irgendeinem wässrigen Medium hergestellt werden? Gesagt wird dies von Kuenen und Swellengrebel aber nicht.

färbung vorgetäuscht werden kann. Eine wirkliche Glykogenfärbung, wie sie bei Protozoen durch die Best-Färbung zu erzielen sein soll, haben wir außerdem trotz verschiedener Bemühungen nicht erreichen können. Auch Chatton (12) gibt für Gecko-Blastocystis an, daß er bei ihnen nie Glykogenreaktion erhalten habe; er hält die Masse für eiweißartiger Natur<sup>1)</sup>. Da aus neueren Untersuchungen übereinstimmend hervorgeht, daß Blastocystis keine Zystenmembran besitzt, enzystierte Protozoen aber sogar Jodreaktion der Reservekörper geben, so müßte eigentlich der Blastocystis-Innenkörper ohne Schwierigkeiten mit Jod reagieren. Es bliebe höchstens übrig, anzunehmen, daß der Innenkörper verschieden, je nach den Fällen, reagieren könnte. Die schleimige Hülle kann auch kaum einen Hinderungsgrund für das Eindringen des Reagenz abgeben, da andere Farbstoffe ohne weiteres eindringen.

Ferner bestehen Differenzen über die Färbbarkeit mit Eosin. Chatton und Lalung-Bonnaire (11) bezeichnen den Innenkörper als ausgesprochen eosinophil (très éosinophil), Flu (20) wie auch Kuenen und Swellengrebel (34) können diese Angabe nicht bestätigen; nach ihren Untersuchungen färbt sich der Innenkörper (im unfixierten Präparat) niemals mit Eosin, nur die plasmatischen Randzonen nehmen diese Farbe auf. Meist sollen sie dies sofort tun, auch im frisch abgesetzten Stuhl, nur manchmal erst nach längerer Zeit. Kuenen und Swellengrebel (34) gründen auf dieses Verhalten zum Eosin die Ansicht, daß es sich hier nicht um lebendes Protoplasma, sondern um abgestorbenes oder sehr bald absterbendes handele, da sie nach anderweitigen Untersuchungen (33) die Färbbarkeit mit Eosin als Reaktion toten Protoplasmas ansehen. Ferner spricht ihrer Ansicht nach die Eosinreaktion durchaus gegen die pflanzliche Natur der Zellen, da bei diesen eine Eosinfärbbarkeit nicht allgemein zu beobachten ist. Die Unfärbbarkeit des Innenkörpers mit Eosin können auch wir für frisches Material bestätigen, sie legt aber auch den Gedanken nahe, daß die Masse des Innenkörpers kein eigentliches Hyalin darstellt, wie man das nach der Bezeichnung Swellengrebel's annehmen könnte, da Hyalin sich mit Eosin charakteristisch färbt. Die von Kuenen und Swellengrebel (34) beobachtete schnelle Färbung der plasmatischen Randpartien haben wir nicht gesehen. In unseren Fällen mit außerordentlich reichlichem Blastocystis-Gehalt färbte sich der Außenkörper fast regelmäßig erst nach längerer Zeit.

Sehr charakteristisch ist die Reaktion des Innenkörpers bei Neutralrotzusatz, indem er sich elektiv braunrot färbt. Flu (20) erwähnt die Rotbraunfärbung ebenfalls, desgleichen gibt v. Prowazek (47) eine Gelbrotfärbung bei Neutralrotmethylenblauzusatz an. Flu verzeichnet noch die Beobachtung, daß hierbei manchmal im Innenkörper Strukturen in Gestalt eines Systems von unregelmäßigen Körnern auftreten. Diesen Befund konnten wir besonders bei Vitalfärbung mit alkalischem Methylenblau erheben. Ueberhaupt ergaben sich mit dieser Farbe sehr interessante Bilder. Nach Zusatz des Methylenblaus fiel auf, daß bei einem großen Teile der Zellen der Innenkörper dunkelblau gefärbt war, während er

1) In der geschichtlichen Uebersicht war schon darauf hingewiesen worden, daß der sehr ähnliche Reservestoffkörper von Dermozystidium sich wie ein Albumin verhält. — Die gleichzeitige Jodreaktion des Reservestoffkörpers der Endolimax-Zysten bei fehlender Braunfärbung der Blastocystis, die Eisenhämatoxylinfärbung des Binnenkörpers nach ausgiebiger Wasserbehandlung der Präparate, bei der ein leicht lösliches Glykogen sicher verschwunden wäre, scheint uns, abgesehen von unseren sonstigen Beobachtungen, durchaus dafür zu sprechen, daß kein Glykogen vorliegt. Fettreaktion gibt der Innenkörper auch nicht.

bei anderen hell oder höchstens leicht bläulich erschien. Bei fortgesetzter Betrachtung ein und derselben, anfangs dunkelblau gefärbten Zelle verschwand aber auf einmal (nach wechselnden Zeiten) die dunkle Farbe, so daß der Innenkörper nunmehr (im optischen Querschnitt) hellblau erschien. Einstellung auf die höheren Partien der gewölbten Scheibe des Innenkörpers zeigte aber, daß die Oberfläche überzogen war von einem feinfädigen Netzwerk, das aus kleinsten blauen Körnchen bestand (Fig. 21, 22), — zweifellos der Ausdruck einer Entmischung der Farbe an der Oberfläche des Innenkörpers. Ganz besonders deutlich wurden ferner bei Methylenblauzusatz die Strukturen im Außenkörper. Innerhalb eines oft grobwabigen, bläulichen Protoplasmas traten die als Kerne anzusprechenden großen Körnchen tiefblau hervor, gegen das hellblaue Plasma durch eine helle Zone geschieden (Fig. 17, 18, 19, 20). Das Aussehen dieser Kerne war mit dem einer *Limax*-Amöbe zu vergleichen. Diese Struktur der Kerne ließ sich allerdings nicht bei allen Zellen gleich gut beobachten, bei manchen war die das Kerninnere umgebende helle Zone nicht so deutlich. Diese Verhältnisse stimmen besonders mit einer Angabe von Brumpt (10) überein, der den Kern folgendermaßen beschreibt: „Le noyau est représenté par une zone claire, qui entoure la masse chromatique centrale“.

2) Das fixierte und gefärbte Präparat (Fig. 23—51). Als Färbungen nach feuchter Fixierung haben wir die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung und die Färbung mit Delafields Hämatoxylin bevorzugt. Am zweckmäßigsten ist es, beide Färbungen nebeneinander vorzunehmen, da beide Färbungen sich gegenseitig oft ergänzen. Flu (20) hat wegen leichterer Differenzierbarkeit die Färbung mit Delafields Hämatoxylin vorgezogen. Feuchte Giesma-Färbung haben wir nur gelegentlich vorgenommen. Trockenausstriche sind nur für besondere Zwecke brauchbar.

Die Gramsche Färbung fiel negativ aus. Dies gibt auch Flu (20) an, ein Befund, der doch sehr auffallend ist, wenn es sich bei Blastocystis um saccharomycetenähnliche Organismen handeln soll, die im allgemeinen grampositiv sind.

Färbung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und Delafields Hämatoxylin: Über den Effekt der Heidenhain-Färbung gehen die Ansichten auseinander. Nach den einen Angaben färbt sich der Innenkörper zumeist tiefschwarz [z. B. Neumann-Mayer (41), Werner (72)] nach den anderen [z. B. Kuenen und Swellengrebel (34)] mehr grau und nur selten schwarz. Auch Chattons (12) Innenkörper der Gecko-Blastocystis färbt sich, nach seinen Abbildungen zu schließen, nicht schwarz. Wir haben in unserem Material meistens tiefschwarze Färbung erhalten, seltener nur Graufärbung. Der Grund für dieses wechselnde Verhalten kann nicht etwa in der verschiedenen Handhabung der Methodik (z. B. starke Differenzierung) zu erblicken sein; eher kann eine verschiedene chemische Beschaffenheit des Innenkörpers dafür verantwortlich gemacht werden. Dies geht unserer Ansicht nach daraus hervor, daß man die Differenzierung mit Eisenalaun ziemlich weit treiben kann, der Innenkörper aber noch als letzter seine schwarze Farbe beibehält. Andererseits beobachteten wir, in einem Gesichtsfelde, benachbart, hellgraue und schwarzgefärbte Blastocystis-Innenkörper nebeneinander, auf die das Differenzierungsmittel nicht anders als gleichmäßig eingewirkt haben konnte. Es wäre hier daran zu denken, daß das von Kuenen und Swellengrebel (34) wie von Swellengrebel (56)

beobachtete schnelle Verschwinden des Innenkörpers, das wir wiederum nicht beobachtet haben, mit der Färbbarkeit im Zusammenhang stehen könnte. Swellengrebel (56), wie auch v. Pro wazek und Bohne (6), stellten fest, daß manchmal nur ein zentraler Teil des Innenkörpers sich schwarz färbte, während die Peripherie gelbbraun erschien<sup>1)</sup>. Dies haben wir nur ganz selten gesehen. Strukturen konnten wir bei Eisenhämatoxylin nicht nachweisen.

Häufig scheint der Innenkörper bei der Fixierung zu schrumpfen, meist trifft dies für die sehr großen Zellen zu, während die kleineren desselben Präparates kaum Schrumpfung zeigen (Fig. 40—43, 49). Der Innenkörper ist dann gegen die plasmatischen Randzonen durch eine helle, ungefärbte Zone abgesetzt. In mit Eosin nachgefärbten Heidenhain-Präparaten färbt sich bei einem Teil der Zellen der Innenkörper rot, es sind das wohl dieselben, die sich mit Eisenhämatoxylin überhaupt nicht färben, oder bei der Differenzierung die Farbe leicht abgeben. Flu (20) bringt die Eosinfärbbarkeit auch mit der Differenzierung in Zusammenhang.

Die plasmatischen Randsäume entfärben sich bei Heidenhain-Färbung im Differenzierungsmittel oft sehr leicht und nehmen bei Nachfärbung mit Eosin einen roten Ton an, Strukturen sind oft nur bei kräftigerer Färbung deutlich (Fig. 24, 25). Besser bringt die Säume dann die Färbung mit Delafields Hämatoxylin zur Darstellung; sie werden hellblau-violett und lassen eine wabige Struktur oft schön hervortreten. Allerdings nicht immer. Wie auch Swellengrebel (56) bemerkt, bildet das Plasma dann nur eine gefärbte linienförmige Zone um den Innenkörper. In einem unserer Fälle war dies gelegentlich einer Untersuchung in ganz auffälliger Häufigkeit der Fall. Die Blastocystis-Zellen waren zum Teil enorm groß, die Randsäume sahen wie aufgerollt aus, trotz sorgfältigen Fixierens und Färbens, Kerne waren in diesen Zellen kaum zu erkennen. Bei kleineren Formen desselben Präparates waren dagegen alle Einzelheiten gut erhalten (Fig. 39—49). In einem anderen unserer Fälle zeigte das Plasma der (durchweg großen) Blastocystis-Zellen ein sonderbar blasiges, vakuolisiertes Aussehen.

Der Innenkörper färbt sich mit Delafields Hämatoxylin violettbraun oder mehr gelblich. Der hellere Farbton des Innenkörpers bei dieser Färbung im Gegensatz zum schwarzen bei der Heidenhain-Färbung macht daher die Präparate in gewisser Weise übersichtlicher (Fig. 39—50).

Die Darstellung der im Plasma liegenden Kerne und Körnchen<sup>2)</sup> gelingt sowohl mit der Heidenhain-Färbung wie mit der Delafieldschen gut. Die schon bei der Methylenblauvitalfärbung zu beobachtenden Verhältnisse sind auch im gefärbten Präparate gut wahrzunehmen. Der oder die Kerne scheinen aus einem kompakten runden Korn zu bestehen, das von einer runden oder etwas länglichen hellen Zone umgeben ist (Fig. 40—44, 23, 26, 27—29). Diese Kernverhältnisse geben auch z. B. Brumpt (10), Flu (20), Kuenen und Swellengrebel (56) an. Letztere erinnern an das Aussehen eines Limax-Amöbenkernes.

1) Ein ähnliches Verhalten zeigt auch der Innenkörper von *Dermocystidium*.

2) Gelegentlich trifft man den Kern nicht im Plasma, sondern im Innenkörper liegend an, wie dies z. B. auch Brumpt (10) abbildet. Diese Lagerung ist nur eine scheinbare; der Plasmasaum mitsamt dem Kern ist auf dem Innenkörper fixiert worden (Fig. 51).



Bei feuchter Giemsa-Färbung stellt sich der Kern als leuchtend-rotes Korn dar, das Plasma färbt sich in dunkelbläulichem Tone, der Innenkörper hellblau, wie dies auch Stitt (54) angibt (Fig. 38).

Der Kern buchtet den Innenkörper im gefärbten Präparate gelegentlich etwas aus, wie dies z. B. auch Brumpt (10) abbildet. Manchmal scheint das zentrale Korn in einer auffallend großen Blase gelegen zu sein (Fig. 47, 48). Daß es sich hier um ein großes Karyosom und eine sehr große Kernsaftzone handelt, erscheint unwahrscheinlich. Derartige Blasen sind wohl auch die Ursache, daß, nach den Bildern im gefärbten Präparate zu urteilen, der Kern den Innenkörper ausbuchtet. Oft erscheint der Kern als feines Körnchen oder länglich-strichförmiges Gebilde. Auch beobachteten wir bei Heidenhain-Färbung eine Siegelringform des Kernes, indem das Chromatin nur an einer Stelle des Kernes zusammengeballt war, ähnlich wie dies Alexeieff (1, 2) bei seinen Tritonblastocystis abbildet. Er beschreibt den Kern als kugelig mit dem Chromatin in einer peripheren Calotte (Fig. 32). Flu (20) bezeichnet die Kerne als kleine, runde Chromatinkerne ohne Struktur oder als Kerne, bei denen an einem Ring von Chromatin an einem Pol das Chromatin halbmondartig verdickt sei. Bohne und v. Prowazek (6) beschreiben den Kern für einige Blastocystis-Formen als rundlich mit einem sehr deutlichen Karyosom und chromatischem Belag, für andere Formen (bei Teilungen) als nicht mehr bläschenförmig, wobei das verdichtete Chromatin halbmondförmig das verkleinerte Karyosom umfaßt. Swellengrebel (56) erwähnt, daß sich bei Blastocystis entweder ein chromatischer Körper finde, umgeben von einer hellen Zone, manchmal in seinem Zentrum Granula zeigend, oder zwei oder mehr von ungleicher Größe mit gelegentlich innerer Struktur.

Die Kerne finden sich entweder in der Einzahl oder zu mehreren in den plasmatischen Randsäumen. Die Verhältnisse liegen hier anscheinend auch sehr verwickelt. Oft liegen zwei Kerne von gleicher Größe ziemlich nahe nebeneinander, oft weiter voneinander entfernt, als ob sie gleichsam immer weiter auseinanderrückten, um dann schließlich ein sehr charakteristisches Bild zu ergeben, indem zwei Kerne durch den Innenkörper getrennt an entgegengesetzten Polen in je einem plasmatischen Halbmonde liegen. v. Prowazek (6, 46) glaubte, daß der Kern entweder bei den sogenannten Autogamiezysten (der Trichomonas) sich in 2 Tochterkerne teile, die nach der Ausstoßung von je 1—2, mit Eisenhämatoxylin sich schwarz färbenden, sehr hinfälligen Reduktionskörpern zu einem Synkaryon verschmelzen, die sich dann längs des Reservestoffballens mehrfach aufteile, andererseits nahm er eine einfache Zweiteilung bei den sogenannten Vermehrungszysten an (die typischen Blastocystis-Teilungsbilder). In einer späteren Arbeit (47), in der er sagt, daß Autogamie selten vorkomme, findet sich die Angabe, daß sich die Kerne meist allein vermehren und dann ganz außerordentlich hohe Zahlen erreichen. Außerdem erwähnt er, daß unabhängig vom Kern sich vermehrende schwarze Körnchen vorkommen, die dem Reservestoffballen anliegen, zuweilen Spindelform annehmen und bei der Teilung verschlungene Fäden bilden. Eine Deutung der sonderbaren Vorgänge konnte er nicht geben.

Wenn wir von allen spekulativen Deutungen absehen und nur eine Beschreibung der von uns beobachteten Verhältnisse geben wollen, so ist uns aufgefallen, daß wir in jenen Fällen, die akute und chronische

Darmstörungen zeigten und die zum Teil ungeheure Mengen von Blastocystis im Stuhle aufwiesen, zahlreiche Kerne und Körnchen von uns nicht wahrgenommen wurden. In diesen Fällen zeigten die kleineren Formen der Blastocystis meist nur einen einzelnen Kern, die größeren besaßen im Allgemeinen nicht mehr wie zwei. Dies konnten wir auch zu den verschiedensten Beobachtungszeiten immer wieder konstatieren. Entweder lagen bei den 2-kernigen Zellen die Kerne, wie vorher schon beschrieben, mehr oder weniger nahe beieinander oder sie standen sich gegenüber. Die letztere Stellung bedingte keineswegs immer eine sogenannte Teilungsform; der Innenkörper war ganz kompakt ohne eine Einschnürung zu zeigen. War eine Einschnürung vorhanden, so lag die Einschnürungsrichtung senkrecht zu der Verbindungslinie der beiden Kerne. Bilder, bei denen die Einschnürungsrichtung in derselben Linie wie die der Kernverbindungsline lag, erschienen veranlaßt zu sein durch starke durch das „Kernbläschen“ bedingte Einbuchtungen des Innenkörpers, also keine Teilungen zu sein (Fig. 14, 26, 32). Zu erwähnen ist hier noch, daß in manchen Präparaten der Innenkörper wie in einzelne Teile zersprungen aussah, wofür nicht irgendwelche methodischen Fehler verantwortlich zu machen sein schienen, da benachbarte Zellen gut erhalten waren (Fig. 50). Ein Auseinanderbrechen in zwei oder mehr Teile erwähnt auch Swellengrebel (56). Gelegentlich zeigte auch der Innenkörper scharfe Teilung (Achterform), ohne daß die plasmatischen Randpartien wesentliche Einschnürung zeigten.

Im Gegensatz dazu besaßen die Blastocystis-Formen aus dem Stuhle solcher Personen, die durchaus gesund waren, eine ganz auffallende Häufigkeit von Kernen und Körnchen (Fig. 15, 16, 33—37). Dabei waren diese Formen keineswegs besonders groß, nur ihre Plasmasäume waren auffallend breit und seltener mondsichelartig, sondern mehr ringförmig. Im übrigen glichen sie durchaus der typischen Blastocystis. Teilungsformen waren außerdem selten. So hohe Zahlen von Kernen, wie sie v. Prowazek (47) bei Blastocystis des Orang-Utang beschrieben hat, haben wir allerdings nicht gesehen: v. Prowazek zählte deren 44; wir haben nur bis zu neun feststellen können.

Unsere Beobachtungen über den Zusammenhang zwischen Aussehen, Kernzahl der Blastocystis und dem Zustand der befallenen Personen findet eine Bestätigung in der Arbeit von Brumpt (10). Brumpt bildet relativ große Blastocystis-Zellen mit nur 1—2 (bei Teilungen 4) Kernen ab, die er bei einem Patienten „après purgation“, also in flüssigeren Stühlen, fand, dagegen sehr viel kleinere Formen und solche mit zahlreichen Kernen (—10) aus festen Stühlen.

Für das Vorhandensein einer Art Schleimhülle um die ganze Zelle sprachen die gefärbten Präparate (Fig. 39). Einfach als durch Schrumpfung der Zelle beim Fixieren entstandene Retraktionszonen konnten die um die Zellen sichtbaren hellen Höfe nicht zu erklären sein, da in ein und demselben Präparat Zellen mit und ohne helle Zone vorhanden waren. Unser Befund würde auch zu v. Prowazeks (46) Angabe passen, nach der die Schleimhülle nur anfangs, also auch nicht immer, zu beobachten ist. Irgendeine Gesetzmäßigkeit in dem Auftreten dieser Zonen zur Größe der Zelle, der Kernzahl usw. haben wir allerdings nicht feststellen können.

### C. Die Lebensdauer der Blastocystis außerhalb des Körpers.

Schon in Cunninghams (14) Arbeit findet sich die Angabe, daß Blastocystis sehr vergänglich ist, und daß die Zellen innerhalb 24 Std. aus dem Stuhl verschwinden. Ihr schnelles Zugrundegehen vermerkt auch Alexeieff (1) für Tritonblastocystis, desgleichen auch Wenyon (61) und v. Prowazek (47). Letzterer sagt, daß nur einzelne Zysten sich als resistenter erweisen und länger als 24 Std. zu beobachten seien. Ebenso gibt Ucke (58) an, daß sie nach 6–12 Std. nur noch selten nachweisbar sind und nur in vereinzelt Fällen von ihm nach 24 Std. noch gefunden wurden. Auch wir konnten stets konstatieren, daß die Organismen innerhalb 24 Std. verschwinden, bereits nach 8 Std. konnten sie nur vereinzelt und nicht mehr in typischer Form vorgefunden werden. Im Gegensatz dazu hielten sich, wie schon erwähnt, die Organismen nach unseren Beobachtungen im wachsumrandeten Deckglaspräparat weit über 24 Std., wobei auch die ursprüngliche Struktur einigermaßen gut erhalten blieb.

Dieses schnelle Verschwinden der Blastocystis ist ein Umstand, der einmal recht wenig zu der Vorstellung von einer Zyste paßt, die biologisch doch gerade Dauerfunktionen in der Außenwelt erfüllen sollte, zudem auch gegen die Vorstellung von der Pflanzennatur der Organismen spricht, bei denen eine so schnelle Hinfälligkeit zum wenigsten höchst sonderbar wäre.

Die Ursache der schnellen Auflösung ist uns nicht recht klar geworden. Cunningham (14) meinte, sie sei mit der Säurebildung im abgesetzten und sich selbst überlassenen Stühle in Zusammenhang zu bringen. Dagegen sprechen aber unsere Beobachtungen; denn Blastocystis verschwindet auch, wenn der Stuhl noch deutlich alkalisch reagiert. Außerdem ließ sich durch Säurezusätze künstlich keine Auflösung herbeiführen, es traten dann vielmehr deutliche Gerinnungserscheinungen im plasmatischen Ringe auf. Aus Uckes (58) Angaben könnte man sogar schließen, daß Blastocystis in sauer reagierenden Stühlen vorkommen könnte, was wir allerdings nicht beobachtet haben, da die von ihm untersuchten Trichomonas-Stühle zum Teil derartige Beschaffenheit aufwiesen und aus seinen Mitteilungen hervorgeht, daß er die Diagnose auf Trichomonas auch aus der Anwesenheit ihrer „Zysten“ (= Blastocystis) gestellt hat. — Auch Luftabschluß verhindert das Verschwinden nicht, wenn wir frische Blastocystis-Stühle unter anaëroben Verhältnissen aufbewahrten. — Zu erwähnen ist noch, daß v. Prowazek (47) bei der Auflösung der Zellen einen komplizierten Vorgang beschrieben hat, indem nämlich fetttröpfchenartige Einschlüsse durch besondere Exportpseudopodien durch die Gallerthülle nach außen abgestoßen würden, wobei sich die Organismen stark verkleinerten.

Bei unseren Kulturversuchen, auf die wir später zu sprechen kommen, hielten sich die Zellen aber mehrere Tage.

### D. Ueber Kulturversuche mit Blastocystis (Fig. 52–60).

Einleitend hatten wir bereits erwähnt, daß in neuester Zeit Barret (4) Blastocystis im Reagenzglas gezüchtet und auf diesem Wege den Beweis erbracht haben will, daß der Organismus pflanzlicher Natur sei.

Wir hatten ferner auch angeführt, daß schon Cunningham (14) 1881 sich mit Kulturversuchen beschäftigt hatte. Als Nährflüssigkeit benutzte Cunningham Kuhdünger. Das Resultat dieser Versuche veranlaßte ihn, die ebenfalls schon erwähnte Hypothese aufzustellen, daß die Organismen als Bindeglied zwischen Amöben und Flagellaten anzusehen seien. Aus seinen Experimenten geht für uns als wesentlich hervor, daß die Zellen sich längere Zeit gehalten haben müssen, da Cunningham andererseits das schnelle Verschwinden der Blastocystis aus dem Stuhle erwähnt. Weiterhin glaubte Alexeieff (1), daß die von Dobell (15) 1908 beobachtete Keimung eines sonderbaren Organismus aus dem Froschdarm, die dieser Autor in Parallele mit v. Prowazeks Autogamiezysten von *Bodo lacertae* setzt, vielleicht mit einer Weiterentwicklung seiner sekundären Blastocystis-Zysten (=Sporen, echte Zysten) in Verbindung zu bringen sei. Anscheinend handelt es sich bei Dobells Organismen um oidienähnliche Gebilde. Sonst fanden wir keine Angaben über etwaige Weiterentwicklung unter künstlichen Bedingungen bis auf Barret. Barret züchtete nach den Angaben der uns vorliegenden Referate die Blastocystis in einer Mischung von menschlichem Serum und Kochsalzlösung. Leider ist aus den Referaten die nähere Zusammensetzung des Kulturmediums nicht zu ersehen; wir glaubten, die Angaben dahin interpretieren zu dürfen, daß es sich um eine Mischung von Serum mit 0,5-proz. Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 gehandelt hat. In der Tiefe der Kulturröhrchen will Barret Sprossung und Zweiteilung, in Hunderten von Präparaten nur 2mal Alexeieffs multiple Teilung beobachtet haben, 25 Uebertragungen auf neue Nährböden seien ihm geglückt.

Wir haben sowohl menschliches Serum als auch Aszitesflüssigkeit zu 10 und 20 Proz. wie auch die bei uns übliche 13-proz. Nährgelatine für Kulturzwecke zu 5, 10 und 20 Proz. mit  $\frac{1}{2}$ -proz. Kochsalzlösung vermischt, blastocystishaltiges Stuhlmaterial (möglichst Schleim jener Fälle, die enorme Mengen von Blastocystis aufwiesen) zugesetzt und bei 37° C und bei Zimmertemp. gehalten. Hierbei ergab sich bei 2 Versuchen, daß die Blastocystis-Zellen bis zu 11 Tagen in diesen Medien erhalten bleiben konnten. Am wenigsten zweckmäßig erwies sich uns der Serumzusatz wegen starker Bakterienentwicklung, am besten die Aszitesmischung. In dem ersten unserer Versuche wurden von uns am 5. Tage in der 20-proz. Aszitesnährlösung noch durchaus typische Blastocystis-Formen gefunden, deren Kerne auffallend hervortraten und grünlich aufleuchteten. Der Innenkörper war zum Teil gut erhalten, oft aber auch unregelmäßig gestaltet. Daneben fanden sich auch kleine, verzerrte und sehr große, aufgetrieben aussehende Formen, bei denen der Innenkörper verschwunden war und die keine deutlichen Kerne, sondern nur noch kleine Körnchen zeigten. Teilungen fanden sich nicht. Unter zunehmender Vergrößerung der Zellen, Blasenbildung in den plasmatischen Randsäumen und Verschwinden des Innenkörpers ging diese „Kultur“ nach dem 10. Tage zugrunde. In einem 2. Versuche blieben gleichfalls in den ersten Tagen (2 Tage) die Zellen zum Teil gut erhalten; es fanden sich aber neben sehr kleinen schon ganz enorm vergrößerte Zellen, an denen nur schmale, körnchenhaltige Plasmasäume zu sehen waren. Bei den typischeren Formen gab der Innenkörper mit Neutralrot die charakteristische Braunrotfärbung, bei Methylenblausatz war gelegentlich auch die Kernform wie bei frischem Material zu beobachten. Im Verlauf der Beobachtung (6 Tage) traten auch hier wie früher große Formen neben stark geschrumpften und verzerrten auf, alle zeigten mehr oder weniger deutlich Vakuolisierung und Auflösungserscheinungen. Teilungsformen ähnliche Gebilde konnten in diesem Falle beobachtet werden, wahrscheinlich aber nur überlebende Formen. Nach dem 11. Tage fanden sich keine Blastocystis in den Kulturröhrchen mehr.

Abimpfungen der „Kulturen“ auf neue Nährböden führten zu keinem Ergebnis. Auch Kulturversuche auf festen Nährböden (Agar, Gelatine) mit den verschiedensten Zuckerezusätzen ergaben kein Resultat.

## E. Ueber das Vorkommen von Blastocystis beim Menschen.

## a) Häufigkeit des Vorkommens.

Die in der Literatur über die Häufigkeit des Vorkommens von Blastocystis beim Menschen niedergelegten Angaben schwanken beträchtlich. Alexeieff (1) erwähnt, daß der Organismus im menschlichen Stuhl nach einer Choleraepidemie (Krim) in ca. 50 Proz. (16 von 31) der Fälle angetroffen wurde, wahrscheinlich sei aber der Prozentsatz noch höher. Das gerade bei bzw. nach Cholera häufige Vorkommen geht auch schon daraus hervor, das Swayne (55) einen Organismus als „cholera cells“ benannte, der nach Alexeieffs Auffassung nichts anderes als Blastocystis gewesen ist. Ebenso läßt sich die Angabe Cunninghams (13) vom Vorhandensein ovaler und kreisförmiger Zellen in 87 von 100 untersuchten Cholerastühlen zum größten Teile auf Blastocystis beziehen. Cunningham beobachtete sie auch bei 68 (nur in 7 Proz. reichlich) von 100 Nicht-Cholerakranken, 26 dieser untersuchten Personen zeigten aber leichte Darmstörungen, 2 litten an Desenterie. Manche Untersucher, wie z. B. Wenyon (61), Kuenen und Swellengrebel (34), glauben, daß Blastocystis überhaupt bei sorgfältigem Suchen in jedem Stuhle zu finden sei, Gäbel (21) bezweifelt diese Angabe, Flu (20) findet aber ebenfalls in fast 100 Proz. der untersuchten Stühle Blastocystis. Bei seinen Personen handelte es sich um Europäer, die in Niederländisch-Indien gelebt hatten. Young (66) fand in Amazonas (Brasilien) bei Stuhluntersuchungen Blastocystis in 48,2 Proz. bei Soldaten (251 untersuchte Stühle) und in 36,1 Proz. bei Schulkinder (144 Stühle). Kofoid, Kornhauser und Swezy (67) beobachteten Blastocystis in 1120 Stühlen 440mal (ca. 40 Proz.), Kofoid, Kornhauser und Plate (70) bei 1120 „Overseas“ in 30,5 Proz. und bei 300 „home service troops“ in 33,3 Proz., in anderen Untersuchungsreihen fand Kofoid (71) Blastocystis bei 2300 „Overseas“ in 34,1 Proz., bei 576 „home service troops“ in 31,4 Proz., noch andere Untersuchungen ergaben bei 91 „Overseas“ in 71,4 Proz., bei 34 „home service troops“ in 55,9 Proz., bei 29 Soldaten „of unknown affiliation“ in 48,3 Proz. Anwesenheit von Blastocystis. Da die meisten Angaben über Blastocystis sich auf Patienten beziehen, die sich in den Tropen aufgehalten haben, so drängt sich die Vermutung auf, daß die Herkunft der untersuchten Personen eine Rolle spielen könnte. Auch v. Prowazek (56) fand den damals als Trichomonas-Zyste aufgefaßten Organismus in Samoa häufig, ebenso Mathis (68) in Tonkin. Das Material von Ucke (58)<sup>1)</sup> wie auch von Alexeieff (1) bezieht sich dagegen auf Rußland, resp. Südeuropa, ebenso Rodenwaldts (51) letzte Angabe auf Kleinasien. Vielleicht ist der Zusammenhang mit den Tropen nur ein indirekter, einmal werden Tropenpatienten fast regelmäßig auf Darmparasiten untersucht, so daß hier die Möglichkeit, den Organismus zu finden, größer ist, als bei Einheimischen, zum anderen könnte die nicht immer hygienische Lebensweise oder mangelnde Sauberkeit in südlicheren Ländern ebenso zur Infektion mit Protozoen auch zur Infektion mit Blastocystis Veranlassung geben, falls es sich bei Blastocystis um einen selbständigen Organismus handelt. Gegen die tropische Herkunft, aber für einen Zusammen-

1) Ucke gibt für Petersburg an, daß er in ca. 60 Proz. der untersuchten Stühle Trichomonaden gefunden habe. Diese Zahl kann nach seinen sonstigen Ausführungen mit gewisser Einschränkung für Blastocystis gelten.

hang mit unsauberer Verhältnissen würde auch das Vorhandensein von *Blastocystis* bei Tieren sprechen. Ueber das Vorkommen von *Blastocystis* in europäischen Kulturländern haben wir, abgesehen von den schon erwähnten Notizen, kaum Angaben finden können. Verwertbar erscheinen die Zahlen von Hetzer, die bei Gelegenheit von Darmamöbenuntersuchungen angibt, in ca. 8 $\frac{1}{2}$  Proz. der Fälle (in 50 von 427 Stühlen) „*Trichomonas*-Zysten“, also *Blastocystis*, gefunden zu haben, eine Angabe, die für uns deswegen besonders interessant ist, da sie sich auf Material von Bonn und Umgegend bezieht. Wir fanden die charakteristische *Blastocystis* ziemlich selten und möchten bemerken, daß die Diagnose bei spärlichem Befunde oft gar nicht leicht ist. In 82 untersuchten frischen Stühlen trafen wir den Organismus in 18,3 Proz.<sup>1)</sup> an. Daß er, wie manche Autoren sagen, bei sorgfältigem Suchen schließlich in jedem Stuhle zu finden sei, können wir nicht bestätigen. Wir haben auf diesen Punkt besonders geachtet und einzelne Personen sehr häufig immer wieder untersucht, ohne je einmal auch nur eine Zelle zu finden, die man für *Blastocystis* hätte halten können.

b) Bedeutung des Vorkommens der *Blastocystis* beim Menschen.

Eine Frage, die sich mit der Frage etwaiger Pathogenität des Organismus verknüpft, ist die, ob sein Vorhandensein mit Störungen der Darmfunktion verbunden ist. *Blastocystis* ist, wie aus dem Vorhergehenden schon ersichtlich war, im Stuhle darmgesunder wie darmkranker Personen anzutreffen. Irgendwelche Gesetzmäßigkeiten aufzustellen halten wir für verfrüht. Immerhin zeigten unsere ersten eingehend untersuchten Fälle mit einem geradezu überraschend großen Gehalt an *Blastocystis* schwere Darmerscheinungen.

Fall J. litt seit Juli/Oktobre 1918 an häufigen Durchfällen, die sich seit September 1918 so verstärkten, daß fast stündlich Stühle erfolgten. Wegen des auftauchenden Verdachtes auf Amöbenruhr (J. stand 1918 an der Westfront, war nie in den Tropen gewesen), wurde er Sommer 1919 dem Institut zur Untersuchung überwiesen. Dysenterieamöben wurden nie gefunden, wohl aber *Endolimax williamsi* (*Jodamoeba bütschlii*) und *Entamoeba coli* in reichlicher Menge. *Blastocystis* fand sich damals schon sehr reichlich, noch zahlreicher im Sommer 1920 bei einer erneuten Untersuchung der stark blutigen, schleimigen Stühle. Das Leiden komplizierte sich durch einen Ileus, der die Anlage eines Anus praeternaturalis nötig machte. Nach den Beobachtungen im Hamburger Tropeninstitut, wo ebenfalls keine pathogenen Amöben gefunden wurden, wurde im Eppendorfer Krankenhaus in Hamburg ein hochsitzendes Mastdarmkarzinom festgestellt und durch Resektion entfernt. Ruhrveränderungen fanden sich nicht<sup>2)</sup>. Leider ist dieses resezierte Darmstück nicht besonders auf *Blastocystis* untersucht worden, da für den Chirurgen und Pathologen keine besondere Veranlassung dazu vorlag, und da sie von unseren Untersuchungen, wie wir von der Vornahme der Operation nichts wußten. Ein solcher seltener Fall hätte vielleicht wertvolle Aufschlüsse über Sitz und Art der *Blastocystis* geben können. Zwei Monate nach der Operation war der Stuhl nach Angabe des Patienten ziemlich normal, dann aber begannen wieder häufige und schleimige Stühle aufzutreten. *Entamoeba coli* wurde wieder vom Hamburger Tropeninstitut festgestellt, verschwand aber auf Yatrenbehandlung. Bei einem gelegentlichen Besuche des Patienten im Mai 1921 wurde in den stark schleimigen, aber nur wenig blutigen Faeces wieder massenhaft *Blastocystis* von uns festgestellt, vereinzelt Amöben und — wie auch schon in den ersten Präparaten — eigenartige kleine, meist zweikernige, in einer Hülle liegende Organismen, deren Natur uns gänzlich unklar geblieben ist. Der reichliche

1) Auffallend erscheint, daß in 9 von 11 im Sommer (August—September) untersuchten Stühlen *Blastocystis* gefunden wurde. Die Mehrzahl der oben erwähnten 82 Untersuchungen fand dagegen im Winter statt.

2) Nach freundlicher brieflicher Mitteilung von Herrn Priv.-Doz. Dr. Roedelius-Hamburg.

Blastocystis-Befund in den Stühlen blieb bis Ende 1921 und Anfang 1922 der gleiche. Der Zustand des Patienten sprach für eine Verschlimmerung seines karzinomatösen Leidens.

Von Fall B. wurde der Stuhl dem Institut wegen des Verdachtes auf bazilläre Dysenterie von der hiesigen medizinischen Klinik eingesandt. Der Stuhl war eine blutig-schleimige, zähe Masse, die massenhaft sehr große Blastocystis-Formen enthielt. (Nach der uns zur Verfügung gestellten Krankengeschichte war das Leiden schon 1914 und 1917 in ähnlicher Weise aufgetreten; auf Tannineinläufe und nach Operation einer Darmfistel erfolgte damals Heilung.) Dysenterieerreger oder sonstige pathogene Keime wurden von uns nicht festgestellt, rektoskopisch fanden sich innere Hämorrhoiden. Auf diätetische Behandlung erfolgte allmählich Besserung.

Diesen zwei Fällen mit ausgesprochen schweren Darmstörungen seien zwei länger beobachtete Fälle von Vorkommen der Blastocystis bei darmgesunden Personen gegenübergestellt.

Im Fall F. fand sich bei einer gelegentlichen Stuhluntersuchung Blastocystis, desgleichen bei Fall Ba. Beide Personen waren vollständig gesund; Ba. hatte einen stets geregelten Stuhlgang, F. häufiger Obstipation. Ba. war vor 10 Jahren nur einmal kurze Zeit als Schiffsarzt in Westafrika gewesen, F. hatte die Tropen nie besucht, war aber einmal in englischer (Schottland) und einmal in französischer Gefangenschaft (Marseille) gewesen. Bei beiden Personen fand sich Blastocystis nicht gerade reichlich, aber doch ziemlich häufig, und zwar in einer etwas kleinen und kernreichen Form, im Gegensatz zu Fall J. und B., wo sie meist sehr groß war. Beide Personen beherbergten übrigens *Entamoeba coli* und *Endolimax nana*.

Der Befund von Blastocystis bei Obstipation (Fall F.) deckt sich mit der Angabe von v. Prowazek (46), der in Samoa die sogenannten *Trichomonas*-Zysten bei der dort häufigen chronischen Obstipation angetroffen hatte. Auch Kuenen und Swellengrebel (34) fanden die Blastocystis in der schleimigen Umhüllung harter Skybala. Aus diesen Beobachtungen geht wohl hervor, daß Blastocystis an sich keine pathogene Rolle spielen kann und daß der Befund bei Darmkrankheiten, wie er auch von verschiedenen Autoren angeführt wird, nur ein sekundärer ist. Bereits Cunningham (14) beobachtete, daß der Organismus bei Darmstörungen in zunehmender Zahl erscheint und von ihm in gewissen Fällen von Cholera in „abundanter“ Menge angetroffen wurde. Eine ähnliche Beobachtung verzeichnet ja auch Alexeieff (1).

In Hinsicht auf die frühere Hypothese Swellengrebel's (56) ist es interessant, daß wir bei drei der oben erwähnten Fälle sicher auch Amöben feststellen konnten, weil Swellengrebel in manchen Fällen Blastocystis direkt von *Limax*-Amöben abzuleiten versucht. Der Fall J. könnte aber auch für die von Kuenen und Swellengrebel (34) weiterhin aufgestellte Hypothese herangezogen werden, nach der Blastocystis vielleicht auch mit Zellen des Wirtes in Zusammenhang gebracht werden könnte, da im Fall J. organpathologische Veränderungen (Karzinom) vorhanden waren. Außerdem noch aus folgendem Grunde: der Kranke bekam von uns, um festzustellen, ob Blastocystis auf Mittel reagiere, die sich gegen Darmprotozoen richten, innerlich Yatren, das bei Amöbendysenterie günstig gewirkt hat (Mühlens). Aber auch während und nach reichlichem Gebrauch von Yatren fanden sich die Blastocystis-Formen vor. Wir haben dieses neuere Mittel deswegen versucht, da schon verschiedene Mittel angewendet worden sind, die ebenfalls auf Protozoen abtötend wirken, Blastocystis aber nicht beeinflußten. Gäbel (21) sah bei Methylenblaubehandlung die Blastocystis nicht schwinden, vielmehr traten sie gerade sehr reichlich auf, während gleichzeitig die von ihm beobachteten Flagellaten infolge der Behandlung fehlten. Flu (20) fand, daß Blastocystis durch

Emetin nicht beeinflusst wird; auf Gaben von Cascara und Magnesiumsulfat verschwanden in den Fällen von Swellengrebel (56) wohl die Flagellaten, nicht aber die Blastocystis. Lows (36) Behandlungsversuche sind uns unbekannt geblieben, da wir die Originalarbeit nicht einsehen konnten, Swellengrebel (56), der ihn zitiert, erwähnt nur, daß ihm eine eventuelle pathogene Rolle nicht sicher erscheine. Diesen therapeutischen Versuchen kann man wohl entnehmen, daß die gleichzeitige Anwesenheit gewisser Protozoen nicht unbedingt für das Vorhandensein der Blastocystis notwendig zu sein braucht. Schon Cunningham (14) erwähnt, daß Blastocystis in der Regel mit Amöben und Flagellaten vergesellschaftet sei, aber auch ohne sie zu beobachten wäre.

c) Vorkommen der Blastocystis innerhalb des Darmkanals auf Grund pathologisch-anatomischer Untersuchungen.

Ueber das Auftreten von Blastocystis innerhalb des menschlichen Darmkanals wissen wir nichts. Daß pathologisch-anatomische Untersuchungen beim Menschen angestellt worden sind, ist uns nicht bekannt. Eine einzige Angabe über das Vorkommen der Blastocystis innerhalb des Darmtraktes findet sich bei v. Prowazek (47), allerdings nicht für den Menschen, sondern für einen menschenähnlichen Affen (Orang-Utang). Aber auch mit dieser Notiz ist nicht viel anzufangen; v. Prowazek erwähnt nur, daß er die Blastocystis tief in Schleimhautfalten (wahrscheinlich des Dickdarmes) gesehen habe. Aus den Stuhlbefunden beim Menschen, besonders in den Fällen mit starken, profusen Durchfällen, könnte man schließen, daß Blastocystis bis in die höheren Partien des Dickdarmes zu verfolgen sein wird.

### III. Zusammenfassung und Schluß.

Unsere geschichtliche Uebersicht über die sich mit Blastocystis befassende Literatur, die einen Zeitraum von 40—50 Jahren umfaßt, läßt erkennen, daß sich bis in die neueste Zeit die Ansichten über das Wesen der Blastocystis einander gegenüberstehen. Auch unsere Untersuchungen haben uns zu keinem klaren Ergebnis geführt. Wir müssen betonen, daß uns auch heute noch die Blastocystis als die „enigmatic cells“ erscheinen, als die sie der erste Untersucher, Cunningham, bezeichnet hat, und daß wir uns der Ansicht Kuenen und Swellengrebel anschließen müssen, daß es nicht möglich ist, mit Sicherheit etwas über das Wesen des Organismus auszusagen. Von Cunningham als Bindeglied zwischen Amöben und Flagellaten aufgefaßt, von v. Prowazek, Ucke, Bensen u. a. als Trichomonas-Zyste angesehen, von Alexeieff endlich zum pflanzlichen Organismus erklärt, bei welcher Ansicht man sich fürs erste beruhigt hatte, haben gerade die letzten Jahre drei einander gänzlich entgegengesetzte Anschauungen gezeitigt: im gleichen Jahre behauptet Chatton, daß Blastocystis in den Entwicklungskreis eines Flagellaten gehöre, während Kuenen und Swellengrebel zu dem Schlusse kommen,



daß man es bei Blastocystis überhaupt nicht mit einem selbständigen Organismus zu tun habe, sondern mit einem Produkt von Nekrobiose gewisser, aber nicht näher bestimmter Zellen (Parasiten- oder Darmepithelzellen). Als allerletzte Neuheit endlich erscheint die Angabe von Barret, daß es sich auf Grund geglückter Kulturversuche doch um einen pflanzlichen Organismus handele. Danebenher laufen die Hinweise auf die morphologische Aehnlichkeit mit Haplosporidienzellen vom Molch und Fisch, ohne daß sich diese Hinweise zu einer wirklichen Hypothese verdichtet hätten. Keine von allen Hypothesen ist bis jetzt von anderer Seite so weit bestätigt worden, daß man sagen könnte, das Problem der Blastocystis sei gelöst.

Auch scheint das Interesse für die vorliegenden Fragen nur bei wenigen vorhanden zu sein. Besonders in unserer deutschen Literatur fehlen, abgesehen von den Angaben v. Prowazeks, eingehendere Auseinandersetzungen über den rätselhaften Organismus gänzlich. Wir hoffen daher, daß unsere Darstellung die Aufmerksamkeit weiterer Kreise für das Rätsel der Blastocystis erwecken wird. Die nicht zu ignorierende Hypothese Kuenen und Swellengrebel's von der Entstehung der Blastocystis aus menschlichen Zellen bedingt unserer Meinung nach, daß der Frage nach Wesen und Herkunft des Organismus nicht nur der Parasitologe, sondern auch der pathologische Anatom näher treten sollte. Pathologisch-anatomische Untersuchungen werden aber auch erst dann mit Aussicht auf Erfolg ermöglicht werden, wenn die Kliniker dem Problem mehr Aufmerksamkeit schenken. In diesen Kreisen ist der Organismus oft kaum dem Namen nach bekannt, was seinen Grund wohl in der wissenschaftlich ungerechtfertigten Vernachlässigung der mikroskopischen Durchsicht frischer Stuhlpräparate hat. Internist wie aber auch ganz besonders der Chirurg könnten den Parasitologen wie Anatomen wertvolle Hilfe bei der Erforschung des Problems leisten.

Zusammenfassend läßt sich nach unseren Untersuchungen über die menschliche Blastocystis sagen, daß es sich um ein im Stuhl von darmgesunden wie darmkranken Personen vorkommendes zelluläres Gebilde handelt, bei dem ein schwach lichtbrechender plasmatischer Anteil einen stark lichtbrechenden, großen Innenkörper mehr oder weniger vollständig umgibt (ringförmig oder in Form von „Halbmonden“). Eine Zystenmembran ist nicht vorhanden. Der Innenkörper stellt sich als homogene Masse von im allgemeinen regelmäßiger (kugelig gewölbter Scheide), seltener unregelmäßiger Form dar, die keine Fett- oder Glykogenreaktion gibt, sich mit Eisenhämatoxylin zumeist tiefschwarz, aber auch gelegentlich nicht färbt. Die plasmatischen Außenpartien besitzen eine wabige Struktur und enthalten 1—2 deutliche Kerne oder auch mehrere Körnchen. Im letzteren Falle liegen diese unregelmäßig

verteilt; sind nur 2 Kerne vorhanden, so liegen sie entweder mehr oder weniger nahe beieinander oder stehen sich gegenüber; in diesem Falle n je einer halbmondförmigen Plasmapartie. Die Kerne bestehen zu meist aus einem sich stark färbenden inneren kompakten Anteil, der von einer hellen Zone umgeben ist.

Die Größe der typischen Blastocystis wechselt stark (6—17  $\mu$  und mehr). Neben gelegentlich unregelmäßig gestalteten Formen mit getrenntem Innenkörper sind „Teilungsformen“ zu beobachten, bei denen das Plasma halbmondförmig dem scharf eingeschnürten Innenkörper anliegt.

Entwicklungsstadien (Alexeieff) oder Knospungsvorgänge (Flu) haben wir nicht beobachtet.

Die Lebensdauer der Organismen im unverwahrten Stuhl ist kurz; in längstens 24 Std. sind sie verschwunden, im wachsumrandeten Deckglaspräparate halten sie sich länger. Kulturen der Blastocystis sind uns nicht geglückt, wohl aber beobachteten wir die Zellen bis zu 11 Tagen, wobei sie aber unter Auflösungserscheinungen zugrunde gingen.

Das Vorkommen der Blastocystis beim Menschen ist nach unseren Untersuchungen nicht so allgemein, daß der Organismus sich in jedem Stuhle findet; wir trafen ihn nur in 18,3 Proz. an. Bei darmgesunden Personen kann er reichlich vorhanden sein, in überraschend großer Menge fanden wir Blastocystis aber in Fällen mit Darmstörungen (verschiedener Ursache), eine pathogene Bedeutung kann dem Organismus jedoch nicht zukommen.

#### Literatur.<sup>1)</sup>

- 1) Alexeieff, A., Sur les „kystes de Trichomonas intestinalis“ dans l'intestin des Batraciens. (Bull. scient. France et Belge. T. 44. 1910. p. 333.) — 2) Ders., Sur la nature des formations dites „kystes de Trichomonas intestinalis“. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 71. 1910. p. 296. — 3) Ders., Mitochondries chez quelques protistes. Mitochondries glycoplastes. (Ibid. T. 79. 1916. p. 1072.) — 4) \*Barret, H. P., A method for the cultivation of Blastocystis. (Ann. of trop. Med. a. Parasitol. Vol. 15. 1921. p. 113. Ref. Kongreßzentralbl. f. Inn. Med. 1921; Zoolog. Bericht. Bd. 1. 1922. S. 220.) — 5) Benzen, W., Untersuchungen über Trichomonas intestinalis und vaginalis des Menschen. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 18. 1910. S. 115.) — 6) Bohne, A., u. v. Prowazek, St., Zur Frage der Flagellatendysenterie. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 12. 1908. S. 1. — 7) \*Brittan, The London med. Gaz. Vol. 9. 1849. p. 368. — 8) Brug, S. L. Trichomonaszyten. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Ind. D. 57. 1917. S. 347.) — 9) Brumpt, E., Précis de parasitol. Paris 1910. p. 144. — 10) Ders., Blastocystis hominis n. sp. et formes voisines. (Bull. Soc. Pathol. exot. T. 5. 1912. p. 725.) — 11) Chatton, E., et Lalung-Bonnaire, Amibe limax (*Vahlkampfia* n. gen.) dans l'intestin humain etc. (Ibid. T. 5. 1912. p. 135.) — 12) Chatton, E., Les „Blastocystis“, stades du cycle évolutif de flagellés intestinaux. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 80. 1917. p. 555.) — 13) Cunningham, D. D. (Referat v. Radekofer und Pfeiffer, Zeitschr. f. Biol. Bd. 8. 1872.) — 14) Ders., On the development of certain microscopic organisms occurring in the intestinal canal. (Quart. Journ. Microsc. Scienc. Vol. 21. 1881. p. 234.) — 15) Dobell, Cl., Some remarks upon the „Autogamie“ of *Bodo lacertae* (Grassi). (Biol. Centralbl. Bd. 28. 1908. S. 548.) — 16) \*Ders., Researches on the intest. protozoa of frogs and toads. (Quart. Journ. Microsc. Scienc. Vol. 53. 1909. p. 201.) — 17) Dogiel, V., Beiträge zur Kenntnis der Peridineen. (Mitt. Zoolog.

1) Die mit \* bezeichnete Literatur konnten wir im Original nicht einsehen.

- Stat. Neapel. Bd. 18. 1906—1908. S. 1.) — 18) Dopter et Sacquépée, Précis de Bactériol. 1921. p. 955. — 19) Dunkerly, J. S., Dermocystidium pusula Pérez, parasitic on *Trutta fario*. (Zoolog. Anzeig. Bd. 44. 1914. S. 179.) — 20) Flu, P. C., Onderzoekingen over protozoën uit den menschelijken darm. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Ind. D. 58. 1918. S. 85.) — 21) Gaebel, Zur Pathogenität der Flagellaten. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 34. 1914. S. 1.) — 22) Galli-Valerio, Notes de parasitologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. 1900. S. 305.) — 23) Ders., Notes de parasitologie. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. S. 528.) — 24) Ders., Parasitol. Unters. u. Beiträge zur parasitol. Technik. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. S. 264.) — 25)\* Grassi, Arch. ital. Biol. Vol. 1 e 2. 1881 u. 1882.) — 26) Hallier, Das Cholera-Contagium. Leipzig 1867. — 27) Hartmann, M., u. Schilling, Cl., Die pathogenen Protozoen. Berlin 1917. S. 166. — 28) Hetzer, M., Studien über Protozoen, insbesondere des Darmes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. 1914. S. 304.) — 29) \*James, Ann. Trop. Med. a. Parasitol. Vol. 8. 1915. p. 133. — 30) Jollos, V., Darmflagellaten des Menschen. (Handb. d. path. Mikroorg. (Kolle-Wassermann). Bd. 7. 1913. S. 692.) — 31) Kruse u. Pasquale, Unters. üb. Dysent. u. Leberabszß. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16. 1894. S. 1.) — 32) Kuczynski, M. H., Untersuchungen an Trichomonaden. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 33. 1914. S. 119.) — 33) Kuenen, W. A., u. Swellengrebel, N. H., Die Entamöben des Menschen und ihre prakt. Bedeutung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. S. 378.) — 34) Ders., Korte beschrijving van enkele minder bekende protozoën uit den menschelijken darm. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederl.-Ind. D. 57. 1917. S. 496.) — 35) \*Léger, L., Sur un nouveau protiste du genre Dermocystidium, parasite de la Truite. (Compt. rend. séances Acad. Sc. Paris. T. 158. 1914.) — 36) \*Low, G., Two chronic amoebic dysentery carriers treated by emetine, with some remark on the treatment of *Lambliia*, *Blastocystis* and *Ent. coli* infections. (Journ. Trop. Med. a. Hyg. Vol. 19. 1916. p. 29. — 37) \*Lynch, Dauercystformations of *Trichom. intest.* (Journ. of Parasit. Urbana. Vol. 3. 1916. p. 28.) — 38) \*Mathis, Bull. Soc. méd. chirurg. de l'Indochine. T. 4. 1913. Nr. 7. — 39) Mayer, M., Zur Zystenbildung von *Trichomonas muris*. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 40. 1919/1920. S. 290.) — 40) Moral, H., Ueber das Auftreten von *Dermocystidium pusula* Pérez. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 81. 1913. S. 381.) — 41) Neumann, R. O., u. Mayer, M., Atlas u. Lehrb. wichtiger tier. Parasiten u. ihrer Ueberträger. (München 1914. S. 20.) — 42) Nöller, W., Kleine Beobachtungen an parasit. Protozoen. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 41. 1920. S. 181.) — 43) Pérez, Ch., *Dermocystis pusula*, organisme nouveau parasite de la peau des Tritons. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 2. 1907. S. 445.) — 44) Ders., *Dermocystidium pusula*, parasite de la peau des Tritons. (Arch. de zool. expér. T. 52. 1913. p. 343.) — 45) Prowazek, St. v., Untersuchungen über einige parasit. Flagellaten. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 21. 1904. S. 1.) — 46) Ders., Zur Kenntnis der Flagellaten des Darmtrakts. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 23. 1911. S. 96.) — 47) Ders., Beiträge zur Kenntnis d. Protoz. u. verwandt. Organismen von Sumatra (Deli). (Ibid. Bd. 26. 1912. S. 250.) — 48) Ders. u. Werner, Zur Kenntnis der sog. Flagellaten. (Arch. f. Schiffsu. Tropenhyg. Beih. 18. 1914. S. 155. [311].) — 49) Roos, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 51. 1893. S. 510. — 50) Rodenwaldt, E., Flagellaten (*Trichomonas*, *Lambliia*). (Handb. d. path. Protoz. Lief. 1. 1911. S. 78.) — 51) Ders., Flagellaten als Parasiten der menschlichen Körperhöhlen. (Ibid. Lief. 8. 1921. S. 1041 [1086].) — 52) \*Scott-Macfie, Ann. trop. Med. a. Parasitol. Vol. 9. 1915. p. 507. — 53) Schaudinn, Fr., Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 19. 1903. S. 597.) — 54) Stitt, E. R., Practical Bacteriology etc. 6. ed. 1921. — 55) \*Swayne, The Lancet. Vol. 2. 1849. — 56) Swellengrebel, N. H., Observations on *Blastocystis hominis*. (Parasitol. Vol. 9. 1917. p. 451.) — 57) Ucke, Beobachtungen über Flagellaten in den Faeces des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 34. 1904. S. 772.) — 58) Ders., Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. S. 231.) — 59) Weißenberg, R., Fischhaplosporidien. (Handb. d. path. Protoz. Lief. 9. 1921. S. 1405.) — 60) Wenyon, C. M., Observations on the Protozoa in the intestine of mice. (Arch. f. Protistenkde. Suppl. I. 1907. S. 169.) — 61) Ders., A new flagellate (*Macrost. mesnili*) from the human intestine, with some remarks on the supposed cysts of *Trichomonas*. (Parasitology. Vol. 3. 1910. p. 214.) — 62) Ders., Lancet. 1915. Novbr. 27. — Nachtrag 63) Kofoid a. Swezy, Mitosis and multiple Fission in Trichomonad flagellates. (Proceed. Americ. Acad. Arts a. Scienc. Vol. 51. 1915. p. 289. [Taf. 6. S. 374].) — 64) Yakimoff, W. L., et Miller, G. A., Les protozoaires de l'intestin de l'homme en dehors d l'organisme de l'homme. L'examen de l'intestin du *Periplaneta orientalis*. (Bull. Soc. Pathol. exot. T. 15. 1922. p. 8.) — 65) Blacklock u. Adler, A parasite resembling *Plasmodium falciparum* in a chimpanzer. (Ann. trop. Med. a. Parasitol. Vol. 16. 1922. p. 99.) — 66) Young, C. J., Human intestinal protozoa in Amazonas. (Ibid. Vol. 16. 1922. p. 93.) — 67) Kofoid, Kornhauser and Swezy, Criterians for distinguishing the Enda-

moeba of Amebiasis from other organisms. (Arch. of Intern. Med. Vol. 24. 1919. p. 35.) — 68) Mathis, Recherche des kystes d'amibes dans les selles de l'homme. (Bull. Soc. méd. chirurg de l'Indochine. T. 4. 1913. p. 334.) — 69) Nieschulz, Ueber die Benennung des Schweinecoccids. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 379.) — 70) Kofoid, Kornhauser and Plate, Intestinal parasites in overseas and home service troops of the U.S. Army. (Journ. Americ. med. Association. Vol. 72. 1919. p. 1721.) — 71) Kofoid, Hookworm and Amoebiasis in California. (California State Journ. of Medic. 1920.) — 72) Werner, Entamoeba coli. (Handb. d. path. Prot. Lief. 1. 1911. S. 67.)

#### Erklärung der Tafel<sup>1)</sup>.

(Vergrößerung aller Abbildungen ca. 1:1000.)

##### I. Ungefärbtes frisches Präparat:

(1—7: Fall J.): 1, 2, 3: kleine Blastocystisformen. — 4, 5, 6: große Blastocystisformen. — 7: unregelmäßige Form mit doppeltem Innenkörper.  
 (8—14: Fall B.): 8, 9: Durchschnittsgröße. — 10: rotes Blutkörperchen. — 11, 12: Formen mit 2 Kernen (keine Teilungsform), vakuolisierter Plasmaring. — 13: „Teilungsform“. — 14: Einbuchtung des Innenkörpers durch die Kerne.  
 (15—16: Fall F.): Formen mit breitem Plasmasaum und zahlreichen Kernen.

##### II. Vitalfärbung mit alkal. Methylenblau: (Fall J.):

17, 18, 19: dunkelblauer Innenkörper, Kerne deutlich hervortretend.  
 20: abweichende Form mit kleinem Innenkörper und sehr breitem Plasmaring.  
 21: „heller“ Innenkörper.  
 22: Teil desselben bei hoher Einstellung (Entmischung der Farbe an der Oberfläche des Innenkörpers).

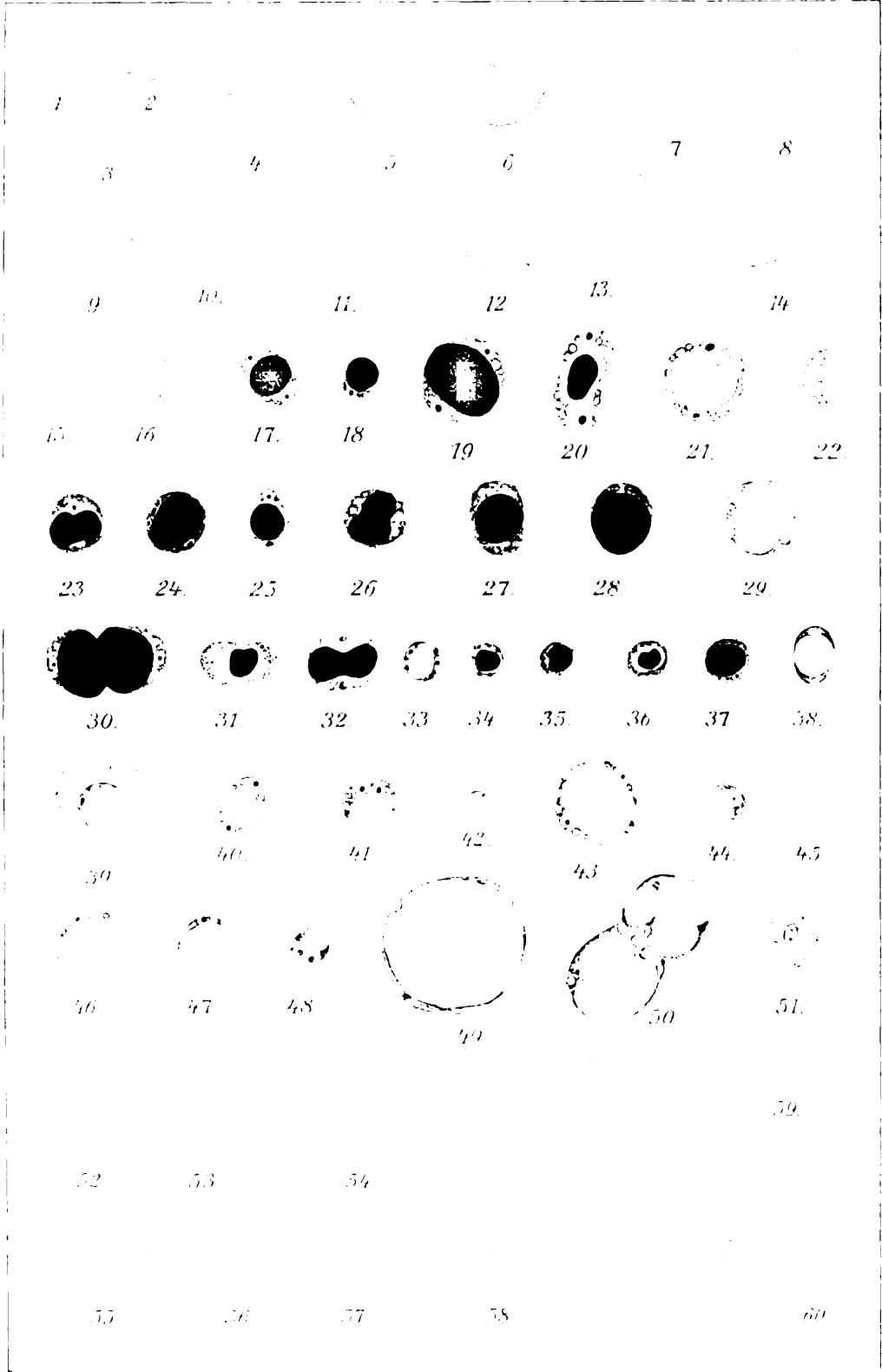
##### III. Fixierte und gefärbte Präparate:

23—37: Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain.  
 (23—32: Fall J.): 23: zweikernige Form mit eingebuchtetem Innenkörper. — 24: Eisenhämatoxylinfärbung mit Eosinnachfärbung. — 25: Dgl. — Blastocystis mit zahlreichen Kernen. — 26: doppelkernige Form mit Einschnürung des Innenkörpers. — 27: doppelkernige Form. — 28: (große) typische Blastocystis. — 29: doppelkernige Form mit hellem Innenkörper. — 30: Teilungsform. — 31: abweichende Form (vgl. 20). — 32: Kerne mit peripherer Chromatinalotte.  
 33, 34: Blastocystis mit vielen „Kernen“ (Fall F.).  
 35, 36, 37: Blastocystis mit vielen „Kernen“ (Fall Ba.).  
 38: feuchte Giemsa-Färbung: (Fall J.).  
 39—51: Delafield-Färbung: (Fall J.). — 39: Blastocystis mit „Hülle“ nebst Umgebung. — 40: doppelkernige Form. — 41: doppelkernige Form (Kerne eng aneinanderliegend). — 42: sehr kleine Blastocystis. — 43: große doppelkernige Form. — 44: rotes Blutkörperchen. — 45: normale Blastocystis mit kaum geschrumpftem Innenkörper. — 46, 47, 48: 1 bzw. 2 Kerne in einer „Blase“ liegend. — 49: außergewöhnlich große Form, undeutliche Plasmastrukturen, kaum erkennbare Kerne. — 50: Blastocystis mit unregelmäßigem Innenkörper. — 51: Kern auf dem Innenkörper liegend.

##### IV. Kulturformen (ungefärbt):

52—60: Fall J.): 52: 5 Tage alt. — 53, 56: 7 Tage alt. — 54: 9 Tage alt. — 55, 57—60: 2 Tage alt.

1) Versehentlich sind in Fig. 24, 33, 34 die Plasmasäume grau statt rosa wiedergegeben. Der Farbton der Plasmapartien in den Delafield'schen Präparaten ist ferner mehr violett als blau.



moeba of Amebiasis from other organisms. (Arch. of Intern. Med. Vol. 24. 1919. p. 35.) — 68) Mathis, Recherche des kystes d'amibes dans les selles de l'homme. (Bull. Soc. méd. chirurg de l'Indochine. T. 4. 1913. p. 334.) — 69) Nieschulz, Ueber die Benennung des Schweinecoccids. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 379.) — 70) Kofoid, Kornhauser and Plate, Intestinal parasites in overseas and home service troops of the U.S. Army. (Journ. Americ. med. Association. Vol. 72. 1919. p. 1721.) — 71) Kofoid, Hookworm and Amoebiasis in California. (California State Journ. of Medic. 1920.) — 72) Werner, Entamoeba coli. (Handb. d. path. Prot. Lief. 1. 1911. S. 67.)

#### Erklärung der Tafel<sup>1)</sup>.

(Vergrößerung aller Abbildungen ca. 1:1000.)

##### I. Ungefärbtes frisches Präparat:

(1—7: Fall J.): 1, 2, 3: kleine Blastocystisformen. — 4, 5, 6: große Blastocystisformen. — 7: unregelmäßige Form mit doppeltem Innenkörper.  
 (8—14: Fall B.): 8, 9: Durchschnittsgröße. — 10: rotes Blutkörperchen. — 11, 12: Formen mit 2 Kernen (keine Teilungsform), vakuolisierter Plasmaring. — 13: „Teilungsform“. — 14: Einbuchtung des Innenkörpers durch die Kerne.  
 (15—16: Fall F.): Formen mit breitem Plasmasaum und zahlreichen Kernen.

##### II. Vitalfärbung mit alkal. Methylenblau: (Fall J.):

17, 18, 19: dunkelblauer Innenkörper, Kerne deutlich hervortretend.  
 20: abweichende Form mit kleinem Innenkörper und sehr breitem Plasmaring.  
 21: „heller“ Innenkörper.  
 22: Teil desselben bei hoher Einstellung (Entmischung der Farbe an der Oberfläche des Innenkörpers).

##### III. Fixierte und gefärbte Präparate:

23—37: Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain.  
 (23—32: Fall J.): 23: zweikernige Form mit eingebuchtetem Innenkörper. — 24: Eisenhämatoxylinfärbung mit Eosinnachfärbung. — 25: Dgl. — Blastocystis mit zahlreichen Kernen. — 26: doppelkernige Form mit Einschnürung des Innenkörpers. — 27: doppelkernige Form. — 28: (große) typische Blastocystis. — 29: doppelkernige Form mit hellem Innenkörper. — 30: Teilungsform. — 31: abweichende Form (vgl. 20). — 32: Kerne mit peripherer Chromatinalotte.  
 33, 34: Blastocystis mit vielen „Kernen“ (Fall F.).  
 35, 36, 37: Blastocystis mit vielen „Kernen“ (Fall Ba.).  
 38: feuchte Giemsa-Färbung: (Fall J.).  
 39—51: Delafield-Färbung: (Fall J.). — 39: Blastocystis mit „Hülle“ nebst Umgebung. — 40: doppelkernige Form. — 41: doppelkernige Form (Kerne eng aneinanderliegend). — 42: sehr kleine Blastocystis. — 43: große doppelkernige Form. — 44: rotes Blutkörperchen. — 45: normale Blastocystis mit kaum geschrumpftem Innenkörper. — 46, 47, 48: 1 bzw. 2 Kerne in einer „Blase“ liegend. — 49: außergewöhnlich große Form, undeutliche Plasmastrukturen, kaum erkennbare Kerne. — 50: Blastocystis mit unregelmäßigem Innenkörper. — 51: Kern auf dem Innenkörper liegend.

##### IV. Kulturformen (ungefärbt):

52—60: Fall J.): 52: 5 Tage alt. — 53, 56: 7 Tage alt. — 54: 9 Tage alt. — 55, 57—60: 2 Tage alt.

1) Versehentlich sind in Fig. 24, 33, 34 die Plasmasäume grau statt rosa wiedergegeben. Der Farbton der Plasmapartien in den Delafieldschen Präparaten ist ferner mehr violett als blau.

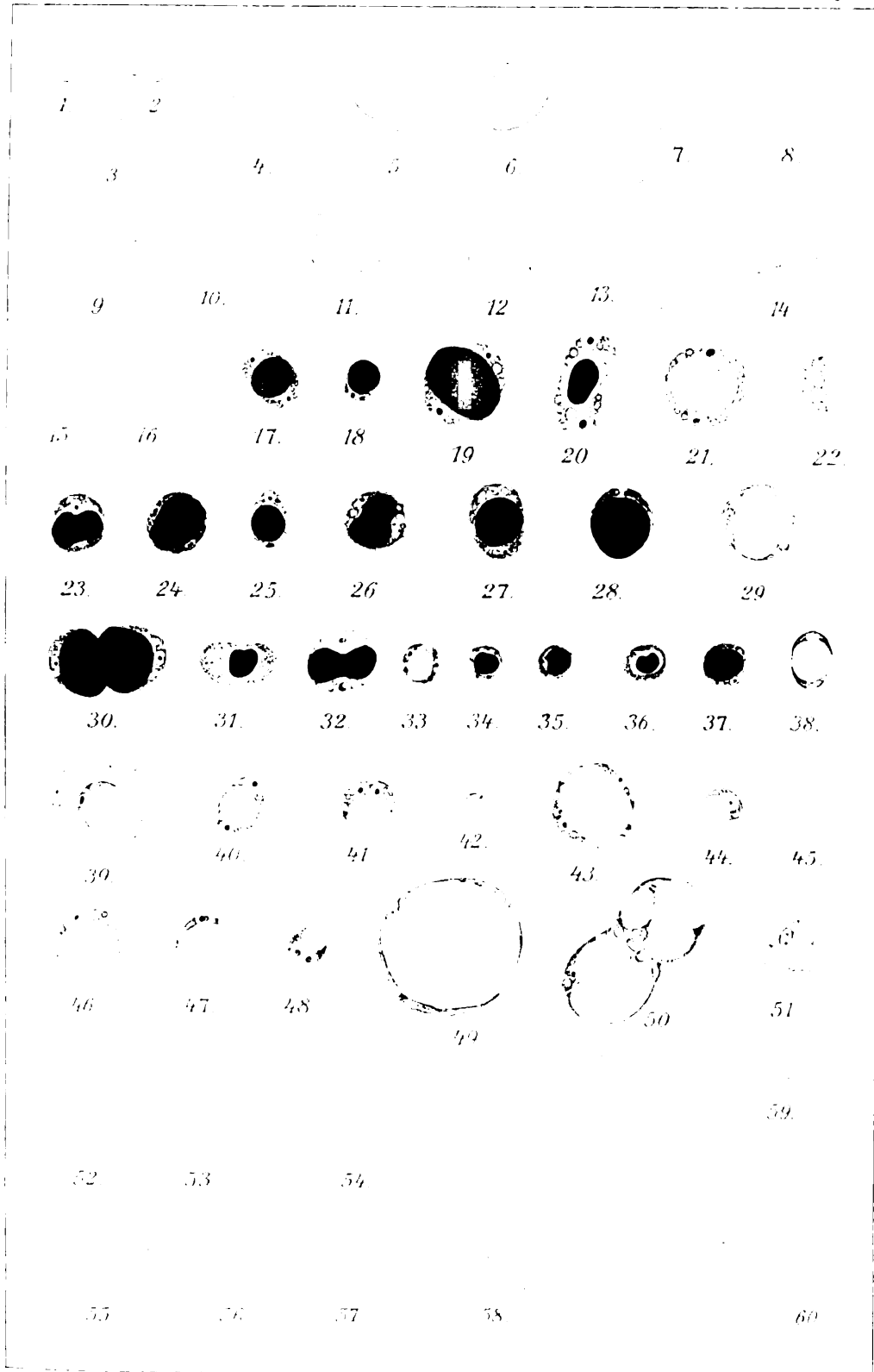


Fig. 1-60. Blastozysten (Bach u. Ester).





*Nachdruck verboten.*

## Das Wesen der Giemsa-Färbung.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg  
(Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von G. Giemsa.

Gelegentlich eines Vortrages, welchen kürzlich P. G. Unna<sup>1)</sup> über das gleichlautende Thema hier gehalten hat, bin ich in eine längere Diskussion eingetreten, in der ich meine Anschauungen über das Zustandekommen dieser Färbung zum Ausdruck gebracht habe. Da sie von denjenigen Unnas in einigen Hauptpunkten nicht unerheblich abweichen, meine damaligen Ausführungen aber nur in sehr gekürzter und den Sinn zum Teil nicht ganz richtig wiedergebender Form im Druck erschienen sind<sup>2)</sup>, nehme ich heute Veranlassung, auf dieses Thema nochmals ausführlicher<sup>3)</sup> zurückzukommen und vor allem auf das Tatsachenmaterial näher einzugehen, auf dem sich meine Anschauungen aufbauen, indem ich hoffe, so zu einer wesentlichen Klärung der Sachlage beizutragen.

Es sind in der Hauptsache zwei Fragen, die von mir anders beantwortet werden, als von Unna. Die eine lautet:

Ist Azur allein befähigt, die für die Romanowsky-Giemsa-Färbung „typische“ Rotreaktion der Kerne zu geben, oder ist Eosin hierzu nötig und tinktoriell an dieser Färbung beteiligt? Die zweite:

Wie ist die „metachromatische“ Wirkung des Azur zu erklären, die unter anderem darin zum Ausdruck kommt, daß die Kerne von diesem Farbstoffe unter Umständen auch ohne Eosinzusatz rotviolett, die Mastzellengranula reinrot gefärbt werden, während andere Zellbestandteile rein blau erscheinen?

Was die erste Frage anbelangt, so hatte Unna die Vorstellung, daß das „typische“ Rot nicht dem Eosin zuzuschreiben ist, sondern lediglich dem Azur. Beim Zusatz des Eosins käme dieses zwar zur Wirkung, aber nicht als Ganzes, d. h. als Farbstoff, vielmehr träte nur der in ihm enthaltene ungefärbte Komplex „Resorzin + Brom + Kalium“, und zwar als „Rotbeize“ in Aktion.

1) Unna, P. G., Das Wesen der Giemsa-Färbung. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 159.)

2) Unna, P. G., Das Wesen der Giemsa-Färbung. (Ref. in klin. Wochenschrift. Jahrg. 1. 1922. S. 146.)

3) Es wird hierbei auch auf eine frühere, das gleiche Thema behandelnde Arbeit von Unna und Baudisch Bezug genommen. (Thiazinrot). (Dermat. Wochenschr. Bd. 68. 1919. S. 49.)

Unna gelangte zu dieser Annahme durch die von ihm bestätigten Nochtschen Befunde [Giemsa<sup>1)</sup>], nach welchen die Rotreaktion auch dann erfolgt, wenn man bei dem Romanowsky-Gemisch das Eosin durch Resorzin oder die beiden isomeren Dioxybenzole ersetzt.

Hierzu sei bemerkt, daß bei sehr zahlreichen Versuchen, welche von mir selbst mit derartigen Gemischen angestellt wurden, immer nur eine „metachromatische“ Violetreaktion der Kernsubstanz erzielt werden konnte, wie sie auch mit Azur allein nach sehr langer Einwirkung erfolgt [Michaelis]<sup>2)</sup>, daß aber die „typische“ leuchtendrote Romanowsky-Färbung niemals zustande kam.

Diese ungefärbten Eosinersatzstoffe beschleunigen offenbar nur diese metachromatische Färbung und lassen sie infolge ihrer sonstigen differenzierenden Wirkung besonders gut in Erscheinung treten. Auch die rötliche Farbe, welche Neumann durch analog verwandte andere Stoffe, z. B. Kaliumbichromat und Gallussäure erzielte, beruht, wie Nachprüfungen v. Prowazek<sup>3)</sup> ergaben, lediglich auf Metachromasie, so daß dieser Forscher hierüber schreibt: „Die typische Giemsa-Rotfärbung ist mit dieser Metachromasiefärbung nicht identisch.“ Offenbar wird es mit dem Tribromphenolkalium, das nach Unna und Baudisch „fast“ ebenso wie Eosin wirkt, nicht anders stehen.

Zieht man überdies in Betracht, daß es vom chemischen Standpunkte aus gar nicht faßlich ist, wie das festgefügte Eosinmolekül in einer neutralen, wässrigen Farbflotte eine Aufspaltung im Sinne Unnas erleiden soll — denn erst dann könnten dessen Einzelkomponenten in Wirkung treten — so kann man nur den Schluß ziehen, daß diese Theorie eine recht gezwungene ist.

Hingegen läßt sich durch eine geeignete Versuchsanordnung der einwandfreie Beweis für die tinktorielle Mitwirkung des Eosins an der „typischen“ Rotreaktion sehr wohl erbringen, und zwar am besten durch eine Sukzessivfärbung.

Freilich werden wir hierbei von vornherein auf einen Erfolg nur rechnen können, wenn wir den basischen Farbstoff (Azur) zuerst und dann erst den sauren (Eosin) einwirken lassen und nicht umgekehrt. Da nämlich Eosin von der ungebeizten Kernsubstanz so gut wie gar nicht gebunden wird, kann auch eine Vorfärbung mit diesem Farbstoff keinerlei Einfluß auf die Nachfärbung mit Azur haben, d. h. der Kern wird bei dieser Nachbehandlung so gefärbt, als hätten wir Azur allein angewandt. Eine solche Färbung wird demnach, wie durch zahlreiche eigene Versuche bestätigt wurde, nur metachromatisch (rotviolett) ausfallen können, und als eine solche Metachromasie kann daher auch nur die Rotfärbung der Trypanosomenkerne angesprochen werden, welche Unna bei seiner Sukzessivbehandlung (zuerst Behandlung mit Eosin, dann mit polychromem Methylenblau) erzielt hat.

Die Erfahrung hat ferner gelehrt, daß die „typische“ Rotfärbung nur dann sicher gelingt, wenn man nicht mit den Farbsalzen (Azurchlorhydrat bzw. eosinsaurem Natron), sondern mit der freien Farbbase bzw. Farbsäure arbeitet.

1) Giemsa, G., Färbemethoden für Malariaparasiten. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902. S. 307.)

2) Michaelis L., Das Methylenblau und seine Zersetzungsprodukte. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. S. 763.)

3) v. Prowazek, S., Zur Kenntnis der Giemsa-Färbung vom Standpunkte der Zytologie. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 31. 1914. S. 1—16.)

Die von mir benutzten Lösungen stellte ich mir in folgender Weise her:

1) In 25 ccm einer 1-proz. wässrigen Lösung von Azur II (Azur- + Methylenblauchlorhydrat  $\text{aa}$ ), die sich in einer Stöpselflasche befindet, wird, um beide Farbbasen in Freiheit zu setzen, frisch bereitetes, noch feuchtes Silberoxyd<sup>1)</sup> hinzugesetzt, 5 Min. lang kräftig geschüttelt (wodurch die vorher blaue Lösung einen deutlichen Stich ins Violette erhält, dann durch ein Barytfilter filtriert und das Filtrat mit 80 ccm Wasser verdünnt = Lösung I.

2) Aus 50 ccm einer 1-proz. Eosinlösung wird die freie Farbsäure durch Hinzufügen einiger Tropfen verdünnter Essigsäure ausgefällt, abfiltriert und durch gründliches Auswaschen mit Wasser von dem überflüssigen Fällungsmittel völlig befreit. Die Farbsäure (die eventuell auch an der Luft getrocknet sein kann) wird mit ca. 200 ccm destill. Wasser von 50° in einer Stöpselflasche kräftig geschüttelt (wobei ein Teil in Lösung geht) und nach Abkühlen vom ungelösten Farbstoff abfiltriert. Filtrat = Lösung II.

Man behandelt nun 2 alkoholgehärtete, dünne Deckglasausstriche von trypanosomenhaltigem Blut gleicher Herkunft zuerst 1 Std. lang mit Lösung I<sup>2)</sup>. Nach kurzem Abspülen mit Wasser werden sie abgetupft und getrocknet. Gegen das Licht gehalten, sehen sie jetzt rein blau aus. Unter dem Mikroskope zeigen Leukozyten- und Parasitenkerne einen blauvioletten Farbenton, die plasmatischen Bestandteile des Präparates erscheinen rein blau.

Legt man nun einen der beiden Ausstriche in Lösung II, so lösen sich blauviolette Wolken ab und der Ausstrich nimmt allmählich einen blau-, dann rotvioletten und schließlich einen fast rein roten Ton an. Nimmt man das Präparat heraus, sobald es rotviolett erscheint, und untersucht es mikroskopisch, so hat man ein ausgeprägtes Romanowsky-Bild vor sich mit allen seinen bekannten Differenzierungen. Was uns hierbei aber in erster Linie interessiert: Die Kerne der Parasiten und Trypanosomen sind „typisch“ leuchtend rot gefärbt.

Diese von mir schon seit vielen Jahren erfolgreich benutzte Methode<sup>3)</sup> führt, richtig angewandt, stets zum Ziele und beantwortet restlos die hier aufgestellten Fragen. Zeigt sie uns doch, daß die basischen Farbstoffe allein die typische Rotreaktion nicht zu geben vermögen, daß diese jedoch prompt erfolgt, sobald man auf das mit ihnen vorbehandelte Präparat Eosinsäure einwirken läßt, mit anderen Worten, daß Eosin für die Färbung nicht allein unentbehrlich, sondern an ihr auch tinktoriell beteiligt ist.

Diese Befunde sind jedoch noch nach manch anderer Richtung hin lehrreich. Zunächst beweisen sie, daß es sich hier um eine ausgesprochene „Beizenfärbung“ handelt, bei welcher eine Farbstoffbase (Azurbase) den sauren Kern vorbeizt, so daß dieser schließlich befähigt wird, eine Farbsäure (Eosinsäure) aufzunehmen, zu der er ungebeizt kaum eine Affinität besitzt. Berücksichtigt man ferner, daß man den gleichen Prozeß auch bei der Simultanfärbung (Giemsa-Färbung) verfolgen kann, indem die Kerne zuerst blauviolett und erst später ty-

1) Dasselbe wird dadurch erhalten, daß man 10 ccm einer 5-proz. wässrigen Silbernitratlösung mit etwa 10 Tropfen 15-proz. Natronlauge versetzt, umschüttelt, das ausgeschiedene Silberoxyd abfiltriert und durch wiederholtes Auswaschen mit destilliertem Wasser von der überschüssigen Lauge befreit.

2) Diese hält sich nur einige Stunden und muß daher möglichst frisch verwendet werden.

3) Sie führt natürlich auch zum Ziele, wenn man anstatt Azur das methylenblau-freie Azur (Azur I) mit Silberoxyd behandelt und benutzt, nur sind dann die Kontrastfarben Blau und Rot nicht so sehr ausgeprägt.

pisch rot werden, so haben wir einen völlig hinreichenden Beweis dafür, daß der Kern auch hierbei erst die Azurbasis und dann die Eosinsäure aufnimmt und nicht etwa das amphochrome Azur-Eosinsalz in toto, wie verschiedentlich in Erwägung gezogen wurde.

Unna und Baudisch weisen allerdings diese Auffassung, die insbesondere auch Michaelis vertritt, zurück, weil sie ihrer Ansicht nach eine ihnen unwahrscheinlich vorkommende Spaltung des amphochromen Salzes durch den Zellkern zur Voraussetzung hat. Sie sagen: „Es ist wohl nicht zu leugnen, daß diese Deutung des Vorganges, welcher zur Rotfärbung des Protozookernes führt, in hohem Grade problematisch ist. Zunächst soll der Kern die Kraft besitzen, das — nur hypothetisch angenommene — eosinsäure Azur zu spalten und das Azur allein aufzunehmen, und dieses soll, als Beize für das befreite Eosin dienend, nachträglich wieder das vorher abgestoßene Eosin aufnehmen.“

In der Tat aber ist an der Existenz des eosinsäuren Azur ebenso wenig zu zweifeln wie daran, daß eine solche Spaltung des amphochromen Farbsalzes vor sich geht. Diese wird aber nicht erst durch den Protozookern veranlaßt, sondern sie ist als eine spontane Dissoziation aufzufassen, welcher das Salz zum Teil anheimfällt, sobald die methylalkoholisch-glyzerinige Giemsa-Lösung mit sehr viel Wasser vermischt wird, wie dies in der Praxis geschieht. Ganz analoge Vorgänge sind in der Chemie längst bekannt, und daß auch das Azur-Eosin in der wässrigen Verdünnung zum Teil dissoziiert ist, geht aus mannigfachen Reaktionen unzweifelhaft hervor<sup>1)</sup>.

Auf diesen Befunden und weiteren experimentellen Grundlagen fußte ich auch, als ich meine Ansichten über das Wesen der Giemsa-Färbung soweit es sich hierbei um die umstrittene Frage der Eosinbeteiligung handelte, zum Ausdruck brachte<sup>2)</sup>:

„Mit der theoretischen Seite des eigenartigen Prozesses, der sich bei der Romanowsky-Färbung abspielt und bei welchem 3 Farbstoffe von verschiedenem Elekionsvermögen (Methylenazur, Methylenblau und Eosin) und teilweise metachromatischen Eigenschaften in Wechselwirkung treten, haben sich bislang nur wenige Autoren beschäftigt. Michaelis läßt es im Zweifel, ob die Rotreaktion der Kerne auf einer bloßen Metachromasie des Methylenazurs beruht, zu deren Entstehung die Gegenwart des Eosins nur Anlaß gibt, oder ob beide Farbstoffe das Eosin und das Azur, bei der Färbung aktiv beteiligt sind. Nach eigener Erfahrung ist letzteres, wie durch Sukzessivfärbung festgestellt wurde, sicher der Fall, und zwar müssen wir die Färbung zum Teil als Beizenfärbung (s. auch Michaelis) betrachten, denn es läßt sich experimentell leicht nachweisen, daß sowohl die Chromatinsubstanz wie die anderen Zellelemente aus wässrigen Lösungen des — in Dissoziation befindlichen — Azureosin zuerst immer diejenige Farbkomponente aufnehmen, zu der sie ursprüngliche natürliche Affinität besitzen. Erst im Laufe längerer Färbedauer addieren. . . .“

Somit dürfte wohl diese Frage als hinreichend geklärt betrachtet werden und es ist zu begrüßen, daß Unna seinen bisher eingenommenen Standpunkt im Laufe der seinen Vortrag folgenden Diskussion schließlich aufgegeben hat.

1) Bei den v. Prowazekschen Ultrafiltrationsversuchen mit wässriger Giemsa-Lösung (l. c.) ging reines Eosin ins Filtrat über. Ferner läßt sich z. B. aus einer solchen Lösung die dissoziierte freie Eosinsäure durch Aether zum Teil ausschütteln, während die freie Azurbasis infolge Abwesenheit fixer Alkalien mit blauer Farbe als Hydrat im Wasser gelöst bleibt.

2) Giemsa, G., Kapitel „Fixierung und Färbung der Protozoen“ v. Prowazek's Handb. d. pathog. Protozoen. Leipzig (Joh. A. Barth) 1911 (s. S. 25).

Weit schwerer läßt sich die zweite Frage beantworten: Wie ist die metachromatische Wirkung des Azur zu erklären?

Unna stützt sich bei seinen diesbezüglichen Anschauungen auf Kehrman<sup>1, 2)</sup>, dem wir die Erkenntnis verdanken, daß das Bernthsen<sup>3)</sup> Azur — mit welchem bekanntlich das zu der Giemsa-Lösung verwendete Azur (I) identisch ist — kein Sulfon und vor allem keinen einheitlichen Farbstoff vorstellt, sondern ein Gemisch von Thioninen mit verschiedenem, je nach Art der Bereitung wechselnden Gehalt an Methylgruppen (vorwiegend aus Trimethylthionin und asymmetrischem Dimethylthionin bestehend<sup>4)</sup> und daß diese Farbbasen befähigt sind, blaue Hydrate und rote Anhydride zu bilden.

Unna nimmt nun an, daß in dem einen Falle diese Hydrate, im anderen die Anhydride von den Zellbestandteilen aufgenommen werden, wodurch deren Blau- bzw. Rotfärbung erfolgt. In der Tat ist dieser Gedanke sehr naheliegend, aber einer eingehenden Kritik vermag er leider nicht standzuhalten, denn es ist vom chemischen Standpunkt ganz unverständlich, wie die Bildung der roten Anhydride, die nach Kehrman nur unter der Einwirkung fixer Alkalien eintritt, in einer völlig neutralen, wässerigen Farbflotte, mit welcher bei der Giemsa-Färbung operiert wird, zustande kommen soll, und noch dazu im Bereich des stark sauren Kernes und der gleichfalls als stark sauer bekannten Mastzellengranula.

Viel ungezwungener läßt sich hingegen diese metachromatische Färbung mit der „Tautomerie“ dieser Thioninabkömmlinge erklären, eine Auffassung, die bekanntlich von Michaelis und mir von jeher vertreten wurde. Da Unna in seinen Abhandlungen nur auf die Arbeiten von Michaelis Bezug nimmt, sei hier nachgeholt, was meinerseits<sup>5)</sup> hierüber geschrieben wurde:

„Ueber das Wesen der Metachromasie ist häufig diskutiert worden, ohne daß die Frage erheblich geklärt worden wäre. Am wenigsten bewiesen sind die Anschauungen jener Autoren, welche das Phänomen auf tiefer greifende chemische Vorgänge zurückführen, die sich zwischen Farbstoff und Zelle abspielen sollen. Dagegen scheint die von einigen Forschern ausgesprochene Ansicht, daß die Erscheinung auf einer tautomeren Umlagerung des betreffenden Farbkörpers beruht, sehr viel für sich zu haben. Daß manche Farbstoffe durch bloße Aenderung ihrer indifferenten Lösungsmittel die Farbe in sehr ausgesprochener Weise variieren können, kann man in sehr instruktiver Weise mit chemisch reinem Methylenazur-Chlorhydrat demonstrieren.

Stellt man eine ganz dünne, in Reagenzglasdicke eben noch durchscheinende, wässrige Lösung dieses Salzes her, füllt drei größere Reagenzgläser bis zu  $\frac{1}{3}$  hiermit, setzt die Farbbase durch Hinzufügen einiger Tropfen sehr verdünnter Natronlaugen in Freiheit und schüttelt das eine Glas mit Petroläther, das zweite mit Aethyläther, das dritte mit Chloroform aus, so geht die freie Base mit drei gänzlich voneinander verschiedenen Farben in die hinzugefügten Medien über, und zwar in Petroläther mit strohgelber, in Aethyläther mit roter, in Chloroform mit violetter. Gießt man darauf zu den einzelnen Gemischen Salzsäure in geringem Ueberschuß hinzu und schüttelt wieder kräftig durcheinander, so bildet sich in jedem Falle wieder Azurchlorhydrat, welches mit rein blauer Farbe vom Wasser aufgenommen wird. Durch abwechselndes Alkalisieren bzw. Ansäuern und Ausschütteln läßt sich der Versuch beliebige Male wiederholen. Es ist wahrscheinlich, daß diese Metachromasie, die wir hier in vitro erzielen und die wir kaum

1, 2) Kehrman, F., Ueber Methylenazur. (Ber. d. Dsch. Chem. Ges. Jg. 39. 1906. S. 1403.) — Ders., Havas, E., Grandmougin, E., Ueber Farbbasen der Chinonimidfarbstoffe (Ibid. Jg. 46, 1913. S. 2134).

3) Bernthsen, A., Studien in der Methylenblaugruppe. (Liebigs Ann. d. Chem., Bd. 230. 1885. S. 137.)

4) Vermutlich ist auch symm. Dimethylthionin darin enthalten.

5) Giemsa, G., s. Prowazeks Handb. S. 22.

anders als eine durch das betreffende Lösungsmittel bedingte vorübergehende Umlagerung von Atomgruppen innerhalb des Farbstoffmoleküles (Tautomerie) auffassen können, mit der metachromatischen Färbung mikroskopischer Präparate in enger Beziehung steht.

Diese Deutung enthält eine starke Stütze dadurch, daß die Metachromasie nicht nur bei den Farbbasen, sondern, wie besonders hervorgehoben sei, auch in der Eigenfarbe chemisch gut definierter Salze des Azurs zum Ausdruck kommt. Untersucht man z. B. einige Kriställchen von Azurchlorhydrat, nachdem sie auf einen Objektträger mit einem Glasstab zerrieben worden sind, mikroskopisch, so sehen die zerriebenen Teile fast rein blau aus. Bereitet man sich jedoch eine 1-proz. wässrige Lösung, die ebenso gefärbt ist, und fügt hiervon 1–2 Tropfen in eine 2-proz. wässrige Lösung von glasiger Metaphosphorsäure, so schlägt die Farbe sofort nach rot um unter Bildung eines zunächst sehr feinen Niederschlages von Azurmetaphosphat, und erst wenn sich dieser zu größeren Partikeln zusammengeballt hat, nimmt das Gemisch eine mehr blaue Farbe an. Abfiltriert und zerrieben, erscheint das Salz indessen unter dem Mikroskop „rotviolett“, genau so wie Kerne, die längere Zeit mit der freien Azurbase gefärbt worden sind.

Es ist nun in hohem Grade interessant und es wurde von mir bereits früher ausführlicher darauf hingewiesen<sup>1)</sup>, daß sich mit Serumalbumin und Metaphosphorsäure erzeugte künstliche Nukleoproteide im Sinne Liebermanns<sup>2)</sup> mit Azur nicht nur genau so metachromatisch, d. h. rotviolett, färben, sondern daß sie auch bei der Giemsa-Färbung die „typische“ Rotreaktion geben, so daß es nahe liegt, auch die entsprechende Reaktion, die bei natürlichen Zellkernen eintritt, auf deren Gehalt an Metaphosphorsäure zurückzuführen<sup>3)</sup>.

Auch die Rotfärbung der Mastzellengranula durch den gleichen Farbstoff ließe sich durch die Tautomerie leichter erklären, indem wir annehmen, daß die Azurbase hier gleichfalls ein rotgefärbtes Salz bildet, und zwar mit einer, wenn auch bisher noch nicht näher definierten Säure, die an das Protein dieser Granula gebunden ist. Daß eine solche, und zwar sogar sehr starke Säure dort vorhanden sein muß, wurde ja von jeher, insbesondere auch von Unna, betont, und die Resistenz dieser Rotfärbung gegenüber verdünnter Salzsäure könnte sogar die Vermutung nahelegen, als handelte es sich dort gleichfalls um die Metaphosphorsäure.

Das erwähnte Tatsachenmaterial zeigt somit, daß die Zurückführung der metachromatischen Färbung durch Azur — wenigstens soweit sie die der Zellkernsubstanz betrifft — auf „Tautomerie“ durchaus gut begründet ist.

Aber auch die „Metaphosphorsäuretheorie“ kann hiernach, soweit die Kernsubstanz in Frage kommt, als ziemlich gesichert gelten.

1) Giemsa, G., s. Prowazeks Handb. S. 18.

2) Liebermann, L., Ueber das Nuklein der Hefe und über künstliche Darstellung des Nukleins aus Eiweiß. (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Jg. 21. 1888. S. 598.)

3) Von Liebermann wurde es für das Hefenuklein sichergestellt und für tierisches Nuklein höchst wahrscheinlich gemacht, daß die darin enthaltene Phosphorsäure als Metaphosphorsäure anzusprechen sei.

In gutem Einklang mit obigen Ausführungen stünde auch die Tatsache, daß die Kerne bei sehr alten Präparaten, die lange dem Einfluß der atmosphärischen Luft ausgesetzt waren, die Rotreaktion nicht mehr geben. Man könnte sie sich so erklären, daß die Metasäure durch die Luftfeuchtigkeit allmählich zur — Eiweiß nicht fällenden — Orthosäure hydrolisiert wird und daß diese dann neben einem Teil der abgespaltenen Kernproteine während des Härtings- bzw. Färbeprozesses ausgewaschen wird, wodurch dann als natürliche Folge auch die Rotreaktion versagt.

um so mehr, als auch das Verhalten der übrigen in der Histologie gebräuchlichen substantiven Anilinfarbstoffe<sup>1)</sup> gegenüber der Metaphosphorsäure sehr zu ihren Gunsten spricht.

Demgegenüber findet die Unnasche „Anhydridtheorie“ keinerlei sichere Stütze und ich kann daher auch der Auffindung der Hydrate und Anhydride der Azurbasen durch Kehrman, so überaus wertvoll sie auch für den Chemiker ist, vom rein histologischen Standpunkt nicht die große Bedeutung beimessen, welche Unna ihr zuteil werden läßt. Nebenbei bemerkt, scheint es mir auch nicht zweckmäßig, den von Unna für diese roten Anhydride gewählten Namen „Thiazinrot“ in die Histologie einzuführen, zumal diese Bezeichnung, wie Unna selbst erwähnt, bereits seit langem für einen gänzlich anders gearteten Farbstoff aus der „Azogruppe“ mit Beschlag gelegt ist. Die Weiterausbildung der Romanowsky-Färbung verdankt der Auffindung des Methylenazur durch Bernthsen nachgewiesenermaßen so unendlich viel, daß man den Namen „Azur“ schon aus Pietät gegen seinen Urheber nicht ohne Not aufgeben sollte. Meines Erachtens trägt aber die hiervon abgeleitete und bereits seit vielen Jahren geläufige Bezeichnung „Azurblau“ und „Azurrot“ den metachromatischen Fähigkeiten dieses Farbstoffes bzw. seiner Komponenten in durchaus genügender Weise Rechnung.

Fasse ich meine Anschauungen über das Wesen der Giemsa-Färbung unter Einbeziehung einiger heute nicht in Diskussion stehender Punkte kurz zusammen, so kann ich sie folgendermaßen präzisieren:

1. An der „typischen“ leuchtend roten Kernfärbung ist Methylenblau nicht beteiligt, sondern ein Abbauprodukt desselben, das Methylenazur.

2. Azur allein gibt indessen diese Reaktion nicht, sondern färbt die Kerne nur „metachromatisch“ blau- bis rotviolett, zu ihrem Zustandekommen ist vielmehr die Anwesenheit von Eosin oder eines gleichwertigen sauren Farbstoffes (z. B. von Jodeosin) unbedingt erforderlich, und zwar ist Eosin an der Reaktion tinktoriell mitbeteiligt.

3. Die Rotviolettreaktion der Kerne, die mit Azur im Verein mit einigen „ungefärbten“ Eosinersatzstoffen (Resorcin, Gallussäure u. a.) erhalten wird, kann als typische Rotreaktion nicht angesehen werden, sondern gleichfalls nur als eine, und zwar durch diese Substanzen begünstigte, rein metachromatische Wirkung des Azur.

4. Die „typische“ Rotfärbung ist als eine ausgesprochene „Beizenfärbung“ zu betrachten, indem der Kern zuerst aus dem in Dissoziation befindlichen Azur-Eosin das Azur als Beize aufnimmt, wodurch er erst zur Aufnahme des Eosins, zu welchem er sonst kaum Affinität besitzt, befähigt und veranlaßt wird.

1) Diese geben mit Metaphosphorsäure Niederschläge von Metaphosphaten, die um so schwerer löslich im Wasser sind, je leichter der betreffende Farbstoff vom Kern gebunden wird.

5. Die metachromatische Wirkung des Azurs, welche nicht nur in der Rotviolett-färbung der Kernsubstanz, sondern auch in der Reinrot-färbung der Mastzellengranula zum Ausdruck kommt, läßt sich durch die Neigung dieses Farbstoffes zur „Tautomerie“ weit ungezwungener erklären, als durch die Annahme Unnas, nach welcher sie durch das rote Anhydrid des Azurs, bzw. durch die roten Anhydride seiner Komponenten verursacht wird.

6. a) Die von Liebermann gut gestützte Vermutung, daß die in den Zellkernen enthaltene Phosphorsäure dort als Metaphosphorsäure vorhanden ist, ferner

b) Die Fällbarkeit sämtlicher Kernfarbstoffe durch Metaphosphorsäure,

c) die metachromatische rotviolette Eigenfarbe des Azurmetaphosphates und

d) die Feststellung, daß sich künstlich erzeugte Nukleoproteide im Sinne Liebermanns mit Azur gleichfalls rotviolett und mit Azur-Eosin „typisch“ rot färben, lassen als ziemlich sicher annehmen, daß auch das analoge Verhalten der nativen Kernsubstanz auf deren Gehalt an Metaphosphorsäure zurückzuführen ist.

7) Obschon Methylenblau an dem Zustandekommen der Rotreaktion keinerlei Anteil hat, ist seine Anwesenheit bei der Giemsa-Färbung äußerst vorteilhaft, weil es die plasmatischen Bestandteile der Zelle tiefer und reiner blau färbt als Azur allein und hierdurch zur guten Differenzierung des Gesamtbildes wesentlich beiträgt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine einfache Sporenfärbungsmethode.

[Aus dem Pathologischen Institut der Hamburgischen Universität.]

Von Prof. Dr. Eugen Fraenkel.

Mit 5 Abbildungen im Text.

Es wird manchem überflüssig erscheinen, wenn ich den zahlreichen die Darstellung von Sporen bezweckenden Verfahren ein neues hinzufüge. Aber gerade die große Zahl derselben beweist, daß keines den an ein solches zu stellenden Ansprüchen voll genügt. Wäre das der Fall, dann könnte man es bei einem einzigen bewenden lassen. Großer Beliebtheit erfreut sich meines Wissens die Methode von Möller, bei der nach Vorbehandlung der Ausstrichpräparate in 5 proz. Chromsäurelösung die Färbung in Karbolfuchsinlösung unter Erwärmen, kurze Differenzierung in 5-proz. Schwefelsäure und Gegenfärbung in wässriger



Methylenblaulösung erfolgt. Die Methode leidet an dem Nachteil, daß für jede einzelne Sporenart die Zeitdauer der Chromsäurebehandlung ausprobiert werden muß. In dem v. Baumgartenschen „Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen“ (1911. S. 194) lautet die bezügliche Vorschrift „Behandeln des Präparates mit 5-proz. Chromsäurelösung 1,5–2 Min., Färbung in kochend heißem Anilinfuchsin oder Karbol-fuchsin 1 Min., Entfärbung in 5-proz. Schwefelsäure“. Diese Methode empfiehlt v. Baumgarten (neben der von Günther) in erster Linie. Wer sich im übrigen über Einzelheiten der zahlreichen, für Sporen-färbung angegebenen Vorschriften orientieren will, der sei auf die entsprechende Darstellung in dem Kolle-Wassermannschen Handbuche verwiesen. In dem Leitfaden für Mikroparasitologie von Gotschlich und Schürmann (1920. S. 40) wird die Möllersche Methode, beiläufig als einzige, besprochen. Die Verff. geben aber als Zeitdauer der Chrom-säurebehandlung 5 Sek. bis 10 Min. an, mit dem Zusatz „für jede Art besonders auszuprobieren“. Die Färbung geschieht dann in frischem dampfendem Anilinwasserfuchsin, in dem die Präparate bis zum Blasen-springen erhitzt werden. Diese Prozedur wird, mit Unterbrechung von 1–2 Min., 3–5mal wiederholt, kurzes Eintauchen in absoluten, dann

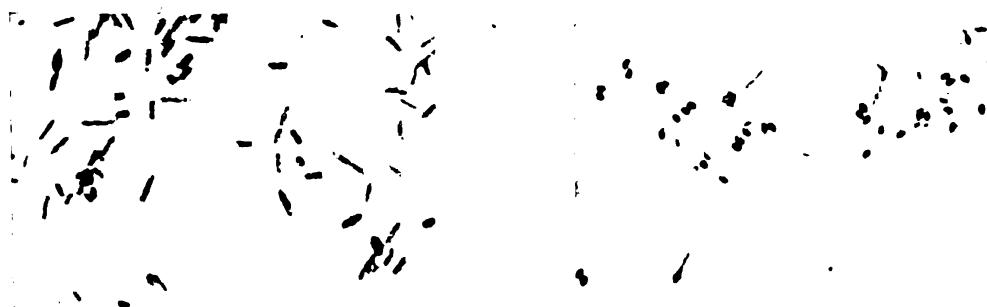


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 1. Fraenkelsche Gasbazillen. (Chromsäure-Kal. bichrom.-Beizung.)  
 Fig. 2. Bac. putrificus (Mahlo). (Chromsäure-Kal. bichrom.-Beizung.)

in 60-proz. Alkohol, bis keine Farbe mehr abgeht, Trocknen, Nachfärben mit einfacher wässriger Methylenblaulösung, Abspülen in Wasser. Es unterliegt keinem Zweifel, daß man mit dieser Methode brauchbare Sporenfärbung bekommen kann, indes ist, namentlich für den weniger Geübten, die Notwendigkeit, die für das Gelingen der Sporenfärbung erforderliche Zeit der Einwirkung der Beize bei den verschiedenen Bakterienarten auszuprobieren, nicht nur unbequem, sondern auch zeitraubend.

Ich habe deshalb bei meiner, namentlich im Kriege sehr ausgiebigen Beschäftigung mit anaëroben Kulturen ein Verfahren herauszubekommen gesucht, das mich gerade von dieser unbequemen Zeitbestimmung für die Beizung unabhängig machen sollte und bin dabei zu folgendem Vorgehen gelangt.

Das Prinzip der Methode besteht in dem einfachen Kunstgriff, nicht bloß die Färbung, sondern schon die Beizung in der Hitze vorzunehmen. Dadurch wird die Zeitdauer der ganzen Prozedur außerordentlich abgekürzt, und es ist mir auf diese Weise gelungen, alle Sporen von Aëroben, insbesondere auch

der verschiedenen Anaërobier, die mir, namentlich im Kriege, in großer Reichhaltigkeit zur Verfügung standen, gleichmäßig gut zur Anschauung zu bringen.

Ich habe dabei auch Untersuchungen über verschiedene Beizen angestellt und empfehle als solche 5-proz. Karbolwasser, oder eine 20-proz. Tanninlösung, oder ein Gemisch aus gleichen Teilen einer 10-proz. Kal. bichrom.- und einer 5-proz. Chromsäurelösung. Sämtliche Prozeduren werden an Objektträgerausstrichpräparaten von Agarkulturen vorgenommen und gestalten sich, wie folgt:



Fig. 2a.

Fig. 2a. *Bac. putrificus* Mahlo. (Tanninbeizung.)

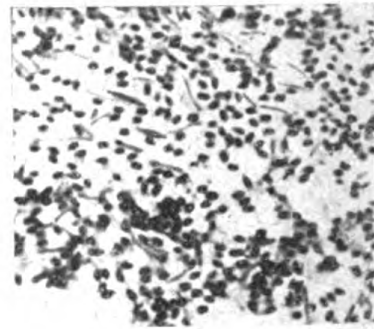


Fig. 3.

Fig. 3. *Fac. putrificus* (Bienstock.) (5-proz. Karbolsäurebeizung.)



Fig. 3a.

Fig. 3a. *Bac. putrificus* (Bienstock.) (Chromsäure-Kal. bichrom.-Beizung.)

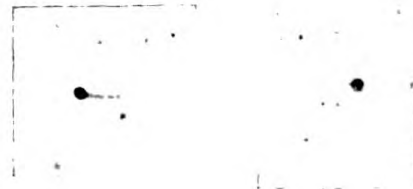


Fig. 4.

Fig. 4. *Tetanusbazillus*. (Chromsäure-Kal. bichrom.-Beizung.)

Fig. 5.

Fig. 5. Malignes Oedem, Fall Nägele. (Chromsäure-Kal. bichrom.-Beizung.)

Der lufttrockene, 3—4mal durch eine Bunsenbrennerflamme gezogene Objektträger wird mit einer der genannten Beizen übergossen und über einem Sparbrenner bis zum Blasenwerfen der Flüssigkeit erhitzt. Dieses Aufkochen wird, durch kurze Intervalle unterbrochen, 2—3mal wiederholt, danach Abspülen mit destill. Wasser, Abtrocknen mit Fließpapier und darauf Färbung mit Ziehlschem Karbolfuchsin, wie zur Färbung von Tuberkelbazillenpräparaten, d. h. unter 1—2maligem Aufkochen der Farblösung, Entfärbung in 5-proz. Schwefelsäure, Abspülen mit Wasser, Gegenfärbung mit stark verdünnter wässriger Methylenblaulösung. Die

Beizen sind unbegrenzt haltbar, die einzelnen Maßnahmen sind so einfach, daß sie von jeder Laborantin rasch erlernt werden und auch in der Hand des Ungeübten brauchbare Resultate liefern. Die beigelegten Photogramme bringen die Sporen in bester Weise zur Anschauung und bedürfen keines Kommentars.

Bezüglich der Tanninbeize möchte ich bemerken, daß ältere Lösungen wirksamer zu sein scheinen als jüngere, und daß bei Anwendung dieser Beize die Sporen eines und desselben Bazillus etwas größer erscheinen, als bei Einwirkung einer der anderen Beizen. Ich verweise in dieser Beziehung auf die Photogramme 2 und 2a.

Die einzelnen für die Ausführung der Methode in Betracht kommenden Reagentien sind billig und leicht zu beschaffen. Der jetzt unerschwinglich teure Alkohol, der bei der Gotschlichschen Vorschrift notwendig ist, kommt hier überhaupt nicht in Betracht.

Schließlich möchte ich für das Kochen der Beize, wie auch der Farblösung, auf dem Objektträger einen kleinen, mir durch Herrn Prof. Plaut bekannt gewordenen Kunstgriff empfehlen, der darin besteht, daß man die betreffende Flüssigkeit auf den, mit einem kleinen Streifen Fließpapier bedeckten Objektträger aufgießt. Dadurch wird das, namentlich bei dem Kochen der Karbolfuchsinlösung einsetzende, Spritzen der Flüssigkeit völlig vermieden. Auch das Springen der überhitzten Objektträger, das übrigens bei einiger Vorsicht auch sonst nicht einzutreten braucht, wird auf diese Weise hintangehalten.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Verwendung von Pilzextrakt an Stelle von Fleischextrakt bzw. Fleischwasser zur Herstellung von Bakteriennährböden.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen (Direktor: Prof. Dr. H. Raebiger).]

Von **E. Wiegert**, I. technische Assistentin des Instituts.

Im Laufe des letzten Jahres ist wiederholt über günstige Resultate mit Pilznährböden<sup>1)</sup> berichtet worden, so daß wir uns veranlaßt sehen, auch die in unserem Institut auf diesem Gebiete gesammelten Erfahrungen, die bereits in unserem Tätigkeitsbericht 1920/21 kurz wiedergegeben sind, zu veröffentlichen.

Der erste Versuch, aus frischen, zerkleinerten Pilzen unter entsprechendem Wasserzusatz einen Ersatz für Fleischwasser zu gewinnen,

1) „Ueber den Pilznährboden Much-Pinner“ von K. Lanke und M. Meyer, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 86, Heft 6 und „Ein neues Verfahren zur Herstellung von Bakteriennährböden“ von G. Brunhübner und W. Geiger-Pforzheim. (Deutsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 46, referiert in Nr. 51, 1921 der Münch. med. Wochenschr.)

wurde von uns schon 1916 gemacht. Er führte jedoch, wahrscheinlich infolge eines ungünstigen Mengenverhältnisses zwischen Pilzen und Wasser (500 g auf 1 l), zu einem gänzlich unbefriedigenden Ergebnis.

Im Sommer 1920, als die Beschaffung von Fleisch bzw. Fleischextrakt abermals für uns mit Schwierigkeiten verbunden war, wurden die Versuche wieder aufgenommen. Als Rohmaterial diente ein Gemisch von Speisepilzen sowohl in getrocknetem Zustande als auch in Form von Pilzmehl. Die Trockenpilze wurden in der Weise verarbeitet, daß 50 g in 500 ccm Wasser weich gekocht, mittels Fleischwolf zerkleinert und unter Hinzugabe von 2 g Kochsalz zu einem Extrakt eingedickt wurden. Das Extrakt wurde nun an Stelle von Fleischextrakt 1-, 2- und 3-proz. zur Bereitung von Nährbouillon und Nähragar benutzt. Vergleichende Versuche ergaben, daß das Wachstum der verschiedensten auf diese Pilznährböden gebrachten Bakterien hinter dem auf Nährböden aus Liebigs Fleischextrakt zurückblieb. Empfindlichere Keime, wie Rotlauf- und Geflügelcholeraerreger, kamen auf den Pilznährböden teils schlecht, teils gar nicht zur Entwicklung. Aehnlich fielen die Versuche mit Pilzmehl aus, das 1-proz. Verwendung fand.

Trotz dieser unbefriedigenden Versuchsergebnisse stellten wir im Oktober 1920 nochmals mit frischen Pilzen (Gemisch minderwertiger Speisepilze) Versuche an, welche günstig ausfielen. Die Verarbeitung erfolgte in der Weise, daß 250 g Pilze zerkleinert, mehrere Stunden in einem Kochkolben im Dampftopf gekocht und die von den Pilzen hierbei ausgeschiedene Flüssigkeit alsdann in einer Abdampfschale zu einem dunkelbraunen Extrakt eingedickt wurde. 1-proz. und 2-proz. an Stelle von Fleischextrakt unter Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz zur Herstellung von Bouillon und Agar benutzt, ergab das Pilzextrakt Nährmedien, die solche aus Fleischextrakt an Güte zum Teil übertrafen. Das bezog sich besonders auf die verschiedenen Erreger der Septikämie wie auf pathogene Vertreter aus der Paratyphusgruppe.

Leider war es uns in dem pilzarmen Sommer des vergangenen Jahres nicht möglich, die Versuche, die sich u. a. auch auf die Haltbarkeit des Pilzextraktes erstrecken sollten, fortzusetzen. Vielleicht regen aber die vorstehend mitgeteilten Ergebnisse dazu an, sich den diesjährigen Pilzreichtum auch auf dem Gebiete der Nährbodenbereitung in weitgehendem Maße zunutze zu machen. Ob Unterschiede zwischen dem von K. Lancken und M. Meyer angegebenen und dem von uns erprobten Verfahren bestehen, und ob der Trockenmethode oder der der Extraktbereitung der Vorzug zu geben ist, wird die ausgedehntere Anwendung dieser Nährböden zeigen.

## Ein Kunstgriff bei der Kerzenfiltration kleiner Flüssigkeitsmengen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald (Direktor Professor Dr. E. Friedberger).]

Von Dr. Werner Zorn, Assistent am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

Beim Arbeiten mit Berkefeld-Filtern ergeben sich einige Unbequemlichkeiten: 1) wird der Rest der Flüssigkeiten durch den Einfassungsring der Kerze (s. Fig.) an der Berührung mit der eigentlichen Filterkerze verhindert, was nur teilweise dadurch aufgehoben werden kann, daß man durch Einschütten von Sand oder dgl. die Flüssigkeit hebt, oder aber sie mit einer Pipette tropfenweise auf die Kerze bringt, eine höchst zeitraubende Arbeit. 2) wird bei geringen Flüssigkeitsmengen nur ein Teil der Kerzenoberfläche ausgenutzt. Um diese beiden Nachteile zu vermeiden, habe ich über die Kerze ein den Boden des Glaszylinders erreichendes Reagenzglas gestülpt (s. Fig.) und es an seinem oberen, aus dem Filtrierapparat herausragenden Teil mittels einer Bunsen-Flamme erhitzt. Dadurch wird die Luft in dem Glase erwärmt; sie dehnt sich wegen der Volumenzunahme aus und perlt daher teilweise durch die Flüssigkeit heraus. Beim Erkalten des Glases und der Restluft in ihm verringert sich naturgemäß das Luftvolumen. Infolgedessen wird die Flüssigkeit durch den atmosphärischen Luftdruck in dem Reagenzglas emporgehoben. Der Flüssigkeitsspiegel steigt so mit Leichtigkeit 1–2 cm über die Kuppe der Filterkerze. Die im Laufe der Filtration durch das Fallen des Flüssigkeitsspiegels bedingte Luftverdünnung wird dauernd automatisch ausgeglichen, indem die außerhalb des Reagenzglases befindliche Flüssigkeit langsam restlos in dieses gedrückt wird, während später Luftbläschen eindringen. Der Vorteil ist offensichtlich. Es wird jeder Tropfen der zu filtrierenden Flüssigkeit ausgenutzt, und es arbeitet bis fast zum Ende des Filtrationsprozesses die Gesamtoberfläche der Kerze. Dadurch wird auch die Filtration namentlich kleiner Flüssigkeitsmengen sehr beschleunigt.

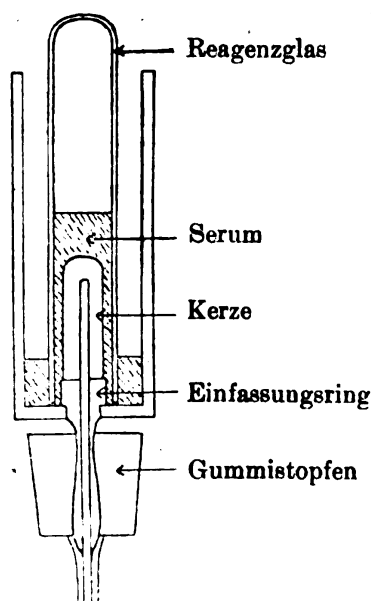


Fig. 1.

Nachdruck verboten.

## Bemerkungen zu dem Zeißlerschen binokularen Plattenkulturmikroskop.

[Aus dem Institut für mikrobiologische Präparate, Saarbrücken.]

Von E. Christensen.

In Heft 5 dieser Zeitschrift veröffentlicht J. Zeißler, Altona, ein Plattenkulturmikroskop, dessen Brauchbarkeit ohne weiteres einleuchtet. Bei Erwähnung meines zu demselben Zwecke und ebenfalls bei Zeißler konstruierten Impfpultes (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83, S. 606) behauptet Zeißler, daß dieses zur Untersuchung im auffallenden Lichte ungeeignet sei, weil der Träger der Kulturplatte festliege und nicht die zur Variierung des Auffallswinkels nötigen Neigungen zulasse. Demgegenüber möchte ich betonen, daß bei meinem System zwar die Ebene der Kulturplatte festliegt, der Gesichtswinkel der Lupe aber zur Platte beliebig variiert werden kann. Bei Zeißler steht umgekehrt der Gesichtswinkel der Lupe fest und die Ebene der Platte ist variabel. Ein Unterschied im optischen Effekt ist nicht einzusehen.

Die feste Lage des Objektisches bei meiner Konstruktion gestattet weiter, ein und dieselbe Bakterienkolonie ohne Verschiebung der Kulturschale mit der mon- oder binokularen Lupe nacheinander in auf- oder durchfallendem oder kombiniertem Licht zu betrachten. Bei Zeißler muß zu diesem Zweck der ganze Objektisch ausgewechselt und die Kolonie aufs neue aufgesucht werden.

Ein weiterer Vorteil meines Impfpultes, das sich bei anderen und mir in jahrelangem Gebrauch bewährt hat, ist der, daß die Treffsicherheit der Impfnadel durch ein auf dem Objektisch angebrachtes Kreuz bedeutend erhöht wird. Die Größe der Tischplatte erlaubt außerdem ihre Verwendung zu genaueren Operationen an Kleintieren, wie Paulschem Cornealversuch etc.

### Inhalt.

- Bach, F. W., u. Kiefer, K. H.,** Untersuchungen über Blastocystis, S. 72.
- Christensen, E.,** Bemerkungen zu dem Zeißlerschen binokularen Plattenkulturmikroskop, S. 112.
- Fraenkel, Eugen,** Ueber eine einfache Sporenfärbungsmethode. Mit 5 Abbildungen im Text, S. 106.
- Giemsa, G.,** Das Wesen der Giemsa-Färbung, S. 99.
- Hesselbach, Kurt,** Die trypanozide Wirkung von Bayer 205 auf Trypanosoma equiperdum. Mit 1 Tafel und 1 Abbildung im Text, S. 48.
- Knorr, Maximilian,** Ueber die fusospirilläre Symbiose, die Gattung Fusobacterium (K. B. Lehmann) und Spirillum sputigenum. (Zugleich ein Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle.) II. Mitteilung. Die Gattung Fusobacterium. Mit 2 Tafeln und 2 Abbildungen im Text, S. 4.
- Manninger, E.,** Zur Aetiologie des Ferkeltyphusbazillus, S. 23.
- Poppe, K.,** Die Bedeutung der Konglutinations- und KH-Reaktion für die Serumdiagnose des Rotzes. Mit 1 Kurve im Text, S. 29.
- Schneider, Martin,** Infektionen der Hamwege durch Staphylococcus albus, S. 22.
- Wiegert, E.,** Ueber die Verwendung von Pilzextrakt an Stelle von Fleischextrakt bzw. Fleischwasser zur Herstellung von Bakteriennährböden, S. 109.
- Zdansky, Erich,** Untersuchungen über den Stoffwechsel der Bakterien. I. Die Bedeutung freier Aminosäuren, demonstriert an der Indolreaktion, S. 1.
- Zorn, Werner,** Ein Kunstgriff bei der Kerzenfiltration kleiner Flüssigkeitsmengen. Mit 1 Abbild. im Text, S. 111.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ausgegeben am 21. Dezember 1922.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine biologische Eigenschaft eines Wurzelbazillus.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie (pathologische Biologie)  
Allgemeines Krankenhaus Eppendorf (Prof. Much).]

Von P. Kimmelstiel.

Mit 1 Abbildung im Text.

Im folgenden handelt es sich um eigentümliche, bakterientötende Kräfte des Wurzelbazillus, die bei anderer Gelegenheit im hiesigen Laboratorium gefunden wurden, und jetzt genauer untersucht wurden. Der Stamm, der diese Eigenschaft zeigt, gehört zur Reihe des *Mesentericus*, und ist dem *Mycoides* am meisten ähnlich. Es sind sporentragende, nach Gram färbbare Stäbchen. Ueber die genaue Klassifikation wird noch berichtet werden.

Wenn man den Wurzelbazillus (so soll er einstweilen benannt werden) von einer Agarplatte (am besten mit einem ausgestoßenen Agarstückchen, da er fest mit dem Nährboden verwächst) so auf ein Bouillonröhrchen bringt, daß er durch die Oberflächenspannung getragen wird, so breitet er sich in Form eines Häutchens aus und läßt die Bouillon völlig klar. Bringe ich ihn auf eine stark getrübe, beliebig alte Bouillonkultur eines anderen Spaltpilzes, z. B. *Bact. coli*, Y, Flexner, *Staphylococcus* etc., in derselben Weise, so hellt sich die getrübe Bouillon nach etwa 3—4 Tagen völlig auf. Der Wurzelbazillus macht eine vorher völlig trübe Bouillonkultur klar und durchsichtig. Doch ist dieses Aufhellungsvermögen nicht wahllos und nicht gleich geschwind (Fig. 1 gibt eine Probe davon).

Es wurden von jedem Spaltpilze 2 Röhrchen angesetzt, auf das eine wurde der Wurzelbazillus gesetzt. Die Kulturen blieben 48 Std. im Brutschrank, denn auch bei Brutschranktemperatur wächst der Wurzelbazillus gut. Das Bild wurde nach 4 Tagen aufgenommen. Das Röhrchen, das mit *Paratyphus B* beimpft war, zeigt, daß der Wurzelbazillus hier nicht aufhellte, doch ist das nicht durchgängig für alle *Paratyphus*-stämme der Fall. Ferner zeigt uns das Bild die verschiedene Aufhellungsgeschwindigkeit. Alle Röhrchen mit Ausnahme des *Paratyphus*-röhrchens wurden nach 3 weiteren Tagen völlig klar. Beim *Pyocyaneus* ist es uns überhaupt nie gelungen, den Wurzelbazillus zum Anwachsen zu bringen.

Manchmal, in bisher nicht aufgeklärten Fällen, tritt nach einigen Tagen, manchmal nach Wochen erst, eine Gelbfärbung auf, die sich bis zum starken Braunrot steigern kann. Diese Verfärbung der aufgehellten, klarbleibenden Bouillon ist nicht notwendig vom Lichte abhängig, wohl aber ist sie verschieden stark, je nach dem benutzten Stamme. Im allgemeinen konnte ich feststellen, daß die Verfärbung am leichtesten und schnellsten beim Y eintrat. Am aufhellenden Stamme des Wurzelbazillus kann es nicht liegen, da wir zu allen Versuchen nur einen ein-

zigen Stamm benutzten. Der Farbstoff läßt sich in Chloroform oder Aether nicht ausschütteln.

Weiter wurde durch Agarmischplatten festgestellt, daß der Wurzelbazillus fast alle vorher lebenden Keime abtötet, bis auf einige, wenige Widerstandsfähige, die sich noch nach einer Einwirkungsdauer von etwa 14 Tagen nachweisen ließen, obwohl die Bouillon schon etwa am 4. Tage aufgehellt war. Es ist bisher aus äußeren Gründen noch nicht möglich gewesen, diese übrigbleibenden Keime auf ihre etwaigen besonderen biologischen Eigenschaften hin zu prüfen, doch hoffen wir, diese Lücke noch ausfüllen zu können. Ein einfaches Abtöten der Bakterien ist nicht anzunehmen, und zwar deshalb nicht, weil sich ein nur geringer Bodensatz bildet, der sich im mikroskopischen Präparat zum größten Teil aus Mycoides und Mycoides-Sporen zusammengesetzt erweist und nur geringe Mengen des ursprünglich dicht gewachsenen, aufzulösenden Keimes enthält. Läge ein bloßes Abtöten des Keimes vor, nicht ein Auflösen, so wäre ein dickerer Bodensatz zu erwarten gewesen.

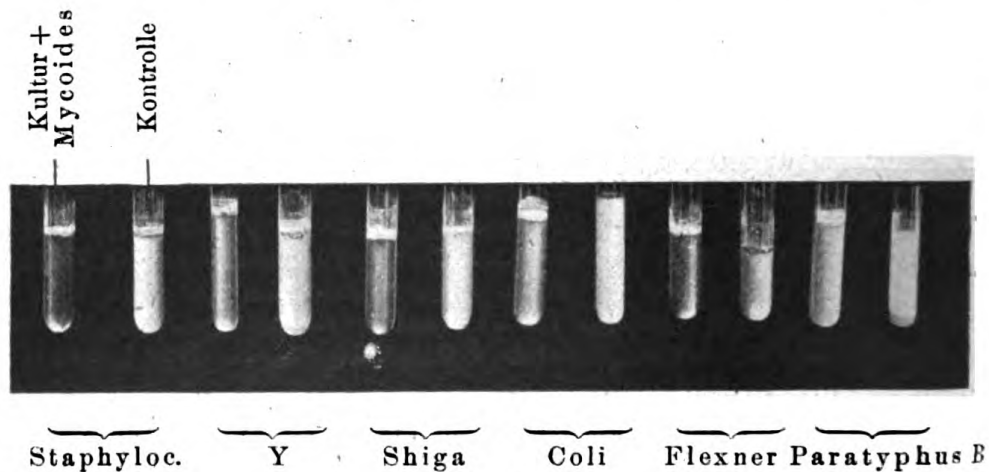


Fig. 1.

Zudem ist bekannt, daß der Mycoides ein Eiweißverdauer ist; er bildet tiefe Dellen in der Serumplatte.

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Wurzelbazillus nicht die Keime bloß abtötet, so daß sie, zu Boden sinkend, die Bouillon klären könnten, sondern er greift die Bakterienleiber selbst an und löst sie auf.

Es fragt sich weiter, auf welche Weise der Wurzelbazillus diese Leistung vollbringt. Seine Sporen sind zwar in der ganzen Bouillon enthalten, ohne sie zu trüben, doch können sie eine Aufhellung nicht zustande bringen, wenn sich nicht das Häutchen an der Oberfläche bildet. Ohne Häutchenbildung keine Aufhellung, d. h. nur der Wurzelbazillus selbst vermag die Spaltpilze zu lösen, nicht seine Sporen.

Es lag daher nahe, die ganze Wirkung einem Sauerstoffabschluß durch eben dieses Häutchen zuzuschreiben, doch ist das nicht der Fall, denn die genannten Bakterien können unter Umständen auch sauerstofffrei wachsen. Zum eindeutigen Nachweis der Unrichtigkeit dieser Ansicht wurde der Versuch mit dem völlig sauerstofffrei wachsenden Fränkelschen Gasbrandbazillus (im Tarozzi-Röhrchen) gemacht, der ebenso wie die anderen eine Auflösung erfuhr.



Da die Auflösung langsam von der Oberfläche beginnend, zum Boden des Röhrchens hin fortschreitend, erfolgt, so konnte man an die Absonderung eines bakteriolytischen Stoffes denken, der vom Mycoides-Häutchen abgesondert wird und in die Bouillon hinein diffundiert, vielleicht ein Ferment.

Versuch 1a. Eine Bouillon, auf der Mycoides 8 Tage gewachsen ist, wird von dem Häutchen befreit und durch eine Berkefeld-Kerze keimfrei filtriert. Das Filtrat wird in 6 Röhrchen ange-  
setzt und tropfenweise eine Aufschwemmung von Staphylokokken zu-  
gesetzt.

	Filtrat	Tropfenzahl	Wachstum
1.	"	2	0
2.	"	4	0+
3.	"	6	+
4.	"	8	++
5.	"	10	++
6.	Bouillon	2	++

Bis zu einer gewissen Anzahl von Keimen vermag das Filtrat also das Wachstum völlig zu hemmen.

Versuch 1b. Dem Filtrat wird eine Aufschwemmung von Y, Flexner etc. zugesetzt, die alle im Wachstum, wie bei Versuch 1a, gehemmt werden, während das Kontrollröhrchen kräftiges Wachstum zeigt.

Versuch 2. Eine Bouillon, in der Staphylokokken durch den Wurzelbazillus aufgeheilt waren, wird keimfrei filtriert. Das Filtrat wird in fallenden Mengen einer Bouillon zugesetzt und in jedes Röhrchen gleiche Anzahl Tropfen einer Staphylokokkenaufschwemmung gebracht.

	Filtrat	Bouillon	Tropfen	Wachstum
1.	3 ccm	—	2	0
2.	2,5 "	0,5	2	0
3.	2,0 "	1,0	2	0+
4.	1,5 "	1,5	2	+
5.	1,0 "	2,0	2	++
6.	—	3,0	2	++

Das Filtrat ist also nur in größerer Menge wirksam, es spielen also, worauf es hier ankommt, die Mengenverhältnisse eine sehr wesentliche Rolle. Wir möchten hieraus schließen, daß der Stoff als solcher nicht vermehrungsfähig ist, zumal die Röhrchen der Unwirksamkeit: 3, 4 und 5 keine Besonderheiten im Ausstrich auf der Agarplatte aufwiesen. Das Filtrat hemmt nur, kann aber nicht auflösen! Zu dem d'Herelle'schen Phänomen scheint also (soweit diese Versuche reichen) keine Beziehung zu bestehen. Es wird sich voraussichtlich wohl um ein Ferment handeln, das in seiner Wirksamkeit an die Lebenstätigkeit des Mycoides gebunden ist.

Ein echtes, rein biologisches Phänomen, vergleichbar dem der Staphylokinase, wo auch durch die Lebenstätigkeit der Staphylokokken, und zwar nur durch diese, Plasma zum Gerinnen gebracht werden kann (Much). Das Ganze ist typisch: Unter Ausschaltung aller möglichen Nebenbedingungen und Nebenwirkungen werden hier durch Schaffung künstlicher, möglichst einfacher Verhältnisse scheinbar „schlummernde“ Fähigkeiten zur Kenntnis gebracht, die doch zum Lebenskreise der Kleinwesen gehören.

*Nachdruck verboten.*

## Die Kodamasche Syphilisreaktion.

[Aus dem Preussischen Hygienischen Institut Beuthen O.-S. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. v. Lingelsheim).]

Von Prof. E. Jacobitz und Dr. Engering.

Im Centralbl. f. Bakt. Abt. I., Orig. Bd. 86, 1921, S. 211 hat Kodama eine „neue einfache Serodiagnostik der Syphilis-kranken mittels Ausflockungsreaktion“ mitgeteilt. Die Reaktion besteht im wesentlichen darin: 0,1 ccm des inaktivierten zu untersuchenden Serums werden mit 0,5—1 ccm eines auf besondere Weise hergestellten Extraktes im Uhlenhuthschen Röhrchen überschichtet. Ein an der Berührungsfläche der Schichtung auftretender weißlicher, deutlich sichtbarer Ring spricht für positiven Ausfall, das Ausbleiben des Ringes für negativen Ausfall der Reaktion. Die Beobachtung geschieht bei Zimmertemperatur. Die Ringbildung tritt bei positivem Ausfall der Reaktion nach kurzer Zeit auf, spätestens aber nach 1—2 Std. Spätere Ringbildung läßt Kodama nicht gelten, er sagt ausdrücklich: „Im übrigen soll die Reaktion nicht später als nach Ablauf von 2 Std. eintreten.“

Der von Kodama benutzte Extrakt wurde so hergestellt, daß das fein zerschnittene Herz bzw. die Leber eines normalen Meer-schweinchens zunächst 2 Tage lang mit Aether extrahiert, der Aether entfernt und dann 1—2 Wochen lang mit absolutem Alkohol extrahiert wurde.

Das Wesentliche bei der Herstellung des Extraktes ist jedenfalls die der Alkoholextrahierung vorangehende Behandlung der zerschnittene Organe mit Aether. Durch Aether werden die für Syphilis nicht spezifischen Substanzen extrahiert.

Diese von Kodama geäußerte Ansicht wird durch die Dialyse-versuche von Forssman bestätigt, welche gezeigt haben, daß diejenigen Substanzen, die die positive Wassermannsche Reaktion bedingen, durch Aether nicht beeinflusst werden (Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 21. S. 1054).

Auf Grund seiner Versuche kommt Kodama zu dem Schlusse, daß die von ihm entdeckte Reaktion als selbständige serodiagnostische Methode für Syphilis verwendbar ist, oder auch als Hilfsmethode bei der Wassermann-Reaktion verwertet werden kann.

Wir haben die Kodamasche Reaktion bei 175 Seris angewandt, bei denen die Wassermannsche Reaktion positiv ausgefallen war, ferner bei 182 Seris mit negativer Wassermannscher Reaktion, darunter auch bei solchen, die dem Institut nicht zur Ausführung der Wassermann-, sondern anderer Reaktionen (Widal etc.) zugegangen waren, bei 35 Seris, bei denen die W.-R. zweifelhaft nach positiv und bei 30 Seris, bei denen die W.-R. zweifelhaft nach negativ war. Hinzugefügt sei, daß mit allen von uns geprüften Seris neben der W.-R. auch die S.-G.-R. ausgeführt worden ist.

Die für die Reaktion notwendigen Extrakte haben wir selbst hergestellt. Es wurden dazu Herz und Leber normaler Meerschweinchen verwendet. Wir haben einmal Extrakte gewonnen, die nach den Vorschriften Kodamas angesetzt waren. Die Angaben in der Arbeit Kodamas über die zuzusetzende Menge von Aether und Alkohol sind ungenau. Es heißt dort: „Das Herz oder die Leber eines normalen Meerschweinchens wird fein zerschnitten und mit Aether (1:20) bei Zimmertemperatur 2 Tage lang extrahiert“, und dann später: „Dem derart behandelten Organ wird nun absoluter Alkohol (1:5) zugesetzt, worauf usw.“ Es kann zweifelhaft sein, wie die Angaben 1:20 und 1:5 gemeint sind, ob nach Gewichts- oder Volumenprozenten. Wir haben daher sowohl Extrakte verwendet, bei denen die Aether- bzw. Alkoholmenge das 20- bzw. 5-fache der Grammmenge des Meerschweinchenorgans betrug und solche, bei denen der Zusatz von Aether und Alkohol nach Volumenprozenten berechnet wurde. Ein wesentlicher Unterschied in den Ergebnissen, d. h. in dem schnelleren Auftreten und dem deutlicheren Sichtbarwerden des Ringes an der Ueberschichtungszone, war in der Hauptsache nicht festzustellen. Wir hatten jedoch im allgemeinen den Eindruck, daß die Extrakte mit Aether und Alkohol nach Volumenprozenten etwas wirksamer gewesen sind. Dagegen scheint es nach unseren Erfahrungen vorteilhafter zu sein, die Aetherextraktion nicht nur, wie Kodama vorgeschrieben hat, 2 Tage lang vorzunehmen, sondern sie länger auszudehnen. Wir haben bei Vergleichsversuchen die besten Ergebnisse, d. h. den deutlichsten Ring an der Ueberschichtungsstelle mit Extrakten gehabt, bei denen die Aetherextraktion 4–6 Tage lang ausgedehnt worden war. Bei diesen am besten wirkenden Extrakten war die Behandlungsdauer mit absolutem Alkohol ebenfalls verlängert worden, und zwar bis ungefähr 3 Wochen.

Bei den meisten Extrakten wurde ein Gemenge von Herz und Leber verwendet. Doch hatten wir auch unter den bestwirkenden Extrakten solche, zu denen nur das Herz oder nur die Leber eines gesunden Meerschweinchens benutzt worden war.

Wir haben ferner einen Extrakt hergestellt, bei dem die zerkleinerten Meerschweinchenorgane (Herz und Leber) zunächst im Vakuum und im Exsikkator getrocknet und dann vollständig zu Pulver verrieben wurden. Zu diesem Organpulver wurde Aether nach Volumenprozenten zugesetzt, entsprechend dem Grammgewicht der frischen Organe. Nach demselben Grundsatz wurde die zuzusetzende Alkoholmenge berechnet. Auch dieser Extrakt gehörte mit zu unseren besten.

Die von Kodama angegebene, von ihm als besonders wichtig betonte Verdünnungsmethode der alkoholischen Organextrakte hat sich auch bei unseren Untersuchungen durchaus bewährt.

Wir können den Angaben Kodamas über die Wichtigkeit der auf diese Art hergestellten Verdünnung nur zustimmen, denn nur auf diese Weise sind die für eine Ueberschichtung brauchbaren, klaren Verdünnungen zu erhalten.

Bei der Ausführung der Reaktion verwendeten wir Pipetten, die wir aus Glasrohr mit 2–3 mm Oeffnungsweite im Durchmesser, das zu einer langen, feinen, kapillaren Spitze ausgezogen wurde, herstellten.

Als Röhrrchen für die Versuche benutzten wir anfangs die Uhlenhuthschen mit dem dazugehörigen Reagierglasgestell. Doch erwiesen sich die kurzen in den vorschriftsmäßigen Typhusversandgefäßen enthaltenen Röhrrchen uns als brauchbarer. In dem langen Uhlenhuth-

schen Röhrrchen kam es trotz aller Vorsicht erheblich öfter zur Mischung des Serums und des Extraktes, da sich das Einlaufen des Extraktes in den langen Röhrrchen schwerer regulieren ließ, als in den kurzen Widalröhrrchen.

Das Einlaufen des Extraktes zur Ueberschichtung wird am besten in der Weise ausgeführt, daß man etwas von dem in dem Gläschen befindlichen Serum an der Wand bis zur Oeffnung herauflaufen läßt und alsdann, während man das Röhrrchen schräg hält, unter Benutzung dieser so geschaffenen feuchten Bahn, den Extrakt langsam an der Wand des Gläschens hinabgleiten läßt. Auf diese Weise haben wir eine unliebsame Vermischung von Extrakt und Serum vermeiden können und fast ausnahmslos eine glatte Schichtung erreicht.

Stärker getrübte Sera und solche mit ausgesprochener Hämolyse sind, wie Kodama ausgeführt hat, für die Reaktion ungeeignet. Hämolytische, Wassermann positive Sera ließen nicht selten eine Ringbildung nicht zustande kommen. Bei den trüben, Wassermann-negativen Seris, bei denen auch die Sachs-Georgi-Reaktion negativ war und die von Patienten stammten, die klinisch anscheinend keine Syphilis hatten, wurde öfter eine Ringbildung vorgetäuscht. Ein ungleiches Ergebnis ergaben Sera, die längere Zeit, d. h. bis zu 20 Tagen, nach ihrer Inaktivierung im Eisschrank aufbewahrt worden waren. Einzelne von ihnen ergaben nach längerer Aufbewahrung unverändert eine positive Reaktion, wie in den ersten Tagen nach ihrer Entnahme. Bei anderen wieder war durch die Aufbewahrung im Eisschrank die Kodama-Reaktion negativ geworden.

Die Ringbildung an der Ueberschichtungsfläche tritt meist nach wenigen Minuten ein, doch ist sie nicht bei allen Seris sofort deutlich, bei vielen nimmt sie innerhalb der nächsten  $\frac{1}{2}$ —1 Std., auch bis 2 Std., an Deutlichkeit zu, bei anderen Seris tritt sie überhaupt erst in dieser Zeit auf. Sie bleibt alsdann mehrere Stunden unverändert, läßt aber nachher wieder nach und ist am nächsten Tage nicht mehr oder kaum noch sichtbar. Späteres Auftreten des Ringes als nach 2 Std. haben wir nicht beobachten können. Die Stärke der Ringbildung bzw. die mehr oder weniger deutliche Sichtbarkeit des Ringes steht an sich keineswegs im Einklang mit der Stärke der Reaktion, d. h. ein besonders deutlicher Ring braucht, wie Vergleiche mit der gleichzeitig angesetzten Wassermannschen und Sachs-Georgischen Reaktion ergaben, nicht einer Wassermann-Reaktion mit +++ oder ++++ zu entsprechen. Die geringere oder größere Deutlichkeit des Ringes ist vielmehr mit von der Farbe und der ganzen Beschaffenheit des Serums abhängig.

Alle Sera, bei denen die Wassermann- und die Sachs-Georgi-Reaktion ausgesprochen positiv waren (+++, ++++), waren auch mit der Kodama-Reaktion positiv.

Von 158 Seris, bei denen Wassermann- und Sachs-Georgi-Reaktion negativ ausgefallen waren, war bei 155 die Kodama-Reaktion ebenfalls negativ. Bei 3 von ihnen hatte sie ein positives Ergebnis, und zwar waren dies Sera, welche von Fällen sogen. latenter Syphilis stammten. Andererseits war bei der weit überwiegenden Mehrzahl (21) von Seris, die negative Wassermann-Reaktion, aber zweifelhafte oder schwach positive Sachs-Georgi-Reaktion hatten (es handelte sich meist um Sera von behandelten Syphilisfällen, ohne zur Zeit nachweisbare Erscheinungen, und um einige Sera von Fällen, bei denen die Infektion noch nicht 6 Wochen zurücklag),

die Kodama-Reaktion negativ, nur bei 3 (1 Fall tertiärer Syphilis und 2 Fälle latenter Syphilis) stimmte das Ergebnis der Kodama-Reaktion mit dem der Sachs-Georgi-Reaktion zusammen. Die letztere erscheint demnach nach unseren Beobachtungen als die schärfere, da sie dort häufig sowohl bei noch nicht, als auch bei nicht mehr offenbarer Syphilis einen positiven Ausschlag gibt, den die Wassermann-Reaktion und die Kodama-Reaktion in der Regel vermissen lassen.

Wir hatten also unter 182 Seris mit negativer Wassermann-Reaktion 6, die positive Kodama-Reaktion zeigten. Die von Kodama mitgeteilten Ergebnisse über negative Sera sind in dieser Beziehung günstiger: Er hatte unter 140 Seris mit negativer Wassermann-Reaktion (Sachs-Georgi-Reaktionen wurden von ihm nicht ausgeführt) 10, ihrer Herkunft nach den Syphilisverdacht rechtfertigende Sera, mit denen seine Reaktion positiv ausfiel.

Die von uns nach Kodama geprüften 35 Sera, bei denen die Wassermann-Reaktion mit ++, also als zweifelhaft nach der positiven Seite und der Ausfall der Sachs-Georgi-Reaktion im einzelnen mit ±, +, ++ und auch mit +++ bezeichnet worden war, gaben mit 2 Ausnahmen ebenfalls positive Reaktion. Kodama gibt an, bei Seris mit WaR. ++ immer ein positives Ergebnis gehabt zu haben. Die beiden negativen Reaktionen, die wir hatten, fallen für die Beurteilung des Wertes der Kodama-Reaktion bei derartigen Seris gar nicht oder kaum ins Gewicht, finden wir doch immer wieder auch einmal eine negative Sachs-Georgi-Reaktion bei diesen Seris.

Die 30 Sera mit Wassermann-Reaktion ±, von denen aber eine Anzahl nach Sachs-Georgi schwach positiv + bis deutlich positiv +++ , einzelne auch negativ reagiert hatten, waren nach Kodama mit 4 Ausnahmen negativ. Diese 4 Ausnahmen betrafen Krankheitsfälle, welche noch nicht lange eine antisiphilitische Kur hinter sich hatten.

Die oben wiedergegebenen Ergebnisse unserer Versuche, welche die allgemeine Brauchbarkeit der Kodama-Reaktion für die Syphilisdiagnose prüfen sollten, haben diese als hierzu durchaus geeignet erkennen lassen: Die Kodama-Reaktion hat nach unseren Versuchen bei allen Erkrankungsfällen mit positiver Wassermann-Reaktion und bei allen Erkrankungsfällen, in denen Syphilis auszuschließen war, niemals versagt. Unsicher ist ihr Ergebnis mit Seris, die eine irgendwie zweifelhafte Wassermansche oder Sachs-Georgische Reaktion gezeigt haben.

Die Kodama-Reaktion hat vor anderen „Hilfsmethoden“, Sachs-Georgi-Reaktion, Meinicke-Reaktion usw. zweifellos Vorteile: sie bedarf keines Brutschrankes, sie ist nach spätestens 2 Std. abgeschlossen, auch die Herstellung der zu ihrer Ausführung notwendigen Extrakte ist in jedem Untersuchungsamt ohne Schwierigkeiten auszuführen. Ihre Technik verlangt allerdings gewisse Vorsicht und Übung, deren Handhabung jedoch leicht zu erlernen ist. Ein gewisser Mangel haftet aber der Kodamaschen Reaktion insofern an, als sie nur positives und negatives Ergebnis anzeigt, die Zwischenstufe ± aber nicht zum Ausdruck kommt. In dieser Beziehung steht sie hinter der Wassermanschen Reaktion und ihren anderen Hilfsmethoden entschieden zurück. Wir können daher aus diesem Grunde die Frage, ob die Kodama-Reaktion als selbständige serodiagnostische Methode für Syphilis verwendbar ist, nicht ohne weiteres bejahen, zumal auch noch

praktische Erwägungen verschiedener Art in Betracht kommen müssen, ehe man eine neue Reaktion als Ersatz der altbewährten, wenn auch nicht in jeder Beziehung idealen Wassermannschen Reaktion empfehlen könnte. Es kommt hinzu, daß uns noch Untersuchungen darüber fehlen, wie weit die Reaktion als für Syphilis ausschließlich „spezifisch“ anzusehen ist, also z. B. die Prüfung des Verhaltens der Kodama-Reaktion gegenüber Seris von Kranken mit Ulcus molle, auch von Malariakranken. Derartige Untersuchungen beabsichtigen wir demnächst in Angriff zu nehmen.

Unsere bisherigen Untersuchungsergebnisse lassen aber den 2. Teil des Schlußsatzes der Kodamaschen Veröffentlichung, nach dem er seine Reaktion als „Hilfsmethode bei der Wassermannschen Reaktion“ verwendet wissen möchte, voll zu Recht bestehen.

*Nachdruck verboten.*

## Zur bakteriologischen Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen.

[Aus dem Preußischen Hygienischen Institut zu Beuthen (Direktor Geh. Med.-Rat Prof. Dr. v. Lingelsheim).]

Von Dr. med. Paul Engering.

Die Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen hat immer große Schwierigkeiten bereitet. Unter diphtherieähnlichen Bazillen verstehen wir alle die grampositiven Stäbchen, die als *Bacillus Hofmanni*, Pseudodiphtherie-, Diphtheroid-, Xerose- und Paradiphtheriebacillus beschrieben wurden.

Zweifel bezüglich der Differenzierung entstehen besonders bei den morphologisch sehr diphtherieähnlichen Stämmen, die nicht von Diphtheriekranken stammen. Hier läßt auch oft die Neißer-Färbung im Stich, indem nicht selten wenigstens einzelne Stäbchen deutliche Polkornfärbung zeigen.

Langer und Krüger berichten, daß die Färbemöglichkeit der metachromatischen Körper zeitlich beschränkt ist. Sie soll erst in 12 stünd. Kulturen auftreten. Ebenso soll das Ausbleiben der Neißer-Färbung nicht unbedingt gegen Diphtherie sprechen, da vereinzelt Diphtheriebazillen beobachtet wurden, die keine Neigung zur Polfärbung besitzen. Derartige Beobachtungen wurden von uns nicht gemacht. Die Angabe der beiden Autoren können wir aber bestätigen, daß nicht selten bei diphtherieähnlichen Kulturen, zumal bei älteren Stämmen, eine Polfärbung angedeutet war. Nach Ehrlich soll man den Tierversuch anschließen, wenn die Neißer-Färbung noch Zweifel übrig läßt. Doch häufig wird man heute, schon mit Rücksicht auf die großen Kosten der Versuchstiere, nicht in der Lage sein, die Virulenz der verdächtigen Stäbchen an Meerschweinchen zu erproben. Es sei an dieser Stelle auch darauf hingewiesen, daß es für das Meerschweinchen nichtvirulente Diphtheriebazillen gibt, sowie darauf, daß einige Arten diphtherie-

ähnlicher Bazillen beobachtet sind, die bei den angestellten Tierversuchen Oedeme und Paralysen hervorriefen.

Also auch nach Anstellung des Tierversuches können noch Zweifel bezüglich der Differenzierung bestehen bleiben, und es wäre deshalb wünschenswert, ein Verfahren zu besitzen, das über die Identität derjenigen Stämme Aufschluß gäbe, bei denen weder die Neißer-Färbung, noch der Tierversuch ein entscheidendes Ergebnis geliefert haben.

Zur Differenzierung hat man immer wieder versucht, die Säurebildung der Diphtheriebazillen in Gegenwart der Kohlehydrate heranzuziehen. Erwähnt seien z. B. die Nährböden von Hyß, Thiel und Rothe. In den Ergebnissen weichen die einzelnen Autoren nicht unerheblich voneinander ab. Neißer (2) sagt zusammenfassend: „Das Resultat der deutschen und amerikanischen Autoren geht dahin, daß die echten Diphtheriebazillen wohl regelmäßig Traubenzucker, Fruktose und Mannose zersetzen, während die Diphtheroiden das in der Regel nicht tun. Andere Zuckerarten eignen sich zur Differenzierung weniger.“ Wir können dieser Ansicht nicht ganz beipflichten, und werden später eine tabellarische Uebersicht über die von uns geprüften Zuckerarten geben.

Vielleicht beruht diese Verschiedenheit der Ergebnisse darauf, daß immer wieder anders zusammengesetzte Nährböden, sowohl von fester als auch flüssiger Form verwendet wurden.

Neuerdings sucht Lubinski (3) einen bestimmten Typ der diphtherieähnlichen Stäbchen, die diphtherieähnlichen Wundstäbchen, abzugrenzen, indem er sagt: „Die diphtherieähnlichen Wundstäbchen versäuern die Saccharose, während echte Wunddiphtherie das nicht tut.“ Er schlägt deshalb für die Gruppe der diphtherieähnlichen Wundstäbchen einen neuen Namen vor: Paradiphtheriebazillen. Wenn wir auch diese Erfahrung bestätigen konnten, so möchten wir uns doch gegen die Einführung eines neuen Namens in der sowieso schon bunten Gruppe der diphtherieähnlichen Stäbchen wenden. Er dürfte verwirrend wirken, zudem er nur auf eine bestimmte Herkunftsgruppe zugeschnitten ist und zur Differenzierung der anderen diphtherieähnlichen Stäbchen aus Rachen, Conjunctiva usw. nicht anwendbar ist, wie unsere Untersuchungen ergaben.

Zusammenfassend kann man mit van Riemsdyk (4 und 5) sagen, daß es wohl kaum eine kulturelle, biologische oder tinktorielle Methode gibt, welche nicht zur Differenzierung der Diphtherie von den diphtherieähnlichen Stäbchen herangezogen worden wäre, neben den schon erwähnten bis zur Agglutination, Präzipitation, Bakteriolyse und Komplementablenkung. Die Resultate sind leider so verschieden und zum Teil widersprechend, daß man sich schwer ein richtiges Bild machen kann.

Wir haben uns deshalb nochmals mit der bakteriologischen bzw. kulturellen Differenzierung beschäftigt.

Am hiesigen Institut habe ich im Laufe von 1 $\frac{1}{2}$  Jahren 27 Diphtheriestämme, die sämtlich aus dem Rachen Diphtheriekranker stammten, für meine Untersuchung isoliert. Die Stämme wurden auf 1 $\frac{1}{2}$ -proz. Schrägagarröhrchen weitergezüchtet, weil bekanntlich hier weniger die Gefahr einer Verunreinigung besteht und der Nährboden leichter wegen der Durchsichtigkeit auf Reinheit zu kontrollieren ist.

Die Neißer-Färbung ließ uns bei keiner Kultur im Stich. Das Wachstum auf Agar war verschieden. Frischen Stämmen bekam der Agar zuerst nicht besonders gut. Sie zeigten nur recht schwaches

Wachstum. Im Laufe der Zeit akkommodierten sich auch diese und wuchsen als zarter, weißer Belag. Die Stämme wurden weiter in Liebig-Bouillon geimpft, in der sie meistens schon nach 72 Std. als Trübung und krümeliger Bodensatz gediehen. Der Thielsche Nährboden zeigte nach 24 Std. starke Rötung und Trübung in allen Fällen. In den nächsten Tagen kam es zu einem gelblich-weißen Bodensatz, über dem sich eine meist wasserklare Flüssigkeit abhob. — Nach der Langerschen Färbung (Karbolfgentianaviolett 2 Min., Lugolsche Lösung 5 Min., Alkohol absol. 15. Min., verdünnte Fuchsinlösung 1 Sek.) entfärbten sich sämtliche Diphtheriestämme prompt.

Von diphtherieähnlichen Bazillen wurden 47 untersucht. Diese stammten zum Teil aus dem Rachen, weiter von Wunden (nach Lubinski: Paradiphtheriebazillen), von der Conjunctiva, aus der Nase, aus dem Smegma, der Vagina vom Meerschweinchen (nach Loewenthal), aus einem Kniegelenkspunktat, einer Lumbalflüssigkeit, von offen aufgestellten Schalen mit Blutagar. Wie die weiteren Untersuchungen und auch die Tierversuche ergaben, waren unsere Stämme sämtlich als harmlose Saprophyten aufzufassen.

Die Mehrzahl der 47 Stämme wuchs auf Agar in Form eines mäßigen, weißen Belages. Eine Ausnahme bildeten einzelne Kulturen von Wunden, aus der Conjunctiva und dem Smegma. Besonders erwähnt seien 3 Conjunctiva-Stämme, die in den ersten Tagen auf Agar fast gar nicht wuchsen und erst später langsam in Gang kamen. Auch auf Loeffler-Serum wuchsen sie schlecht. Sie waren hier fest mit dem Nährboden verfilzt, so daß man sie schwer mit der Oese abkratzen konnte, ohne den Nährboden zu verletzen.

Aus dem Rachen konnten wir einen Farbstoffbildner züchten, der auf Agar in Form eines deutlichen gelben Belages wuchs (frühere Bezeichnung: *Corynebact. flav.*). Mikroskopisch fanden wir in der Mehrzahl der Fälle kurze, plumpe, oft kommaförmige, grampositive Stäbchen, meist in Nestern zusammenliegend. Bei den Mund-, Conjunctiva- und Nasenabstrichen waren die Stäbchen meistens größer und auf den ersten Blick mehr diphtherieähnlich. Das Wachstum auf Loeffler-Serum war mit Ausnahme der erwähnten Xerosestämmen im allgemeinen gut. Die Kolonien unterschieden sich meistens schon durch ihre weiße Farbe und dadurch, daß sie etwas plattgedrückt erschienen, von denen der Diphtherie. Die Bouillon zeigte fast immer leichte Trübung und krümeligen Bodensatz, wenn auch erst nach längerem Stehen, so bei den oben erwähnten Xerosestämmen erst nach ungefähr 14 Tagen. In der Mehrzahl der Fälle fehlte die Neisser-Färbung. In 12 Fällen war sie zweifellos vorhanden, und zwar besonders bei den Präparaten vom Löffler-Nährboden. Darunter befanden sich 3 Stämme von Wunden und 3 aus der Conjunctiva, die übrigen stammten aus dem Rachen. Diese gehörten zu unseren schon am längsten künstlich fortgezüchteten Kulturen. Die Polkornfärbung war bei unseren Stämmen nur in einzelnen Bazillen vorhanden. Außerdem hatte man oft den Eindruck, als ob bei diesen Stäbchen die Polkörner mehr in den Bazillenleib gelegt waren, während sie bei den echten Diphtheriebazillen bekanntlich mehr in den Polen gelagert sind. Bisweilen lagen aber auch die Polkörner zu mehreren, oft zu 4 und 5, in den Bazillenleibern. — Der Thielsche Nährboden zeigte bei 24 Kulturen nach 24 Std. dasselbe Verhalten wie bei der Diphtherie, d. h. das Röhrchen zeigte eine starke Rötung und Trübung und in den nächsten Tagen bildete sich meistens ein gelb-weißer krümeliger



Bodensatz, über dem die Flüssigkeit farblos war. In 23 Fällen blieb die Flüssigkeit nach 24 Std. völlig blau, erst später stellte sich bei einigen Rötung und Trübung ein. Durch den Thielschen Nährboden war also nicht immer eine Differenzierung gegeben. — Bei der Langerschen Färbung wurden 11 Stämme völlig entfärbt, bei 12 war die Entfärbung unvollständig, d. h. sie standen auf der Grenze zwischen grampositiv und gramnegativ. Bei diesen genannten Stämmen handelte es sich meistens um ältere Kulturen, die teilweise schon 1 Jahr und länger gezüchtet wurden. Bei frischen Kulturen, gleichgültig welcher Herkunft sie waren, konnten wir feststellen, daß sie immer nach 15. Min. Alkoholbehandlung noch grampositiv waren.

Bei unserer Suche nach weiteren Differenzierungsmitteln sind wir auf Veranlassung von Herrn Geh.-Rat v. Lingelsheim von einem fettsäurehaltigen Nährboden ausgegangen. v. Lingelsheim hatte schon früher in nicht veröffentlichten Versuchen festgestellt, daß Diphtheriebazillen und viele andere pathogene Bakterien auf 0,2 Proz. Natrium oleinicum-Agar nicht wuchsen, eine Tatsache, die angesichts der Desinfektionsversuche Kochs (7) und anderer Forscher mit Seifen, die bekanntlich im wesentlichen Gemenge der Kalium- und Natriumsalze der Stearin-, Palmitin- und Oleinsäure sind, nicht verwunderlich ist. Bemerkenswerter war die Beobachtung v. Lingelsheims, daß die Mehrzahl der diphtherieähnlichen Bazillen durch den erwähnten Seifenzusatz in ihrer Entwicklung nicht gehemmt, eine Anzahl sogar entschieden begünstigt wurde, ähnlich wie viele andere Bakterien durch die Zugabe von bestimmten Kohlehydraten. Die letztere Gruppe konnte er mit Recht als lipophile bezeichnen. Es handelte sich aber bei diesen „Lipophilen“, wie v. Lingelsheim fand, nicht um eine einheitliche Gruppe, sondern um verschiedene Arten, die sich sowohl in bezug auf die Agglutination, wie auf manche biologische Eigenschaften voneinander unterschieden.

Bei unseren Versuchen arbeiteten wir zunächst mit den Seifen der schon genannten Fettsäuren und zwar mit dem Natriumsalz der Stearin- und Oleinsäure und dem Kaliumsalz der Palmitinsäure. Auch wir fanden, daß auf Agar mit 0,2 Proz. Seifenzusatz Diphtheriebazillen nicht wuchsen. Der Schwellwert für die Aufhebung des Wachstums liegt bei einem Zusatz von 0,3 bis 0,4 ccm einer 10-proz. Seifenlösung zu 20 ccm Agar. Bei 0,2 ccm trat noch Wachstum auf, während es bei 0,3 ccm zweifelhaft war. Bezüglich der genannten Seifen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede. Wegen der schlechteren Lösbarkeit des Kal. palmitinic. und Natr. stearinic. arbeiteten wir späterhin nur noch mit Natr. oleinicum. Den Nährboden stellten wir uns so her, daß wir von einer 10-proz. Natr. oleinic.-Lösung nach kräftigem Schütteln 0,4 ccm zu 20 ccm flüssigem Agar in einer Petri-Schale zusetzten und gut mischten. — Wir impften dann die Platten immer in Form der Strichkulturen mit kleinen Glasspateln.

Das Ergebnis war folgendes: Sämtliche Diphtheriestämme wuchsen auf diesem Nährboden nicht. 28 diphtherieähnliche wuchsen auf ihm, waren also nach v. Lingelsheim lipophil. Diese konnten wir also auf Grund dieses Kriteriums als nicht diphtherieverdächtig ausschalten.

Für den Rest von 19 Stämmen war also hierdurch keine Differenzierung gegeben.

Wir mußten deshalb nach anderen Hilfsmitteln suchen und griffen auf die verschiedenen Zuckerarten zurück.

Zu diesem Zwecke benutzten wir einen Nährboden, der dem von Lubinski benutzten entsprach und folgende Zusammensetzung hatte.

I. 1 g Pepton, 0,5 NaCl, 100 ccm H<sub>2</sub>O; kochen bis alles gelöst, filtrieren. II. 6 ccm Lackmuslösung mit 1 g der betreffenden Zuckerart, die durch 5 Minuten langes Kochen darin gelöst wird.

I. und II. mischen, abfüllen in Röhren zu 5 ccm, 3 Tage hintereinander 20 Min. im Dampfbad sterilisieren.

Nach Fertigstellung des Nährbodens muß darauf geachtet werden, daß die abgefüllten Röhren einen blauen oder hellblauen Farbenton haben. Deshalb sind besonders die Sterilisationszeiten genau inne zu halten, da durch zu langes Sterilisieren, besonders der Lackmuslösung, infolge Reduktion ein Blaßwerden der Farbe eintritt. Ferner empfiehlt es sich, die Röhren zur Beobachtung, ob Farbenschlag eintritt, 48 Std. im Brutschrank stehen zu lassen und dann erst zu impfen.

Als ungeeignet für diese Versuche erwiesen sich die Zusätze von Polysacchariden (Dextrin, Amylum, Glykogen, Zellulose) und der Pentosen (Xylose, Arabinose)

Gegenüber den Hexosen, Monosacchariden und Disacchariden zeigten die Diphtheriebazillen folgendes Verhalten:

Hexosen		Monosaccharide		Disaccharide		
Mannose	Galaktose	Dextrose	Lävulose	Saccharose	Maltose	Laktose
+	+	+	+	—	+	+? —?

Die Saccharose wurde als einzige Zuckerart nicht verändert. Die Laktose zeigte ein sehr wechselndes Verhalten, einmal wurde sie versäuert, einmal nicht. Die diphtherieähnlichen Stäbchen bildeten in den Hexosen, Mono- und Disacchariden teilweise Säure, teilweise ließen sie dieselben unverändert. Nur die diphtherieähnlichen Wundstäbchen bildeten immer, wie auch Lubinski angibt, Säure in der Saccharose.

Es galt für uns eine Zuckerart herauszufinden, die durch möglichst wenig diphtherieähnliche Bazillen versäuert wurde. Als solche stellte sich die Maltose heraus.

Sämtliche Diphtheriestämme bildeten in der Maltose Säure.

Von unseren 47 diphtherieähnlichen Stämmen versäuerten 11 die Maltose. Den Rest konnten wir also auf Grund dieses Kriteriums als diphtherieverdächtig ausschließen.

Es ergab sich nun ein eigenartiges Wechselspiel zwischen dem Maltosenährboden und der Natr. oleinic.-Platte in 3 Variationen, und zwar:

1) Maltose unverändert, Wachstum auf der Natr. oleinic.-Platte;  
2) Maltose versäuert, Wachstum auf der Natr. oleinic.-Platte; 3) Maltose unverändert, kein Wachstum auf der Natr. oleinic.-Platte.

Alle 3 Variationen sprechen gegen Diphtherie.

Verhalten der Diphtheriestämme gegenüber dem Maltosenährboden und der Natr. oleinic.-Platte:

1) Maltose + Natr. oleinic. —; d. h. also, sämtliche Diphtheriestämme bildeten Säure in der Maltose und wuchsen auf der Natr. oleinic.-Platte nicht.

Verhalten der diphtherieähnlichen Stämme gegenüber dem 2. Maltosenährboden und der 3. Natr. oleinic.-Platte:

2) Maltose: 11 + 36 —; d. h. also 11 diphtherieähnliche Stämme bildeten Säuren in der Maltose, 36 nicht. Für 36 diphtherieähnliche Stämme genügte zur Differenzierung die Maltose allein. Für den Rest war die Natr. oleinic.-Platte entscheidend, auf der Wachstum eintrat.

3) Natr. oleinic.: 28 + 19 —; d. h. also 28 diphtherieähnliche Stämme wuchsen auf der Natr. oleinic.-Platte, 19 nicht. Bei den 28 Stämmen war die Natr. oleinic.-Platte für die Differenzierung schon allein ausschlaggebend. Für den Rest mußte noch der Maltose-Nährboden herangezogen werden, der nicht versäuert wurde.

Zusammenfassende Tabelle von 2) und 3):

Natr. oleinc.	28 +	19 —	Maltose	11 +	36 —
Maltose	11 +	19 —	Natr. oleinic.	11 +	19 —
	17 —	0 +			17 +

Aus dieser Tabelle ergibt sich noch, daß von 28 diphtherieähnlichen Stämmen, die auf Natr. oleinic. wuchsen, 11 die Maltose versäuerten und 17 unverändert ließen. Sämtliche 19, die auf Natr. oleinic. nicht wuchsen, ließen auch die Maltose unverändert.

Sämtliche diphtherieähnlichen Stämme (11), die die Maltose versäuerten, wuchsen auch auf Natr. oleinic. gut. Von 36 diphtherieähnlichen Stämmen, die die Maltose unverändert ließen, wuchsen 19 auf Natr. oleinic. nicht, während 17 deutlich wuchsen.

Aus der Tatsache des Wachstums und Nichtwachstums auf Natr. oleinic. und der Säurebildung und Nichtsäurebildung in der Maltose ließen sich keine Schlüsse bezüglich der Herkunft dieser Stämme ziehen.

Wir haben nicht feststellen können, daß die Maltoseprobe unbeständig ist, wie Kruse (11) es bei der Besprechung der Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen angibt. Die öftere Nachprüfung unserer Stämme bezüglich der Maltose ergab immer dasselbe Resultat. Allerdings erstrecken sich die Beobachtungen Kruses auf 14 Tage, während unsere Resultate sowohl bezüglich des Maltosenährbodens als auch der Natr. oleinc.-Platte nach 24 Std. abgelesen werden konnten, was von Vorteil für die praktische Verwendung sein dürfte. Mit Hilfe dieses kombinierten Natr. oleinc. und Maltoseverfahrens gelang es uns, 2 Xerose-Stämme, die uns von einem größeren Institut in liebenswürdiger Weise überlassen waren, als Di-Stämme zu identifizieren.

Bezüglich des Tierversuches mußten wir uns leider wegen Tiermangels auf die diphtherieähnlichen Stämme beschränken, die uns besonders bezüglich ihres Verhaltens zur Neißer-Färbung und zum Thiel-schen Nährboden Anlaß zum Zweifel gaben.

15 derartige Stämme wurden auf Meerschweinchen verimpft, und zwar wurde eine 24-stünd. diphtherieähnliche Agarkultur, die mit 1 ccm physiol. Kochsalzlösung abgeschwemmt wurde, subkutan injiziert.

Bei 10 Tieren fanden sich an der Injektionsstelle etwa am 3., 4. Tage ganze kleine, knotige Verhärtungen. Bei den übrigen war kein Infiltrat zu fühlen.

Die oben erwähnten 2 Stämme, die uns zugeschickt worden waren und angeblich Xerose sein sollten, zeigten folgendes Verhalten: Das mit der einen Kultur geimpfte Tier starb am 4. Tage nach der Injektion. Bei der Sektion ergab sich ein typischer Diphtheriebefund (Schwellung

der Nebennieren, hämorrhagisches Exsudat an der Injektionsstelle, Pleuritis exsudativa usw.). Die andere Kultur rief ein derbes knotiges Infiltrat an der Injektionsstelle, das in Eiterung überging, bei starker Abmagerung des Tieres hervor. — Die Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen durch die kombinierte Natr. oleinic.-Maltose-Methode wurde also durch den Tierversuch bestätigt.

Auf Grund dieser Untersuchungen möchten wir annehmen, daß das, wenn auch etwas umständliche, kombinierte Natr. oleinic.-Maltoseverfahren einen Fortschritt in der Differenzierung darstellt. — Die Differenzierung war immer schon nach 24 Std. möglich, und so dürfte die Methode auch in zweifelhaften Fällen für die Praxis verwertbar sein und bei der heutigen Kostspieligkeit des Tiermaterials den Tierversuch vielleicht ersetzen.

Zusammenfassend möchte ich bemerken: Der Thielsche Nährboden versagte in 50 Proz. aller Fälle. Bei der Langer-Färbung erwiesen sich die frisch gezüchteten Stämme der Diphtherieähnlichen nach 15 Min. Alkoholbehandlung noch deutlich gram-positiv, während das bei älteren nicht der Fall war. Der Saccharosenährboden nach Lubinski genügte nur für die diphtherieähnlichen Wundstäbchen, während sich das kombinierte Natr. oleinic.-Maltose-Verfahren bei unseren Untersuchungen für sämtliche diphtherieähnlichen Stäbchen, ganz gleichgültig, welcher Herkunft sie waren, in der Differenzierung als brauchbar erwies.

Bei verdächtigen Stämmen, besonders bei solchen, bei denen schon morphologisch und bezüglich der Neißer-Färbung Zweifel entstehen, empfiehlt sich deshalb folgendes Verfahren:

1) Isolierung der verdächtigen Kolonie von der Löffler-Platte und Anlegung eines Schrägagarröhrchens. 2) Vom Schrägagarröhrchen Ausstriche auf der Natr. oleinic.-Platte, am besten mit einem kleinen Glaspatel, und Impfung des Maltosenährbodens.

Das nach 24 Std. abgelesene Resultat kann nach dem oben Mitgeteilten als durchaus brauchbare Stütze für die Diphtheriediagnose verwandt werden.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Langer u. Krüger, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. — 2) Neißer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57 (Beiheft). 1913. — 3) Lubinski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. — 4) van Riemsdijk, Ibid. Bd. 75. 1914. — 5) Ders., Ztschr. f. Hyg. Bd. 82. — 6) Löwenthal, Schweiz. med. Wochenschr. 1920. Nr. 22. — 7) Koch, Arb. a. d. Reichsgesundheitsa. 1881. — 8) Beyer, Zeitschr. üb. Desinfekt. Bd. 22. 1896. — 9) Serafini, Arch. f. Hyg. Bd. 22. 1896. — 10) Behring, Zeitschr. üb. Desinfekt. usw. Bd. 9. 1890. — 11) Kruse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. — 12) Rasp, Ibid. Bd. 58. — 13) Rohde, Bruns Beitr. z. klin. Chir. Bd. 123. H. 1.

*Nachdruck verboten.*

## Vergleichende Untersuchungen über die Methoden der serologischen Luesdiagnostik.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung der hygienischen Untersuchungsstelle des Marine-Lazarettes Kiel-Wik.]

Von Dr. **Heinrich Ruge**, Marine-Oberassistentarzt.

Mit 1 Kurve im Text.

Vor einiger Zeit hat Gaethgens eine Arbeit über die Komplementauswertung bei der WaR. veröffentlicht. Er kommt darin zu dem Ergebnis, daß seine sog. Cholestearinbindungsmethode zur Ermittlung des kleinsten Komplementbedarfes in etwa 10 Proz. mehr positive Ergebnisse liefert als die WaR. Nun habe ich in den letzten Mon. in dem hiesigen Laboratorium vergleichende Untersuchungen über die WaR., WaTK. — d. h. WaR. mit austitriertem Komplement —, die Sternsche Modifikation, SGR. und DM., und als quantitative Methode über die Kaupsche Reaktion angestellt.

Im hiesigen Laboratorium wird die WaR. im 1 ccm-System ausgeführt. Es ist dies während des Krieges aus Sparsamkeitsrücksichten eingeführt und bis jetzt sind aus denselben Gründen noch keine Änderungen vorgenommen worden. Diese 1 ccm-WaR. hat sich durchaus bewährt. Und zwar sind im Laufe von 4 Jahren an etwa 400 Untersuchungstagen gegen 50000 Sera nach dieser Art untersucht worden. An 70 Untersuchungstagen, an denen der Komplementtiter ausgewertet wurde, belief er sich in 40 Proz. auf 0,2 ccm und in 60 Proz. auf weniger als 0,2 ccm für eine 1 ccm-WaR., d. h. zur vollständigen Hämolyse von 0,4 ccm hämolytischem System. Wie vergleichende Untersuchungen ergaben, zeigte die 1 ccm-WaR. mehr positive bzw. zweifelhafte Ergebnisse bei einwandfreien Luesfällen an als die Original(2,5 ccm)-WaR. Das ist ja auch durch den Komplementüberschuß, der bei der OWaR.<sup>1)</sup> immer besteht, durchaus erklärlich. Nur in 1 Falle zeigten sämtliche Sera und Kontrollen bei der 1 ccm-WaR. eine gleichmäßig starke Hemmung. Dies war jedoch auf die Verwendung eines mit Tbc. verdächtigem Material geimpften Meer-schweinchens zurückzuführen, das auch als Sektionsbefund einer Miliartuberkulose aufwies. Nach Hintze sind die Sera solcher Tiere besonders arm an Komplementen. Verwandt wurde bei uns das — stets frische — Komplement in 10-proz. Lösung.

Ich habe nun vergleichende Untersuchungen zwischen der WaR. und der WaR. mit ausgewertetem Komplement angestellt. Denn, wie aus den oben angegebenen Zahlen ohne weiteres hervorgeht, ist auch

1) O-WaR. gleich Original-WaR. (2,5 ccm). RWaR. gleich reduzierte WaR. (1 ccm). Wenn im folgenden von WaR. die Rede ist, so handelt es sich stets um die 1 ccm-WaR., falls sie nicht ausdrücklich anders bezeichnet wird.

bei der 1 ccm-WaR. in 60 Proz. der Fälle ein bestimmter Komplementüberschuß vorhanden. Dieser kann natürlich auch hier eine Anzahl von zweifelhaften bzw. positiven Seren als negativ oder als zweifelhaft erscheinen lassen. In der folgenden Tabelle habe ich nun eine kleine Uebersicht über die Ergebnisse zwischen WaR. und WaTK. zusammengestellt, die nach dem Komplementtiter geordnet sind:

Titer 0,08					Titer 0,1					
WaTK.	WaR.	WaTK.	WaR.	WaTK.	WaTK.	WaR.	WaTK.	WaR.	WaTK.	
		Proz.	Proz.	Proz.			Proz.	Proz.	Proz.	
positiv	35	28	41,5	32,7	+ 8,8	81	66	21	16,2	+ 4,8
zweifelh.	11	6	13	7	+ 6	42	20	11	5,2	+ 5,8
negativ	40	52	46,5	60,3	- 14,8	261	298	68	77,4	- 10,6
Zus.	86					384				
Titer 0,12					Titer 0,15					
		Proz.	Proz.	Proz.			Proz.	Proz.	Proz.	
positiv	94	79	24,2	20,4	+ 3,8	256	250	25,4	24,7	+ 0,7
zweifelh.	41	29	10,8	7,6	+ 3,2	96	66	9,4	6,4	+ 3,0
negativ	248	275	65	72	- 7	663	699	65,2	69,9	- 3,7
Zus.	383					1015				1865
Durchschnitt		WaTK.	WaR.			Uebereinstimmend		91,3	Proz.	
		+ 27,8	23,5	Proz.		völlig entgegen		4,3	"	
		± 11,0	6,6	"		teilw.		4,4	"	
		- 61,2	69,9	"						

Daß bei dieser Art der 1 ccm-WaTK. natürlich nicht 10 Proz. mehr positive Ergebnisse herauskommen können, als bei den entsprechenden Versuchen von Gaethgens, die er — wahrscheinlich wenigstens — mit der 2,5 ccm-WaR. anstellte, ist ohne weiteres durch das Verhalten des Komplementes bedingt. Im Durchschnitt sind es bei sicheren Luesfällen 4 Proz. mehr positive und 4 Proz. mehr zweifelhafte Reaktionen. Eine Zunahme unspezifischer Hemmungen wurde bei der WaTK. nicht beobachtet.

Gearbeitet wurde nach der Originalmethode (Brutschrank). Das Komplement wurde in folgenden zwei Weisen austitriert: 1) nach Gaethgens, d. h. also folgendermaßen:

- |                      |                                |     |      |      |     |      |        |                           |
|----------------------|--------------------------------|-----|------|------|-----|------|--------|---------------------------|
| 1) 0,2 ccm NaCl-Lsg. |                                | 0,2 | 0,15 | 0,12 | 0,1 | 0,08 | Kompl. | } + 0,4 ccm<br>Häm. Syst. |
| 2) 0,2 „ Normalser.  | 0,2 ccm NaCl-Lsg.              | 0,2 | 0,15 | 0,12 | 0,1 | 0,08 | „      |                           |
| 3) 0,2 „ „           | 0,2 „ Chol.-Lsg. <sup>1)</sup> | 0,2 | 0,15 | 0,12 | 0,1 | 0,08 | „      |                           |
| 4) 0,2 „ „           | 0,2 „ Luesextr.                | 0,2 | 0,15 | 0,12 | 0,1 | 0,08 | „      |                           |

Die Mengenverhältnisse sind aber hier auf eine 1 ccm-WaR. zugeschnitten, also fallen die Komplementdosen 0,3 und 0,2 weg, dafür treten hier ein 0,12 und 0,08. Um genauere Ergebnisse zu erhalten, wurde das Komplement vorher entsprechend mit NaCl-Lösung verdünnt, so daß immer 0,2 ccm Komplementlösung zugegeben wurden.

Die von Gaethgens zur Bestimmung der Eigenhemmung der verwandten Extrakte angegebene 0,1-proz. alkoholische Cholestearinlösung fraktioniert 1:30 mit NaCl-Lösung verdünnt, hat sich für die hier im Gebrauch befindlichen Antigene von der KWA. Berlin sehr bewährt.

1) Alkoholische 0,1-proz. Cholestearin-Lsg. mit 1:30 ccm NaCl-Lsg. verdünnt.

Da es im hiesigen Laboratorium aus Mangel an Zeit nicht möglich war, für jedes der zur Untersuchung gelangenden Sera den eigenen Komplementtiter nach der Methode von Gaethgens auszuwerten, so begnügte ich mich damit, daß ich 10—20 sicher negative Sera auswertete und den so erhaltenen größten Komplementtiter verwandte. In fast allen Fällen genügte dieser Titer auch für die übrigen Sera.

Diesen immerhin etwas umständlichen Weg versuchte ich zu vereinfachen. Und zwar ging ich folgendermaßen vor: 2. Methode. Das Komplement wurde einfach ausgewertet ohne Serum und Antigen. Es wurden 6 Röhren angesetzt:

0,2	Komplement	+ 1,3	NaCl-Lsg.	+ 1	ccm	Hämolyt. System
0,15	"	+ 1,35	"	+ 1	"	"
0,12	"	+ 1,4	"	+ 1	"	"
0,1	"	+ 1,4	"	+ 1	"	"
0,08	"	+ 1,42	"	+ 1	"	"
0,05	"	+ 1,45	"	+ 1	"	"

Diese Röhren wurden  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Std. im Brutschrank und 1 Std. bei Zimmertemperatur belassen. Dann erfolgte die Ablesung. Als Komplementtiter wurde diejenige Menge angesehen, welche gerade eine glatte Hämolyse bewirkt hatte. Für die Hauptuntersuchung kam aber nicht eine 2,5 ccm-WaR., sondern eine 1 ccm-WaR. in Betracht, es wurde also eigentlich eine Komplementmenge genommen, welche  $\frac{3}{5}$  hämolytisches System mehr löste, als erforderlich war (1 ccm anstatt 0,4 ccm hämolytisches System). Diesen Komplementüberschuß habe ich nun für die durch das Serum und Antigen bedingten Eigenhemmungen in Rechnung gestellt. Hierbei habe ich gefunden, daß bei 70 Auswertungen dieser Art und an über 1600 Untersuchungen von Seren in keinem Falle Eigenhemmungen der Kontrollen aufgetreten sind. Als Kontrolle habe ich bei etwa 500 Fällen die Auswertung nach Gaethgens gemacht und in 75 Proz. den gleichen, in 25 Proz. einen etwas geringeren Komplementtiter feststellen können.

Ob man das Komplement mit NaCl-Lösung auf 1,5 ccm oder 1 ccm oder 0,5 ccm oder gar nicht mit NaCl-Lösung verdünnt, ist nach meiner Erfahrung ziemlich gleichgültig. Ich habe in dieser Richtung Versuche angestellt und greife folgenden Versuch heraus:

Kpl.	NaCl	+ HS. 1)	Häm.	Kpl.	NaCl	+ HS.	Häm.
0,5	+ 1,0	+ 1 ccm	—	0,5	+ 0,5	+ 1 ccm	—
0,4	+ 1,1	+ 1 "	—	0,4	+ 0,6	+ 1 "	—
0,3	+ 1,2	+ 1 "	—	0,3	+ 0,7	+ 1 "	—
0,2	+ 1,3	+ 1 "	—	0,2	+ 0,8	+ 1 "	—
0,15	+ 1,35	+ 1 "	+	0,15	+ 0,85	+ 1 "	+
0,12	+ 1,38	+ 1 "	+	0,12	+ 0,88	+ 1 "	+
0,1	+ 1,4	+ 1 "	++	0,1	+ 0,9	+ 1 "	++
0,08	+ 1,42	+ 1 "	+++	0,08	+ 0,92	+ 1 "	+++

Kpl.	NaCl	+ HS.	Häm.	Kpl.	NaCl	+ HS.	Häm.
0,5	+ 0	+ 1 ccm	—	0,5	+ 0	+ 1 ccm	—
0,4	+ 0,1	+ 1 "	—	0,4	+ 0	+ 1 "	—
0,3	+ 0,2	+ 1 "	—	0,3	+ 0	+ 1 "	—
0,2	+ 0,3	+ 1 "	—	0,2	+ 0	+ 1 "	—
0,15	+ 0,35	+ 1 "	+	0,15	+ 0	+ 1 "	+
0,12	+ 0,38	+ 1 "	+	0,12	+ 0	+ 1 "	+
0,1	+ 0,4	+ 1 "	++	0,1	+ 0	+ 1 "	++
0,08	+ 0,42	+ 1 "	+++	0,08	+ 0	+ 1 "	+++

— = vollst. Häm., + = kleine Kuppe, ++ = mittelgr. Kuppe, +++ = fast ungelöst.

1) HS. = hämolyt. System.

Die angegebene Anwendung des 1 ccm-hämolytischen Systems für die 1 ccm-WaR. beruht natürlich auf der Voraussetzung, daß die Komplementmenge mit Vermehrung des hämolytischen Systems entsprechend steigen muß und nicht konstant bleibt, daß man also bei einem 0,4 ccm hämolytischen System weniger Komplement braucht als zu einem 1 ccm hämolytischen System. Daß man bei Vermehrung des hämolytischen Systems auch tatsächlich eine fast proportional gehende Vermehrung des Komplementes braucht, habe ich in folgenden Versuchen, von denen ich ein Beispiel anführe, feststellen können:

Kpl.	Häm. S.	Häm.	Kpl.	Häm. S.	Häm.	Kpl.	Häm. S.	Häm.	Kpl.	Häm. S.	Häm.
0,08	0,4 ccm	+	0,08	1,0 ccm	++	0,08	2 ccm	+++	0,08	4 ccm	+++
0,1	0,4 "	—	0,1	1,0 "	+	0,1	2 "	++	0,1	4 "	+++
0,15	0,4 "	—	0,15	1,0 "	—	0,15	2 "	+	0,15	4 "	++
0,2	0,4 "	—	0,2	1,0 "	—	0,2	2 "	—	0,2	4 "	+

Im vorliegenden Falle ist also zur Hämolyse von 0,4 ccm hämolytischen Systems 0,1 ccm 10-proz. Komplement erforderlich, für 1 ccm jedoch 0,15 ccm Komplement. Es wird nun, wie oben gesagt, für die 1 ccm-WaR. diejenige Komplementmenge, die für die glatte Hämolyse eines 1 ccm hämolytischen Systems erforderlich ist, genommen, hier also 0,15 ccm Komplement. Die überschüssigen 0,05 ccm Komplement genügen völlig zur Ueberwindung der durch das Serum oder Antigen hervorgerufenen unspezifischen Hemmungen. Meistenteils ist sogar eine noch etwas geringere Menge erforderlich. Diese Menge unterliegt natürlich je nach der Beschaffenheit des Komplementes gewissen Schwankungen. Ist z. B. der Titer für das hämolytische System 0,4 ccm gleich 0,08, so ist er vielleicht für das hämolytische System 1 ccm gleich 0,1 oder 0,12, also entsprechend geringer. Hier sind also die Ueberschüsse entsprechend kleiner, weil das Komplement eine größere Lösungskraft als im ersten Fall besitzt. Aber auch hier genügt der geringere Ueberschuß völlig, weil die Lösungsfähigkeit des Komplementes hier ja größer ist.

Dies vorläufig über die Technik meiner WaTK. Vergleichende Untersuchungen mit der Sternschen Modifikation usw. folgen weiter unten.

Zu den Versuchen wurden ausschließlich frische, d. h. bis zu 24 Std. alte Sera verwandt.

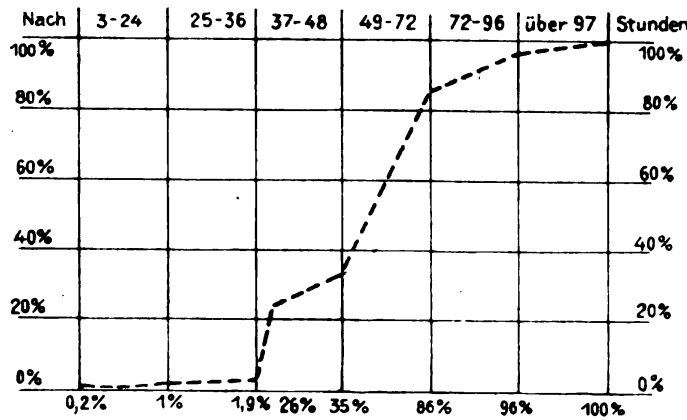
Ueber die Sternsche Modifikation der WaR., sog. aktive WaR. ist folgendes zu bemerken: Hier wurde nicht mit dem 5 ccm-System gearbeitet, sondern aus technischen Gründen das 2,5 ccm-System angewandt. Zuerst war zwar eine Zeitlang das 5 ccm-System in Gebrauch, da aber das 2,5 ccm-System dieselben Ergebnisse zeitigte, ging ich endgültig hierzu über. Ebenso wurden zuerst  $\frac{1}{5}$  und  $\frac{2}{5}$  Antigen genommen, nach einiger Zeit arbeitete ich nur noch mit dem  $\frac{2}{5}$ -Antigen, da sich dieses als empfindlicher erwies. Bei der StR. ist vor allem darauf zu achten, daß das Serum innerhalb der ersten 24 Std. am besten gleich verbraucht wird, da später infolge des Zugrundegehens des Komplementes zuviel Eigenhemmungen auftreten. Die Sera werden am besten im Eisschrank aufbewahrt. — Um zu erfahren, bis zu welcher Zeit man die StR. ausführen kann, ohne daß allzuviel Eigenhemmungen auftreten, habe ich eine Anzahl Seren fortlaufend nach 2—5 Tagen untersucht. Siehe Kurve. Hemmungen in Proz.:



Im ganzen wurden bei 1500 Untersuchungen 30 (15) Eigenhemmungen festgestellt, d. h. 1—2 Proz. Die Zahlen schwanken innerhalb von 2—36 Std. von 0,2—2 Proz.; die Durchschnittszahl beträgt etwa 0,6—1 Proz. Man kann wohl alle diese Hemmungen auf den mehr oder weniger schnell eintretenden Komplementschwund zurückführen, denn die WaR. zeigte stets eine gelöste Kontrolle.

Eigenhemmungen anderer Art treten m. E. bei der StR. nur selten auf. Eigentümlicherweise fand sich bei manchen ikterischen Seren bei der WaR. eine Kontrollhemmung, nicht dagegen bei der StR. Vielleicht werden hier bei der Erhitzung von Serum und Gallenfarbstoffen Körper gebildet, die eine Eigenhemmung hervorrufen. Jedoch findet man diese Hemmungen nicht bei allen ikterischen Seren, sondern vielleicht in nur etwa 1—2 Proz. Große praktische Bedeutung hat sie dann wohl kaum.

Mit 15 dieser Hemmungen hatte es folgende Bewandnis: Von etwa 175 Leuten, deren Sera fortlaufend — etwa 6 Wochen lang — untersucht wurden, ließen 2 Sera fast stets Eigenhemmungen er-



Kurve 1.

kennen. Und zwar ergab das Serum des einen bei 8 Untersuchungen stets Hemmung, das des anderen in 5 von 7 Fällen. Es handelte sich hier offenbar um einen dauernden, bzw. zeitweisen Komplementmangel. An dem Zeitpunkt der Verwendung konnte es nicht liegen, denn die Sera wurden fast sofort nach der Entnahme untersucht. Auch wurden die Sera stets vor der Mittagsmahlzeit entnommen. Daß es sich höchstwahrscheinlich um einen Komplementmangel handelte, ergaben die gelösten Kontrollen bei der WaR.

Meinen Beobachtungen nach kommt absoluter Komplementmangel in etwa 0,5—0,8 Proz., zeitweiser Komplementmangel und sehr labiles Komplement in etwa 1,5 Proz. beim Menschen vor. Ob nun die Lues einen besonderen Einfluß auf die Bildung des Komplementes hat, entzieht sich meiner Kenntnis. M. E. scheint dies aber nicht der Fall zu sein, denn nach Brinkmann ist auch unter pathologischen Verhältnissen der Komplementgehalt ein weitgehend gleichmäßiger.

Von der Spezifität der StR. ist zu sagen, daß sie im großen und ganzen doch sehr ausgesprochen ist. Das haben mir gegen 200 Untersuchungen an nichtluetisch Infizierten gezeigt. Unter diesen Seren

fand sich nur einmal eine + StR. und WaR., bei diesem Manne stellte sich aber noch nachträglich eine Lues II heraus.

Allerdings kommen auch Ausnahmefälle vor. So fiel z. B. die StR. in 9 Fällen + aus, bei denen die WaR. — war und sich auch keine Anhaltspunkte für eine Lues feststellen ließen. Ebenso kam es vereinzelt vor, daß nach provokatorischen Salvarsangaben (Dos. III.) die StR. + wurde, die WaR. aber — blieb. Bei späteren Untersuchungen waren dann beide Reaktionen —. Auch hier ließ sich klinisch keine Lues diagnostizieren. Man kann wohl sagen, daß hier die StR. zu feine Ausschläge gibt, und man muß bei solchen Ergebnissen noch 1—2 Blutproben anschließen. Wodurch diese + Schwankung entsteht, ist nicht sicher zu beantworten. Vielleicht wird durch das Salvarsan in einem gesunden Körper ein den luetischen Reaginen ähnliches Produkt gebildet, das bei aktivem Serum für kurze Zeit eine + Reaktion auslöst, während es bei der Inaktivierung zerstört wird.

Hierfür möchte ich ein bezeichnendes Beispiel anführen: Ein Mann erhielt Dos. III Neosalvarsan, provokatorisch. Er hatte auf der Luesabteilung Dienst und befürchtete, sich irgendwie infiziert zu haben. Klinisch ließ sich kein verdächtiger Befund erheben. Die WaR. war —, die StR. +. Eine spätere Blutprobe ergab WaR. —, StR. —, allerdings stellte sich später heraus, daß der Mann eine offene Lungentuberkulose hatte. Wahrscheinlich hing der Ausfall der Reaktion hiermit zusammen.

Ueber das Verhalten des Komplementes gibt in gewisser Weise schon die Kurve Aufschluß. Daß nun aber auch bei der StR. Komplementüberschuß vorhanden sein kann, welcher unter Umständen eine + bzw. ± Reaktion abschwächen oder verdecken kann, ist durchaus möglich. Auf diese Weise sind vielleicht die 11 Ergebnisse wenigstens z. T. zu erklären, in denen die WaR. empfindlicher ist als die StR. (s. Tabelle). Einen Weg, den Komplementgehalt des aktiven Serums für die StR. zu bestimmen, gibt es leider noch nicht, d. h. für solche Sera, bei denen nachher eine Untersuchung auf luetische Reagine vorgenommen werden soll. Insofern hat die StR. gegenüber der WaTK. einen Nachteil, aber dieser fällt nicht so sehr ins Gewicht, denn es ist die WaTK. in etwa 1 Proz. empfindlicher als die StR., die StR. dagegen in 14 Proz. empfindlicher als die WaTK. WaR. und StR. weisen im Verhältnis zueinander 0,7 Proz. bzw. 22,2 Proz. mehr — Ergebnisse auf.

Bemerken möchte ich noch, daß die WaR., WaTK. und StR. stets an denselben Tagen mit gleichfrischen Seris angestellt wurden. Insofern fallen also Unterschiede, die durch das allmähliche Negativwerden älterer inaktivierter Sera bedingt werden, fort. Im übrigen wurden die Sera erst kurz vor der Untersuchung inaktiviert. Sera, die von außerhalb kamen, wurden einige Male nach der StR. untersucht, es stellte sich jedoch hier sofort heraus, daß die Sera, wenn sie auch nur 12—24 Std. unterwegs gewesen waren, durch das Hinundhergeworfenwerden ihr Komplement fast vollständig eingebüßt hatten.

Die folgende Tabelle zeigt vergleichsweise die Übereinstimmung zwischen WaR. und StR. Auf das weitere Verhalten der beiden Reaktionen bei Luesfällen werde ich weiter unten noch näher eingehen. Im ganzen wurden 1500 Sera geprüft.

Tabelle I.

WaR.—Stern untersucht 1500 Sera			WaTK.—Stern untersucht 560 Sera		
Uebereinstimmend	1156 = 77,1 Proz.		Uebereinstimmend	473 = 84,6 Proz.	
Völlig entgegengesetzt	199 = 13,3 „		Völlig entgegengesetzt	56 = 10,0 „	
Teilweise „	145 = 9,6 „		Teilweise „	31 = 5,4 „	

Man erkennt also deutlich eine gewisse Ueberlegenheit der WaTK. über die WaR.

Die Ausführung der Kaupschen Reaktion, welche hauptsächlich die Menge der im Serum vorhandenen syphilitischen Reagine bestimmen soll, ist seiner Arbeit in der Münchner med. Wochenschrift zugrunde gelegt.<sup>1)</sup>

Leider konnten hier nicht alle Sera nach dieser Methode untersucht werden, da nicht immer die hierzu erforderliche Menge an Meer-schweinchenkomplement zu beschaffen war. Es sind daher nur die Fälle herausgesucht, die entweder nach WaR. oder Stern positiv bzw. zweifelhaft waren. Einwandfrei negative Seren wurden in verhältnismäßig geringer Zahl geprüft. Denn es war ja in der Mehrzahl der Fälle die Absicht, die — sit venia verbo — Qualität der Lues festzustellen. Deshalb muß auch die nachfolgende Tabelle in diesem Sinne aufgefaßt werden. Es kann also aus diesen Ergebnissen nicht ohne weiteres geschlossen werden, daß die WaR. tatsächlich in 21 Proz. weniger genau arbeitet als die Kaupsche Reaktion; sondern man kann nur sagen, daß die Kaupsche Modifikation bei behandelten Luesfällen in 7 bzw. 20 Proz. eine noch + bzw. ± Reaktion zeigt, während die WaR. bereits ± oder negativ geworden ist.

Tabelle II.

## WaR.—KpR. untersucht 294 Sera

Uebereinstimmend	243 = 68,5 Proz.
Völlig entgegengesetzt	21 = 7,0 „
Teilweise „	70 = 24,5 „

Zum Schluß möchte ich noch einige Tabellen bringen, in denen Kaup, WaR., WaTK. und StR. miteinander verglichen werden:

Tabelle III.

StR.—KpR. untersucht 200 Sera			WaTK.—KR untersucht 200 Sera		
Uebereinstimmend	158 = 79 Proz.		Uebereinstimmend	155 = 77,5 Proz.	
Völlig entgegengesetzt	11 = 5,5 „		Völlig entgegengesetzt	7 = 3,5 „	
Teilweise „	31 = 15,5 „		Teilweise „	38 = 19,0 „	

WaR.—KpR untersucht 200 Sera		
Uebereinstimmend	138 = 69 Proz.	
Völlig entgegengesetzt	19 = 9,5 „	
Teilweise „	43 = 21,5 „	

Tabelle IV.

WaR.—SGR. untersucht 390 Sera			WaR.—DM. untersucht 697 Sera		
Uebereinstimmend	365 = 93,6 Proz.		Uebereinstimmend	657 = 94,2 Proz.	
Völlig entgegengesetzt	14 = 3,6 „		Völlig entgegengesetzt	21 = 3,0 „	
Teilweise „	11 = 2,8 „		Teilweise „	19 = 2,8 „	

1) Siehe Literatur.

Durch Auswertung des Komplementes werden die Unterschiede in: völlig entgegengesetzt offenbar verringert, WaR.—StR. 13,3 Proz., WaR.—KpR. 7,0 Proz., WaTK.—StR. 10 Proz., WaTK.—KpR. 3,5 Proz. Die größeren Unterschiede bei der StR. 13 Proz. gegen 3,5 Proz. bei der KpR. sind ja z. T. durch das Verwenden von aktivem Serum zu erklären. Es können ja eigentlich diese Reaktionen nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden, da ihr Gehalt an Serum usw. ziemlich verschieden ist. Hierauf ist auch wohl ein Teil der Unterschiede zurückzuführen. Daß auch das Komplement eine ziemlich große Rolle hierbei spielt, sieht man daran, wie die WaR. abgeschnitten hat. — Ferner spricht wohl auch für die Ansicht Brinkmanns, daß das Komplement im menschlichen Serum im Durchschnitt in ziemlich gleicher Menge vorhanden sei, die Tatsache der geringen Unterschiede bei der StR. einerseits und der WaTK. und KpR. andererseits bei „völlig verschieden“ gegenüber der WaR. (s. o.).

Die Technik der SGR. und DM. brauche ich nur kurz zu streifen. Es wurde genau nach den betr. Originalvorschriften verfahren. Für die liebenswürdige Ueberlassung von Extrakten bin ich Herrn Prof. Sachs und Herrn Dr. Meinicke zu großem Dank verpflichtet. M. E. besitzt die SGR. den Vorzug der bequemeren Ablesung, während die DM. ihrerseits wieder etwas empfindlicher ist. Die Ergebnisse sind kurz folgende:

Tabelle V.

DM.—SGR. untersucht 381 Sera		StR.—DM. untersucht 520 Sera	
Uebereinstimmend	349 = 91,5 Proz.	Uebereinstimmend	360 = 79,2 Proz.
Völlig entgegengesetzt	22 = 5,7 „	Völlig entgegengesetzt	93 = 17,3 „
Teilweise „	10 = 2,8 „	Teilweise „	49 = 3,5 „

Meine vergleichenden Untersuchungen ergeben im großen und ganzen dasselbe Bild wie das der früheren Untersucher Felke, Hauck, Georgi u. a. m. Ihre Ergebnisse schwanken in der Uebereinstimmung (SGR. und WaR. von 80,66 Proz. bis 95 Proz.).

Die z. T. erheblichen Differenzen mancher Untersucher zwischen der WaR. und SGR. bzw. DM. lassen sich vielleicht auch teilweise durch die verschiedenen in Verwendung gekommenen Antigene erklären. So hat doch neulich Stern bedeutende Unterschiede in der WaR. gefunden, die er mit eigenen Extrakten und mit staatlichen Extrakten aus Frankfurt anstellte. Diese gaben wesentlich weniger + Reaktionen als seine Extrakte. Man kann daher also nicht allgemein sagen, daß die SGR. bzw. DM. empfindlicher als die WaR. ist, sondern man kann nur einen vergleichenden Maßstab an seine eigenen Antigene für die WaR. anlegen. Solange wir kein einheitliches, durchaus zuverlässiges und lange Zeit sich nicht veränderndes Antigen haben, wird auch kein genauer Vergleich der SGR. bzw. DM. mit der WaR. möglich sein. Es ist durchaus als Vorteil dieser beiden Reaktionen (SGR. und DM.) anzusehen, daß sie sozusagen mit einem „absoluten“ Antigen arbeiten, d. h. mit einem Antigen, das stets aus denselben Grundstoffen nach einer bestimmten Vorschrift an demselben Ort hergestellt wird. Denn dann werden sich doch größere Schwankungen im Ausfall der Reaktionen, vorausgesetzt, daß die Extrakte einwandfrei hergestellt sind, sich längere Zeit halten und mit gleicher Technik gearbeitet wird, mit ziemlicher Sicherheit vermeiden lassen. Allerdings scheinen kurzdauernde Schwankungen in der Empfindlichkeit ein und desselben

Extrakt für die SGR. vorzukommen, wie es Müller beobachtet hat. Auch ich hatte einige Male den Eindruck, als ob die Extrakte nach einer bestimmten Zeit eine gewisse Abnahme ihrer Empfindlichkeit zeigten, um dann wieder ihre ursprüngliche Empfindlichkeit zu erreichen. Vielleicht hängt dies auch noch mit der Art der Aufbewahrung und der Verdünnung für den Hauptversuch zusammen.

Die Antigene und hämolytischen Sera stammten durchweg von der KWA. in Berlin.

Aus den vorliegenden Tabellen erkennt man also, daß die SGR., DM., WaTK. und WaR. die größten Übereinstimmungen zeigen. Dagegen steht, was Empfindlichkeit betrifft, weit über diesen Reaktionen zunächst die StR. und an 2. Stelle der Kaup. Bei der StR. wird dieser Vorteil allerdings durch eine höhere Unspezifität z. T. wieder ausgeglichen.

Um einen Vergleich zu haben, welche Reaktion am ehesten auftritt und am spätesten wieder verschwindet, habe ich bei 100 Luetikern das Serum gleichzeitig nach der WaR., WaTK., SGR., DM., StR. und quantitativ — soweit noch Serum vorhanden war — nach Kaup geprüft.

Ehe ich näher auf die Fälle eingehe, möchte ich ein paar Worte über die Behandlung vorausschicken. Im Durchschnitt wurden bei einem frischen Primärfall 10 Spritzen Hg-Salvarsan (Linsermethode) gegeben, d. h. 5,1 g Salvarsan und 14 ccm einer 1-proz. HgCl<sub>2</sub>-Lösung. Bei hartnäckigen Fällen traten noch 2 Spritzen dazu, = 1,2 g Salvarsan und 0,04 g Hg (Lues II und Lues III). Die Behandlungsdauer betrug im Durchschnitt 6—8 Wochen.

Unter dem vorliegenden Material sind fast ausschließlich unbehandelte Primär- bzw. Sekundärfälle, nur 5 Fälle sind bereits behandelt. Das Material habe ich folgendermaßen eingeteilt:

Primärfälle I. Gruppe.

	A	B	C	D	E
Vor der Kur	StR.—WaR.—	StR.+WaR.—	StR.+WaR.+	StR.+WaR.+	StR.+WaR.+
Nach „ „	StR.—WaR.—	StR.—WaR.—	StR.—WaR.—	StR.+WaR.—	StR.+WaR.—
	8+3 <sup>1)</sup> (28 T.)	2+1 (35 T.)	18+1 (49 T.)	16 (81 T.)	5 (90 T.)

Primärfälle mit positiver Schwankung.

Vor der Kur	StR.—WaR.—	StR.—WaR.—
	StR.+WaR.—	StR.+WaR.—
Nach „ „	StR.—WaR.—	StR.—WaR.—
	12 (10+30 T.)	8 (37+6 T.)

Sekundärfälle II. Gruppe

	Sekundärfälle II. Gruppe			Kongenital III. Gruppe
Vor der Kur	StR.+WaR.+	StR.+WaR.+	StR.+WaR.+	StR.+WaR.+
Nach „ „	StR.—WaR.—	StR.+WaR.—	StR.+WaR.—	StR.+WaR.—
	3 (125 T.)	18 (140 T.)	5 (155 T.)	1 zus. 101

Die in ( ) gesetzten Zahlen bezeichnen die Inkubationszeit (Mittel).

Bemerkung zu Primärfälle mit + Schwankung: 30 Tg. = Inkubationszeit, 10 Tage waren im Mittel (Grenzen 3—25 Tg.) die Zeit, nach der die + Schwankung auftrat. 37 Tg. = Inkubationszeit + 4 Tg. = Auftreten der StR., 37 + 6 = Auftreten der WaR.

1) + 3 + 1 + 1 bezeichnen die fünf bereits behandelten Fälle.

Ich habe der Einfachheit halber die Bezeichnung StR. und WaR. in der Tabelle gewählt, da die WaR. fast dieselben Ergebnisse aufwies wie die DM. und SGR.

Um die Verhältnisse zwischen den einzelnen Reaktionen etwas klarer zu zeigen, möchte ich im folgenden einzelne besonders charakteristische Serumverlaufskurven anführen:

Verlauf der Serumreaktionen.

Gruppe I B.						Gruppe I C.									
Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Kaup			
												0,1	0,15	0,2	0,3 Tit.
2. 8.	—	—	—	—	—	22. 8.	+	+	+	+	+				
6. 8.	—	—	—	—	—	25. 8.	+	+	+	+	+	+	+	+	—0,1
19. 8.	—	—	+	—	—	27. 8.	+	+	+	+	+	+	+	+	±0,1
22. 8.	—	—	+	—	—	29. 8.	+	+	+	+	+	+	+	+	±0,1
25. 8.	—	—	—	—	—	9. 9.	+	+	+	+	+	+	—	—	—0,1
29. 8.	—	—	+	—	—	16. 9.	—	—	+	—	—	—			
9. 9.	—	—	+	—	—	25. 9.	—	—	+	—	—	—			
12. 9.	—	—	±	—	—	3. 10.	—	—	—	—	—	—			
19. 9.	—	—	+	—	—	10. 10.	—	—	—	—	—	—			
21. 9.	—	—	—	—	—	20. 10.	—	—	—	—	—	—			

Gruppe I D.						Gruppe I F.									
Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Kaup				Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.
						0,1	0,15	0,2	Tit.						
1. 9.	+	+	+	+	+	+	+	+	0,1	18. 8.	—	—	—	—	—
6. 9.	+	+	+	+	+	+	+	+	0,1	22. 8.	—	—	—	—	—
12. 9.	+	+	+	+	+	+	+	+	0,1	25. 8.	—	—	+	—	+
19. 9.	+	+	+	+	+	+	+	+	0,1	29. 8.	—	—	—	—	—
26. 9.	±	±	+	+	+	+	±	—	0,15	5. 9.	—	—	—	—	—
3. 10.	—	—	+	—	—	+	—	—	0,1	12. 9.	—	—	—	—	—
10. 10.	—	—	+	—	—	—	—	—		19. 9.	—	—	—	—	—
17. 10.	—	—	+	—	—	—	—	—		26. 9.	—	—	—	—	—

Gruppe I G.						Gruppe II A.													
Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Kaup			Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Kaup				
						0,1	0,15	Tit.							0,1	0,15	0,2	0,3 Tit.	
9. 9.	—	—	—	—	—				8. 9.	+	+	+	+	+	+	+	±	±	0,12
12. 9.	—	—	—	—	—				12. 9.	+	+	+	+	+	+	+	±	±	0,15
16. 9.	+	+	+	+	+	±	0,1		19. 9.	+	+	+	+	+	+	+	±	±	0,2
22. 9.	—	+	+	+	+	—	0,1		26. 9.	—	—	+	—	—	—	—			0,1
28. 9.	—	—	—	—	—				3. 10.	—	—	±	—	—	—	—			0,15
4. 10.	—	—	—	—	—				10. 10.	—	—	±	—	—	—	—			0,15
13. 10.	—	—	—	—	—				18. 10.	—	—	±	—	—	—	—			0,2
20. 10.	—	—	—	—	—				28. 10.	—	—	—	—	—	—	—			0,1

Gruppe II B.										Behandlung für die aus den einzelnen Gruppen ausgesuchten Fälle					
Dat.	Wa.	WaTK.	Stern	SGR.	DM.	Kaup					Tit.	Gruppe	I B	20. 8.—1. 10. 21	10 HgSalv.
						0,1	0,15	0,2	0,3	0,5					
5. 9.	+	+	+	+	+							II B	8. 9.—23. 10. 21	10	„
9. 9.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,12	II B	8. 9.—23. 10. 21	10	„
12. 9.	+	+	+	+	+							II A	10. 9.—30. 10. 21	10	„
20. 9.	+	+	+	+	+							II A	10. 9.—22. 10. 21	10	„
26. 9.	+	+	+	+	+	+	+	±			0,2	II A	20. 9.—1. 10. 21	10	„
3. 10.	±	±	+	+	+							II A	25. 8.—15. 10. 21	12	„
13. 10.	-	-	+	-	-	±					0,2	II D	2. 9.—15. 10. 21	10	„
19. 10.	-	-	+	-	-							II F	2. 9.—15. 10. 21	10	„

Die Spalten bei „Kaup“, in denen die Reaktion negativ ausfiel, wurden fortgelassen.

Man erkennt also aus den angeführten Reihen, daß die StR. am empfindlichsten ist. Die einzige Ausnahme unter den 100 Fällen fand sich bei einem Primäraffekt, dort waren die ersten beiden WaR. zweifelhaft (+ +), während die 1. StR. ebenfalls zweifelhaft (+) war, dagegen fiel die 2. StR. bereits negativ aus.

In den vorliegenden Fällen sind auch die Inkubationszeiten angegeben. Sie sprechen dafür, daß die StR. zuerst auftritt, und zwar etwa 8—10 Tage vor den übrigen Reaktionen, und daß sie etwa 10—14 Tage später verschwindet. Jedoch können natürlich aus diesem kleinen Material noch keine allgemeinen Schlüsse gezogen werden. Ich möchte nur hier, das eine empfehlen, daß man nach sicherer Feststellung einer Lues dann auch nach Möglichkeit der StR. als der empfindlichsten Methode den Vorzug gibt.

Das Verhalten der SGR. und DM. habe ich beim aktiven Serum leider nicht verfolgen und beobachten können.

Außer den 100 Fällen habe ich noch eine Anzahl von Primärfällen (etwa 20) serologisch untersucht. Auch hier ließ sich einwandfrei feststellen, daß die StR. etwa 5—10 Tage eher + wurde als die WaR. Selten kam es vor, daß beide Reaktionen zugleich + wurden. Dabei ist aber immer noch zu bedenken, daß die Blutuntersuchung in den ersten 14 Tagen jeden 3.—5. Tag stattfand, daß also in der Zwischenzeit bereits eine + StR. und eine noch — WaR. vorhanden sein konnte. Nur einmal habe ich das Auftreten einer + WaR. hier eher feststellen können als die einer + StR.

Bei behandelten Fällen ist nach meinen Erfahrungen die Sternsche Methode ebenfalls vorzuziehen, während man bei zweifelhaften Fällen sich mehr auf den Ausfall der WaR. bzw. SGR. stützen muß. Denn in manchen Fällen zeigt doch die StR. eine zu hohe Empfindlichkeit, als daß man sich absolut auf sie verlassen könnte.

### Zusammenfassung.

- 1) Die WaTK. ist je nach ihrem Komplementtiter empfindlicher als die WaR.
- 2) Die StR. ist in 22 Proz. empfindlicher als die WaR., allerdings kommen hier häufiger unspezifische Ausschläge vor. Die StR. ist.

da sie mit aktivem Serum arbeitet, für die Praxis nicht so sehr geeignet wie die WaR. Jedoch ist ihr bei einwandfreien Luesfällen wegen ihrer hohen Empfindlichkeit der Vorzug zu geben.

3) Die Kaupsche Reaktion ist vorteilhaft zur Mengenbestimmung der luischen Reagine zu verwenden. Mit ihrer Empfindlichkeit steht sie zwischen WaR.-WaTK. auf der einen und StR. auf der anderen Seite.

4) SGR., DM. und WaR. sind ungefähr von gleicher Empfindlichkeit. SGR. und DM. besitzen den Vorteil der einfacheren Technik, sind dafür aber schwerer abzulesen als die WaR. Die SGR. ist ihrerseits wieder leichter ablesbar als die DM., dafür ist diese etwas empfindlicher. Ein weiterer Vorteil dieser beiden Reaktionen ist ihr sozusagen absolutes Antigen, d. h. ein Extrakt, das stets aus demselben Material unter denselben Bedingungen hergestellt wird, während bei der WaR. die Empfindlichkeit des Extraktes je nach den verwandten Grundstoffen Schwankungen unterworfen ist. Die Uebereinstimmung mit der WaR. hängt manchmal von der angewandten Technik ab. Außerdem kommen mitunter Schwankungen in der Empfindlichkeit der Antigene ohne ersichtlichen Grund vor.

5) Vergleichende Untersuchungen an 100 bzw. 120 frischen Luesfällen haben ergeben, daß die StR. fast ausschließlich — die DM. manchmal — früher auftritt und später verschwindet als die anderen Reaktionen. Ebenso zeigt sie auch an den sog. „seronegativen“ Fällen in einer ganzen Reihe eine deutliche + Schwankung.

#### Literatur.

- 1) Ammenhäuser, Beitrag zur Serodiagnostik. (Cbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920.) — 2) Baumgärtel, WaR. und SGR. bei Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1920. p. 421.) — 3) Ders. WaR. und SGR. bei Syphilis (Ibid. p. 1055.) — 4) Bok, Der Cholestearingehalt des SG. Luesreagens. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1920. I.) — 5) Ders. (Ibid. 1920. I. S. 1328.) — 6) Brinkmann, Studien über den Komplementgehalt des menschlichen Blutes. (Cbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 192.) — 7) Dekinga u. Plantenga, Die SGR. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1920. IS. 1631.) — 8) Emmerich, Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 1247. — 9) Felke u. Wetzell, Erfahrungen mit der Reaktion nach SG. (Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 1347.) — 10) Fränkel, Ibid. 1919. S. 543. — 11) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1919. No. 37. — 12) Ders., Die Serodiagnostik der Syphilis mittels der Ausflockungsreaktion; nach SG. (Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 933.) — 13) Gaethgens, Zur Frage der Komplementauswertung bei der WaR. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. No. 24.) — 14) Georgi, F. K., Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 1218. — 15) Hammerschmidt, Zur Konservierung des Komplements. (Ibid. 1920. No. 48.) — 16) Hauck, Die Bedeutung der SG. usw. (Ibid. 1919. S. 1413.) — 17) Ders., Einfluß der Temperatur auf die SGR. (Ibid. 1920. S. 369.) — 18) Hintzelmann, Zur Luesdiagnostik mittels WaR., Stern und SGR. (Ibid. 1920. S. 420.) — 19) Hintze, Ueber Beeinflussung der WaR. durch das Komplement infizierter Tiere. (Cbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1920.) — 20) Hübschmann, Münch. med. Wochenschr. 1920. No. 9. — 21) Kaup, Kritik der Methode der WaR. usw. (Ibid. 1917. Feldärztl. Beil. No. 5.) — 22) Keining, Ueber eine kombinierte SGR. und WaR. (Dtsche med. Wochenschr. 1921. No. 6.) — 23) Kumer, Ueber SGR. Ausflockungsreaktion. (Wien. klin. Wochenschr. 1920. No. 6.) — 24) Langer, Dtsche med. Wochenschr. 1920. No. 45.) — 25) Lesser, Münch. med. Wochenschr. 1919. No. 10. — 26) Lipp, ebenda. 1919. Nr. 42. — 27) Löns, Die Reaktion nach Wassermann und SG. (Dtsche med. Wochenschr. 1919. No. 21.) — 28) Luza, Ueber die DM. als Hilfsmittel usw. (Ned. Tijdschr. v.



Geneesk. 1920, II. p. 1087.) — 29) Mandelbaum, Beitrag zum Wesen der SGR. (Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 962.) — 30) Meinicke, Zur Methodik der serolog. Luesdiagnostik. (Ibid. 1918. No. 49.) — 31) Ders., Dtsche med. Wochenschr. 1919. No. 7. — 22) Ders., Ueber die 3. Modifikation meiner Luesreaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1919. No. 33.) — 33) Ders., Dtsche med. Wochenschr. 1920. No. 1. 34) Ders., Ibid. 1920. No. 37. — 35) Merzweiler, Kann die SGR. und MR. die WaR. in jedem Fall ersetzen? (Dtsche med. Wochenschr. 1919. S. 1273.) — 36) Messerschmidt, Dtsche med. Wochenschr. 1920. No. 6. — 37) Meyeringh, DM. und SGR. als Ersatz für die WaR. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. Heft 1.) — 38) Müller, Vergleichende Untersuchungen usw. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. No. 11.) — 39) Münster, Untersuchungen und Erfahrungen mit der SGR. (Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 505.) — 40) Neukirch, Die SGR. (Ibid. S. 1247.) — 41) Niederhoff, Ueber den Nachweis und das Verhalten der Extraktlipide. (Ibid. 1921. No. 44.) — 42) Reich, Dtsche med. Wochenschr. 1919. No. 7. — 43) Rietschel, Ergebn. d. inn. Med. 12. 1913. — 43a) Ruete, Ueber die Brauchbarkeit von Meinickes DM. (Münch. med. Wochenschr. 1922. No. 3.) — 44) Sachs u. Georgi, Zur Kritik des serolog. Luesnachweises mittels Ausflockung. (Ibid. 1919. No. 446.) — 45) Dies., Zur Methodik d. serol. Nachweises mittels Ausflockung der cholestearinierten Organextrakte. (Ibid. 1920. No. 6.) — 46) Scheer, Die Bedeutung der SGR. (Ibid. 1919. S. 902.) — 47) Ders., Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. Heft 1.) — 48) Ders., Die klin. Verwendbarkeit der SGR. (M. M. W. 1920. No. 1352.) — 49) Schönfeld, Die Ergebnisse der SGR. (Ibid. 1920. S. 395.) — 50) Somogyi, Beitrag zur SGR. (Ibid. 1920. S. 1233.) — 51) Stern, Vergleichende Untersuchungen mit aml. Extrakten zur WaR. (Dtsche med. Wochenschr. 1921. No. 48.) — 52) Stilling, Med. Klin. 1920. No. 2. — 52a) Stempel, Bemerkungen über die SGR., DM. usw. (Münch. med. Wochenschr. 1922. No. 3.) — 53) Weißbach, Ergebnisse der WaR. und der SGR. und DM. (Dtsche med. Wochenschr. 1921. No. 22.) — 54) Wendland, Experim. Stud. über die Beziehungen der SGR. zur WaR. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. Heft 1.) — 55) Zieler, Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 825.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Blutgift der Proteus-Bazillen. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Genese der Bakterien- blutgifte.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Hygienischen  
Universitätsinstituts in Frankfurt a. M.]

Von H. Braun und Chao Shi-Tsing.

Seit den Untersuchungen von Kraus und Clairmont über Bakterienhämolyse aus dem Jahre 1900, in welchen sie neben anderen auch Proteus-Bakterien auf Blutgiftbildung prüften, hat sich eine größere Anzahl von Autoren mit dem Blutgift der Proteus-Bazillen beschäftigt. Da sich diese Literatur sehr sorgfältig in der von F. W. Bach über dieses Thema veröffentlichten Arbeit (1921) zusammengestellt findet, möchten wir darauf verzichten, eingehender auf diese Literatur einzugehen und wollen nur die jüngsten Veröffentlichungen hier besprechen:

F. W. Bach stellte sich die Aufgabe, zu untersuchen, ob sich das Hämolysin der Fleckfieber-Proteus-Bakterien von den der gewöhnlichen Proteus-Bazillen unterscheidet. Die Hauptergebnisse seiner Untersuchung sind folgende: Er fand, daß sämtliche Stämme, sowohl Fleckfieber- wie Nichtfleckfieber-Proteus-Stämme, das Vermögen hatten, in flüssigen Kulturen in relativ kurzer Zeit die verschiedensten Blutarten aufzulösen; Unterschiede bestanden, manche Stämme lösten leichter als andere, aber prinzipielle Unterschiede zwischen Fleckfieber- und Nichtfleckfieber-Proteus-Stämmen bestanden nicht. Aufschwemmungen von Proteus-Bakterien von festen Nährböden wirkten ebenfalls hämolysierend. Die stärkste Wirkung besaßen bereits 5–6-stünd. Bouillonkulturen; in 24-stünd. Kulturen war die Wirkung unsicher, meist nicht mehr vorhanden. Dieses Verhalten entspricht demjenigen, das Braun beim

Streptolysin gefunden hat. Es scheint also nach Ansicht von Bach bei 37° C entweder durch die Wirkung der Temperatur oder durch die Lebenstätigkeit der Bakterien eine Zerstörung des Giftes zu erfolgen. Stark lösende junge Kulturen, 24 Std. auf Eis aufgehoben, besaßen noch hämolytische Kraft, wenn auch nicht im früheren Umfang.

Sauerstoffabschluß hatte keinen Einfluß auf die Bildung des Giftes. Kulturen in 1-proz. Peptonwasser unterschieden sich nicht wesentlich von Bouillonkulturen. 5-proz. Peptonwasser hemmte dagegen stark.

Trotzdem es Bach nicht gelungen ist, das Gift in größerer Menge durch Filtration zu erhalten, ist er der Ansicht, daß es sich in Lösung befindet, frei von Bakterien. Er ist auch der Meinung, daß die Ursache der Hämolyse nicht eine direkte Einwirkung der Bakterien auf die roten Blutkörperchen ist, und auch osmotische Einflüsse und Bildung von Alkali und Säure kommen seiner Meinung nach nicht in Betracht. Die Wirkung eiweißspaltender Fermente lehnt er ebenfalls ab. Durch Erhitzen auf 100° für 2 Min. wurde die Giftwirkung von Bouillonkulturen meistens aufgehoben, wenn auch nicht immer; Erhitzen auf 55 und 65° für  $\frac{1}{2}$  Std. schwächte die Hämolyse sehr stark ab. Bei Erwärmung auf 65° für  $\frac{1}{2}$  Std. mit nachfolgender Erhitzung auf 100° für 5 Min. trat die Hämolyse meistens wieder auf. Sie war im allgemeinen im Vergleich mit der lebenden Kultur abgeschwächt. Antihämotoxine herzustellen, ist ihm nicht gelungen.

Eine interessante Beobachtung machten 1920 F. Schiff und E. Nathorff. Sie fanden, daß sich Fleckfieber-Proteus-Stämme je nachdem, ob sie geschwärmt (H-Form nach Weil und Felix) oder hauchlos gewachsen sind (O-Form nach Weil und Felix), in ihrer hämolytischen Fähigkeit verschieden verhielten. 24-stünd. Peptonwasserkulturen von OX2 und OX19 waren unwirksam, die H-Form beider Bakterien bildeten Blutgifte.

Da wir nun wissen, daß sich diese beiden Erscheinungsformen, die hauchlos wachsenden und die schwärmenden Proteus-Bakterien, in serologischer Hinsicht verschieden verhalten (Weil und Felix, Braun und Salomon, Sachs und Schloßberger), indem gewisse Agglutinogene den O-Formen fehlen, und da festgestellt ist, daß der Verlust der Agglutinogene verknüpft ist mit einem Verlust des Ektoplasmas (Braun und Schaeffer, Jötten), stellen wir uns die Aufgabe, zu untersuchen, ob das Blutgift der Proteus-Bakterien und sein Fehlen in irgendeiner Beziehung zum ektoplasmatischen Geißelapparat der Proteus-Bakterien steht.

Bevor wir an die Beantwortung dieser Fragen herangetreten sind, haben wir bei den widersprechenden Angaben der Literatur Versuche über die Entstehung und Eigenschaften des Blutgiftes der Proteus-Bazillen angestellt, über die zunächst berichtet werden soll.

### I. Die Bedingungen der Giftbildung und die Eigenschaften des Giftes.

Zur Prüfung auf Giftbildung haben wir zunächst einen Fleckfieber-Proteus-Stamm, den X2-Bazillus, und einen gewöhnlichen Proteus-Stamm (Stamm Diessel) herangezogen. Der letztere unterscheidet sich kulturell und serologisch von den X-Stämmen. Er bildet kein Indol und spaltet Maltose und Saccharose nicht. Er besitzt keinerlei gemeinsame Agglutinogene mit den X-Stämmen. Die Kulturen dieser Stämme schwärmten. Sie wurden in gewöhnliche Bouillon verimpft und nach verschiedenen Zeiten auf ihr Vermögen, Hammelblutkörperchen und Kaninchenblutkörperchen aufzulösen, geprüft. Die Versuchsanordnung ergibt sich aus nachfolgender Tabelle I.

Aus den Versuchen ergab sich, daß sowohl die 6-stünd. X2-Kultur wie die Diessel-Kultur wirksam waren. Die 26-stünd. Kulturen von X2 zeigten eine Abschwächung der Giftwirkung. Bemerkenswert war dabei, daß diese Abschwächung besonders in den starken Konzentrationen zum Ausdruck kam, während in den höheren Verdünnungen eine Giftwirkung nachweisbar war. Auf diese Hemmungserscheinungen werden wir noch später zurückkommen. Dieses Ergebnis steht also im Einklang mit den Angaben von Bach, der angibt, daß Zentrifugate 6-stünd.

Tabelle I.

a) Giftwirkung der Zentrifugate von 6- und 26-stünd. Bouillonkulturen von X2-Bazillen gegenüber Hammelblut.

Versuchsordnung: 5-proz., 2mal gewaschenes Hammelblut.

A.

6-stünd. Bouillonkultur Zentrifugat	Kochsalz- lösung	Blut	Resultat nach 2 Std. 37° C und 24 Std. Eisschrank
1) 1,0 ccm	0,5 ccm	0,5 ccm	komplett
2) 0,5 "	1,0 "	0,5 "	"
3) 0,25 "	1,25 "	0,5 "	"
4) 0,1 "	1,4 "	0,5 "	"
5) 0 "	1,5 "	0,5 "	0

B.

26-stünd. Bouillonkultur Zentrifugat	Kochsalz- lösung	Blut	Resultat nach 2 Std. 37° C und 24 Std. Eisschrank
1) 1,0 ccm	0,5 ccm	0,5 ccm	wenig
2) 0,5 "	1,0 "	0,5 "	"
3) 0,25 "	1,25 "	0,5 "	Spur
4) 1,0 " in Verdünnung 1:10	0,5 "	0,5 "	"
5) 0,5 " " " 1:10	1,0 "	0,5 "	komplett (Schleier), Nachhämolyse
6) 0,25 " " " 1:10	1,25 "	0,5 "	fast komplett, Nachhämolyse
7) 0,1 " " " 1:10	1,4 "	0,5 "	Kuppe
8) 0 " " " "	1,5 "	0,5 "	0
9) 1,0 " sterile Bouillon	0,5 "	0,5 "	0

Kulturen wirksamer sind als 24-stünd. Seine Versuchsordnung ist allerdings eine andere als die unsrige, da er seine Versuche meistens mit großen Kulturmengen (5 ccm) ausgeführt hatte, wobei natürlich die Hemmungswirkung, von der wir eben sprachen, besonders ausgesprochen ist, während wir, wie aus der Tab. I hervorgeht, kleine Mengen der Kulturen verwendeten. Im Laufe unserer Arbeit haben wir uns davon überzeugt, daß die Abnahme der Wirksamkeit der Proteus-Bouillonkulturen bei 24-stünd. Bebrütung durchaus nicht immer eintritt, sondern die Wirksamkeit sich gelegentlich auch beim Aufbewahren der Kulturen im Brutschrank von 37° mehrere Tage (bis zu 9 Tagen) in unverminderter Menge nachweisen läßt<sup>1)</sup>. In diesen Versuchen wurden gleichzeitig Keimzählungen vorgenommen, wobei sich ergab, daß die Giftwirkung der Keimzahl ungefähr parallel geht. Hervorheben möchten wir, daß gelegentlich Zentrifugate 6-stünd. Kulturen unwirksam waren, ohne daß wir zunächst einen besonderen Grund dafür finden konnten. Aufgefallen ist uns allerdings, daß diese Unwirksamkeit sehr häufig dann zu beobachten war, wenn das Zentrifugieren zu einer besonders starken Klärung der Kulturen führte.

An dieser Stelle möchten wir einiges über den Verlauf der Hämolyse durch Proteus-Bazillen sagen. In den starken Konzentrationen tritt die Hämolyse schon innerhalb des Brutschrankaufenthaltes, den wir bis zu 2 Std. ausgedehnt haben, auf. Stellt man dann die Versuchsröhrchen auf Eis und bewertet das Resultat am nächsten Tage, wie wir dies in der Regel gemacht haben, dann kann man feststellen, daß die Hämolyse

1) Wegen Raum Mangels mußten in dieser Veröffentlichung die Tabellen auf eine sehr geringe Zahl reduziert werden.

lyse sehr beträchtlich bis zu sehr starken Verdünnungen, zunimmt, selbst dann, wenn sie nach 2 Stunden noch ganz negativ war. Es ist wichtig, zu beachten, daß dann die Hämolyse erst nach der Sedimentierung der roten Blutkörperchen eintritt: Die überstehende Flüssigkeit ist dann klar und nur die Kuppe des Reagenzgläschens ist von der Hämoglobulinlösung erfüllt. Es handelt sich aber dabei nicht um eine geringe Hämolyse, wie wir eine solche sonst als „Kuppe“ bei hämolytischen Versuchen zu bezeichnen gewöhnt sind, sondern sehr häufig sind die roten Blutkörperchen vollständig hämoglobinfrei, so daß beim Umschütteln eine rubinrote Verfärbung der überstehenden Flüssigkeit entsteht, während die stark agglutinierten Stromata als farbloses oder schwach rosarotes Häutchen am Boden des Reagenzglases liegen. Wir haben die Resultate unserer Versuche stets nach 24 Std. und nach vorherigem gründlichen Umschütteln protokolliert, um nicht „Kuppe“ oder „Zone“ zu notieren, wo es sich in Wirklichkeit um „komplette“ oder „fast komplette Nachhämolyse“ handelte. Wir haben nur dort „Kuppe“ oder „Zone“ in unseren Protokollen angegeben, wenn die Mehrzahl der roten Blutkörperchen unverändert war und nur eine geringe Hämoglobinmenge den Blutkörperchenbodensatz bedeckte. Die Bezeichnung „komplett“ und „fast komplett“ in unseren Protokollen bezieht sich auf einen solchen Grad der Hämolyse vor dem Schütteln, „komplett, Nachhämolyse“ und „fast komplett, Nachhämolyse“ auf einen solchen nach dem Umschütteln der Reagenzröhrchen.

Da sich der X2-Bazillus unter den von uns geprüften Stämmen für die Giftbildung am meisten eignete, haben wir vor allem mit diesem Bazillus experimentiert. Beim Vergleich der Empfindlichkeit von Hammelblutkörperchen und Kaninchenblutkörperchen gegenüber den Giften der *Proteus*-Bazillen erwiesen sich uns die Kaninchenblutkörperchen etwas empfindlicher als Hammelblutkörperchen. Deshalb haben wir in unseren Versuchen zumeist Kaninchenblutkörperchen verwendet.

Das Ausbleiben der Hämolyse, das man bei Verwendung stärkerer Konzentrationen nicht nur von älteren, sondern auch von ganz jungen, 6-stünd. Bouillonkulturen beobachtet, könnte man damit erklären, daß ein Hemmungskörper die Giftwirkung aufhebt. Man könnte weiterhin die Abnahme der hämolytischen Wirkung bei länger dauernder Bebrütung der Kulturen auf die Zunahme dieses Hemmungskörpers und nicht auf die Labilität des Giftes zurückführen.

Da wir nun durch die Arbeiten von Walbum über Staphylotoxin wissen, daß im Pepton Witte Stoffe vorkommen, die hemmend auf dieses Gift wirken, haben manche Autoren eine solche Erklärung auch für das Blutgift der *Proteus*-Bazillen herangezogen.

Es stellte sich nun aus Versuchen, die wir zu diesem Zwecke angestellt haben, heraus, daß die *Proteus*-Bazillen auch in den eiweiß- und peptonfreien „künstlichen“ Nährböden hämolytische Eigenschaften besitzen, und daß sich solche Kulturen ähnlich verhalten wie die Bouillonkulturen.

Wir bedienten uns eines Nährbodens folgender Zusammensetzung: 0,5 g Kochsalz und 0,2 g Kaliumbiphosphat wurden in 75 ccm sterilen, 2mal destill. Wassers gelöst, mit Natriumkarbonat in Substanz neutralisiert und im Dampf sterilisiert. Gleichzeitig wurden 0,6 ccm Ammoniumlaktat und  $\frac{1}{10}$  g Magnesiumsulfat in 25 ccm sterilen, 2mal destill. Wassers gelöst und ebenfalls 10 Min. im strömenden Wasserdampf sterilisiert. Diese beiden Lösungen wurden nach dem Erkalten zusammengewogen, mit Lackmuspapier auf Reaktion geprüft, mit Sodalösung neutralisiert und 0,7 ccm n/Soda-

lösung über den Neutralpunkt zugesetzt. (Näheres über die Herstellung dieser Nährböden findet sich in der Arbeit von Braun und Cahn-Bronner<sup>1)</sup>. Dann wurde zu je 10 ccm dieser Nährlösung  $\frac{1}{10}$  g l-Leuzin zugesetzt.

5 ccm dieses Leucin-Milchsäure-Ammoniaknährbodens wurden in kleine Erlenmeyer-Kölbchen gebracht und mit einer Oese 24-stünd. Schrägagarkultur des X2-Bazillus beimpft. Die Kulturen wuchsen bereits in wenigen Stunden und wurden nach 24 Std. trüb. Passagen ließen sich allerdings in diesen Nährböden nicht erzielen.

Kulturen von X2-Bazillen in künstlichen Nährböden bleiben auch bei mehrtägiger Aufbewahrung im Brutschrank hämolytisch wirksam und nur allmählich nimmt ihre Wirksamkeit ab. Dabei kann man die Feststellung machen, daß auch die künstlichen Kulturen wie die Bouillonkulturen in stärkeren Konzentrationen eine Hemmungswirkung zeigen.

Auch die keimfreien Filtrate solcher in künstlichen Nährböden gezüchteten Proteus-Bakterien erwiesen sich, wie uns entsprechende Versuche zeigten, als hemmend. Daraus muß man den Schluß ziehen, daß die hemmende Substanz von Proteus-Bakterien selbst gebildet werden kann.

Wir möchten nun einiges über die Eigenschaften des Proteus-Giftes berichten. In Uebereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren, wie z. B. Bach, ließ sich feststellen, daß Erhitzen auf niedrige Temperaturgrade 6-stünd. Bouillonkulturen unwirksam macht.  $\frac{1}{4}$ -stünd. Erhitzen auf 56° genügte in unseren Versuchen in der Regel, um die Giftwirkung aufzuheben, wobei sich gezeigt hatte, daß diese Erhitzung des öfteren nicht zur vollständigen Abtötung der Kultur genügte.

Wir prüften nun, wie sich die Giftbildung bei Anwesenheit von Desinfektionsmitteln gestaltet und wählten dazu die Karbolsäure, von der früher Kostrzewski, Bach annahm, daß sie in kürzester Zeit das Gift zerstört. Worin liegt nun diese außerordentliche Empfindlichkeit des Proteus-Giftes gegenüber Karbolsäure? Wir untersuchten in

Tabelle II.

Entwicklungshemmende und giftwidrige Konzentration der Karbolsäure.

A. Hemmungsversuch.

Versuchsordnung:

- 1) Sterile Röhrchen mit 1 ccm Bouillon,
- 2) 6-stünd. X2-Bouillonkultur,
- 3) 1-proz. Karbolsäurelösung.

Versuch:

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
Bouillon	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1-proz. Karbolsäure	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	—
Kochsalzlösung	0,5	0,6	0,65	0,7	0,75	0,8	0,9
Kultur in Verdünnung 1:10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Resultierende Konzentrationen der Karbolsäure	1:500	1:666	1:800	1:1000	1:1333	1:2000	—
Ergebnis nach 24-stünd. Bebrütung	0	0	schw. +	schw. +	+	+	++
	vollständige Wachstums- hemmung		Wachstumsbehinderung				keine Hem- mung

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 1.

## B. Giftwidrige Wirkung der Karbolsäure.

## Versuchsordnung:

- 1) Zentrifugat 6-stünd. Bouillonkultur des X2-Bazillus,
- 2) 1-proz. Karbolsäure,
- 3) 5-proz., 2mal gewaschenes Hammelblut.

## Versuch:

Zentrifugat in der Verdünnung 1:10.	Kochsalz-lösung	Blut	1-proz. Karbolsäure	Resultierende Konzentrationen der Karbolsäure	Resultat nach 24 Std.
1) 1,0 ccm	0,1 ccm	0,5 ccm	0,4 ccm	1:500	0
2) 1,0 "	0,2 "	0,5 "	0,3 "	1:666	0
3) 1,0 "	0,25 "	0,5 "	0,25 "	1:800	0
4) 1,0 "	0,3 "	0,5 "	0,2 "	1:1000	Zone
5) 1,0 "	0,35 "	0,5 "	0,15 "	1:1333	wenig
6) 1,0 "	0,4 "	0,5 "	0,1 "	1:2000	"
7) 1,0 "	0,5 "	0,5 "	0	—	komplett

Das verwendete Zentrifugat löste im Kontrollversuch ohne Karbolsäure bis zur Menge 0,25 der Verdünnung 1:100 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut „fast komplett“ auf.

Parallelversuchen, ob die wachstumshemmende und die giftwidrige Wirkung der Karbolsäure in irgendeinem Verhältnis zueinander stehen, und kamen zu dem Ergebnis, daß die wachstumshemmende Konzentration mit der giftwidrigen zusammenfällt. Vorstehender Versuch in der Tab. II diene als Beweis.

Wählt man von Karbolsäure als Zusatz zu jungen Proteus-Kulturen Konzentrationen, die Proteus-Bazillen nach kurzer Zeit abtöten, und untersucht nach der Abtötung sofort die Kulturen auf hämolytische Fähigkeit, so bleibt ebenfalls jede Giftwirkung aus.

Die kollolytischen und tryptischen Fermente können für die Giftbildung nicht herangezogen werden, da sich solche Stämme giftig erweisen, die nicht imstande sind, Gelatine und koaguliertes Eiweiß (Loeffler-Serum) zu verflüssigen. Das trifft z. B. auch für unseren X2-Stamm zu. Wegen der gelegentlich beobachteten Unbeständigkeit der Giftwirkung dachten wir an ein flüchtiges Stoffwechselprodukt und haben deshalb wirksame Zentrifugate von Bouillonkulturen in dünner Schicht im Faust-Heimschen Apparat dem Luftstrom ausgesetzt. Ein Verlust der Giftwirkung solcher, einige Stunden im Luftstrom gestandener Kulturen, ist nicht aufgetreten.

Was nun die Frage der Filtrabilität des Giftes betrifft, so konnten wir uns davon überzeugen, daß die Filtrate sich nur dann als wirksam erwiesen, wenn sie nicht steril waren; sobald eine vollständige Abfiltrierung der Keime erfolgte, waren sie stets unwirksam. Diese Tatsache sprach dagegen, daß es sich bei den Blutgiften der Proteus-Bazillen um Ammoniak oder Fermente handelt, denn sonst wäre es unverständlich, warum dieselben durch Filtration vollständig verschwinden sollten. Wir bedienten uns bei der Filtration nicht der Kerzen, sondern der Membranfilter (de Haën) und zwar wählten wir dazu das Membranfilter Nr. 10, das nach unseren Erfahrungen das größtporige Membranfilter ist, das Bakterien nicht durchläßt. Selbstverständlich muß jedes Membranfilter kontrolliert werden, daß es keinerlei Keime durchläßt; denn auch die Membranfilter besitzen wie die Kerzen ihre Individualität und sind trotz der gleichen

Bezeichnung nicht untereinander gleich. Da die Filtration bei den Membranfiltern Nr. 10 in der Regel mit großer Geschwindigkeit erfolgt, können unserer Meinung nach Adsorptionsvorgänge keine so große Rolle spielen wie bei der Kerzenfiltration.

Auf Grund der Filtrationsversuche muß man sich die Frage vorlegen, ob in den verwendeten Bouillonkulturen tatsächlich größere Mengen freien Giftes vorhanden sind oder ob nicht vielmehr die Giftbildung erst durch die Vermehrung der Proteus-Bakterien während des Hämolyseversuches eintritt. Wie wir uns durch Versuche, in welchen Keimzählungen ausgeführt wurden, überzeugt haben, erfolgt während der Zeit des hämolytischen Versuches eine beträchtliche Vermehrung der Proteus-Bakterien.

Tabelle III.

A.

Giftwirkung 24-stünd. Bouillon- und Leucin-Milchsäure-Ammoniakkultur gegenüber Kaninchenblut.

Versuchsordnung: 5-proz. 2mal gewaschenes Kaninchenblut.

Kulturmenge	Kochsalzlösung	Blut	Ergebnis nach 24 Std. bei Verwendung von:	
			Bouillonkultur	Leucin-Milchsäure-Ammoniakkultur
1) 1,0 ccm in Verdünnung 1:10	0,5 ccm	0,5 ccm	c. Nh.	Kuppe
2) 0,5 " " " 1:10	1,0 "	0,5 "	dgl.	c. Nh.
3) 0,25 " " " 1:10	1,25 "	0,5 "	"	dgl.
4) 1,0 " " " 1:100	0,5 "	0,5 "	"	"
5) 0,5 " " " 1:100	1,0 "	0,5 "	"	"
6) 0,25 " " " 1:100	1,25 "	0,5 "	f. c. Nh. I	c. (Schleier) Nh.
7) 1,0 " " " 1:1000	0,5 "	0,5 "	Zone	f. c. Nh. II
8) 0,5 " " " 1:1000	1,0 "	0,5 "	0	Zone
9) 0,25 " " " 1:1000	1,25 "	0,5 "	0 III	Zone IV
10) 1,0 " " " 1:10 000	0,5 "	0,5 "	0	Zone
11) 0,5 " " " 1:10 000	1,0 "	0,5 "	0	0
12) 0,25 " " " 1:10 000	1,25 "	0,5 "	0	0
13) 0,1 " " " 1:10 000	1,4 "	0,5 "	0	0
14) 0 " " " " " "	1,5 "	0,5 "	0 V	0 VI

B.

Die mit römischen Zahlen bezeichneten Röhrcn des Versuches A wurden nach Ablesen der Hämolyse als Giftflussigkeit eingestellt nach folgender Versuchsordnung:

Röhrcninhalt	Kochsalzlösung	Blut	Ergebnis von:					
			I	II	III	IV	V	VI
1) 0,5 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	c.	c.	c. Nh.	c. Nh.	0	0
2) 0,25 "	1,25 "	0,5 "	c.	c.	c.	c.	0	0
3) 0,1 "	1,4 "	0,5 "	c. Nh.	c.	f. c. "	c. "	0	0
4) 0,5 " in Verdünn. 1:10	1,0 "	0,5 "	c. "	c. Nh.	Kuppe	f. c. "	0	0
5) 0,25 " " " 1:10	1,25 "	0,5 "	f. c. "	c. "	"	Kuppe	0	0
6) 0,1 " " " 1:10	1,4 "	0,5 "	f. c. "	f. c. "	"	Zone	0	0
7) 0 " " " " " "	1,5 "	0,5 "	0	0	0	0	0	0

Erklärung der Abkürzungen: c. = komplett, f. c. = fast komplett, Nh. = Nachhämolyse.

Auf die Wiedergabe der Versuche muß wegen Raummangels verzichtet werden.

Besonders demonstrierend ist auch die Vermehrung der *Proteus*-Bazillen während des hämolytischen Experimentes in einer Versuchsanordnung, die in der Tab. III wiedergegeben ist.

In diesen Versuchen haben wir eine Bouillonkultur und eine Leucin-Milchsäure-Ammoniakkultur auf hämolytische Wirksamkeit geprüft (Tabelle III, A) und nach erfolgter Lösung den Inhalt einzelner Röhrchen auf „Giftgehalt“ untersucht. Dabei stellte es sich heraus, daß er beträchtlich zugenommen hatte, wie man aus dem Versuch Tab. III, B ersehen kann. Diese Giftigkeitszunahme ist natürlich nur durch die Vermehrung der Bakterien zu erklären.

Daß die Giftwirkung von der Bakterienzahl abhängig ist, dafür sprechen auch Versuche, die mit zentrifugierten und nichtzentrifugierten Bouillonkulturen angesetzt worden sind: Die Zentrifugate erwiesen sich stets weniger wirksam als die unzentrifugierten Kulturen, und die Wirksamkeit ging dem Keimgehalt parallel. Es möge hier an die Versuche über den Einfluß der Karbolsäure auf die Giftwirkung erinnert werden, von denen oben die Rede war. Es ist wohl richtiger, wenn wir diese Versuche so deuten, daß das Desinfiziens nicht auf das „Gift“, sondern auf die Bakterienentwicklung einwirkt.

Ueberblicken wir die mitgeteilten Versuche, so drängt sich uns die Annahme auf, daß es sich bei der Giftigkeit der *Proteus*-Kulturen in erster Linie um die Bildung eines Giftes während des hämolytischen Versuches handelt. Dieses Gift muß außerordentlich labil sein, da man es in keimarmen Zentrifugaten von üppig gewachsenen Kulturen nicht angereichert vorfindet. Die Anwesenheit lebender Mikroorganismen während der Prüfung auf Giftigkeit ist die Voraussetzung der Giftwirkung: Alle Maßnahmen, welche die Lebenstätigkeit der Bakterien beseitigen (Filtration, Desinfektionsmittel, Hitze) heben die Giftwirkung auf.

Wir wollen uns jetzt der Beantwortung der Frage zuwenden, ob das Gift ein Leibesbestandteil der Bakterien ist.

## II. Beziehungen des Blutgiftes zum ektoplasmatischen Geißelapparat der *Proteus*-Bakterien.

Zunächst prüften wir, ob die Schwärmfähigkeit mit der Giftbildung parallel geht. Unser besonders giftbildender X2-Bazillus zeichnete sich durch eine gute Schwärmfähigkeit aus. Wir besaßen eine natürliche O-Form dieses Bazillus, die trotz monatelanger Züchtung stets nichtschwärmend blieb, und sich bei Geißelfärbung nach Zettnow als frei von Zilien erwies. Die Bouillonkulturen dieser O-Form waren sehr wenig oder gar nicht giftig.

5 gewöhnliche *Proteus*-Stämme, die teils aus Eiter, teils aus Stuhl und Harn gezüchtet waren, schwärmten und bildeten Blutgift. Ein Stamm von X19-Bakterien, der hier seit Jahren im Laboratorium gezüchtet wird, zeigte bei wiederholter Prüfung keine Giftbildung. Er schwärmte nicht. Bei strichförmiger Beimpfung zeigte er bei mehrtägiger Bebrütung der Agarplatten Auswüchse am Impfstrich und allmählich breitete sich der Rasen über einen großen Teil des Nährbodens aus. Bei der mikroskopischen Untersuchung sehr junger Bouillonkulturen (4—8 Std. alt) war er entweder unbeweglich, oder nur einzelne



Stäbchen zeigten schwache Beweglichkeit. Es ging also bei diesem Stamm das Unvermögen zu schwärmen parallel dem Fehlen der Giftbildung. Unsere Versuche bilden demnach eine Bestätigung der interessanten Angabe von Schiff und Nathorff.

Wir untersuchten nun, wie sich verschiedene Immunsera, die mit den schwärmenden und nichtschwärmenden Formen der X-Bazillen hergestellt waren, gegenüber dem Blutgift verschiedener Proteus-Stämme verhalten.

Es wollte uns zunächst, wie auch anderen Autoren, bei der für die Antitoxinbestimmung im Reagenzglas üblichen Methodik nicht gelingen, neutralisierende Substanzen gegenüber dem Blutgift des X2-Bazillus nachzuweisen. Mischten wir mehrfach lösende Dosen der X2-Kulturen mit absteigenden Mengen verschiedener Immunsera und ließen diese Mischungen 2 Std. bei 37° C stehen und setzten nach dieser Zeit 5-proz. Kaninchenblut hinzu, so trat stets Lösung ein. Solche Versuche haben wir mit Immunsera angestellt, die entweder mit schwärmenden oder nichtschwärmenden X2-Bazillen hergestellt waren, oder von Tieren gewonnen waren, denen Bouillonkulturen des X2-Bazillus injiziert wurden, welche in starken Verdünnungen Blutkörperchen auflösten. Die Sera besaßen einen hohen Agglutinationstiter.

Wir haben unsere Methodik der Auswertung der Immunsera verschiedenartig modifiziert. Es wäre nicht lohnend, alle Versuchsanordnungen, die zu negativen Resultaten führten, hier zu besprechen, nur bei bestimmten Bedingungen gelang es uns, die Giftwirkung aufzuheben, und diese Versuche mögen etwas ausführlicher besprochen werden. Es ist zunächst von Wichtigkeit, daß nicht mit einem Multiplum der einfach lösenden Dosis gearbeitet wird, wie man das sonst bei der Auswertung der Antitoxine zu tun pflegt. Es handelt sich ja hier nicht um keimfreie Toxinlösungen, sondern um eine Giftbildung während des Versuches, die von einer Keimvermehrung begleitet ist. Am geeignetsten erwies sich uns die einfach oder höchstens 2-fach wirksame Dosis 6-stünd. Bouillonkulturen oder 24-stünd. Kulturen im künstlichen, oben beschriebener Nährboden. Es ist nicht zweckmäßig, zunächst die Giftigkeit der Kultur nach 24-stünd. Einwirkung auf das Blut zu bestimmen und dann erst die geeignete Dosis zu wählen, da bei längerem Stehen, wie wir oben gezeigt haben, das Hämolysevermögen der Kulturen sich ändern kann. Es empfiehlt sich vielmehr, daß man aufs Geratewohl sofort verschiedene Kulturmengen prüft. Bei unseren zahlreichen Versuchen stellte es sich heraus, daß die für diese Versuche brauchbare Menge 1 ccm der Verdünnung 1:200—1:400 der Zentrifugate 6-stünd. Bouillonkulturen unseres X2-Bazillus oder der 24-stünd. Kulturen in künstlichen Nährböden betrug. Von nichtzentrifugierten 24-stünd. Bouillonkulturen war die brauchbare Dosis 1 ccm oder 0,5 ccm der Verdünnung 1:1000. Diese Kulturmengen haben wir mit absteigenden Quantitäten verschiedener Immunsera gemischt, auf gleiches Volumen mit physiol. Kochsalzlösung gebracht, 1—2 Std. bei Brutschranktemperatur stehen gelassen und nachher 2mal gewaschenes 5-proz. Kaninchenblut zugesetzt. Diese Mischungen wurden dann 2 Std. bei 37° C bebrütet und die Resultate nach Aufbewahrung im Eisschrank am nächsten Tage protokolliert. Als Beispiel möge in der Tab. IV ein Versuch angeführt werden.

Tabelle IV.

## Wirkung der Immunsera.

## Versuchsordnung:

1) Zentrifugat einer 24-stünd. Kultur des X2-Bazillus im Leucin-Milchsäure-Ammoniak-Nährboden.

2) 5-proz., 2mal gewaschenes Kaninchenblut.

1 ccm der Verdünnung 1:200 und 1 ccm der Verdünnung 1:400 des Zentrifugates werden mit absteigenden Mengen der OX2-, HX2-Immunsera und Normalsera zusammengemischt, 2 Std. bei 37° C stehen gelassen, nachher Kaninchenblut zugesetzt.

## Versuch:

Zentrifugat 1:200 bzw 1:400	Serum	Koch- salz- lösung	Blut	Ergebnis nach 24 Std.	
				Zentrifugat 1:200 + Normal- serum Nr. 195	Zentrifugat 1:400 + Normal- serum Nr. 195
1) 1,0 ccm	0,5 ccm in Verdünnung 1:100	— ccm	0,5 ccm	c.	c.
2) 1,0 "	0,25 " " " " 1:100	0,25 "	0,5 "	c.	c.
3) 1,0 "	0,1 " " " " 1:100	0,4 "	0,5 "	c.	c.
4) 1,0 "	0,5 " " " " 1:1000	— "	0,5 "	c.	c.
5) 1,0 "	0,25 " " " " 1:1000	0,25 "	0,5 "	c.	c.
6) 1,0 "	0,1 " " " " 1:1000	0,4 "	0,5 "	c.	c.
7) 1,0 "	0,5 " " " " 1:10000	— "	0,5 "	c.	c.
8) 1,0 "	0,25 " " " " 1:1000	0,25 "	0,5 "	c.	c.
9) 1,0 "	0,1 " " " " 1:10000	0,4 "	0,5 "	c.	c.
10) 0 "	0,5 " " " " 1:100	1,0 "	0,5 "	0	0

## Ergebnis nach 24 Std.

Zentrifugat 1:200 + Immunserum OX 2 Nr. 358	Zentrifugat 1:400 + Immunserum OX 2 Nr. 358	Zentrifugat 1:200 + Immunserum HX 2 Nr. 102	Zentrifugat 1:400 + Immunserum HX 2 Nr. 102
c.	c. (Schleier)	c. (Schleier)	mäßig
f. c. (Schleier)	f. c.	c. "	Kuppe
f. c. "	mäßig	c. "	"
c. "	"	c. "	"
c. "	wenig	f. c. "	"
c. "	"	c. "	mäßig
c. "	Spur	c. "	f. c.
c.	f. c.	c.	f. c.
c.	f. c.	c.	f. c.
0	0	0	0

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, daß bei Verwendung bestimmter Bakterienmengen sowohl das OX2- wie auch das HX2-Immunserum im Gegensatz zum Normalserum, das unwirksam ist, in den gewählten Konzentrationen imstande sind, die Giftwirkung des X2-Bazillus aufzuheben. Versuche, die mit Immunsera ausgeführt worden sind, welche mit der schwärmenden Form des X19-Bazillus hergestellt wurden, zeigten, daß auch sie imstande sind, das Blutgift des X2-Bazillus unwirksam zu machen. Andere Immunsera, wie z. B. solche, die mit Ruhrbazillen gewonnen wurden, sind gegenüber dem Blutgift der Proteus-Bazillen ebenso unwirksam wie normale Sera.

Ein besonderer Umstand, der bei diesen Versuchen beachtet zu werden verdient, muß noch hervorgehoben werden. Man kann nämlich eine Art „paradoxen Phänomens“ beobachten, indem Immunsera, die in

starken Verdünnungen neutralisierende Wirkungen zeigen, sich in höheren Konzentrationen unwirksam erweisen, mit anderen Worten: die entgiftende Wirkung ist nur bei bestimmten Konzentrationen der Immunsera nachweisbar. Es ist also nicht nur ein Optimum der Bakterienmenge, sondern auch ein solches des Immunserums nötig, damit die Giftwirkung ausbleibt.

Da wir hier mit einem labilen Gift arbeiten, daß erst während des hämolysischen Versuchs entsteht, und da die Immunserumwirkung durch die Tätigkeit der lebenden Mikroorganismen leicht überwunden werden kann, weil der Serumzusatz die Ernährungsbedingungen und hiermit die Vermehrungsfähigkeit und die Giftbildung wesentlich verbessert, so kann es nicht wundernehmen, daß die Versuche nicht immer eindeutig ausfallen. Zahlreiche Versuche sind deshalb zur Entscheidung der hier behandelten Frage nötig.

Wir prüften nun, wie die mit X-Bazillen hergestellten Sera auf Proteus-Gifte solcher Stämme wirken, die keinerlei gemeinsamen Antigene mit X-Bazillen besitzen. Ein solcher Stamm war z. B. der Stamm 136. Er wurde von keinem Immunserum der X-Stämme, weder von dem OX 2, noch OX 19-, noch von dem HX 2- und HX 19-Immunserum agglutiniert. Ist die Annahme, daß das Blutgift der Proteus-Bazillen ein Leibesbestandteil derselben ist, richtig, so müssen die Immunsera der X-Stämme gegen das Hämolysin des Stammes 136 unwirksam sein. Diese Voraussetzung traf in der Tat zu<sup>1)</sup>.

Da die schwärmenden X 2- und X 19-Bazillen die im Ektoplasma befindlichen Agglutinogene gemeinsam haben (Braun und Schaeffer), und da die Immunsera, welche mit diesen beiden Bakterien hergestellt werden, gegenüber dem Blutgift des X 2-Bazillus neutralisierende Eigenschaften besitzen, dagegen gegenüber Blutgiften solcher Proteus-Stämme, die keine agglutinogene Gemeinsamkeiten mit X-Bazillen haben, unwirksam sind, liegt es nahe, anzunehmen, daß das Blutgift der Proteus-Bazillen ein Leibesbestandteil, und zwar ein im Ektoplasma befindlicher ist. Um diese Annahme noch weiterhin zu stützen, haben wir Versuche mit einem Proteus-Stamm ausgeführt, der sich zwar kulturell wie die X-Bazillen verhält, bei der serologischen Analyse aber vor allem nur ektoplasmatische Antigene mit X-Bazillen gemeinsam hat und deshalb von Fleckfiebersera nicht agglutiniert wird. Es ist das der schon früher in unseren Arbeiten benutzte Stamm Nr. 40879: er schwärmte und bildete ein wirksames Blutgift. Wie die folgende Tabelle zeigt, ließ sich bei Berücksichtigung der oben angeführten Versuchsbedingungen zeigen, daß sein Hämolysierungsvermögen durch Immunsera, die mit HX 2- oder HX 19-Bazillen hergestellt waren, aufgehoben werden kann. Dagegen erwiesen sich die OX 2-, OX 19-Immunsera, Dysenterie- und Normalsera unwirksam. Auch diese Versuche sind also eine Stütze für die Annahme, daß es sich bei dem Blutgift der Proteus-Bazillen um einen Ektoplasmabestandteil der Bakterien handelt.

Von Interesse ist nun die Frage, wie man sich die Wirkung des Immunserums vorstellen soll. Da wir zu der Ansicht gekommen sind, daß es sich um ein labiles Endotoxin, um einen unbeständigen Ektoplasmabestandteil handelt, und da wir durch die oben beschriebenen

1) Aus Raummangel mußte auf die Wiedergabe der Versuche verzichtet werden.

Tabelle V.

24-stünd. Bouillonkultur des Stammes Nr. 40879 in der Verdünnung 1:2000 wird geprüft gegenüber dem HX 2-Immunsrum Nr. 201, HX 19-Immunsrum Nr. 168, OX 2-Immunsrum Nr. 358, OX 19-Immunsrum Nr. 199, Dysenterie-Immunsrum Nr. 28.

Kultur	Serumverdünnung	Kochsalzlösung		HX 2-Immunsrum	HX 19-Immunsrum	OX 2-Immunsrum	OX 19-Immunsrum	Dysent-Immunsrum		
1	1 ccm der Verdünn. 1:2000	0,5 ccm 1:100	—	Kuppe	Kuppe	}	f.c. N.H.	}		
2	dgl.	0,25 ccm 1:100	2 Std. bei 37°, nachher 0,5 ccm 5-proz. Kaninchenblut	„	Zone		stark. N.H.			
3	„	0,1 ccm 1:100		Zone	„		}			
4	„	0,5 ccm 1:1000		„	„					
5	„	0,25 ccm 1:1000		„	„				f.c. N.H.	
6	„	0,1 ccm 1:1000		wenig, N.H.	„				}	f.c. N.H.
7	„	0,5 ccm 1:10 000		wenig, N.H.	„					
8	„	0,25 ccm 1:10 000		sehr stark, N.H.	„					
9	„	0,1 ccm 1:10 000		f.c. N.H.	„					
10	—	0,5 ccm 1:100		0	0				0	0

Im Auswertungsversuch ohne Serumzusatz löste 1 ccm der Verdünnung 1:1000: c., N.H.; 0,5 ccm derselben Verdünnung: f.c., N.H. 0,5 ccm 5-proz. Kaninchenblut.

Erklärung der Abkürzungen: c. = komplett, f. c. = fast komplett, N. H. = Nachhämolysse.

Versuche gezeigt haben, daß das Gift erst während des hämolytischen Versuchs entsteht, da wir weiterhin die von Schiff und Nathorff gefundene Tatsache bestätigen konnten, daß die O-Formen nicht hämolytisch, die H-Formen hämolytisch sind, so könnte die Wirkung des Immunsrum darauf beruhen, daß sich infolge seiner Anwesenheit bei der Vermehrung der Proteus-Bazillen nur O-Formen, nicht dagegen H-Formen entwickeln.

v. Gutfeld hat gezeigt, daß, wenn man Tieren, die gegen X-Bazillen immunisiert wurden, schwärmende X-Bakterien injiziert und den Keimgehalt des Blutes durch Plattenaussaat bestimmt, auf solchen immunsrumhaltigen Platten die Proteus-Bakterien nicht schwärmen. Daraus schloß er, daß sie zu O-Formen geworden sind. Die Hemmung der Hauchbildung ist nach v. Gutfeld abhängig von der Höhe des Agglutinintiters und der Menge des auf die Platte gebrachten agglutinierenden Serums. Es könnte also so scheinen, als ob durch diese von v. Gutfeld gefundene Tatsache, von deren Richtigkeit wir uns überzeugen konnten, die giftneutralisierende Wirkung der Immunsrum damit erklärt werden könnte, daß während des hämolytischen Versuches

sich nur O-Formen, nicht H-Formen bilden, und deshalb eine Giftwirkung ausbleibt. Wie uns aber entsprechende Versuche lehrten, ist diese Annahme nicht zutreffend. Wir haben dem Nähragar verschiedene Immunsera und Normalsera zugesetzt und die mit solchem Agar hergestellten Platten mit schwärmenden X2-Bazillen beimpft. Es stellte sich nun heraus, daß beim Zusatz von HX2-, HX19- und OX2-Immunsorum zum Agarnährboden das Schwärmen des X2-Bazillus aufgehoben war, daß aber ein OX19-Immunsorum und Normalserum die Schwärmfähigkeit nicht beeinträchtigt. Wie wir aus den Versuchen von Braun und Schaeffer und Joetten wissen, sind die „natürlichen“ O-Formen und die „künstlichen“, die unter dem Einfluß eines Desinfektionsmittels oder der Unternahrung entstehen, geißellos. Die Untersuchung der auf immunserumhaltigem Agar gewachsenen nichtschwärmenden Kulturen mit Hilfe der Zettnow-Färbung lehrte uns nun, daß es sich bei diesen nichtschwärmenden Kolonien nicht um echte, sondern um Schein-O-Formen handelt, denn die Bakterien dieser Kolonien zeigten reichlich Geißeln. Das agglutinierende Immunsorum hebt, wie wir ja schon aus den grundlegenden Untersuchungen von Gruber und Durham wissen, die Beweglichkeit der Bakterien auf. Zum Schwärmen müssen aber die Proteus-Bakterien beweglich sein; sind sie unbeweglich, so wachsen sie hauchlos. Für die Bildung der hauchlosen Kolonien ist es demnach gleichgültig, ob die Unbeweglichkeit durch Fehlen von Geißeln (echte O-Formen) oder durch die Aufhebung der Funktion der Zilien zustande kommt (Schein-O-Formen).

Unter dem Einfluß des Immunsorums tritt also ein Nichtschwärmen ein, aber die Bakterien sind voll entwickelt und besitzen das Ektoplasma in derselben Ausbildung, wie in einer immunserumfreien Kultur. Daraus geht hervor, daß die giftwidrige Wirkung des Immunsorums nicht darauf zurückgeführt werden kann, daß sich unter seinem Einfluß O-Formen entwickeln. Man wird sich die Wirkung des Immunsorums anders vorstellen müssen: entweder wird das giftige Endotoxin durch das Immunsorum im Ektoplasma des Bakterienleibes selbst neutralisiert, oder es wird durch die Beladung der Oberfläche des Bakteriums mit Antikörpern die Diffusion des, vielleicht gar nicht antigen wirkenden, Giftes aus dem Bakterienleibe unmöglich gemacht. Es ist also denkbar, daß es sich hierbei gar nicht um eine giftneutralisierende, sondern um eine indirekte Immunsorumwirkung handelt. Weitere Versuche müssen darüber Klarheit schaffen. Sicher ist, daß die gegen das Ektoplasma der Proteus-Bazillen gerichteten Antikörper die Giftwirkung aufheben können, und daß geißellose Proteus-Bakterien nicht hämolytisch wirken.

Zum Schluß möchten wir noch über Erfahrungen berichten, die wir mit dem sogenannten „Kochgift“ gemacht haben.

Bach hat sich bereits mit dem Kochgift der Proteus-Bazillen eingehender beschäftigt. Wie früher Landsteiner und v. Rauchenbichler beim Staphylotoxin festgestellt haben, kann ein Gift, das bei Erhitzung auf 56° seine Wirksamkeit verloren hatte, diese zum Teil wiedergewinnen, wenn es auf 100° erhitzt wird. Ähnliches ist beim Proteus-Gift festgestellt worden.

Bach erhitzte die Kulturen auf 65° C für 1/2 Std. und nachher für 5 Min. auf 100° C. Diese doppelte Erhitzung ergab ihm keineswegs übereinstimmende Resultate. Manchmal waren die Kulturen ganz un-

wirksam, ein ander Mal ist nur eine schwache Giftwirkung aufgetreten oder die Giftwirkung wurde vollständig restituiert. Er nimmt für die Entstehung des Kochgiftes mit Landsteiner und v. Rauchenbichler an, daß die Inaktivierung bei niederen Temperaturen nicht durch Destruktion des Lysins, sondern durch Bildung einer unwirksamen Verbindung des Lysins mit anderen in den Kulturen enthaltenen Stoffen zustande kommt. Durch kurzes Erwärmen auf 100° C soll dann die Verbindung zerlegt werden, so daß das hämolysierende Agens wieder wirksam wird.

Wenn wir junge X2-Bouillonkulturen auf 65° C 1/2 Std. erhitzen, so war die Giftwirkung vollständig aufgehoben, selbst dann, wenn wir große Mengen der Flüssigkeit verwendeten (5 ccm der Kulturflüssigkeit mit 1 ccm 5-proz. Blutes). Erhitzen wir solche inaktivierten Giftlösungen 5 Min. lang auf 100° C, so blieben sie meist unwirksam. Häufig, wenn auch nicht regelmäßig, gelang es uns, ein „Kochgift“ zu erzielen, wenn wir zunächst 1/2 Std. auf 65° C, dann 5 Min. auf 100° C und nachher wiederum 1/2 Std. auf 65° C erwärmten, schnell abkühlten und dann sofort Blut zusetzten.

Die Giftausbeute war stets eine sehr geringe. Nie gelang es uns, mit kleinen Mengen Giftwirkungen zu erzielen, stets mußten wir 4 bis 5 ccm Kulturflüssigkeit benutzen. Häufig war auch die Lösung der Blutkörperchen keine komplette. Selbstverständlich haben wir gleichzeitig Kontrollen mit erhitzter unbeimpfter Bouillon angestellt und das Blut erst nach sorgfältiger Abkühlung den Flüssigkeiten zugesetzt. Es drängte sich uns die Frage auf, ob dieses Kochgift mit dem der lebenden Kulturen identisch ist. Die Beweisführung ist nicht möglich gewesen, weil die erhitzten Kulturen sehr wenig giftig sind, und weil man nicht regelmäßig die Versuchsergebnisse reproduzieren kann. Trotz zahlreicher Experimente, die wir zur Beantwortung dieser Frage angestellt haben, müssen wir uns sehr vorsichtig äußern. Wir haben den Eindruck gewonnen, daß es sich bei dem Kochgifte um einen unbeständigen labilen Körper handelt, der in zunächst wirksamen Flüssigkeiten nach kurzer Zeit nicht mehr nachweisbar ist. Es gelang uns nur ausnahmsweise, das Gift durch Membranfilter zu filtrieren. Neutralisierungsversuche mit Immunsera konnten wir wegen der geringen Wirksamkeit solcher Kochgifte nicht anstellen.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Bach, F. W., Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. S. 305.) — 2) Bachrach, G., u. Grafe, E., Ueber die Empfindlichkeit der Blutarten gegenüber hämolytischen Giften. (Arch. f. Hyg. Bd. 70. 1909. S. 1.) — 3) Baerthlein, K., Ueber Blutveränderungen durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 201.) — 4) Braun, H., Ueber das Streptolysin. (Ebenda. Bd. 62. 1912.) — 5) Braun, H., u. Cahn-Bronner, C. E., Die Nahrungsbedürfnisse des Paratyphus-B-Bazillus; sein Wachstum und seine Eigenschaften beim Aufbau aus einfachen chemischen Verbindungen. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 1.) — 6) Braun, H., u. Salomon, R., Ueber den Fleckfieber-Proteus-Bazillus (Weil-Felix). (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918.) — 7) Dies., Die Fleckfieber-Proteus-Bazillen (Weil-Felix). (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918.) — 8) Braun, H., u. Schaeffer, H., Zur Biologie der Fleckfieber-Proteus-Bazillen. (Berl. klin. Wochenschr. 1919. S. 409.) — 9) Dies., Zur Biologie der Fleckfieber-Proteus-Bazillen. Ein Beitrag zur Frage der Wirkungsweise der Desinfektionsmittel und des Hungers auf die Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 89. 1919. S. 339.) — 10) Ehrlich, P., Diskussionsbemerkung zu dem Vortrag von Kossel: Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. (Berl. klin. Wochenschr. 1919. S. 273.)

- 11) Feiler, M., Zur Biologie des Typhusbazillus. Ein Beitrag zur Wirkungsweise der Desinfektionsmittel und des Hungers auf Bakterien. (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29. 1920. S. 303.) — 12) Friedberger, E., Ueber Immunitätsreaktionen mit dem Bazillus Weil-Felix und über seine ätiologische Bedeutung für das Fleckfieber. (Dtsche med. Wochenschr. 1917. S. 1390.) — 13) Friedberger, E., u. Joachimglu, G., Ueber einen Nährboden zur Züchtung des Bacillus typhi exanthematici (Bacillus Proteus X Weil-Felix). (Münch. med. Wochenschr. 1918. S. 805.) — 14) Glaessner, K., u. Roscules, V., Ueber den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf die Immunkörper. (Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. Bd. 3. 1906. S. 314.) — 15) Gruber, M. u. Durham, H., Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Choleravibrios und des Typhusbazillus. (Münch. med. Wochenschr. 1896. Nr. 13.) — 16) v. Gutfeld, F., Zur Entstehung der hauchlos wachsenden Proteus-Form (O-Form) im Tierkörper. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 668.) — 17) Jötten, K. W., Vergleichende Untersuchungen über das kulturelle und serologische Verhalten gewöhnlicher und Fleckfieber-X-Proteus-Stämme mit besonderer Berücksichtigung ihrer Abspaltungsvarietäten. (Ebenda. 1919. S. 270.) — 18) Kostrzewski, Ueber die violette Farbe bei hämolytischen Versuchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 262.) — 19) Kraus, R., u. Clairmont, P., Ueber Hämolyse und Antihämolyse. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 13. 1900. S. 49.) — 20) Dies., Ueber Bakterienhämolyse und Antihämolyse. (Ebenda. Bd. 14. 1901. S. 1016.) — 21) Landsteiner, K., u. v. Rauchenbichler, R., Ueber das Verhalten des Staphylolysin beim Erwärmen. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 1. 1909. S. 439.) — 22) Madsen, T., Ueber Tetanolyse. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32. 1899. S. 214.) — 23) Neißer, M., u. Wechsberg, F., Ueber das Staphylotoxin. (Ebenda. Bd. 36. S. 299.) — 24) Pribram, E., Hämotoxine und Antihämotoxine der Bakterien. (Kolle-Wassermann 2. Aufl. Bd. 2. 2. Abschn. S. 1328.) — 25) Sachs u. Schloßberger, Untersuchungen über die thermostabilen Rezeptoren der X-Stämme, mit Beiträgen zur Kenntnis der Weil-Felixschen Reaktion. (Arb. Inst. exper. Ther. u. Gynäkol. Speyer-Haus. 1919. H. 6.) — 26) Schiff, F., u. Nathorff, E., Untersuchungen zur Serologie des Fleckfiebers. (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30. 1920. S. 482.) — 27) Schuster [Diss.] Gießen 1911 (zit. nach Bach). — 28) Walbum, L. E., Studien über Toxinbildung. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 3. 1909. S. 70.) — 29) Weil u. Felix, Zur serologischen Diagnose des Fleckfiebers. (Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 2. S. 33.) — 30) Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieberagglutination. (Ebenda. 1917. Nr. 13. 48 u. 1918. Nr. 23.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Wirksamkeit des normalen Rinderserums bei der Milzbrandinfektion.

[Aus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien (Vorstand: Priv.-Doz. Dr. F. Gerlach) und aus der Lehrkanzel für bakteriologische Hygiene der Tierärztlichen Hochschule in Wien (Vorstand: Prof. Dr. J. Schnürer).]

Von Tierarzt Dr. Hans Zehetmayr.

Untersuchungen von Kraus und Beltrami haben ergeben, daß im Serum normaler Tiere gewisser Tierarten Schutzstoffe vorhanden sind, die in der gleichen Weise wie jene der Immunsera wirksam und Kaninchen passiv zu immunisieren imstande sind. Insbesondere ist es das normale Serum von 6–8 Mon. alten Kälbern, das schon in der Dosis von 3 ccm subkutan einverleibt, antiinfektiöse Eigenschaften gegenüber einer 48 Std. später erfolgenden subkutanen Milzbrandinfektion bei jungen Kaninchen entwickelt. Doch zeigt sich nach Kraus in der Wirkung dieser normalen Sera außer einer individuellen auch eine Artverschiedenheit. Kraus verwendet an Kaninchen ausprobierte normale Rindersera zu kurativen Zwecken bei Milzbranderkrankungen des Menschen und beweist so die Gleichwertigkeit des normalen Rinderserums mit dem Milzbrandimmunserum.

Verschiedene Autoren haben dann bei der Nachprüfung dieser Befunde gegen-  
teilige Ergebnisse erzielt.

In den Versuchen Lignières an Meerschweinchen, die mit Milzbrand-Vakz. II  
infiiziert worden waren, blieb das Normalserum wirkungslos. Kraus hat bei seinen  
Versuchen junge Kaninchen im Gewichte von 600–800 g verwendet. Lignière weist  
nun auf die bekannte Tatsache hin, daß junge Kaninchen gegen Milzbrand von Haus  
aus ziemlich resistent sind. In seinen Kaninchenversuchen war eine antiinfektiöse  
Wirkung des normalen Rinderserums nicht festzustellen.

Hutyra und Manninger haben mitgeteilt, daß normale Sera im Gegensatz zu  
zu Immuneris nicht gegen die subkutane Infektion mit virulenten Milzbrandbazillen  
schützen. Ihre Versuche sind mit einem Pferde-, einem Rinder und einem Schafserum  
durchgeführt worden. Jungen Kaninchen wurden 1–3 ccm dieser Sera subkutan ein-  
verleibt und es erfolgte 48 Std. nachher die subkutane Milzbrandinfektion mit 0,001  
Oese Kultur. Nur 1 Kaninchen, welches mit 3 ccm eines normalen Schafserums vor-  
behandelt war, blieb am Leben.

Gerlach hat in Auswertungsversuchen die Sera von 3 gegen Milzbrand immuni-  
sierten Pferden mit solchen von 10 normalen Pferden, 1 normalen Schaf und 1 nor-  
malen Rinde in ihrer Wirksamkeit gegenüber Milzbrand bei Kaninchen verglichen, ohne  
eine Schutzwirkung der normalen Sera ermitteln zu können. In diesen Versuchen  
erfolgte 1–1½ Std. nach der intravenösen Einverleibung des Serums in Dosen bis zu  
6 ccm die subkutane Milzbrandinfektion mit 0,00001 Oese des Laboratoriumstammes  
„Mbr. VII“.

Da Hutyra und Manninger vermuten, daß es sich bei den Krausschen  
Versuchen um Sera von Rindern gehandelt haben könnte, die auf den argentinischen  
Weiden mit Milzbrand latent infiziert worden waren, wodurch sie eine beträchtliche  
aktive Immunität erworben haben, erprobte Gerlach auch die Sera von serovakzi-  
nierten Kaninchen in bezug auf ihre Schutzwirkung gegenüber einer subkutanen Milz-  
brandinfektion. Aber auch hier blieb die schützende Wirkung der Sera aus.

Kolmer, Wanner und Koehler verwendeten zu ihren Versuchen weiße Mäuse  
und konnten keine Schutzwirkung des normalen Serums gegenüber virulentem Milz-  
brand nachweisen.

Auf Ersuchen des Herrn Dozenten Dr. F. Gerlach stellte Prof.  
Kraus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt Mölling ver-  
schiedene Op.-Nr. normalen argentinischen Rinderserums zur Verfügung.  
Es wurde in zugeschmolzenen Glasphiolen eingesendet, so wie es von  
Prof. Kraus aus dem Serum-Institute in Buenos Aires zur Behandlung  
des Milzbrandes beim Menschen zur Ausgabe gekommen ist.

Auf Anregung des Herrn Doz. Dr. Gerlach habe ich diese argen-  
tinischen, normalen Rindersera auf ihre Wirkung bei der Milzbrand-  
infektion mit einheimischen, normalen Rinderseris vergleichend unter-  
sucht, unter Beibehaltung des von Kraus angegebenen Versuchsplanes.

In den Krausschen Versuchen ist nicht angegeben, ob die In-  
jektion des Serums und die Infektion mit Milzbrand an derselben Körper-  
stelle erfolgten. Da an eine lokale Wirkung von Abbaustoffen des  
Serums gedacht werden muß, wurde diese Möglichkeit bei meinen Ver-  
suchen berücksichtigt.

Herr Doz. Dr. Gerlach stellte mir für die Infektionsversuche den  
schon erwähnten Milzbrandstamm VII zur Verfügung. Ich prüfte diesen  
Stamm zuerst auf seine Virulenz an 2 Mäusen und 4 Kaninchen. Das  
mit 0,00001 Oese dieses Stammes geimpfte Kaninchen verendete nach  
3 Tagen. Das von österreichischen Rindern stammende Normalserum  
entnahm ich von 6–8 Mon. alten Kälbern. Die Verdünnungen der  
Kulturen wurden unmittelbar vor der Einverleibung mit physiol. Koch-  
salzlösung, in den letzten Versuchsreihen mit Bouillon vorgenommen.  
Die subkutane Infektion erfolgte 48 Std. nach der subkutanen Serum-  
injektion mit einer 48-stünd. Agarkultur des Stammes Mbr. VII. Die  
Kaninchen der 1. und 2. Versuchsreihe wogen 600–800 g, die der 3.  
und 4. Versuchsreihe 1000–1200 g. Nach Aufnahme eines genauen



Sektionsbefundes bei den auf die Milzbrandinfektion verwendeten Kaninchen wurde der Nachweis des Milzbrandes stets auch mikroskopisch und kulturell erbracht.

Zuerst ging ich daran, das in der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt Mödling erzeugte Milzbrandimmenserum auszuwerten. Es stand mir ein hochwertiges Pferdemischserum, ein Milzbrandimmenserum von einem Pferde („Lenker“) und ein Milzbrandimmenserum von einem Rinde („Liesl“) zur Verfügung. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, erfolgte die Injektion des Serums und die nachfolgende subkutane Infektion teils an derselben Körperstelle, also die Seruminjektion subkutan am Bauche und nach 48 Std. die Kulturinjektion direkt in das durch die Seruminjektion hervorgerufene lokale Oedem, teils wurde an voneinander getrennten Körperstellen injiziert, und zwar das Serum subkutan am Nacken und 48 Std. später die Kultur subkutan am Bauche. Den gleichen Vorgang beobachtete ich auch bei den Versuchen mit den normalen Rinderseris.

Versuch Nr. I (23. Juli 1921).

a) Milzbrandimmenserum (Pferdemischserum) subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

Kaninchen Nr.	Serummenge ccm	Ergebnis	Diagnose
52	5	lebt	—
86	4	„	—
94	3	„	—
81	2	„	—
80	1	tot n. 3 Tg.	Mbr.

b) Milzbrandimmenserum (Pferd „Lenker“) subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

46	5	lebt	—
5	4	„	—
50	3	„	—
100	2	„	—
64	1	„	—

c) Milzbrandimmenserum (Rind „Liesl“) subkutan am Bauche. Nach 48 Std. 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

20	5	lebt	—
34	4	„	—
36	3	„	—
57	2	„	—
95	1	„	—

d) Argentinisches normales Rinderserum Nr. 1158 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

97	5	lebt	—
76	4	tot n. 2 Tg.	Mbr.
38	3	lebt	—
83	2	tot n. 2 Tg.	Mbr.
7	1	dgl.	„

e) Argentinisches normales Rinderserum Nr. 1159 subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

30	5	lebt	—
85	4	„	—
25	3	„	—
48	2	„	—
14	1	„	—

Gegenprobe mit 0,005 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur an nicht vorbehandelten Tieren subkutan.

72	tot n. 3 Tg.	Mbr.
42	dgl.	"

Aus diesem Versuche geht hervor, daß das argentinische Rinderserum Nr. 1159 die gleiche Schutzwirkung gegenüber der Milzbrandinfektion entwickelt hat wie die 3 Immunsera. Bei Verwendung des argentinischen normalen Rinderserums Nr. 1158 sind von 5 Kaninchen nur die mit 5 und 3 ccm des Serums vorbehandelten am Leben geblieben. Die Seruminjektion und die Infektion bei dieser Versuchsreihe erfolgte an getrennt voneinander liegenden Stellen.

In einer weiteren Aufeinanderfolge von Untersuchungen prüfte ich die Wirkung argentinischer, normaler Sera im Vergleich zu jener der Sera von 6—8 Mon. alten österreichischen Kälbern.

Versuch Nr. II (10. Sept. 1921).

a) Oesterr. normales Rinderserum Nr. 1 subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

Kaninchen Nr.	Serummenge ccm	Ergebnis	Diagnose
58	5	lebt	—
87	4	"	—
65	3	"	—
26	2	"	—
82	1	"	—

b) Oesterr. normales Rinderserum Nr. 2 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

93	5	lebt	—
51	4	tot n. 3 Tg.	Mbr.
99	3	tot n. 3 Tg.	"
21	2	dgl.	"
15	1	tot n. 2 Tg.	"

c) Argent. normales Rinderserum Nr. 1130 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

43	5	lebt	—
2	3	tot n. 3 Tg.	Mbr.
55	1	dgl.	"

d) Argent. normales Rinderserum Nr. 1062 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

96	4	tot n. 3 Tg.	Mbr.
44	3	dgl.	"
91	1	tot n. 2 Tg.	"

e) Argent. normales Rinderserum Nr. 1080 subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

53	5	lebt	—
84	3	"	—
22	1	tot n. 4 Tg.	Mbr.

Gegenprobe mit 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan an nicht vorbehandelten Tieren.

18	tot n. 4 Tg.	Mbr.
40	tot n. 2 Tg.	"

Aus dieser Versuchsreihe ist zu entnehmen, daß dem Normalserum von 6—8 Mon. alten Kälbern aus Oesterreich ebenso eine Schutzwirkung

zuzuschreiben ist, wie dem argentinischen normalen Rinderserum, und daß auch hier die Schutzwirkung eine ausgesprochene ist, wenn die nachträgliche Infektion an der Seruminjektionsstelle erfolgt. Bei getrennt voneinander liegenden Injektionsstellen des Serums und der Kultur hat nur einmal eine Serumdosis von 5 ccm eine Schutzwirkung ergeben, während bei den Immunseris die schützende Wirkung ohne Rücksicht auf den Ort der Applikation eintritt. Es könnte auch der Fall sein, daß die verschiedene Schutzwirkung der normalen Rindersera individuell verschieden oder durch eine verschiedene Resistenz bedingt sein könnte. Ich erprobte daher in der folgenden Versuchsreihe neuerlich die Wirkungsweise der argentinischen normalen Rindersera Nr. 1062 und Nr. 1159. Bei Anwendung des Serums Nr. 1062 sind schon vorher im Versuche II d bei örtlich getrennter Einverleibung von Serum und Kultur sämtliche Kaninchen an Milzbrand verendet, während bei Serum Nr. 1159 im Versuche I e bei nachträglicher Infektion in das an der Seruminjektionsstelle entstandene lokale Oedem sämtliche Tiere am Leben geblieben sind. Diesmal erfolgte aber der Versuch so, daß die Infektion bei Serum Nr. 1159 entfernt von der Seruminjektionsstelle, bei Serum Nr. 1062 an ein und derselben Körperstelle vorgenommen wurde. Gleichzeitig wurde in dieser Versuchsreihe auch die Art und Weise der Wirkung zweier österreichischer Sera untersucht. Im Versuche III e, wo das argentinische Normalserum Nr. 1080 angewendet wurde, das sich schon im Versuch II e gut wirksam erwiesen hat, sind Serum und Kultur unmittelbar vor der Injektion gemischt worden.

Versuch Nr. III (26. Sept. 1921).

a) Argent. normales Rinderserum Nr. 1062 subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

Kaninchen	Serummenge	Ergebnis	Diagnose
Nr.	ccm		
16	5	lebt	—
41	3	„	—
45	1	tot n. 4 Tg.	Mbr.

b) Argent. normales Rinderserum Nr. 1159 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

23	5	lebt	—
54	3	„	—
66	1	tot n. 3 Tg.	Mbr.

c) Oesterr. normales Rinderserum Nr. III subkutan am Bauch. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

24	5	lebt	—
56	3	„	—
89	1	„	—

d) Oesterr. normales Rinderserum Nr. IV subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

57	5	lebt	—
94	3	tot n. 2 Tg.	Mbr.
88	1	dgl.	„

e) Argent. normales Rinderserum Nr. 1080, gemischt mit 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur, subkutan.

73	5	tot n. 36 Std.	Mbr.
3	3	tot n. 2 Tg.	„
13	1	tot n. 3 Tg.	„

Gegenprobe mit 0,0001 Oese Mbr. VII, an nicht vorbehandelten Tieren 48-stünd. Agarkultur, subkutan.

49	tot n. 2 Tg.	Mbr.
63	tot n. 3 Tg.	„

Versuch IIIa hat die gehegten Vermutungen bestätigt. Es zeigte sich nämlich, daß das argentinische normale Rinderserum Nr. 1062 je nachdem, ob die nachfolgende Infektion an der Seruminjektionsstelle oder an einer von dieser weit abliegenden Körperstelle erfolgt, verschiedene Wirksamkeit entfaltet: Im ersteren Falle bleiben die mit 3 und 5 ccm Serum vorbehandelten Versuchstiere am Leben, während im letzteren Falle sämtliche Kaninchen an Milzbrand zugrunde gehen.

Im Versuche IIIb, wo die Kaninchen mit dem argentinischen normalen Rinderserum Nr. 1159 unter die Nackenhaut geimpft worden sind, während die subkutane Injektion der Kultur am Bauche erfolgte, wäre der Tod sämtlicher Tiere zu erwarten gewesen, jedoch blieben hier die mit 3 und 5 ccm Serum vorbehandelten Kaninchen gleichfalls am Leben. Aber auch in den Versuchen Id, IIb und c und III d sind die mit 5 ccm Serum geimpften Kaninchen am Leben geblieben.

Also nicht allein bei einer an der Seruminjektionsstelle erfolgten Infektion, sondern mitunter auch nach getrennter Einverleibung von Serum und Kultur scheint eine Schutzwirkung des Serums zur Geltung zu kommen. Sicher aber (Versuch IIIa) erweist sich das normale Rinderserum weitaus wirksamer, wenn die nachträgliche Infektion in das durch die Seruminjektion hervorgerufene lokale Oedem vorgenommen wird.

Nach Einverleibung des unmittelbar vor der Injektion angelegten Gemisches von Serum Nr. 1080 und Kultur ist eine Schutzwirkung des Serums nicht in Erscheinung getreten, obwohl das gleiche Serum im Versuche IIe gegen die nachträgliche Infektion geschützt hat.

In der folgenden Versuchsreihe IV, für welche Meerschweinchen von annähernd gleichem Körpergewichte verwendet worden sind, konnte bei dieser Tierart eine schützende Wirkung des normalen Serums weder bei örtlich getrennter noch bei am gleichen Orte erfolgender Infektion mit Milzbrandbakterien ermittelt werden.

#### Versuch Nr. IV (30. Sept. 1921).

a) Oesterr. normales Rinderserum Nr. 5 subkutan am Bauche. Nach 48 Std. 0,00001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

Meerschweinchen Nr.	Serummenge ccm	Ergebnis	Diagnose
10	5	tot n. 5 Tg.	Mbr.
13	3	tot n. 2 Tg.	„
12	1	dgl.	„

b) Oesterr. normales Rinderserum Nr. 5 subkutan am Nacken. Nach 48 Std. 0,00001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan am Bauche.

3	5	tot n. 2 Tg.	Mbr.
1	3	dgl.	„
2	1	„	„

Gegenprobe mit 0,00001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan an nicht vorbehandelten Tieren.

4	tot n. 2 Tg.	Mbr.
6	dgl.	„

Aus den vorangeführten Versuchen geht hervor, daß die Schutzwirkung, welche dem normalen Rinderserum bei der Milzbrandinfektion der Kaninchen innewohnt, wesentlich von dem Orte der Serum- und Kulturinjektion abhängig ist. Am meisten ausgeprägt ist diese Schutzwirkung bei der an ein und derselben Körperstelle erfolgten Serum- und Kulturinjektion, während bei getrennt voneinander liegenden Injektionsstellen eine Fernwirkung des Serums nur unter Anwendung hoher Serumdosen wahrzunehmen ist. Nach Impfung mit einem Serumkulturgemisch gehen die Versuchstiere an der Milzbrandinfektion zugrunde.

Unspezifische Serumwirkung, ebenso wie die Wirksamkeit der Heterovakzinen und unspezifischer Eiweißkörper bei den verschiedensten Infektionskrankheiten sind in der Literatur des öfteren besprochen worden. So fanden Wooldridge 1888 und Wright 1891, daß einfache Fibrinogenlösungen manchmal imstande sind, Kaninchen gegen die nachfolgende Milzbrandinfektion zu schützen. Tiberti hat Kaninchen mit einem Nukleoproteid erfolgreich gegen Milzbrand immunisiert.

Bekanntlich hat sich normales Serum mitunter auch bei Infektionskrankheiten anderer Aetiologie wirksam erwiesen. So fand Bingel bei der Prüfung dieser Frage in bezug auf die Diphtherie, daß in tausend Fällen das antitoxische Diphtherieserum dem normalen Pferdeserum gleichwertig war.

In der Behandlung des Scharlachs fand Rowe, daß normales Menschenserum in der Dosis von 20—60 ccm, intravenös einverleibt, die gleichen günstigen Wirkungen hervorruft, wie das Rekonvaleszentenserum.

Menschliche und tierische Sera sind bei den verschiedensten Infektionskrankheiten des Menschen und der Tiere angewendet worden, wobei stets nur eine unspezifische Eiweißkörperwirkung erzielt werden konnte.

Voges veröffentlichte 1896 die Ergebnisse von Versuchen bei Meerschweinchen, bei denen eine ausgeprochene bakterizide und antitoxische Wirkung von normalem Meerschweinchen-, Kaninchen- und Pferdeserum auf die Injektion mit Bakterien der hämorrhagischen Septikämie ermittelt wurde. Ebenso konnte hier auch auf eine subkutane Seruminjektion am Nacken bei der 24 Std. später erfolgenden, intraperitonealen Infektion eine Fernwirkung festgesetzt werden. Bei Anwendung der Mischungsmethode, d. h. bei gleichzeitiger Injektion von Serum und Kultur an derselben Stelle, ist keinerlei Wirkung zu verzeichnen gewesen.

Die von Kraus und seinen Mitarbeitern gemachte Beobachtung, daß das normale Rinderserum bei der Milzbrandinfektion wirksam ist, hat durch die Ergebnisse meiner Untersuchungen in einer Hinsicht eine Bestätigung, in anderer Beziehung eine Einschränkung erfahren. Insbesondere zeigen die Ergebnisse meiner Untersuchungen, daß wahrscheinlich das durch die Seruminjektion entstandene lokale Oedem es ist, in welchem die Ursache der Schutzwirkung gegenüber einer nachträglichen Milzbrandinfektion zu suchen ist.

In der Literatur erscheinen mehrere Bakterienarten als Antagonisten des Milzbrandes angeführt:

Emmerich und Cheyne infizierten Kaninchen zunächst mit Erysipelkokken und dann mit Milzbrandbazillen mit dem Erfolg, daß die Tiere am Leben blieben. Pawlowsky gelang es, wenn er Kaninchen mit Pneumokokken, Bacillus prodigiosus und mit Staphylokokken zugleich in der nächsten Umgebung der Milzbrandinfektionsstelle infizierte, gegen Milzbrand zu schützen. Bouchard erzielte den gleichen Effekt mit Bacillus pyocyaneus, ebenso wie Kostjurin und Kransky, die faulige Substanzen an der Milzbrandinfektionsstelle injizierten.

Nach Vaerst war die Vorbehandlung mit Pyocyanose von gutem Erfolge bei der Milzbrandinfektion begleitet.

Im allgemeinen geht also aus diesen Versuchen hervor, daß unter Umständen Kaninchen der Milzbrandinfektion nicht erliegen, wenn am Orte der subkutanen Milzbrandinfektion ein Entzündungsprozeß (Eiterung) hervorgerufen wird.

Als weiteren Beweis hierfür habe ich Versuche mit Coli-ähnlichen Bakterien gemacht, deren Reinkultur ich aus Kaninchen gewann, die seuchenhaft unter septikämischen Erscheinungen erkrankt und verendet sind. Ausstriche aus Milz, Njere, Herz und Lunge dieser Tiere enthielten gramnegative, bipolar gefärbte, bewegliche Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden. Auf Serumagar gingen aufliegende, kreisrunde, glattrandige, glänzende, an der Peripherie fein, zentral gröber granuliert, grauweiße Kolonien auf, die stellenweise einen feinen, grauen, glänzenden, nicht üppigen, durchscheinenden Belag bildeten. Schrägagar: Hellgrauer, glänzender, zarter Belag. Kondenswasser klar, Bodensatz schleimig. Bouillon: Diffus getrübt, Bodensatz, der beim Aufschütteln Fadenbündel bildet und sich dann homogen verteilt. Mitunter Häutchenbildung an der Oberfläche.

In mikroskopischen Präparaten aus diesen Kulturen finden sich Bakterien, die im Vergleich zu jenen aus den Organausstrichen länger und stärker erscheinen und die eine bipolare Färbung nicht erkennen lassen. Gelatineausstrich: Hellgrauer, fadenförmiger Stichkanal mit grauem, dünnem Oberflächenbelag. Keine Verflüssigung der Gelatine. Milch: Koagulation nach 2 Tagen. Traubenzuckeragar: Starke Gasbildung. Agar nach Drigalsky-Conradi: Rotfärbung. In 2-proz. Lävulose-Dextrose, Maltose, Arabinose, Mannit und 5-proz. Glycerin: Säurebildung.

Die Gärungsproben wurden nach der Methode von Pribram und Halle im hohlen Objektträger vorgenommen, wobei bei sämtlichen Zuckerarten Gasbildung zu erkennen war.

Infektionsversuche wurden bei Kaninchen mit einer Oese einer 24-stünd Serumagarkultur, und zwar subkutan, intraperitoneal und intravenös, sowie durch Verfütterung von Bouillonkulturen vorgenommen, ohne daß eines der Tiere ernstlich erkrankt wäre. Diese Kaninchen zeigten wohl vorübergehend verminderte Freßlust, gesträubtes Haar und

Versuche über das gegenseitige Verhalten von Milzbrand und Coli-ähnlichen Bakterien im Tierversuch (2. Okt. 1921).

Kaninchen Nr.	Infektion mit	Ergebnis	Befund
1	1 Oese Coli a. 48-stünd. Serumagarkultur subk. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur a. d. gleichen Körperstelle	lebt	—
2	1 Oese Coli a. 48 stünd. Serumagarkultur subk. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur a. d. gleichen Körperstelle	lebt	—
3	1 Oese Coli a. 48-stünd. Serumagarkultur subk. a. Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur, subk. am Bauche.	tot n. 3 Tg.	Mbr. Im Abszeß a. d. Injektionsst. am Nacken bipolare Bakt.
4	1 Oese Coli a. 48-stünd. Serumagarkultur, subkutan a. Nacken. Nach 48 Std. 0,0001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subk. am Bauche	tot n. 2 Tg.	Mbr. Im Abszeß a. d. Injektionsst. am Nacken bipolare Bakt.
5	0,00001 Oese Mbr. VII 48-stünd. Agarkultur subkutan	tot n. 2 Tg.	Mbr.

Abszesse an der Injektionsstelle, doch waren sie nach 3—4 Tagen vollkommen gesund. In Ausstrichen aus diesen Abszessen fanden sich bipolare Kurzstäbchen in Reinkultur. Zwei Mäuse, mit einer Oese subkutan, und eine Taube, mit einer Oese intramuskulär infiziert, erkrankten nicht und blieben am Leben.

Das Verhalten dieser Mikroorganismen stimmt also im wesentlichen mit dem der Angehörigen der Gruppe Typhus-Coli-Paratyphus überein. Solche auf Serumagar rein gezüchtete Kolonien verwendete ich nun zu folgenden Tierversuchen.

Aus diesen Tierversuchen geht hervor, daß durch die subkutane Injektion der Coli-ähnlichen Bakterien gegenüber einer an derselben Körperstelle vorgenommenen nachträglichen Milzbrandinfektion eine Schutzwirkung ausgeübt wird.

#### Schlußsatz.

Die von mir angeführten Versuche sprechen dafür, daß die Schutzwirkung des normalen Rinderserums gegenüber einer nachträglichen Milzbrandinfektion wesentlich von dem durch die Seruminjektion erzeugten lokalen Oedem abhängig ist, sowie dies bei den Versuchen mit Coli-ähnlichen Bakterien der Fall war, die ebenfalls antiinfektiöse Eigenschaften gegenüber einer an der gleichen Körperstelle erfolgenden nachträglichen Milzbrandinfektion erkennen ließen. Eine schon bestehende Milzbranderkrankung mit Normalserum zu behandeln, dürfte daher bei einer lokalen Erkrankung (Milzbrandkarbunkel) von Erfolg begleitet sein, nicht aber bei ausgebreiteten Infektionen mit Milzbrand oder gar bei septikämisch verlaufenden Milzbrandfällen.

#### Literatur.

Kraus u. Beltrami, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 31. H. 2. — Gerlach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. H. 5. — Hutyra u. Manninger, Ibid. Orig. Bd. 83. H. 7. — Kraus, Revista de l'Institut. Bacteriol. Buenos Aires. Vol. 2. No. 1. — Kaznelson, Ergebn. d. Hyg., Bd. 4. 1920. S. 249, Weichardt. — Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. H. 2. — Voges, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. — Přibram u. Halle, Wien. klin. Wochenschr. 1916. — Plassai u. Přibram, Centralbl. f. Bakt. 1921. Sept.

*Nachdruck verboten.*

Versuche zur Feststellung des Gehaltes an ablenkenden Substanzen in verschiedenen gegen die Erreger der hämorrhagischen Septikämie gerichteten Immunseren, mit besonderer Berücksichtigung der Geflügelcholera.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Institutes für Landwirtschaft zu Bromberg (Leiter: Dr. W. Pfeiler)].

Von Adolf Bukofzer.

#### Einleitung.

Vor der Entdeckung des Phänomens der Komplementbindung war die Diagnose ansteckender Krankheiten vielfach vermittels der Agglutinationsprobe und der Pfeiffer-

schen Reaktion üblich. Den Erfolgen von Bordet und Gengou (2) verdanken wir nun den ungeheuern Fortschritt der Erkennung einer Infektionskrankheit einerseits in den ersten Anfängen, andererseits auch bei chronischem Verlauf einer Krankheit (z. B. Syphilis, Rotz).

Wassermann (3) ist es im Verein mit Bruck und Citron gelungen, mit Hilfe der Komplementbindung kleinste Mengen gelöster Bakteriensubstanzen festzustellen. Die praktische Verwendung dieser Methode in vitro gestaltet sich in der Art, daß man zu einem inaktivierten Immunsérum komplementhaltiges Normalserum und spezifischen Extrakt hinzufügt. Nachdem man diese Mischung eine Zeit lang hat aufeinanderwirken lassen, wird das hämolytische System hinzugefügt. Die auftretende oder ausbleibende Bindung des Komplements bestätigt oder verneint die Anwesenheit der gesuchten bakteriolytischen Ambozeptoren.

Diese Methode versuchte man nun bei verschiedenen Seuchen diagnostisch zu verwenden und hatte in den meisten Fällen recht befriedigende Resultate. So wurde auf den Vorschlag von A. Wassermann (4) die Methode für die Serodiagnostik der Syphilis erprobt. Hierbei kamen Wassermann, Neißer und Bruck (4) zu dem Ergebnis, daß es gelungen wäre, „eine spezifische serodiagnostische Reaktion auf Syphilis zu erhalten, wobei als Kontrolle stets festzustellen sei, daß das betreffende Serum mit Körpersubstanzen nicht-syphilitischer Menschen nicht reagiert“. Ganz besonders wurde auf die Wichtigkeit der quantitativen Feststellung der spezifischen Antikörper und den Nachweis syphilitischer Substanzen in bestimmten Organen hingewiesen. Die diesen Veröffentlichungen folgenden Versuche von Wassermann und Plaut (5) und Rabinowitsch (6) zeitigten dieselben Ergebnisse.

Sehr viel Bedeutung gewann die Methode der Komplementbindung als Diagnostikum bei Rotz. Es ist das Verdienst von Schütz und Schubert (7), an der Hand eines umfangreichen Materials die Wichtigkeit dieses Verfahrens bewiesen zu haben, was zur Folge hatte, daß nach einer Ministerialverfügung vom 10. 11. 1908 die Komplementablenkungsmethode stets neben der Agglutinationsprobe für die Diagnose der Rotzkrankheit angewendet werden muß.

Pfeiler (8, 9) stellt auf Grund seiner Erfahrungen fest, daß „die Bedeutung der Agglutination und der Komplementablenkungsmethode für den genannten Zweck (Rotz) in den Vordergrund getreten“ und daß „namentlich die letztere in diagnostischer Beziehung so wertvoll geworden sei, daß man annehmen könnte und auch tatsächlich angenommen habe, eine Vervollkommnung sei nicht mehr möglich“. Valenti (10) hat nur positive Ergebnisse mit dem Verfahren bei Rotz erzielt, ebenso wie Mießner und Trapp (11), die folgenden Schluß aus ihren Arbeiten ziehen: „Es ist daher bei unseren bisherigen Untersuchungen noch kein Fall vorgekommen, in welchem ein von uns als rotzfrei bezeichnetes Pferd sich später als rotzig erwies.“ Beide Autoren weisen auch auf die verhältnismäßig einfache Anwendung der Methode hin.

Die auffallenden Erfolge, die mit der Methode der Komplementbindung bei Rotz erreicht wurden, hatten nun Versuche bei den verschiedensten Tierseuchen zur Folge, von denen besonders Rinder- und Stutenabortus zu nennen sind. Holth (12) konnte bei allen seinen Versuchen mit Rinderabortus „eine sehr deutliche Komplementbindung feststellen, auch in dem Falle, wo das Agglutinationsvermögen niedrig war“. Dieselben Ergebnisse zeitigten die Versuche von Wall (13).

Die Resultate, die bei dem Versuch, Stutenabortus durch Bindung des Komplements zu diagnostizieren, erzielt wurden, widersprechen einander. Lautenbach (14) und van Heelsbergen (15) fanden in den untersuchten Seren keine ablenkenden Stoffe und folgerten daraus, daß darin keine Ambozeptoren dritter Ordnung vorhanden waren.

Die Untersuchungen, die Pfeiler (16) über das ansteckende Verwerfen der Stuten angestellt hat, ergaben folgendes Resultat, das dem der vorher angeführten Autoren widerspricht: „Auf Grund dieser Feststellungen wurde die Blutuntersuchung bei allen Tieren des Bestandes, auch den Hengsten und Wallachen, vorgenommen und nunmehr eine größere Anzahl infizierter Tiere, auch Hengste und Wallache, ermittelt“ (angewandt wurden die Agglutination, Ablenkung, Konglutination und K.H.-Reaktion). „Wir besitzen in diesen Methoden sehr wertvolle Hilfsmittel für die Feststellung infizierter oder verdächtiger Pferde.“ Pfeiler hat also auch mittels der Ablenkung und der diesem Verfahren verwandten Methoden, der Konglutination und K.H.-Reaktion, Antikörper im Serum mit Abortus infizierter Pferde nachgewiesen. Daß dies auch bei Hengsten und Wallachen gelang, ist an sich nicht verwunderlich, da die Abortusinfektion sich im Verlaufe einer paratyphösen Darm-erkrankung entwickelt.

Weitere Beispiele für die diagnostische Bedeutung der Komplementablenkungsmethode, die in der Human- wie Veterinärmedizin die breiteste Verwendung gefunden hat, sollen hier mit Rücksicht auf das Thema der Arbeit nicht angeführt, sondern nach



einigen besonderen Bemerkungen nur die speziellere Literatur über das Anwendungsgebiet der Methode für die Diagnostik von Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie bzw. für die Möglichkeit der Feststellung von durch diese Erreger verursachten Erkrankungen und für die Differenzierung von Immunsereen berücksichtigt werden. Dabei wird sich die Erkenntnis ergeben, daß unser Wissen auf diesem Gebiete trotz der ungeheueren Bedeutung gerade dieser Frage für die gesamte Geflügelzucht und die sonstige Tierhaltung und Seuchenbekämpfung ein verhältnismäßig geringes ist. Dies erklärt sich zum Teil daraus, daß die im Handel käuflichen Immunsere einer besonderen Auswertung nicht unterliegen und die rein wissenschaftliche Bearbeitung der Auswertungsfrage bzw. der Feststellung des Gehaltes an anderen Substanzen als den schützenden und heilenden noch nicht genügend fortgeschritten ist. Nur bei einigen wenigen Autoren sind z. B. wirklich genaue Angaben über den Schutztitel der betreffenden Sera vorhanden. Eine Zusammenstellung der einschlägigen Literatur über den Gehalt an schützenden, agglutinierenden und präzipitierenden Substanzen findet sich beispielsweise in der aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Institutes zu Bromberg stammenden Arbeit von Kruse (27), auf die hiermit verwiesen sei.

Genau so spärlich wie die Angaben über den Gehalt an diesen Substanzen sind die über die Menge der ablenkenden Stoffe in den betreffenden Seren, deren Kenntnis aus allgemein wissenschaftlichen Gründen notwendig ist, die aber noch insofern eine besondere Bedeutung hat, als wir für die Differenzierung der Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie noch nicht über die genügenden Unterscheidungsmerkmale verfügen. Als wirklich trennend haben sich die von einzelnen Autoren genannten Merkmale nämlich nicht erwiesen.

Spezielle Bedeutung hat aber die Frage der komplementablenkenden Substanzen in den Seren, die gegen die Erreger der hämorrhagischen Septikämie gerichtet sind, noch insofern, als nach hierorts gemachten Erfahrungen viele Bakterien, die bei Geflügel oder anderen Tieren gefunden werden und sich ovoid färben, schlechtweg für „bipolare“ Bakterien gehalten werden, während sie bei genauer biochemischer oder sonstiger Prüfung sich gar nicht als Erreger aus dieser Gruppe erweisen. Es ist mehrfach festgestellt worden, daß sogar Kulturen, die von Impfstoffgewinnungsanstalten bezogen wurden und nach deren Angabe für die Herstellung von entsprechenden Seren gedient hatten, überhaupt nicht dem gewünschten Typus bei genauer Definition entsprachen, sondern lediglich morphologisch mit den Erregern der Geflügelcholera usw. übereinstimmten. Beachtenswert sind in dieser Beziehung unter andern die Angaben, die Pfeiler und Standfuß (28) über die Verwechslung des Hühnertyphus mit der Geflügelcholera gemacht haben und die sich in bezug auf die Möglichkeit dieser Verwechslung in der Arbeit von Kraus (29) widerspiegeln. Solche Verwechslungen scheinen auch in wissenschaftlicher Beziehung schon eine Rolle gespielt zu haben, wie die Veröffentlichungen von Mießner (30) und Scherr (33) beweisen, in der die Vermutung ausgesprochen wird, daß von den erstgenannten Autoren in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gestellte Bakterien später als in die Paratyphusgruppe gehörig beurteilt worden sind. Von den Paratyphaceen ist ihre gelegentliche „bipolare“ Färbbarkeit, die Verwechslung infolge Nichtbeachtung der Beweglichkeit bedingt haben dürfte, bekannt. Es handelt sich im übrigen bei den Hühnertyphusbazillen um nahe Verwandte der Mießner-Schernschen Bakterien, so daß die Verallgemeinerung dieser Betrachtung für die Geflügelcholera zulässig erscheint.

Ein Verfahren, das die rasche und sichere Bestimmung von Bakterienarten, etwa wie die Agglutination oder die Präzipitation (bei Extraktverwendung), zuläßt, muß daher auch für die Erreger aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie Bedeutung haben und der Ausbau der hierzu führenden Wege weiter beschritten werden. Hierzu erscheint die Komplementablenkungsmethode aus mannigfachen Gründen als besonders sicheres diagnostisches Verfahren hervorragend geeignet. So wie nämlich die Agglutinations- und die Präzipitationsmethode in der klinischen und bakteriologischen Medizin zweierlei Zwecken dient, nämlich einmal: um unter Benutzung unzweifelhafter Reinkulturen bestimmter Erreger oder von Extrakten aus diesen festzustellen, ob das Serum eines Patienten agglutinierende oder präzipitierende Eigenschaften besitzt, oder zweitens: unter Benutzung mit solchen Reinkulturen hergestellter Sera unbekannt, aber verdächtige Bakterienkolonien zu identifizieren, so können mittels der Komplementablenkung dieselben Ziele verfolgt werden, nur daß letztere, vornehmlich gegenüber der Präzipitationsmethode, den Vorzug hat, nicht so stark durch unspezifische Momente beeinflußt zu werden (32).

Da nach den bisher vorliegenden Untersuchungen nur wenige Sera aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie starke präzipitierende Eigenschaften haben, auch die Frage der praktischen Verwertbarkeit der Agglutinationsmethode für bakteriologische Zwecke bei Geflügelcholera usw. bislang noch wenig geklärt ist, da ferner die übrigen Bestimmungsmethoden (z. B. Prüfung kohlehydrathaltiger Nährböden) unständig oder subjektiv sind (z. B. mikroskopische Prüfung), erschien die Frage der Bestimmung des Gehaltes an komplementbindenden Substanzen in verschiedenen Immunsereen der erneuten Bearbeitung wert. Der Versuch einer solchen Prüfung ist der Gegenstand der vorliegenden Arbeit. In der Literatur finden sich Angaben hierüber nur bei Matsuda (17).

Dieser Autor prüfte die Arbeiten von Citron und Pütz (18), denen eine Immunisierung mit wäßrigen Bakterienextrakten gegen die hämorrhagische Septikämie gelungen war, und erzielte dieselben Ergebnisse. Matsuda gelang bei mehreren Kaninchen und Meerschweinschen die Immunisierung dadurch, daß er diese Tiere mit den Bakterienextrakten 3—4mal subkutan oder intravenös spritzte und 10—12 Tage nach der letzten Einspritzung eine Infektion mit lebenden Bazillen herbeiführte. Sämtliche Versuchstiere überstanden diese Infektion ohne auffallende Beeinträchtigung ihres Gesundheitszustandes.

Matsuda ging nur einen Schritt weiter. Er wollte feststellen, ob das durch seine Versuche gewonnene Immunsereum imstande war, Komplement zu binden und, wenn dies der Fall war, ob es sich dann um eine spezifische Reaktion handelte. Seine Bakterienextrakte stellte Matsuda nach den Angaben von Citron (19, 20) her.

Aus den Versuchen, die Matsuda mit verschiedenen Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie anstellte, erhellt die Tatsache, daß die Immunsere der hämorrhagischen Septikämie Komplementbindung geben; es sind in ihnen also die Antikörper mit ihren Rezeptoren enthalten, die das Komplement zu binden vermögen.

Die Frage nach der Spezifität der Reaktion entscheidet Matsuda an der Hand seiner Versuchsergebnisse dahin, daß die Reaktion bei den einzelnen Arten spezifisch auftritt und daß zur Erreichung dieses Resultates schon eine zweimalige Injektion genügt. Bei mehrmaligen Einspritzungen stellte Matsuda, ebenso wie Amako und Kojima (21) bei ihren Dysenterieversuchen, fest, daß eine Gruppenreaktion zu verzeichnen ist, die ein die Versuchsergebnisse trübendes Bild ergibt. Eine Differenzierung einzelner Arten der Gruppe erscheint bei starker Immunisierung der Versuchstiere für die Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie demnach nicht möglich.

### Eigene Untersuchungen.

Die mir bei Beginn meiner Arbeit vorschwebende Absicht, den Gehalt möglichst vieler Immunsere der hämorrhagischen Septikämie an komplementbindenden Stoffen festzustellen, mußte aus verschiedenen Gründen aufgegeben werden. Eine Anzahl von Seruminstiuten verfügte zurzeit nicht über die entsprechenden Sera. Von den befragten Anstalten waren nur das Seruminstitut von Dr. Schreiber-Landsberg a. W. und das Pharmazeutische Institut von L. W. Gans-Oberursel in der Lage, mir ihre Präparate zu überlassen, wofür es mir eine angenehme Pflicht ist, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank abzustatten. Auch die Beschaffung von Stämmen verschiedener Art stieß aus dem gleichen Grunde auf Schwierigkeiten, so daß die ursprünglich geplante Anordnung der Versuche mit den einzelnen Repräsentanten der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie unterbleiben mußte.

Für meine Ablenkungsversuche benutzte ich in erster Linie die Sera von Immunpferden der tierhygienischen Abteilung des Kaiser Wilhelms-Institutes zu Bromberg, die mir bereitwilligst zur Verfügung gestellt wurden. 2 derselben, „Harro“ und „Fee“, waren seit dem März 1918 bzw. April 1919 behandelt worden.

Begonnen wurde die Immunisierung damit, daß lebende Kulturen, die längere Zeit im Institut bei 42° C fortgezüchtet waren und deren Virulenz hierdurch stark herabgemindert war, intravenös injiziert wurden. Im Anschluß hieran wurden zahlreiche hochvirulente Stämme verimpft. Von den Kulturen, die auf schwach alkalischem Rindfleischagar gezüchtet waren, wurden anfangs geringere Mengen,  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{5}$  und  $\frac{1}{2}$  Oese, in steriler Bouillon verrieben und so verimpft, die darauf folgenden größeren Dosen als 24 stünd. Bouillonkulturen injiziert, und zwar in Mengen bis zu 20 ccm. Während der Erledigung meiner Versuche sind Bouillonkulturen aus zirka 40 verschiedenen hochvirulenten Stämmen auf jedes der beiden Versuchstiere verimpft worden. Empfindliche Störungen im Allgemeinbefinden der Tiere waren bei dieser Art der Behandlung nicht zu beobachten.

Ich benutzte zu meinen Versuchen nur frisch entnommene „Harro“- und „Fee“-Sera ohne Karbolzusatz. Das Blut fing ich aus der Vena jugularis in sterilen Glaszylindern auf und ließ diese so lange im Eisschrank stehen, bis sich klares Serum in genügender Menge abgesetzt hatte.

Die für meine Versuche verwandten Sera sind folgende:

#### A. Geflügelcholeraimmunsera:

- 1) Harro, verschiedenste Operationsnummern.
- 2) Fee, „ „
- 3) Landsberg: Pferd Nr. 26 „
- 4) „ „ „ 39
- 5) „ „ „ 58
- 6) Oberursel: „ „ 49
- 7) „ „ „ 7
- 8) „ „ „ 8

#### B. Schweineseucheimmunsera:

- 9) Landsberg: Pferd Nr. 40
- 10) Oberursel: „ „ 641
- 11) „ „ „ 707
- 12) „ „ „ 56
- 13) „ „ „ 51

#### C. Kälberpneumonieimmunsera:

- 14) Landsberg: Pferd Nr. 37
- 15) „ „ „ 8

Die Handelssera waren, wie bemerkt sei, sämtlich konserviert.

Aus den vorn angeführten Gründen wurden für die Extraktbereitung nur Geflügelcholerasträmme aus dem hiesigen Institut gebraucht und zwar zunächst folgende 4, die bei der Immunisierung von „Harro“ und „Fee“ mitverwandt waren:

- 1) Huhn Nr. 1151 der Untersuchungs- und Auskunftsstelle der Abteilung für Tierhygiene.
- 2) „ „ 1173 dgl.
- 3) „ „ 1179 „
- 4) „ „ 1181 „

Aus diesen 4 Stämmen stellte ich einen polyvalenten und je einen monovalenten Schüttelextrakt in der schon vorher erwähnten Art nach Citron her, nur daß die Sterilisierung bei 44° C unterblieb. Vor Abschwemmung der Kollo-Schalen habe ich stets auf Reinheit geprüft.

Zur Herstellung des polyvalenten Extraktes veranlaßten mich die Erfahrungen der Arbeit von Pfeiler (22), in der er über zahlreiche Versuche berichtet, um den Wert polyvalenter Extrakte für die Kom-

plementbindungsmethode bei der Diagnose der Rotzkrankheit zu prüfen. Nach Pfeiler eignen sich nicht alle Stämme für die Ablenkungsmethode. Im allgemeinen erhält man mit einzelnen Stämmen, die für die Ablenkung gut verwendbar sind, gleichmäßige Resultate. Immerhin war ihm in mehreren Fällen durch Verwendung polyvalenter Extrakte die frühzeitigere Auffindung von rotzigen Pferden gelungen. Nach Pfeiler ist es vorteilhaft, „Extrakte, die die Eigenschaften einer ganzen Anzahl von Stämmen in sich vereinen, d. h. polyvalente Extrakte“, für Ablenkungszwecke zu benutzen.

Bestätigt wurde diese Auffassung auch von Kranich und Kliem (23) gelegentlich ihrer Untersuchungen über die K.H.-Reaktion bei Rotz.

### Technik der Komplementbindung und Versuchsanordnung.

Bevor ich auf die Schilderung und Ergebnisse meiner Versuche näher eingehe, will ich einiges über die Technik der Komplementbindung und die Versuchsanordnung bemerken. Maßgebend hierfür waren mir die Angaben von Schütz und Schubert (7) und von Schubert (24), an die ich mich in der Hauptsache anlehnte.

Zum Ansetzen der Versuche wurden verwendet:

1) Extrakt von Geflügelcholera-Bakterien, 2) das zu untersuchende Immunserum, 3) Serum eines Meerschweinchens, das Komplement, 4) rote Blutkörperchen des Schafes, der Kürze halber als Hammelblut bezeichnet, 5) Serum eines mit den roten Blutkörperchen dieses Schafes vorbehandelten Kaninchens, der hämolytische Ambozeptor.

Für die Herstellung der einzelnen Substanzen sei auf die Angaben in der Arbeit von Schütz und Schubert (7) verwiesen. Erwähnen möchte ich bei dieser Gelegenheit nur, daß ich mich bei der Herstellung meiner Extrakte auf die Erfahrungen von Pfeiler und Weber (25) gestützt habe, die Schüttel- und Kochextrakte als vollständig gleichwertig ansehen und letzteren in mancher Hinsicht den Vorzug geben, da „die meisten pathogenen Bakterien durch den Kochprozeß mit Leichtigkeit zerstört und dadurch ihrer Gefährlichkeit beraubt werden“. Außerdem ist die Verwendung der Kochextrakte wegen ihrer einfachen Herstellungsart den Schüttelextrakten vorzuziehen. Mit beiden Extraktarten hatte ich die gleichen Ergebnisse.

Bei der Auswertung meiner Extrakte erzielte ich folgende Resultate.

#### A. Monovalente Schüttelextrakte aus Stamm:

- |    |            |                 |                                      |                                |
|----|------------|-----------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| 1) | Huhn 1151, | nach Auswertung | $\frac{1}{2}$ -proz. M. Sch. E. I    | (monovalenter Schüttelextrakt) |
| 2) | " 1173,    | "               | 1-proz. M. Sch. E. II                | " "                            |
| 3) | " 1179,    | "               | $1\frac{1}{2}$ -proz. M. Sch. E. III | " "                            |
| 4) | " 1181,    | "               | $1\frac{1}{2}$ -proz. M. Sch. E. IV  | " "                            |

#### B. Polyvalenter Schüttelextrakt aus Stamm:

- 5) Huhn 1151, 1173, 1179, 1181 nach Auswertung 2-proz. P. Sch. E. V. (polyvalenter Schüttelextrakt).

Die Auswertung des Ambozeptors, den ich in der von Schütz und Schubert beschriebenen Weise hergestellt hatte, ergibt den hohen Titer von 1:18000, d. h. als Gebrauchsdosis die Verdünnung von 0,1:450.

Allgemein wurde beim Komplementbindungsverfahren die „kleinste lösende“ Menge Komplement angewendet. Schütz und Schubert machen ganz besonders auf die Wichtigkeit dieser Anwendungsart aufmerksam, weil ein Ueberschuß an Komplement weiter lösend wirken und dadurch eine etwa auftretende Bindung des Komplements, d. h. eine Ablenkung vom hämolytischen System, unmöglich machen würde.

Bei der Auswertung des Komplements benutzte man früher allgemein Mengen von 0,4, 0,3, 0,2 und 0,1 einer Verdünnung von 1:10. Nach Pfeiler (26) lassen sich dem Komplementablenkungsverfahren aber noch durch genauere Auswertung besondere Feinheiten geben, dadurch daß zwischen die Verdünnungen 0,3—0,1 noch die Werte 0,25 und 0,15 eingefügt werden, weil festgestellt ist, daß „der Begriff der kleinsten lösenden Menge ein labiler, ein infolge der dem Verfahren der Hämolysen anhaftenden Eigentümlichkeiten nicht ganz leicht absolut genau zu bestimmender Faktor“ ist. Man kann nun die Einstellung des Komplementes noch weiter treiben und — meistens liegt der Titerwert zwischen 0,3 und 0,1 — innerhalb dieser Grenze so staffeln, daß die Röhrchen mit 0,3, 0,28, 0,25, 0,22, 0,2 usw. der Komplementverdünnung beschickt werden. Dadurch erhält man eine weit feinere Komplementeinstellung, bei der man sofort erkennen wird, daß man mit der eigentlichen „kleinsten lösenden“ Menge nicht arbeiten kann, sondern einen gewissen Komplementüberschuß nehmen muß, der sich quantitativ nicht genau formulieren läßt, da einzelne Komplemente qualitative Verschiedenheiten aufweisen. Es ist daher notwendig, im eigentlichen Ablenkungsversuch zu der „kleinsten lösenden“ Menge mindestens  $4\text{--}6/100$  Einheiten Komplement als Ueberschuß hinzuzufügen.

Zur Gewinnung des Komplements wurde an jedem Tage, an dem ich meine Versuche anstellte, ein Meerschweinchen entblutet, das Blut zentrifugiert und das klare Serum ausgewertet. Der Durchschnittswert, den ich erhielt, schwankte zwischen 0,16 und 0,14, so daß ich im allgemeinen nach Hinzufügung des erwähnten Komplementüberschusses von  $6/100$  Einheiten mit 2,2- bzw. 2-proz. Komplement arbeitete.

Das zu untersuchende Immunserum habe ich inaktiviert, indem ich es 30 Min. einer Temperatur von  $56^{\circ}\text{C}$  in einem Wasserbade aussetzte.

Es werden nun 10 ccm gewaschene rote Hammelblutkörperchen mit 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt und die zu den jeweiligen Versuchen notwendigen Extrakt- und Ambozeptorverdünnungen hergestellt. Nach dem Hinzufügen des hämolytischen Systems wurde jedes Röhrchen kräftig durchgeschüttelt.

Der Komplementbindungsversuch selbst, der nun folgte, wurde nach der allgemein üblichen Anordnung ausgeführt.

### Versuchsergebnisse.

Für die ersten Versuche dienten Harro- und Feeserum und die vorher erwähnten 5 Extrakte.

In Kontrollröhrchen 1 fehlt der Extrakt, um eine etwaige Eigenhemmung des zu untersuchenden Serums festzustellen. Kontrollröhrchen 2, das 0,2 ccm Normalserum enthält, soll dartun, ob der benutzte Extrakt vielleicht schon mit Serum gesunder Tiere Komplement zu binden imstande ist.

## Versuchsgruppe I.

Versuch 1<sup>1)</sup>.

1) „Harro“-serum 0,2 und fallende Mengen, 2) M. Sch. E. I  $\frac{1}{2}$ -proz. in der Verdünnung 0,1:20, 3) Komplement, nach Auswertung 2,2-proz., Verdünnung 2,2:100, 4) hämolytischer Ambozeptor 0,1:450, 5) Hammelblut 10:200.

Serum	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,008	0,005	0,002	0,0008	0,0005	0,0002	Kontrolle	
												1	2
Na Cl	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
Extrakt	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	—	1
Kompl.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

20 Min. Wasserbad 37° C.

Amb.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Hbl.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	k	k	k	k	k	k	f. k	st. p.	p	3 p	5 p	—	—

30 Min. Wasserbad bei 37° C.

Der Versuch läßt erkennen, daß das Serum des Pferdes „Harro“ bis zu einer Menge von 0,008 ccm vollständig ablenkend wirkt, daß diese Ablenkung auch noch in Mengen von 0,0005, ja sogar 0,0002 ccm festzustellen ist. Es sind mithin in dem Serum erhebliche Mengen an ablenkenden Substanzen vorhanden.

## Versuch 2.

## „Harro“-Serum und M. Sch. E. II.

Serum	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,008	0,005	0,002	0,0008	0,0005	0,0002	Kontrolle		
												1	2	3
	k	k	k	k	k	k	f. k	st. p.	p	3 p	5 p	—	—	k

Als Kontrolle 3 wird stets positiv reagierendes Harroserum benutzt, um zu beweisen, daß eine starke Komplementbindung erfolgt, wenn ein Extrakt und homologes Immuneserum zusammentreffen.

Das Ergebnis des Versuches mit Extrakt 2 deckt sich ungefähr mit dem der ersten Reihe, die Ablenkung ist, was die Vollständigkeit anlangt, etwas geringer, sonst aber in den niederen Verdünnungsgraden des Immuneserums gleich stark. Da verschiedene Komplemente benutzt worden sind, kann die Ungleichmäßigkeit im Ausfall vielleicht hierauf bezogen werden.

In Versuch 3, 4 und 5 wurde „Harro“-Serum mit den Extrakten: M. Sch. E. III, M. Sch. E. IV und P. Sch. E. V angesetzt. Die Ergebnisse waren dieselben wie in Versuch 1 und 2.

1) Zeichenerklärung: k = komplette Hemmung der Hämolyse, f. k. = fast komplette Hemmung der Hämolyse, st. p. = stark partielle Hemmung der Hämolyse, p. = partielle Hemmung der Hämolyse, — = Lösung.

Versuch 6.  
Feeserum und M. Sch. E. I.

Serum	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,008	0,005	0,002	0,0008	0,0005	0,0002	Kontrolle		
												1	2	3
	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	st. p.	f. k	k	k	st. p	p	3 p	5 p	—	—	—	—	—	k

Das Serum des Pferdes „Fee“ zeigt bei weitem nicht so stark ablenkende Eigenschaften wie das von „Harro“. Eine vollständige Ablenkung ist nur bei einer Serummenge von 0,05 und 0,02 zu verzeichnen. Schon bei 0,005 ist der Ausfall der Reaktion ein außerordentlich schwacher. Bemerkenswert ist außerdem, daß das Serum paradox hemmende Eigenschaften hat, d. h. die Ablenkung ist bei größeren Mengen geringer als den nachfolgenden kleineren Serumengen, um zuzunehmen und sich dann zu verlieren.

Versuch 7—10 zeitigen, abgesehen von einigen kleinen Schwankungen, dieselben Ergebnisse, so daß eine tabellarische Uebersicht sich erübrigt.

Die ablenkenden Antikörper sind wahrscheinlich nicht in der Menge wie bei „Harro“ vorhanden, da die Immunisierung von „Fee“ erst später begonnen, aber sonst in der gleichen Weise und Stärke wie bei „Harro“ durchgeführt wurde. Offenbar ist „Fee“ kein so guter Antikörperproduzent wie „Harro“, was auch aus dem Umstande hervorgeht, daß die bakteriolytischen bzw. schützenden Stoffe im Serum von „Fee“ in geringerer Menge vorhanden waren als bei „Harro“, wie durch Versuche von Graefe (31) (Assistent am hiesigen Institut) festgestellt worden ist.

Die Versuche sind im allgemeinen mehrfach wiederholt worden und haben zu den gleichen Ergebnissen geführt. Von einer Wiedergabe derselben ist deshalb abgesehen worden.

### Versuchsgruppe II.

Die vorher angeführten Immunsera von Dr. Schreiber-Landsberg und L. W. Gans-Oberursel wurden mit meinen 5 Extrakten hintereinander angesetzt.

Bei diesen Versuchen machte ich die auffallende Feststellung, daß keines dieser Sera eine positive Reaktion zeigte, wohingegen Kontrollröhrchen 3 mit Harroserum bei jedem Versuch komplett hemmte.

Diese Befunde würden vielleicht für die Kälberpneumonie- und Schweineseuchesera erklärlich sein, wenn man annimmt, daß mangelnde Spezifität den Ausfall derselben bedingt hat. Ist dies schon nach den allgemeinen Erfahrungen der Immunitätsforschung unwahrscheinlich, so wird diese Unwahrscheinlichkeit noch größer, wenn man die Ergebnisse der Versuche von Matsuda berücksichtigt, der bei diesen bzw. heterologen Seris stark positive Reaktionen erzielte, wenn er beispielsweise Geflügelcholeraantigen für die Ablenkung benutzte.

Da die Harro- und Feesera aber, wie aus Versuch 1—10 ersichtlich ist, stark Komplement zu binden imstande waren, ergibt sich die Frage, ob die fremden Sera überhaupt keine Antikörper

oder keine Antikörper für meine Antigene enthalten haben, deren Rezeptoren das Komplement an sich zu ketten und dadurch die Hämolyse zu verhindern vermöchten.

Das Ergebnis der Versuche in Gruppe II, die im übrigen in der gleichen Anordnung mit den erwähnten 4 M. Sch. E. und einem P. Sch. E. wiederholt worden sind und im ganzen 65 einzelne Versuche umfaßt hat, könnte bei oberflächlicher Beurteilung zu der erwähnten Annahme führen, daß die fremden Sera überhaupt keine ablenkenden Substanzen enthielten. Diese Schlußfolgerung wäre aber verfrüht, da die Versuche mit Harro- und Feeserum und Extrakten aus Stämmen, mit denen „Harro“ und „Fee“ vorbehandelt waren, also für diese Sera rein spezifischen Extrakten, dieses Urteil nicht ohne weiteres zulassen.

Zur weiteren Lösung dieser Frage hätten nun zwei Wege beschritten werden können, nämlich:

1) einen Extrakt aus für die fremden Sera spezifischen Stämmen herzustellen, um zu sehen, ob hiermit Komplementbindung möglich ist, und

2) einen Extrakt aus Stämmen zu gewinnen, mit denen „Harro“ und „Fee“ nicht vorbehandelt waren, um festzustellen, ob auch mit diesem Extrakt ablenkende Substanzen im Harro- und Feeserum zu ermitteln sind.

Die Beantwortung der ersten Frage war nicht möglich, da mir die Stämme, die ich hierzu benötigte, seitens der betreffenden Seruminstitute nicht zur Verfügung gestellt werden konnten. Ich mußte mich daher darauf beschränken, die Frage indirekt zu beantworten und meine nächsten Versuche (Versuchsgruppe III) mit Extrakten aus Stämmen anzusetzen, die zur Immunisierung von „Harro“ und „Fee“ nicht geeignet hatten. Es sind dies folgende 5 Stämme, aus denen ich den polyvalenten Schüttelextrakt P. Sch. E. VI gewann:

- |                  |   |
|------------------|---|
| 1) Ente 1136     | } der Untersuchungs- und Auskunftsstelle<br>der Abteilung für Tierhygiene |
| 2) Ente 1214     |   |
| 3) Ente 1532     |   |
| 4) Ente 1233     |   |
| 5) gelber Hahn I |   |

Der Extrakt arbeitet nach Auswertung 2-proz.

### Versuchsgruppe III.

#### Versuch 1.

#### „Harro“serum und P. Sch. E. VI.

Serum	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,008	0,005	0,002	0,0008	0,0005	0,0002	Kontrolle		
												1	2	3
												0,2	0,2	0,2
	k	k	k	k	k	f. k.	f. k.	st. p.	p	3 p	5 p	—	—	k

Danach ergibt „Harro“serum auch mit Extrakten aus Stämmen, die nicht für die Immunisierung des Pferdes geeignet haben, eine Ablenkung, deren Grad sich nur wenig in der Stärke von der unterscheidet, die bei den



früheren Versuchen ermittelt worden ist. Es scheinen danach die gedachten Beziehungen nicht zu bestehen.

Ein gleiches Ergebnis wurde bei Verwendung desselben Extraktes gegenüber dem Serum des Pferdes „Fee“ erzielt (Versuch 2).

Nun wurde die Frage geprüft, ob die 13 fremden Sera eine Reaktion mit dem neuen Extrakt ergeben würden (Versuch 3—15).

Bei diesen Versuchen mußte ich feststellen, daß die fremden Sera auch mit diesem neuen Extrakt negative Reaktion ergaben.

Zur weiteren Ueberprüfung der gleichen Frage hatte ich mir inzwischen, da ich bisher nur mit Schüttelextrakten gearbeitet hatte, einen bivalenten Kochextrakt hergestellt aus Stämmen, die aus 2 an Gefügelcholera verendeten und dem Institut kürzlich zugesandten Tieren gezüchtet waren. Es sind dies:

- 1) Ente 415 der Untersuchungs- und Auskunftsstelle der Abteilung für Tierhygiene
- 2) Huhn 416 dgl.

Von jedem Stamme legte ich 2 Kolle-Schalen an, prüfte sie auf Reinheit und verfuhr dann in der von Pfeiler und Weber (25) empfohlenen Weise.

Der Extrakt, der nach Auswertung 2-proz. arbeitet, zeitigte genau dieselben Versuchsergebnisse wie sämtliche vorher verwandten Extrakte, d. h. mit Harro- und Feeserum eine positive, mit dem fremden Seren eine negative Reaktion (Versuch 16—30).

Demnach ist mir in den fremden Immunseren der Nachweis ablenkender Substanzen nicht gelungen.

Ob daraus Rückschlüsse auf die sonstigen Eigenschaften der Immunsera in Hinsicht auf ihren eigentlichen Verwertungszweck zuläßt, muß dahingestellt bleiben. Da in den am Institut bereiteten „Harro“- und „Fee“-seren die entsprechenden Antikörper in großen Mengen vorhanden waren, läßt der ermittelte Umstand bis zu einem gewissen Grade den Schluß zu, daß entweder die Herstellungsart der fremden Sera eine von der hier üblichen vollkommen abweichende gewesen ist, bzw. daß die Sera nicht von Tieren stammen, die „hochgetrieben“ waren wie die Pferde „Harro“ und „Fee“. Die Spezifität dieser Sera erscheint damit bis zu einem gewissen Grade fraglich.

Ob solche Sera bei Verwendung in der Praxis immer genügend starken Schutz verleihen, ist aber eine Frage für sich.

Es erscheint mit Rücksicht auf die Spezifitätsfrage im allgemeinen noch bedeutungsvoll, die Ergebnisse, die Kruse (27) bei vergleichsweiser Untersuchung von Seren der Pferde „Harro“ und „Fee“ mit den in den Serum-instituten von Schreiber und Gans sowie dem Sächsischen Serumwerk hergestellten gehabt hat, im Anschluß an meine Feststellungen noch näher zu beleuchten.

Kruse hat festgestellt, daß das Schreibersche Immunserum wohl reich an schützenden Substanzen und Agglutininen ist, aber nur wenig präzipitierende Substanzen enthält. Seine Untersuchungen des Immunserums von Gans ergaben einen gewissen Gehalt an schützenden und präzipitierenden, einen schwachen Gehalt an agglutinierenden Antikörpern.

In dem Geflügelcholeraserum des Sächsischen Serumwerkes waren schützende Substanzen in nennenswerter Menge überhaupt nicht nachzuweisen, desgleichen fehlten agglutinierende und präzipitierende. Die von ihm untersuchten „Harro“-Sera dagegen wiesen alle 3 Substanzen in reichstem Maße auf.

### Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Meine Versuchsergebnisse berechtigen für die Geflügelcholera zu nachstehenden Schlußfolgerungen:

- 1) Das Komplementbindungsverfahren ist zur Feststellung ablenkender Substanzen in hochwertigen Immunsereen zu verwenden. —
- 2) Den Harrosereen ist ein hoher Gehalt an ablenkenden Substanzen zuzusprechen. —
- 3) Die Feesera enthalten diese Stoffe in geringerem Maße und arbeiten überdies paradox. —
- 4) In den Immunsereen von Dr. Schreiber-Landsberg und Gans-Oberursel, die ich untersuchte, sind vermittels meiner Extrakte keine komplementbindenden Substanzen nachzuweisen. —
- 5) Geflügelcholerasera mit ablenkenden Eigenschaften sind für die Identifizierung von Bakterien homologer Art zu gebrauchen. Wieweit die Verwendung derselben zu bakteriendiagnostischen Zwecken aber zu empfehlen ist, muß durch besondere Untersuchung noch festgestellt werden.

Vorliegende Arbeit habe ich in der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg ausgeführt. Dem Vorsteher dieser Abteilung, Herrn Dr. W. Pfeiler, spreche ich an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank aus für die Ueberweisung des Themas und die stete Unterstützung, die er mir durch sein förderndes Interesse für meine Arbeit zuteil werden ließ.

### Literaturverzeichnis.

- 2) Bordet et Gengou, Les sérums hémolytiques leurs antitoxins et les théories des sérums cytolitiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 14. 1900. p. 257.) —
- 3) Wassermann A., Ueber die praktische Bedeutung der Komplementbindung. (Ztschr. f. Infekt.-Krkh. d. Haut. Bd. 1. 1906. S. 97.) —
- 4) Wassermann, Neißer u. Bruck, Serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1906. S. 745.) —
- 5) Wassermann u. Plant, Ueber das Vorhandensein syphilitischer Antistoffe in der Cerebrospinalflüssigkeit von Paralytikern. (Ebenda 1906. S. 1769.) —
- 6) Rabinowitsch, L., Syphilis und Wassermannsche Reaktion bei Findelsäuglingen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. S. 360.) —
- 7) Schütz u. Schubert, Die Ermittlung der Rotzkrankheit mit Hilfe der Komplementablenkungsmethode. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierhkd. Bd. 35. 1909. S. 44.) —
- 8) Pfeiler, W., Die Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Ztschr. f. Infekth. d. Haust. Bd. 7. 1910. S. 328.) —
- 9) Ders., Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 30. 1914. S. 741.) —
- 10) Valenti, E., Beitrag zur Diagnose des Rotzes durch die Komplementablenkung. (Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 2. 1909. S. 98.) —
- 11) Mießner u. Trapp, Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehungen zur Syphilisreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. S. 115.) —
- 12) Holth, H., Die Agglutinations- und Komplementbindungsmethode in der Diagnose des seuchenhaften Verwerfens der Kühe. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 25. 1909. S. 686.) —

13) Wall, S., Ueber die Feststellung des seuchenhaften Abortus beim Rinde durch Agglutination und Komplementbindung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 10. 1911. S. 23.) — 14) Lautenbach, B., Zur Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens der Stuten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. S. 362.) — 15) van Heelsbergen, Abortus bei Stuten durch einen Paratyphus B-Bazillus. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. S. 360.) — 16) Pfeiler, W., Neuere Untersuchungen über die Ursachen des ansteckenden Verwerfens der Stuten. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jg. 33. 1917. S. 264.) — 17) Matsuda, T., Studien über das Komplementbindungsphänomen bei hämorrhagischer Septikämie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. S. 383.) — 18) Citron u. Pütz, Ueber die Immunisierung gegen Hühnercholera, Wild- und Schweineseuche mit Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. S. 145.) — 19) Citron, I., Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1905. S. 153.) — 20) Ders., Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906. S. 238.) — 21) Amako u. Kojima, Weitere Studien über verschiedene Typen von Dysenteriebazillen und ihre Differenzierung durch die Komplementbindungsmethode. (Zeitschr. f. Immf. Abt. I. Orig. Bd. 3. 1909. S. 467.) — 22) Pfeiler, W., Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 3) Ueber die Verwendung polyvalenter Extrakte bei serologischen Untersuchungen, vornehmlich für Ablenkungszwecke. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jg. 31. 1915. S. 397.) — 23) Kranich u. Kliem, Zur K.H.-Reaktion bei Rotz. (Zeitschr. f. Veterinärkde. Jg. 27. 1915. S. 289.) — 24) Schubert, Ueber die Bedingungen zur exakten Anwendung der Komplementablenkungsmethode. (Arch. f. wiss. Tierheilkde. Bd. 35. 1909. S. 319.) — 25) Pfeiler u. Weber, Ueber die Herstellung von Bazillenextrakten zu Ablenkungszwecken. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 15. 1912. S. 180.) — 26) Pfeiler, W., Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 5) Eine Entgegnung auf die Ausführungen von Schütz: „Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit“ in Nr. 41 des Jg. 1915 dieser Wochenschrift. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jg. 32. 1916. S. 301.) — 27) Kruse, K., Versuche zur Feststellung des Gehaltes an schützenden, agglutinierenden und präzipitierenden Substanzen im Geflügelcholeraimmunserum. [Inaug.-Dissert.] Dresden 1919. — 28) Pfeiler u. Standfuß, Kasuistische, bakteriologische, pathologisch-anatomische sowie experimentelle Untersuchungen über Hühnertyphus. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkde. Bd. 45. 1919. H. 3/4. — 29) Kraus, Zur Kenntnis des Hühnertyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 282.) — 30) Mießner u. Schern, Die infektiöse Nekrose bei den Kanarienvögeln. (Arch. f. wiss. Tierheilkde. Bd. 34. 1908. S. 133.) — 31) Graefe, E., Noch nicht veröffentlicht. — 32) Pfeiler, W., Die Erkennung der bakteriellen Infektionskrankheiten mittels der Präzipitationsmethode. Berlin (Rich. Schoetz) 1918. — 33) Schern, K., Ueber einige bei Tierkrankheiten gefundene Erreger aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie. (Arch. f. Hyg. Bd. 83. 1914. S. 74.)

*Nachdruck verboten.*

## Kuhpocken beim Menschen durch das Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa equi.

[Der Zusammenhang zwischen der Stomatitis pustulosa contagiosa equi, den spontanen Kuhpocken, den Geflügelpocken und der Vakzine.]

[Aus dem Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Utrecht (Leiter: Prof. Dr. L. de Blicck).]

Von Dr. T. van Heelsbergen, Bakteriologe am obengenannten Institut.

Mit 1 Tafel.

Bevor ich näher auf die Versuche eingehe, dürfte es angezeigt sein, den augenblicklichen Stand des obigen Themas kurz hervorzuheben:

### Stomatitis pustulosa contagiosa equi.

Ausführliche Angaben hierüber finden sich in dem Artikel de Jongs<sup>1)</sup>, aus dem sich ergibt, daß diese Krankheit bereits vor Jahren in Frankreich als identisch mit den Pferdepocken angesehen wurde. Nocard und Leclainche<sup>2)</sup> bemerken, daß die Pferdepocken schon 1834 als eine „maladie aphteuse“ épizootique, exprimée par des accidents sur la muqueuse buccale“ beschrieben worden sind. Es wurden demnach bereits damals bestimmte Leiden des Mauls unter den Pferdepocken untergebracht. 1865 erstattete Lafosse<sup>3)</sup> einen eingehenden Bericht, worin er erwähnt, daß die Pferdepocken an verschiedenen Stellen der Haut sich zeigen können. Neben den unteren Enden der Gliedmaßen zeigt sich die Eruption hauptsächlich an den Lippen und rings um die Nasenlöcher. Seit 1865 huldigt man der auch in Frankreich ziemlich allgemein verbreiteten Ansicht, daß die Pferdepocken außer auf der Haut auch auf den Schleimhäuten auftreten können. In England konnte Loy<sup>4)</sup> bereits 1802 nachweisen, daß sich die Pferdepocke, „grease“, von Jenner, auch „Sore-heels“ genannt, auf das Rind und von hier aus auf den Menschen übertragen läßt. Er zeigte außerdem, daß wir es hier mit einer allgemeinen Krankheit zu tun hatten. Sie beginnt mit Fieber; darauf entsteht eine Pockeneruption; diese tritt häufig an den Gliedmaßen auf, kann sich aber auch an anderen Stellen der Haut zeigen. Damals brachte man jedoch die Krankheit noch nicht in Zusammenhang mit der Stomatitis pustulosa contagiosa.

In Deutschland glaubte man nicht stark an die variolöse Natur der Stomatitis pustulosa, allerdings nicht auf Grund ernsthafter Untersuchung, sondern mehr veranlaßt durch das Ansehen von Autoritäten, wie Dieckerhoff<sup>5)</sup>, Friedberger und Fröhner, die gegen diese Ansicht waren. In den in der letzten Zeit erschienenen deutschen und österreichischen Handbüchern, z. B. von Friedberger und Fröhner, Hutyra und Marek, wird denn auch der Zusammenhang zwischen der Stomatitis pustulosa und den Pferdepocken durchaus nicht unbeschränkt anerkannt, sondern sogar beinahe totgeschwiegen. Das Handbuch von Kolle und Wassermann macht hiervon allerdings eine rühmliche Ausnahme. Darin findet sich die Angabe, daß Bassi 1896 die Stomatitis pustulosa des Pferdes als eine Variolainfektion angesehen und ihre Identität mit dem Vakzinevirus durch Impfung bei Kälbern und von diesen bei Kindern bewiesen hat. 1917 gelang es Prof. de Jong ebenfalls, die variolöse Natur des Stomatitisvirus sicher festzustellen und den Befund Bassis ganz zu bestätigen. Auch de Jong konnte mit Stomatitisvirus deutliche Pockeneruptionen bei Kälbern und bei Kindern erzeugen. Ueber die Stomatitis pustulosa in Holland sagt de Jong, daß die Krankheit vielen praktizierenden Tierärzten zwar bekannt ist, daß aber, soweit er unterrichtet ist, niemals Infektionen vom Pferd auf den Menschen beobachtet wurden. Kollege 't Hooft teilte mir jedoch einen Fall mit, wobei eine Person, die ein an Stomatitis pustulosa erkranktes Pferd transportierte, pockenartige Pusteln an einer Hand bekam. Auch am Institut für parasitäre und ansteckende Krankheiten zu Utrecht bekam ein Knecht, der ein Pferd mit Stomatitis pustulosa behandelte, an Händen und Armen Pusteln, die genau so aussahen wie Pocken.

Die Kuhpocken wurden wiederholt in Holland beobachtet. Sie zeigten sich in der Regel an den Zitzen, aber auch an anderen Stellen des Euters können, wenn auch nur in geringem Maße, befallen werden. Infolge des durch das Melken ausgeübten Reizes hat die Affektion der Zitzen vollständig das Aussehen der Variola verloren. In heftigen Fällen zeigt sie sich uns als ein Konglomerat klebriger Krusten, an dem sich wenig Typisches wahrnehmen läßt. Anders steht es, wenn die Haut des Euters rings um die Zitze in den Prozeß einbezogen ist. In solchen Fällen sind schöne isolierte Pusteln keine Seltenheit. Bei genauer Betrachtung erscheinen sie uns völlig als Pocke. Gut ausgebildete Dellen werden dabei vorgefunden. Bei diesem Krankheitsbild wird wiederholt beobachtet, daß die Melker sich mit dem Ansteckungsstoff infizieren und im Gesicht und an den Händen Pusteln aufweisen, welche vollständig den Pocken gleichen. Jenner beobachtete nun, daß solche Personen immun waren gegen den Ansteckungsstoff der Variola des Menschen, und gründete hierauf seine berühmt gewordene Vakzination. Nach seiner Meinung bekamen die Rinder die Krankheit von den Pferden durch Vermittelung der Schweizer. Die Vakzine war also nach Jenner ursprünglich

- 1) Tijdschr. voor vergelijkke geneesk. Deel 2. 1917.
- 2) Ses maladies microbiennes des animaux. Paris 1896. p. 356.
- 3) Rapport de la commiss. du cow-pox. (Recueil de méd. vétér. 1865. p. 605.)
- 4) Account of some experiments on the origine of cow pox. Witby 1801.
- 5) Lehrb. d. spez. Pathol. u. Ther. f. Tierärzte. Bd. 1. 1899. S. 398 u. 999.

ein Pferdevirus<sup>1)</sup> u. 2). Meiner Ansicht nach dürfte diese Frage aber wohl immer eine offene bleiben.

Werden mit dem Virus der spontanen Rinderpocke Kaninchen auf der Cornea geimpft, so können in den Epithelzellen die Guarnierischen Körperchen angetroffen werden. Auf Grund dieser und anderer Tatsachen wird zurzeit die variolöse Natur des Virus der Kuhpocken ziemlich allgemein angenommen.

Im Zusammenhang mit den Geflügelpocken erinnere ich an das, was ich 1918 veröffentlicht habe<sup>3)</sup>:

1) daß die Geflügeldiphtherie mit den Geflügelpocken identisch ist;  
2) daß das Virus der Geflügelpocken nahe verwandt ist mit dem Vakzinevirus (wahrscheinlich eine Umwandlung);

3) daß es möglich ist, mit dem Virus der Geflügelpocken beim Pferde eine Stomatitis zu erzeugen, die aufs höchste der Stomatitis pustulosa contagiosa equi gleicht.

Gleichzeitig kann hier berichtet werden, daß es 1879 Friedberger<sup>4)</sup> geglückt ist, mit Stomatitismaterial bei Hühnern pockenartige Eruptionen am Kamme zu erzeugen.

### Klinik.

Im Oktober 1918 erregten einige Fälle von Stomatitis bei Pferden des Landwirts Ekris zu Achterwetering unsere Aufmerksamkeit. Bei diesen Tieren war die Maulschleimhaut mit Geschwüren bedeckt. An verschiedenen Stellen konfluieren sie, dagegen war die Schleimhaut auf der Zunge fleckweise vollständig verloren gegangen. Mit Rücksicht darauf, daß die Maul- und Klauenseuche auf verschiedenen anstoßenden Gehöften stark herrschte, wurde die Stomatitis zuerst mit dieser Krankheit in Verbindung gebracht. Bei näherer Betrachtung stellte es sich jedoch heraus, daß das Leiden eine sehr große Ähnlichkeit mit der Stomatitis besaß, wie ich sie mit Prof. de Jong zu Harmelen und zu s'Gravenhage bei Militärpferden beobachtet habe. Diese war als Stomatitis pustulosa contagiosa equi diagnostiziert und ihre variolöse Natur von Prof. de Jong mit absoluter Sicherheit festgestellt worden. Bei den Fällen zu Harmelen war die Schleimhaut der Lippen in der Regel am stärksten angegriffen, bei den Pferden im Haag war aber auch die Schleimhaut der Zunge sehr stark in den Prozeß einbezogen, und es waren daran große Epitheldefekte wahrzunehmen. Dies letzterwähnte war auch bei den Pferden zu Achterwetering der Fall. Ebenso wie bei den Pferden zu Harmelen waren auch jetzt auf der Haut rings um Nase und Maul pockenartige Eruptionen zu beobachten, und bei einem Pferde war auch die Haut der Kötengrube in den Prozeß einbezogen. Dieses Tier zeigte auch eine sehr heftige eitrig-conjunctivitis. Obwohl es nicht bewiesen ist, daß diese letztgenannte mit dem Leiden in Zusammenhang stand, war dies doch nach dem klinischen Bilde sehr wahrscheinlich. Das Leiden dauerte in den spontanen Fällen zu Achterwetering ohne Behandlung ziemlich 2—3 Wochen. Die Tiere hatten 39° C und darüber Fieber, waren aber wenig krank. Sie speichelten ziemlich stark, die Aufnahme des Futters war etwas erschwert. 2—3 Tage, nachdem die Krankheit unter den Pferden ausgebrochen war, bekamen die Rinder, etwa 20, nach wie vor pockenartige Eruptionen an den Zitzen. Durch die fortwährende Reizung des Melkens ging das typische variolöse Aus-

1) Jenner, An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae. London 1798.

2) Jenner, The origine of vaccine inoculation. London 1801.

3) Ausführliche Angaben finden sich in meinem Artikel über die Geflügelpocken im Zusammenhang mit der Geflügeldiphtherie, Stomatitis pustulosa contagiosa equi und Vakzine. (Tijdschr. v. vergel. Geneesk. Deel 3. Afl. 3.)

4) Dtsch. Zeitschr. f. Tiermed. u. vgl. Pathol. 1879. S. 265.

sehen direkt verloren, und die Affektion am Striche erschien uns als eine feuchte, krustige Masse, die in einigen Fällen den größten Teil der Haut des Striches bedeckte. Aber auch auf der Haut rings um die Zitze saßen Pusteln. Da sie an diesen Stellen so gut wie gar nicht äußeren Verletzungen ausgesetzt waren, so war das pockenartige Aussehen sehr schön zu beobachten. Schöne, runde Pocken mit typischen Dellen waren vorhanden. Wie erwähnt, wurden die Rinder nach wie vor befallen, doch war die Intensität der Affektion bei den verschiedenen Tieren verschieden. Der ganze Prozeß dauerte beim Rinde ungefähr 3 Wochen und kennzeichnete sich durch seinen gutartigen Charakter. Obwohl die Tiere an den Strichen empfindlich waren und den Melkern hierdurch das Melken etwas erschwert wurde, wurden doch keine Klagen gehört, daß die Milchleistung nennenswert zurückgegangen wäre. Sehr rasch, nachdem bei den Rindern die Pocken an den Zitzen aufgetreten waren, bekamen auch die 3 Melker Pusteln an Händen und im Gesicht. Diese Pusteln hatten einen typischen variolösen Charakter. Sie zeigten einen hyperämischen Hof und schöne Dellenbildung (siehe Photo). In einem einzigen Falle blieb es hierbei, in den beiden anderen Fällen aber schloß sich hieran eine Schwellung der Hand und des Armes, sowie eine Entzündung der regionären Lymphdrüsen (Achselhöhle). Letztere war mit starken Schmerzen verbunden. Die Patienten hatten  $39^{\circ}$  C und darüber Fieber, fühlten sich krank, so daß sie einige Tage das Bett hüten mußten. Der ganze Verlauf dauerte 2 Wochen. Die erkrankten Personen waren alle in ihrer Jugend vakziniert. Bei einem Knecht der tierärztlichen Hochschule, der kurz vorher revakziniert war, verlief der Prozeß viel gutartiger. Hier kam es allein zur Bildung einer Pocke auf der Hand. Lymphangitis und Lymphadenitis wurden nicht beobachtet. Ob dies der Vakzination zugeschrieben werden kann, läßt sich natürlich nicht entscheiden (ist aber wahrscheinlich).

### Versuche mit Stomatitismaterial.

Unsere ersten Versuche hatten das Ziel, den infektiösen Charakter der Stomatitis pustulosa zu Achterwetering festzustellen. Zu diesem Zweck wurde mit einem scharfen Löffel von den Pferden des Landwirts Ekris das Material aus Pusteln gesammelt und 2 jungen, 1-jährigen Versuchspferden (Nr. 1 u. 2) auf der Maulschleimhaut eingerieben. Das Stomatitismaterial war zuvor mit 80 Proz. Glycerin in einem Mörser fein zerrieben worden. Nach 4 Tagen waren bei beiden Pferden Bläschen und Pusteln auf der Maulschleimhaut aufgetreten, am 5. Tage aber war bei einem der Tiere bereits ein umfangreicher Epitheldefekt zu bemerken. Die erkrankte Schleimhaut war hyperämisch, einige Pusteln zeigten ein schwach eitriges Zentrum. Auch auf der Haut der Lippe wurden kleine Epithelzellen gesehen. Bei keinem der beiden Versuchspferde wurde die Zunge in den Prozeß einbezogen, Speicheln wurde nur in geringem Maße beobachtet. Die Schmerzhaftigkeit des Prozesses war offenbar gering. Die ersten 8 Tage breitete sich der Prozeß aus, ging dann rasch in Heilung über und war nach 14 Tagen vollständig abgeheilt. Der Appetit ließ bei Versuchspferd Nr. 1 niemals etwas zu wünschen übrig, auch die Temperatur stieg nie über die normale. Versuchspferd Nr. 2 war, als der Prozeß seinen Höhepunkt erreichte, etwas stumpfsinnig, zeigte wenig Appetit und lag viel. Die Temperatur war während dieser Periode immer etwas hoch und erreichte

39,4° C. Beide Fälle von Versuchen kennzeichneten sich durch ihren gutartigen Charakter.

Um eine 2. Passage von Pferd zu Pferd zustande zu bringen, wurde von den Versuchspferden Nr. 1 und 2 im Initialstadium des experimentell erzeugten Krankheitsprozesses etwas Material von der Maulschleimhaut abgekratzt und dieses auf der Maulschleimhaut des Versuchspferdes Nr. 3 eingerieben. Außerdem wurde durch Papier filtriertes Material einem Fohlen Nr. 4 intravenös eingespritzt.

Der Krankheitsprozeß im Maule verlief beim Versuchspferd Nr. 3, wie folgt:

13. Okt. 1918 im Maul infiziert mit Stomatitismaterial von Pferd Nr. 1 und 2. — 16. Okt. noch keine Reaktion. — 18. Okt. bereits ziemlich großer Epitheldefekt auf der Schleimhaut der Unterlippe in der Größe eines Zehnzentstückes, auf der Schleimhaut der Oberlippe sind einzelne kleine Defekte wahrzunehmen. Kleine Pusteln in der Größe eines Stecknadelkopfes, die mit Flüssigkeit gefüllt waren und eine sehr starke Neigung besaßen, sich in die Fläche auszubreiten. — 19. Okt. Auch die Zunge zeigt einen ziemlich großen Epitheldefekt. — 20. Okt. Der Prozeß breitet sich stark aus. — 21. Okt. Starkes Konfluieren der angegriffenen Flecke, besonders die Schleimhaut der Oberlippe ist sehr stark angegriffen (Hyperämie). — 24. Okt. Fast die ganze Maulschleimhaut ist beinahe Geschwürsfläche. Hier und da isolierte Eruptionen. — 25. Okt. Die Zunge stark in den Prozeß einbezogen. Ausgebreitete Epitheldefekte. — 27. Okt. Starkes Speicheln. — 28. Okt. Heilung tritt rasch ein. — 29. Okt. Der Prozeß an den Lippen bereits fast geheilt, die Zunge jedoch noch stark angegriffen. — 30. Okt. Auch die Zunge heilt schnell. Der Substanzverlust bleibt natürlich bestehen. — 31. Okt. Der ganze Prozeß so gut wie geheilt.

Das Allgemeinbefinden des Patienten war im großen und ganzen gut, nur vom 22.—25. Okt. war die Freßluft gering, und es wurden Temperaturen von 39,6° C beobachtet. Vor wie nach dieser Periode war die Temperatur normal.

Beim Versuchspferd Nr. 4, welchem am 16. Okt. 1918 Stomatitismaterial intravenös eingespritzt worden war, wurde folgendes Krankheitsbild beobachtet: Nach einer Inkubationsperiode von ungefähr 6 Tagen wurden Pusteln auf der ganzen Maulschleimhaut und auf der Haut rings um Nase und Maul wahrgenommen. Die Exsudation ist so stark, daß das Ganze einem krustösen Ekzem gleicht. Das Tier ist krank, Temperaturen von 40,3° C treten auf. Nach dem Ausbruch der Pusteln tritt deutliche Besserung ein. 4 Tage nach dem Ausbruch ist der Prozeß im Maule noch ungefähr auf derselben Höhe, nach 8 Tagen aber ist Heilung eingetreten. Die Schnauze ist jedoch in diesem Augenblick noch mit Krusten bedeckt. Einige Tage darauf werden auch diese abgestoßen, und das Tier ist vollständig geheilt.

Durch diese Versuche hat sich ganz klar ergeben, daß wir es mit einem infektiösen Leiden zu tun hatten. Wir hatten mit dem ursprünglichen Stomatitismaterial bei unseren Versuchspferden ein Bild hervorrufen können, das sich vollständig mit dem spontanen Krankheitsbild deckte, aber gleichzeitig hatten wir die Krankheit durch Kontakt- und intravenöse Infektion bei anderen Pferden erzeugt. Um über den Zusammenhang, der eventuell zwischen der zu Achterwetering herrschenden etwas den Aphthen gleichenden Stomatitis der Pferde und der auf den umliegenden Gehöften ausgebrochenen Maul- und Klauenseuche bestand, eine bestimmte Ansicht zu gewinnen, wurde am 12. Okt. 1918 ein junges Rind mit ursprünglichem Stomatitismaterial im Maule infiziert.

4 Tage darauf waren ein paar ganz kleine Geschwüre auf der infizierten Maulschleimhaut zu bemerken. Die Geschwürchen zeigten die Neigung sich auszubreiten, und hatten nach 2 Tagen die Größe eines Zehnzentstückes und eines Viertelguldens erlangt. Der Grund war mit graugelbem Exsudat bedeckt, so daß an eine Infektion mit Nekrosebazillen gedacht werden konnte. Mikroskopisch ließen sich diese jedoch nicht nachweisen. Auch Präparate nach Giemsa ließen nichts Besonderes sehen. Allerdings wurden Kokken und Stäbchen im Exsudat bemerkt. Nach einigen Tagen reinigen sich die angegriffenen Stellen, und es bleiben runde, rote Flächen zurück. Sie sind vom Epithel entblößt, und ihr Aussehen hatte mit einer geplatzten Blase bei Maul- und Klauenseuche viel Gemeinsames. Temperaturerhöhungen kamen während des Prozesses im Maule nicht vor, und das Allgemeinbefinden des Tieres ist immer normal gewesen. Am 25. Okt. war der Prozeß vollständig in Heilung übergegangen.

Dies schließt natürlich nicht aus, daß noch am 30. Okt. tiefe Narben auf der Maulschleimhaut zugegen waren. Am 2. Nov. wurde das Rind subkutan mit virulentem Material von Maul- und Klauenseuche infiziert. Bereits am 6. Nov. war in volgedessenen heftige Maulseuche vorhanden. Etwas Immunität infolge des überstandenen Krankheitsprozesses im Maule war demnach bei diesem Tier nicht vorhanden. Die Möglichkeit, daß die spontane Stomatitis zu Achterwetering also etwas mit der herrschenden Maul- und Klauenseuche zu tun gehabt hatte, ist mithin nicht groß.

### **Der Zusammenhang zwischen Stomatitis pustulosa equi und den spontanen Kuhpocken.**

Sehr wichtig war es, den Zusammenhang festzustellen, der offenbar bestand zwischen der Stomatitis der Pferde und den spontanen Pocken, wie diese bei den Rindern desselben Besitzers auftraten.

Um diesen Zusammenhang nachzuweisen, wurde am 26. Okt. 1918 ein  $\frac{1}{2}$ -jähriges Pferd im Maule mit diesem Kuhpockenmaterial infiziert. Nach einer Inkubationszeit von 3 Tagen begann sich auf der Maulschleimhaut eine Reaktion zu zeigen. Diese kennzeichnete sich durch ganz kleine geschwollene Pusteln (geschwollene Follikel?), die schon bald in Zerfall übergingen. Dabei stellte sich ebenso wie bei den Versuchspferden Nr. 1 und 2 Epithelverlust ein. Der Prozeß breitete sich in den ersten Tagen schnell aus, kleine Defekte vereinigten sich zu größeren, und das ganze Bild glich vollständig dem bei den Pferden zu Achterwetering beobachteten. Auch die Schleimhaut der Zunge war in derselben Weise angegriffen wie bei den spontanen Fällen. Im großen ganzen war der Verlauf jedoch gutartiger. Am 3. Nov., also 8 Tage nach der Impfung, war bereits eine sichtbare Heilung eingetreten. Sie schritt die folgenden Tage rasch vorwärts und führte nach einigen Tagen zur völligen Wiederherstellung.

Dieser Versuch bewies deutlich den innigen Zusammenhang zwischen der Stomatitis der Pferde und den Kuhpocken zu Achterwetering. Dieser Zusammenhang wurde jedoch noch deutlicher, als der dieses Versuchspferd behandelnde Knecht, einige Tage, nachdem bei diesem Tier die Stomatitis ausgebrochen war, schöne pockenartige Pusteln an der Hand zeigte. Diese Pusteln sahen genau so aus wie diejenigen, welche bei den Melkern zu Achterwetering aufgetreten waren und bei denen Infiltration, hyperämischer Hof und Bildung einer Delle in variolöser Richtung sich zeigte. Hierbei blieb es jedoch nicht. Ein Rind unseres Institutes stand unter der besonderen Pflege des Knechtes, bei dem die pockenartigen Pusteln aufgetreten waren. Dieses Rind war ganz gesund und diente zur Milchlieferung unserer Versuchstiere. Einige Tage, nachdem bei dem Knecht die Pusteln auf den Händen aufgetreten waren, zeigte das betreffende Rind prachtvolle spontane Kuhpocken auf allen Zitzen. Im Anfang des Prozesses war hierbei prachtvolle Dellenbildung wahrzunehmen.

Die Versuche wurden jedoch noch weiter fortgesetzt. Um den Zusammenhang zwischen der Stomatitis der Pferde und den Pusteln auf den Händen des Knechtes nachzuweisen, wurde ein Versuchspferd Nr. 6 auf der Maulschleimhaut infiziert mit Material, das durch Abschaben aus den Pusteln des Knechtes gesammelt worden war. In völliger Uebereinstimmung mit unseren vorhergehenden Versuchen brach nach einer Inkubationszeit von ungefähr 3 Tagen eine sehr typische Stomatitis aus, die mit dem Bilde, wie wir es bei unseren früheren Versuchen kennen gelernt hatten, völlig übereinstimmte.

Auf dem Gehöft zu Achterwetering war der Gang der Dinge folgender: Zuerst Stomatitis bei den Pferden, nach einigen Tagen Kuhpocken bei den Rindern und darauf Pusteln bei den Menschen.

An unserem Institut sahen wir zuerst experimentell die Stomatitis der Pferde, darauf spontan die Pusteln bei dem Knecht und infolge davon spontan die Kuhpocken beim Rinde. Experimentell veranlaßt das



Virus des Menschen bei Pferden wieder eine typische Stomatitis. Daß hiermit der gegenseitige Zusammenhang zwischen den verschiedenen Affektionen, wie wir diese zu Achterwetering beim Rind und beim Menschen auftreten gesehen haben, praktisch ziemlich gut feststeht, bedarf meines Erachtens keines weiteren Beweises.

**Variolöse Natur des Stomatitis- und Kuhpockenvirus:** Bei diesem Stand der Dinge war es sehr wichtig, auch hier, ebenso wie es durch Prof. de Jong bei den Pferden zu Harmelen ermittelt war, die variolöse Natur des Virus festzustellen. Sie ist geprüft worden 1) für das Virus der Stomatitis und 2) für das Virus der Affektion der Zitzen.

### Stomatitisvirus.

#### Versuchskalb A.

24. Okt. 1918: Der Bauch des Kalbes wurde rasiert, tüchtig mit Seife gereinigt, im geringen Maße skarifiziert und mit Stomatitismaterial vom Versuchspferd Nr. 1 eingerieben, 25. und 26. Okt.: negativ, 27. Okt.: Rötung der Haut und beginnende Eruption, 28. Okt.: tüchtige Eruption. Von einem variolösen Aussehen ist nicht viel mehr zu bemerken. Die Eruption bestand größtenteils aus ziemlich großen Blasen von 5–10 mm Durchm., die etwas Flüssigkeit enthielten. Die Epidermis, welche den Inhalt der Blase bedeckte, ist geschwollen. Außerdem ist auch die Haut in der Umgebung der Blase infiltriert. Isolierte, Pocken gleichende Pusteln sind jedoch hier und da ebenfalls zu beobachten. Dellen sind jedoch nicht in schöner Form zugegen. 29. Okt.: Die Blasen trocknen bereits ein, 29. Okt.: gesammelt und mit 80 Proz. Glycerin fein verrieben.

### Schlußfolgerung.

Dieser Versuch hatte die variolöse Natur des Virus nicht bewiesen.

Am 31. Okt. wurde jedoch das gesammelte Material vom Kalb A aufs neue auf der Bauchhaut von Kalb B eingerieben.

Nach einer Inkubation von 4 Tagen zeigte sich eine schöne typische Eruption, und diese stimmt in ihrem Wesen völlig mit der Vakzineeruption überein. Isolierte prächtige Pockenpusteln mit prächtiger Dellenbildung waren im Ueberfluß vorhanden, gleichartige Infiltration der Haut. Der einzige Unterschied gegenüber einer Vakzineeruption bestand darin, daß im großen und ganzen die beobachtete Reaktion einen mehr eiterigen Charakter zeigte.

### Schlußfolgerung.

Durch diesen Versuch war die variolöse Natur des Stomatitisvirus sehr wahrscheinlich geworden.

### Zitzenvirus.

#### Versuchskalb C.

Dieses Kalb wurde am 24. Okt. vermittelt leichter Skarifikation mit dem Zitzenvirus aus Achterwetering am Bauche geimpft. Nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen war eine tüchtige Eruption wahrzunehmen. Deutliche Pockenformen — typische hyperämische Randzonen — deutliche Dellenbildung. Daneben traten auch Blasen auf, wie wir sie beim Stomatitiskalb A beobachtet hatten. Die isolierten Pocken entwickelten sich weiter ganz typisch (Photo). Am 30. Okt.: abgeschabt und das Material mit 80-proz. Glycerin fein verrieben. Am 31. Okt. wurde das gesammelte Material vom Kalb C auf die Bauchwand von Kalb D verimpft. Nach 4 Tagen zeigte sich eine sehr typische Reaktion. Schöne isolierte Pocken, mit deutlicher Dellenbildung. Das pockenartige Aussehen der Reaktion ließ an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig. Nach 6 Tagen ist die Reaktion noch sehr typisch, die Pocken beginnen aber einzutrocknen. Am 6. Nov. 1918 wird abgeschabt und das gesammelte Material mit 80-proz. Glycerin fein verrieben.

#### Versuchskalb E.

Am 2. Nov. 1918 wurde dieses Kalb in der üblichen Weise an der Bauchhaut mit Material, das aus dem Maule eines Versuchspferdes stammte, geimpft. Es litt an Stomatitis und hatte sich diese nach Infektion der Maulschleimhaut mit Zitzenmaterial aus Achterwetering zugezogen.

Es war also Zitzenmaterial von einem Rinde, das einmal das Pferd passiert hatte. Also Zitzen des Rindes — darauf Maul des Pferdes — darauf Bauch des Kalbes E.  
 Am 6. Nov.: Typische Eruption (Anfangsstadium), schöne, isolierte Pocken.  
 7. Nov.: Deutliche Eruption, die völlig der Vakzineeruption glich. 8. Nov.: Typische Vakzineeruption. Bei dieser Reaktion des Kalbes E trat der eitrige Charakter, wie wir ihn beim Kalb D und B beobachtet hatten, viel weniger in den Vordergrund.

### Schlußfolgerung.

Die Versuche an den Kälbern C, D und E haben die variolöse Natur des Zitzenvirus außerordentlich wahrscheinlich gemacht.

### Versuche bei Kaninchen.

#### Hautimpfung.

Um die variolöse Natur des Stomatitis- und des Zitzenvirus noch weiter zu verfolgen, wurden am 30. Okt. 1918 2 Kaninchen auf der Haut des Rückens mit den betreffenden Virus eingerieben. Am 4. Nov. 1918 war bei beiden Tieren eine gleiche Reaktion wahrzunehmen. Sie stimmte genau überein mit den Reaktionen, welche wir nach der Vakzineinfektion beim Kaninchen auftreten sehen. Eine konfluierende Eruption, wobei an verschiedenen Stellen isolierte Pocken mit deutlicher Dellenbildung auftraten, war festzustellen.

### Immunitätsversuche.

Im Zusammenhang mit dem Problem der gegenseitigen Verwandtschaft zwischen dem Virus bei Pferd und Rind zu Achterwetering mit dem Vakzinevirus war es gleichzeitig von größtem Interesse, zu ermitteln, inwiefern diese verschiedenen Vira Immunität untereinander erzeugten. Diese Immunitätsversuche waren, soweit mir bekannt, noch niemals ausgeführt, und auch de Jong hat das Problem der gegenseitigen Verwandtschaft (Stomatitisvirus — Vakzinevirus) nicht von dieser Seite betrachtet. Zufälligerweise verfügten wir in der Zeit, in der die bereits oben beschriebenen Versuche stattfanden, über 2 Kälber, die 6 Wochen zuvor mit positivem Ergebnis eine Vakzineimpfung auf der Bauchhaut mitgemacht hatten. Wir konnten also annehmen, daß diese Tiere einen sicheren Grad von Immunität hinsichtlich des Vakzinevirus besaßen. Von Interesse war es nun, zu ermitteln, inwieweit diese Immunität auch auf das Virus des Stomatitispferdes und das Zitzenvirus des Rindes sich erstreckte.

#### Immunitätsversuch. Vakzinekalb 1 mit Bezug auf das Stomatitisvirus.

Am 31. Okt. wurde die rasierte Haut des Vakzinekalbes 1 mit Stomatitismaterial, das bereits 1mal das Kalb passiert hatte, infiziert. Zur Kontrolle wurde auch ein normales Kalb auf dieselbe Weise mit demselben Material infiziert. Das Ergebnis dieses Versuches übertraf unsere Erwartung. Wo beim Kontrollkalb nach 4 Tagen eine starke typische Reaktion zum Vorschein kam, blieb beim Vakzinekalb 1 fast jede Reaktion aus (Photos). Die 6 Wochen vorher ausgeführte Vakzination mit Vakzinevirus hatte demnach auch für das Stomatitisvirus völlige Immunität hinterlassen.

### Immunitätsversuch des Vakzinekalbes 2 mit Bezug auf das Zitzenvirus.

Auf gleiche Weise wie beim Vakzinekalb 1 wurde Vakzinekalb 2 mit Zitzenvirus, das bereits 1mal das Kalb passiert hatte, infiziert. Auch hier diente ein normales Kalb, das ebenso behandelt wurde, zur Kontrolle.

Obwohl nicht so demonstrativ wie der vorige Versuch, war auch hier eine sehr deutliche Immunität hinsichtlich des Zitzenvirus zu beobachten. Das Kontrollkalb zeigte nach 4—5 Tagen eine typische und sehr heftige Reaktion. Dabei waren schöne Pusteln mit Bildung einer Delle zu beobachten. Das Vakzinekalb hat allein eine sogenannte Abortivreaktion gezeigt. Nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen traten einige Pusteln auf mit geringer Hyperämie in der Umgebung. Zugleich traten einige Blasen auf, wie wir sie bereits beim Kalb A kennen gelernt hatten. Während aber am 6. Tag nach der Infektion bei dem Kontrollkalb noch eine sehr schöne und ausgebreitete Reaktion zu bemerken war (siehe Photo), war bei dem Vakzinekalb Nr. 2 so gut wie keine Reaktion mehr zu beobachten. Wir haben demnach beim Vakzinekalb 2 eine Reaktion, die rasch auftrat, wenig intensiv war und bald verschwand. Ohne Zweifel war bei diesem Tier durch die Vakzination mit Vakzinevirus eine ziemlich große Immunität gegen das Zitzenvirus aufgetreten. Mit Rücksicht darauf, daß wir durch die von uns angestellten Versuche gleichzeitig über Kälber verfügten, die mit Stomatitismaterial und über andere, welche mit Zitzenvirus infiziert waren, war es höchst interessant, zu ermitteln, inwiefern die Immunität gegenseitig war und, mit anderen Worten, ob diese Tiere auch gegen eine Vakzineinfektion geschützt waren.

### Immunitätsversuch am Stomatitiskalb B mit Bezug auf das Vakzinevirus.

Am 7. Dez. 1918, also 5 Wochen, nachdem dies Tier an dem Bauch eine Reaktion mit Stomatitismaterial gezeigt hatte, wurde es aufs neue an der Bauchhaut in der üblichen Weise mit Vakzinevirus infiziert. Ein nicht vorbehandeltes, auf dieselbe Weise mit Vakzine infiziertes Kalb diente als Kontrolle. Nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen war beim Kalb B eine sehr geringe Reaktion wahrzunehmen. Hyperämie nur geringgradig, Infiltration nicht zugegen. Nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen verschwindet bereits die Hyperämie. Die kleinen, roten Pusteln haben sich in äußerst kleine Bläschen umgewandelt. Diese sind bereits am 4. Tage wieder vertrocknet und am 5. Tage nur noch hier und da zu sehen. Im ganzen ist die Reaktion außerordentlich gering gewesen. Bei dem Kontrollkalb trat nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen eine sehr typische Vakzinereaktion auf. Sie erreichte am 5. und 6. Tage ihren Höhepunkt und nahm dann ab.

### Schlußfolgerung.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Stomatitiskalb B eine ziemlich große Immunität dem Vakzinevirus gegenüber besaß. Das Stomatitivirus und die Vakzine immunisieren demnach einander gegenseitig.

### Immunitätsversuche mit Zitzenviruskalb D gegenüber dem Vakzinevirus.

Am 7. Dez. 1918, wieder 5 Wochen, nachdem Kalb D auf das Zitzenvirus reagiert hatte, wurde es aufs neue an der Bauchhaut mit Vakzine-

virus infiziert. Auch hier diente ein normales Kalb F als Kontrolle. Bereits  $2\frac{1}{2}$  Tag später zeigte sich eine leichte Impfreaktion in Gestalt von sehr kleinen Bläschen, welche eitriges Exsudat in geringer Menge enthielten. Gut ausgebildete Pocken waren nicht zugegen. Nach dem 3. Tage war keine Reaktion mehr zu sehen. Keine Hyperämie — keine Infiltration — keine Pocken, einzig noch einige vertrocknete Pusteln. Nach  $4\frac{1}{2}$  Tagen war diese Reaktion vollständig verschwunden. Demnach ist bei Kalb D eine schwache Impfreaktion aufgetreten. Diese war aber im Vergleich zu der beim Kontrollkalb F so gering, daß gefolgert werden muß, daß das Zitzenvirus dem Vakzinevirus gegenüber eine starke Immunität erzeugt. Auch hier ist die Immunität demnach gegenseitig. Das war allerdings zu erwarten.

#### Gesamtschlußfolgerung.

Stomatitisvirus, Zitzenvirus und Vakzinevirus immunisieren einander gegenseitig.

#### Guarnierische Körperchen.

##### Corneaimpfung: Stomatitisvirus.

Am 28. Okt. 1918 wurde ein Kaninchen A auf der Cornea mit Stomatitisvirus von den Versuchspferden 3 und 4 infiziert. Die Cornea war zuvor in der üblichen Weise schwach skarifiziert. Darauf wurde das fein zerriebene Material sanft mit einem kleinen Spatel eingerieben. Darnach trübte sich die Hornhaut etwas. Am 2. Nov. 1918 wurde das Auge extirpiert. Nach Fixierung wurde die Cornea auf die gewöhnliche Weise mit Hämalaun-Eosin gefärbt. Das Ergebnis war positiv. Guarnierische Körperchen waren in kleiner Zahl und in geringer Größe vorhanden. Der größte Teil der Parasiten? war von einer hellen Zone umgeben und lag dicht bei oder an dem Kern der Epithelzellen.

##### Corneaimpfung: Zitzenvirus.

Am 11. Nov. 1918 wurde Kaninchen B auf der Cornea mit Zitzenvirus (Achterwetering) geimpft. Dieses hatte einmal das Kalb passiert. Die Impfung erfolgte in derselben Weise wie beim vorigen Versuch. Am 5. Nov. wurde das Auge extirpiert. Nach der Fixierung wurde die Cornea nach der Hämalaun-Eosinmethode gefärbt, und zwar mit positivem Ergebnis.

Impfung der Cornea mit Stomatitisvirus, welches das Huhn passiert hat.

Am 1. Nov. 1918 wurden die Kaninchen C und D mit Pockenmaterial vom Huhn auf der Cornea infiziert. (Diese Pocken waren durch das Stomatitisvirus des Pferdes erzeugt.) Am 5. Nov. 1918 wurden die Augen extirpiert und nach Fixierung und Färbung wurde die Cornea auf Guarnierische Körperchen untersucht. Das Ergebnis war auch hier positiv. Guarnierische Körperchen waren in ansehnlicher Größe und Zahl in der Cornea beider Kaninchen vorhanden (siehe Photo.).

#### Schlußfolgerung.

Die Erzeugung Guarnierischer Körperchen durch das Zitzen- und das Stomatitisvirus sowie die gegenseitige Immunität, die zwischen dem

Virus der Stomatitis, den Pocken des Rindes und der Vakzine besteht, ist meiner Ansicht nach beweisend für die Variolanatur des Zitzen- und Stomatitisvirus.

**Ist das Virus der Geflügelpocken identisch mit dem der Stomatitis pustulosa contagiosa equi?**

Wie sich aus dem Vorhergehenden ergibt, können wir auf Grund der eingehenden Untersuchungen von Bassi und de Jong annehmen, daß das Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa mit dem Vakzinevirus identisch ist. Jedoch dürfen wir nach unserer Ansicht diese Identität nicht im strengen Sinne des Wortes auffassen, d. h. vollkommen einander gleich. Vielmehr haben wir es hier mit Verhältnissen zu tun, wie wir sie z. B. auch vom Tuberkelbazillus kennen. Auch hier können wir den Typus humanus nicht als durchaus identisch mit dem Typus bovinus bezeichnen, sogar wenn wir noch annehmen, daß diese Typen unter bestimmten günstigen Umständen ineinander übergehen können. Wahrscheinlich sind sie Varietäten eines und desselben Virus und vermutlich sind ihre Eigenschaften nicht derartig gefestigt, daß von einer neuen Art gesprochen werden kann. Wird also künftig das Wort Identität gebraucht werden, so mag dies so aufgefaßt werden, wie ich es im Vorhergehenden dargelegt habe. Um wieder auf das Virus der Geflügelpocken zurückzukommen, so ist dieses, wie ich auf Grund des Ergebnisses meiner eigenen Versuche anzunehmen geneigt bin, sehr nahe verwandt mit dem der Vakzine. Sollte dies wirklich der Fall sein, so würde daraus unmittelbar folgen, daß auch das Virus der Stomatitis contagiosa equi und das der Geflügelpocken untereinander sehr nahe verwandt sind. Deswegen war es sehr wichtig, zu ermitteln, ob das Virus der Geflügelpocken eine Stomatitis pustulosa beim Pferde zu erzeugen imstande war. Hierüber wurde von mir 1917 folgendes veröffentlicht:

Am 15. Mai 1915 wurden 3 Pferde mit frischem Geflügelpockenmaterial behandelt. Die Schleimhaut der Oberlippe wurde vorher mit einem kleinen Stückchen Schmirgelpapier ganz schwach gereizt. Die Folge davon war eine leichte Hyperämie. Darauf wurde das in 5-proz. Glycerin fein zerriebene Geflügelpockenmaterial mit einem Stückchen Watte eingerieben. Drei Kontrollpferde wurden ganz in derselben Weise behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß sie anstatt mit Geflügelpocken mit Exsudatkrusten von Hühnern eingerieben wurden. Diese Exsudatkrusten wurden in folgender Weise gewonnen. Der Kamm eines Huhnes wurde mit Schmirgelpapier tüchtig gereizt. Die dadurch entstandene Wundfläche war dann nach 1—2 Tagen mit einer Kruste bedeckt. Diese wurde nach einigen Tagen abgekratzt, mit 50-proz. Glycerin fein zerrieben und auf die Maulschleimhaut der Kontrollpferde gebracht. Der Gedankengang war dabei folgender: Wie anzunehmen ist, wächst bei einem Huhne eine eigene Bakterienflora. Die Bakterien sind also mit dem Pockenmaterial vermischt und dürften demnach eventuell auf der Maulschleimhaut des Pferdes Reaktionen hervorrufen können, die zu Unrecht dem Pockenvirus zugeschrieben werden. Es war zu erwarten, daß nach einigen Tagen auch die Exsudatkrusten dieselbe Bakterienflora enthielten. Zeigt sich also ein Unterschied in der Reaktion bei den Geflügelpocken- und den Kontrollpferden, so kann dieser mit großer Wahrscheinlichkeit dem Geflügelpockenvirus zugeschrieben werden.

Der Verlauf dieses Versuches war folgender:

Die Kontrollpferde haben außer einer schwachen, durch die Reizung von seiten des Schmirgelpapieres hervorgerufene Hyperämie nicht das geringste gezeigt.

Ganz anders war es aber bei den Geflügelpockenpferden. Auch hier zeigte sich am folgenden Tage eine leichte Hyperämie, mit der der Prozeß aber nicht zu Ende war. Nach 3, 4—5 Tagen schollen die Follikel der Schleimhaut an und es bildeten sich kleine Blasen, die Hyperämie und gleichzeitig die Empfindlichkeit der Schleimhaut nahmen zu, Speichelfluß stellte sich ein. Der Inhalt der Bläschen, der zuerst vollständig klar war, vereiterte, Substanzverlust trat ein, sehr rasch zeigten sich auf der Schleimhaut zahlreiche Geschwüre und Geschwürchen (siehe Photo.), die kleinen Geschwüre vereinigten sich zu größeren, und das ganze Bild zeigte eine sehr große Uebereinstimmung mit der gewöhnlichen Stomatitis pustulosa contagiosa equi, wie wir diese aus der Praxis kennen. Nachdem die Geschwüre sich gereinigt hatten, trat allmählich Besserung ein. Mit Hinterlassung kleiner Narben war der ganze Prozeß in 10—14 Tagen abgelaufen.

Geringe Fiebererscheinungen (38,7°—38,9° C) wurden bei allen 3 Pferden beobachtet. Dieser Versuch ist am 14. Juli 1915 nochmals, und zwar mit demselben positiven Ergebnis, wiederholt worden.

Auf Grund dieser Versuche und im Zusammenhang mit der nahen Verwandtschaft des Agens der Stomatitis und der Geflügelpocken mit dem Virus der Vakzine hielt ich mich 1917 zu der Schlußfolgerung berechtigt, daß das Virus der Geflügelpocken und das der Stomatitis pustulosa äußerst nahe beieinander stehen. Diese Ueberzeugung hat sich auf Grund der nachfolgenden Versuche aufs höchste verstärkt. Mit Rücksicht darauf, daß wir Ende 1918 über Virus der spontanen Stomatitis equi verfügten, lag es nahe, hiermit einige Hühner auf die gewöhnliche Weise durch Einreibung am Kamme zu infizieren. Das Ergebnis war folgendes:

#### Infektion des Kammes bei Hühnern mit dem Virus der Stomatitis equi.

Am 1. Nov. 1918 wurden 4 Hühner infiziert. Nach einer Inkubationszeit von 5 Tagen waren sehr schöne Pockeneruptionen zu beobachten. Das Bild glich im einzelnen dem der gewöhnlichen Hühnerpocken. Pocken mit stark eitrigem Inhalt, wie wir sie meistens nach Vakzineimpfung bei Hühnern beobachten, bildeten eine Ausnahme. Die Pocke stimmte mit der gewöhnlichen Geflügelpocke überein. Sehen wir bei der Vakzineimpfung meistens einen leichten Verlauf und vertrocknen hier die Pocken schnell, so sehen wir bei der Stomatispocke nach 3 Wochen noch deutlich sichtbare Eruptionen. In einzelnen Fällen waren die Tiere krank, wie wir dies ja auch bei den Geflügelpocken beobachteten. Bei späteren Versuchen, die sämtlich das positive Bild hübsch zeigten, sind sogar einige Hühner an der Krankheit gestorben.

#### Immunisatorische Wirkung des Stomatitisvirus gegenüber dem Geflügelpockenvirus.

Auf Grund des klinisch ähnlichen Bildes dürfte man erwarten, daß Hühner, die eine Stomatispockeneruption durchgemacht hatten, gegen das Geflügelpockenvirus immun sein würden. Um hierüber Sicherheit zu erlangen, wurden 5 Hühner mit Stomatitismaterial auf der linken



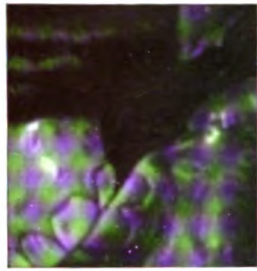


Fig. 1.

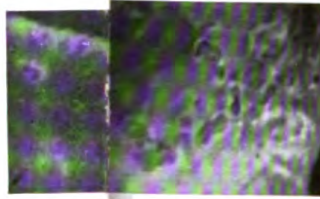


Fig. 5.

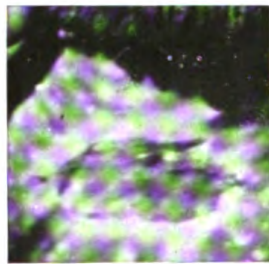


Fig. 6.

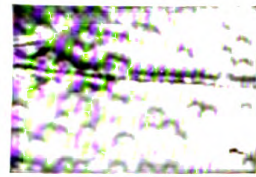


Fig. 10.

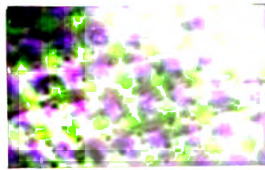


Fig. 11.



Fig. 15.

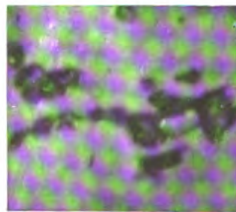


Fig. 16.

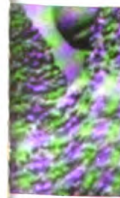


Fig. 19.



Seite des Kammes geimpft, während 5 andere Hühner als Kontrolle dienten. Die 5 geimpften Tiere zeigten nach 1 Woche eine heftige Pockeneruption. Nach 3 Wochen waren die Eruptionen so gut wie verschwunden. Darauf wurde noch 3 Wochen gewartet und dann wurden alle 10 Hühner mit dem Virus der Geflügelpocken auf der rechten Seite des Kammes infiziert. Als Ergebnis dieser Impfung begann sich 4 Tage darauf bei allen 10 Tieren eine Reaktion zu zeigen. Diese nahm im Verlaufe der folgenden Tage ständig an Heftigkeit zu. Nach 10 Tagen zeigten alle 10 Tiere nahezu dieselbe Reaktion. Von einer immunisatorischen Wirkung des Stomatitisvirus gegenüber dem Geflügelpockenvirus hat sich bei diesem Versuch also wenig gezeigt. In dieser Hinsicht verhält sich das Vakzinevirus, wie sich aus meinen vorhergehenden Versuchen ergibt, anders. Dieser Virus schützt sicher in gewissem Grade gegen das Virus der Geflügelpocken und der Stomatitis, und ihm kommt unter den Viris der verschiedenen Pockenarten die stärkste immunisatorische Kraft zu.

Zum Schlusse sei hier noch erwähnt, daß mit dem von den Pferden des Landwirts Ekris stammenden Stomatitisvirus 1920 aufs neue einige Versuche angestellt worden sind. Wie sich dabei ergab, besaß Virus, das 1½ Jahre unter 70-proz. Glycerin im Eisschrank aufbewahrt worden war, für Kälber und Hühner noch dieselbe Pathogenität.

#### Schlußfolgerung.

Virus von: 1) Variola, 2) Vakzine, 3) spontane Kuhpocken, 4) Stomatitis equi, 5) Geflügelpocken, 6) Geflügeldiphtherie sind wahrscheinlich alle Variationen ein und desselben Urvirus. Einige sind selbst noch so wenig stabilisiert, daß sie noch ineinander übergehen können.

#### Tafelerklärung.

Fig. 1. Stomatitis pustulosa contagiosa equi. Spontane Infektion. Geschwüre und Epitheldefekte (Mundschleimhaut).

Fig. 2. Stomatitis pustulosa contagiosa equi (spontane Infektion). Pusteln an der Haut der Unterlippe.

Fig. 3. Kuhpocken (spontane Infektion).

Fig. 4. Pockenpusteln an der Oberfläche der Hand eines Bauernmädchens. Spontane Infektion.

Fig. 5. Stomatitis pustulosa contagiosa equi (experimentelle Infektion).

Fig. 6. Stomatitis beim Pferd. Experimentelle Infektion mit Kuhpockenvirus.

Fig. 7. Pockenpustel an der Hand eines Schweizers. Spontane Infektion mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 8. Stomatitis beim Pferd. Experimentelle Infektion mit Pustelmaterial des Schweizers.

Fig. 9. Kuhpocken. Spontane Infektion mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 10. Pockeneruption am Bauche eines Kalbes mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 11. Pockeneruption am Bauche eines Kalbes mit Kuhpockenvirus.

Fig. 12. Pockeneruption beim Kontrollkalb mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 13. Beim Vakzinekalb mit Stomatitis equi-Virus keine Reaktion (Immunität).

Fig. 14. Körperchen von Guarnieri mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 15. Vakzination beim Kind mit Pferdepockenvirus (Horsepox — Stomatitis pust. cont. equi), 7. Tag nach der Impfung (Prof. Dr. D. A. de Jong).

Fig. 16. Stomatitis beim Pferd mit Geflügelpockenvirus.

Fig. 17. Pockeneruption beim Huhn mit Stomatitis equi-Virus.

Fig. 18. Pockeneruption am Bauche eines Kalbes mit Geflügelpockenvirus.

Fig. 19. Pockeneruption beim Huhn mit Vakzinevirus.

*Nachdruck verboten.*

## Balantidien-Colitis.

[Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut Nr. 2 der königl. ungar. Universität der Wissenschaften in Budapest (Direktor: Prof. Dr. Edmund Krompecher).]

Von Dr. Elemér Forrai.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Am 5. November 1921 kam von der III. internen Klinik ein Fall zur Sektion, der bereits den Klinikern, die die Diagnose für Typhus abdominalis und Nephritis acuta stellten, eine Ueberraschung brachte, da der Sektionsbefund eine akute Endocarditis, Sepsis, parenchymatöse Degeneration der Nieren, sowie eine ulzeröse Colitis zeigte. Die Ueberraschung wurde jedoch noch größer bei der mikroskopischen Bearbeitung zweier Geschwüre des Dickdarmes, wo in der Tiefe der Submucosa große, bei Eisenhämatoxylinfärbung an der ganzen Oberfläche mit gut sichtbaren Wimpern versehene, 1zellige Lebewesen, die Balantidien, zu finden waren.

Die Balantidien, beziehungsweise die von denselben verursachten Enteritiden, wurden bisher in über 200 Fällen beschrieben [Hartmann-Schilling (1)]. Was die geographische Verbreitung anbelangt, so wurde die Balantidienenteritis nach der Literaturzusammenstellung Prowazeks (2) in Europa, Asien, Afrika und Amerika beschrieben. In Europa stammen die meisten Fälle aus den skandinavischen Staaten und Finnland [Sievers (3)]. In Ungarn ist bis zurzeit kein Fall beschrieben worden, so daß dieser meines Wissens der erste ist. Der erste Beobachter der Balantidien war wahrscheinlich Leeuwenhoek in den eigenen Fäzes. Die erste klassische Schilderung der Krankheit stammt von Malmsten [Stockholm 1857 (4)]. Er hält die Balantidien zwar für pathogen, drückt sich jedoch ziemlich vorsichtig aus. Seither hat sich langsam die halbwegs sichere Ueberzeugung ihrer Pathogenität entwickelt. Die Balantidien gehören zu den Infusorienciliaten, sind mehr oder weniger formbeständige Protozoen. Sie sind an der ganzen Oberfläche mit Zilien bedeckt und die Wimpern vereinigen sich bei dem Cytostom zu einer Lamelle, dem charakteristischen Merkmale der Ordnung der Heterotricha. Die Größe der Balantidien beträgt 60—100  $\mu$ , im fixierten Präparate 40—60  $\mu$ . Die Zelle ist von einer Pellicula umgeben, von ovaler Form und sondert sich in ein alveoläres Ektoplasma und ein mit Nahrungsbestandteilen ausgefülltes Entoplasma. Im letzteren befindet sich der mit basischen Anilinfarben tingierende Großkern (somatischer Kern) und neben demselben der Kleinkern (Geschlechtskern), welchem bei der geschlechtlichen Teilung eine wichtige Rolle zukommt. Die Zilien inserieren unter der Pellicula in Basalkörpern. Im Zelleibe befinden sich 2 kontraktile Vakuolen, in welchen sich Flüssigkeit sammelt, die periodisch entleert wird. Die Nahrungsaufnahme erfolgt an einer besonders lokalisierten Mundstelle am Cytostom. Die Nahrungskörper werden durch die Tätigkeit der Geißeln an die Mundstelle herangestrudelt. Die in den Nahrungsvakuolen verdaute Nahrung wird an einer präformierten Stelle des Zelleibes, der Afterstelle, ausgestoßen. Wising beschrieb das Vorkommen roter Blutkörperchen in den Nahrungsvakuolen. Solowjew (5) fand Bakterien, v. Prowazek beobachtete auch polynukleäre und mononukleäre Zellen in verschiedenen Stadien der Verdauung, wo das Chromatin der Zellen, das am meisten Widerstand leistete, schließlich zu stark färbaren Klumpen vereinigt wurde. v. Prowazek verfolgte die Verdauung bei Anwendung von Neutralrot, die Nahrungsvakuolen reagierten anfangs sauer (Kirschrot), dann alkalisch (Gelbrot). Glaessner (6) untersuchte Balantidienextrakte auf proteolytische Enzyme mit negativem Erfolge, fand jedoch ein starkes diastatisches Ferment sowie daß die Extrakte Menschen-, Hunde- und Kaninchenblut hämolysierten. Pankreastermente wurden durch, von anderen an Colitis leidenden Kranken stammenden, Kontrollen ausgeschlossen. Die Vermehrung geschieht einfach durch Querteilung, wobei sich der Großkern hantelförmig teilt, also ungeschlechtlich, und wird zeitweise von sexuellen Konjugationen abgelöst, wobei sich

die Kleinkerne mehrfach teilen. Enzystierung erfolgt nach v. Prowazek in der Weise, daß ein Teil der Nahrung ausgestoßen wird, die Zellen runden sich ab, die Zilien verquellen und um das runde Individuum wird eine lichte, doppeltkonturierte Membran ausgeschieden; die kontraktile Vakuolen werden entleert. Die Zysten, die angeblich die Weiterinfektion vermitteln, halten sich nach Brumpt lange im Wasser, sollen jedoch der Austrocknung nicht widerstehen. Die Balantidien leben, aus dem Darne herausgeholt, maximal 30 Std., gehen jedoch oft viel rascher zugrunde. So bemerkt Malmsten am Ende seiner Beschreibung, daß er die Tierchen vom Darminhalt nach der Sektion an der Akademie der Wissenschaften demonstrieren wollte; dieselben waren jedoch nicht mehr zu finden. Die Züchtung von Balantidien soll Walker gelungen sein. Sie scheinen in dem Dickdarm der Schweine keine Seltenheit zu sein, da Askanazy (7) in Königsberg den Darminhalt von 17 Schweinen untersuchte und die Ciliaten in 10 Fällen fand.

Infektionsversuche versagten fast überall. In dieser Hinsicht müssen die Schweinebalantidien von den menschlichen gesondert betrachtet werden. Grassi und Calandruccio konnten sich selber mit Schweinebalantidien nicht infizieren. Wising und Ekecranz experimentierten an gesunden Hunden und spritzten Menschen Balantidien enthaltenden Kot per anum ein. Rapschewsky stellte seine Versuche mit Hunden an, deren Dickdarm er vorher mit Crotonöl irritiert hatte. Klimenko (8) versuchte dasselbe mit jungen Hunden. Alle diese Versuche sowie die von Glaessner und Solowjew versagten. Casagrandi gelang es, rektal junge Katzen mit Schweinebalantidien so weit zu infizieren, daß er enzystierte Balantidien im Darne fand. Brumpt infizierte Affen mit menschlichen Balantidien und dann gelang es ihm, Ferkel mit den Balantidien der Affen zu infizieren, was nach Jollos (9) ein ziemlich starkes Argument dafür wäre, daß die Schweinebalantidien, welche für die Wirtstiere nie pathogen sind, von den menschlichen sich unterscheiden. Walker soll es gelungen sein, die Identität der menschlichen und Schweinebalantidien zu beweisen, sowie die Infektion mit *Balantidium coli hominis et suis*.

Infektion: Es ist fraglich, wie sich der Mensch mit Balantidien infiziert. Fast in allen bisher bekannten Fällen wurde festgestellt, daß die Erkrankten sich mit Schweinen befassen. Klimenko hält es für wahrscheinlich, daß die Infektion nur durch enzystierte Formen möglich ist, da die Balantidien äußeren Einflüssen gegenüber eine ziemlich geringe Resistenz zeigen und dem tierischen Magensaft nicht standhalten konnten. Nach Henschens Versuchen wurden sie von Salzsäure in der Verdünnung von 1:1000 in einigen Minuten getötet.

Die klinischen Symptome sind durch die Durchfälle beherrscht. Die Kranken sind oft anämisch, die Stühle flüssig. Im Blutbilde wurde Mangel an Eosinophilen beschrieben. Das klinische Bild ist also nicht besonders charakteristisch, mit Ausnahme der im Stuhle auffindbaren, sich lebhaft bewegenden Balantidien. Die therapeutischen Versuche sind, wie v. Prowazek betont, „nicht aus dem Stadium der rohen Empirie herausgetreten“.

Die klassische Schilderung der pathologisch-anatomischen sowie histologischen Veränderungen ist bei Dopter (10) zusammengefaßt, wonach die wichtigsten Befunde die des Dickdarmes sind. Die Veränderungen beziehen sich meistens auf das ganze Gebiet des Dickdarmes und äußern sich manchmal nur im Aufquellen der Mucosa, die ödematös, dunkelrot, an anderen Stellen schiefergrau, mit blutigem Schleime bedeckt ist. Andersmal finden sich Geschwüre, manchmal nur ganz kleine Substanzverluste, und vereinzelt; so fand sich im Falle Klimenkos im Colon ascendens nur ein einziges Geschwür. Die Geschwüre sind oval, ihr Rand unregelmäßig, ihre Längsachse auf die des Darmes senkrecht gestellt, also quergestellte Geschwüre, die sich auch bis zur Muskelschicht verbreiten, mit unterminiertem Rande. Zwischen den Geschwüren ist die Mucosa aufgequollen, hyperämisch, die Submucosa verdickt, das Peritoneum injiziert. Die mesenterialen Drüsen sind vergrößert. Histologisch ist die Mucosa zwischen den Geschwüren aufgequollen, ödematös, die Drüsen sind erweitert, meistens nekrotisiert, das Interstitium ödematös, mit Massen von Wanderzellen gefüllt und an den Stellen, wo die Wanderzellen in größter Masse vorhanden sind, findet man Balantidien. In den nekrotischen Gebieten sind Balantidien nirgends nachzuweisen. An anderen Stellen nimmt die Entzündung mehr einen proliferativen Charakter an, das Bindegewebe hat sich vermehrt, die Drüsen sind atrophisch. Die *Muscularis mucosae* ist überall unversehrt, die Submucosa stark verdickt, ödematös, stark vaskularisiert, voll von Wanderzellen und im Gewebe sind überall zerstreut ovale Balantidien, ungefähr 2mal so groß wie die Dysenterieamöben. In der Submucosa sind große Nekrosen zu finden mit Detritusmassen, jedoch findet man hier keine Balantidien, sondern nur im Gebiete der Entzündung. Die Geschwüre haben in der Mucosa eine ziemlich geringe Ausbreitung, sind jedoch desto ausgebreiteter in der Submucosa. Da erweitern sie sich, die Ränder sind nekrotisch und hier sind wieder

keine Balantidien. In den anderen Organen ist, mit Ausnahme einer parenchymatösen Degeneration der Nieren, meistens nichts Besonderes zu finden, obzwar — wie Klimenko betont — es sogar wahrscheinlich ist nach den Parasitenbefunden in den Gefäßen der Darmwand, daß die Balantidien Parasitenembolien verursachen. So wäre auch der Fall von Stokwis zu erklären, der im Sputum eines von den Sundainseln heimgekehrten Soldaten Balantidien fand. Dopter nimmt an, daß die Balantidien mit ihrer raschen Bewegung in die Mucosa gelangen, sie dringen durch die Muscularis mucosae und verursachen eine Entzündung; der Abszeß bricht in das Lumen des Darmes durch und bringt das Geschwür zustande, ganz den Amöbengeschwüren entsprechend, nur mit dem Unterschiede, daß die Amöben im Geschwüre vorzufinden sind, die Balantidien nicht.

In dem zu beschreibenden Falle waren die klinischen Symptome kurz die folgenden:

Von der Kranken (Frau eines Landmannes) konnte keine Anamnese aufgenommen werden, da ihr Sensorium gestört war. Ihre Verwandten erzählten, daß sie früher stets gesund gewesen und vor 2 Wochen mit Schüttelfrost erkrankt ist. Von einem Durchfall wurde nichts erwähnt. Temperatur bei der Aufnahme 39° C, Puls 140. Dyspnoe. Auf der Haut des Rumpfes kleine, stecknadelkopfgroße Blutungen. Der physikalische Befund ist, mit Ausnahme eines an der Herzspitze hörbaren, schwachen systolischen Geräusches, nicht charakteristisch. Harn spez. Gewicht 1018, Eiweiß  $\frac{1}{4}$ , Prom., zellige, körnige Zylinder, rote Blutkörperchen in jedem Gesichtsfelde. Im Blutbilde fehlten die Eosinophilen. Agglutination: Typhus, Paratyphus A und B, sowie X 19 negativ. Bakteriologische Blutuntersuchung negativ. Das klinische Bild entsprach einem septischen Zustande, da jedoch keine Infektionsporte zu finden war und die Kranke aus einer Gegend kam, wo Typhus endemisch war, dachte man an Typhus und faßte die Nephritis auch als eine Lokalisation des Typhus auf. 2 Tage nach der Aufnahme starb die Kranke.

Die Diagnose des Obduktionsprotokolles lautet: Endocarditis acuta verrucosa der Mitralklappe. Anämische Infarkte der Milz und Niere. Akute Milzschwellung. Ulzeröse Colitis. Myodegeneration und Paralyse des Herzens. Hypostase der Lungen. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Nieren. Graviditas.

Aus dem Sektionsprotokoll lautet der, den Darm beschreibende Teil: Die Gedärme sind mittleren Umfanges. Die Mucosa des Dünndarmes ist verdünnt, die Gefäße der Submucosa scheinen stark durch. Der Dickdarm ist mittleren Umfanges. An der Schleimhaut des Colon ascendens und transversum zahlreiche stecknadelkopf- bis linsengroße, oberflächliche Substanzverluste, an deren Mittelpunkt gelbe, nekrotische Massen zu sehen sind. Ihre Umgebung ist von einem blutigen Hofe bunt. Die Geschwüre finden sich in größter Zahl im Coecum, vermindern sich im Colon ascendens; im Colon transversum sind nur punktartige Blutungen zu finden. Sigma ist frei.

Mikroskopisch: Das Epithel sowie die Drüsen des Dickdarmes sind meistens nekrotisch, in der Tunica propria breitet sich ein Granulationsgewebe aus, welches junge Bindegewebszellen und zahlreiche Leukozyten und Mastzellen enthält. Muscularis mucosae überall unversehrt. Die Submucosa ist stark verdickt, hyalin entartet, an anderen Stellen völlig nekrotisiert. Es finden sich größere Detritusmassen mit zahlreichen Leukozyten, an anderen Stellen ist eine proliferative Entzündung zu sehen mit gut vaskularisiertem Gewebe, mit lympho- und leukozytärer Infiltration. In der Muscularis finden sich an einzelnen Stellen Infiltrationen. In der Mucosa sind — obzwar sehr vereinzelt — an der Grenze der Muscularis mucosae Balantidien zu finden, die in der Submucosa an den entzündlichen Stellen zahlreich werden. Einzelne sind an den Rändern des nekrotisierten Gebietes sichtbar. In den längs- sowie quergetroffenen Gefäßen sind zahlreiche Balantidien zu finden, deren Cilien bei der Eisenhämatoxylinfärbung sehr gut sichtbar sind. An denselben können die Mundöffnungen leicht gefunden werden. Bei manchen sind bei der Mundstelle rote Blutkörperchen zu sehen, von den Kernen nur der Großkern. Die Parasiten haben 1—2 Vakuolen; manche wurden gerade bei Entleerung derselben fixiert. In vereinzelt nimmt zwar der Großkern

Hantelform an, es ist jedoch fraglich, ob dieselben als beginnende Teilungsfiguren anzusehen sind. Allerdings konnte bei der Saffraninfärbung kein Tinktionsunterschied nachgewiesen werden. Die von Askanazy und Solowjew gefundenen freien Parasitenkerne sind auch wiederzufinden. An einzelnen Stellen sind wahre Nester von Balantidien zu sehen. In den kleineren, längsgetroffenen Gefäßen sind Reihen von 8—10 Balantidien, in den etwas größeren Venen der Submucosa, die im Schnitte quergetroffen wurden, 20—30 Balantidien zu sehen. In der Submucosa finden sich Balantidien in langen Ketten. In den Gefäßen kann man denselben sogar tief in die Muskelschicht folgen. In den, nach Giemsa gefärbten, sehr dünnen Cel-

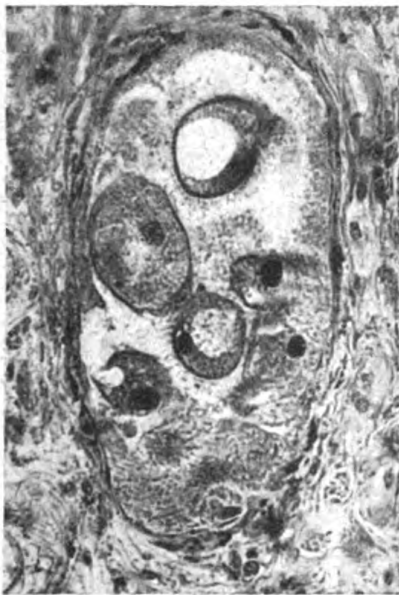


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 1. Balantidien in einem quergetroffenen Gefäße der Submucosa des Dickdarmes. Färbung: Eisenhämatoxylin, Van Gieson, Orcein. Vergrößerung: 450 $\times$ .

Fig. 2. Balantidium bei der Entleerung der Vakuole. Färbung: Eisenhämatoxylin, Van Gieson, Orcein. Vergrößerung: 800 $\times$ .

Fig. 3. Balantidium striiert. Färbung: Giemsa. Siehe Text. Vergrößerung 950 $\times$ .

loidinschnitten gelang es gut, die reihenweise angeordneten Basalkörper zu finden. Der Parasit erschien bei schwächerer Vergrößerung radiär striiert und erst bei Betrachtung mit Immersion lösten sich die Striae in kleine, rote Körner auf. Mit Lugolscher Lösung konnte im Entoplasma eine deutliche, sich stahlblau färbende, grobe Körnung nachgewiesen werden. Berlinerblaureaktion gaben die Balantidien nicht. Eosinophil gekörnte Zellen waren in der Darmwand nicht zu finden, Mastzellen zahlreich. Bakterienbefund nicht einheitlich. An einzelnen Stellen Bazillen, an anderen Kokken, von letzteren sogar einzelne Ketten.

Was die Pathogenität der Balantidien betrifft, so waren die Meinungen der Forscher ziemlich lange verschieden, es mehrten sich jedoch die Argumente, die für die Pathogenität sprachen, so, daß sich heute die meisten Autoren dieser Ansicht anschließen. Die fast entscheidenden Beweise wurden von Askanazy und Solowjew 1901 geliefert, indem es gelang, die bis dahin nur im Darminhalte gefundenen Balantidien in der Darmwand in Schnittpräparaten zu zeigen. Askanazy hält die Fähigkeit der aktiven Invasion in das menschliche Gewebe für das Kriterium der Pathogenität. Dieser Invasion würden sich dann die Folgen anschließen. Solowjew ist derselben Meinung und nimmt die Invasion als *intra vitam* geschehene in seinem Falle aus folgenden Gründen an: 1. Sollten die Balantidien *post mortem* vom Darminhalt in die Darmwand eingedrungen sein, so würden sie am einfachsten durch die Geschwüre dahin gelangen und wären daselbst zu finden, oder es wäre der Weg zu sehen, den diese, relativ großen Tiere, im nekrotisierten Gewebe genommen haben, was jedoch nicht der Fall ist. 2. Die Leichen sind an kalten Stellen, daher unter für die Balantidien ungünstigen Bedingungen aufbewahrt worden. 3. Ist eine entzündliche Reaktion zu finden. Bakterien sind zwar vorzufinden gewesen, aber 1. ohne begleitende entzündliche Reaktion und 2. nicht einheitlichen Charakters. Askanazy hält es für möglich, daß die Bakterien das Eindringen der Balantidien erleichtern. Einer der wichtigsten Befunde ist jedoch das Eindringen der Balantidien in die Gefäße, wo sie von Askanazy, Solowjew und Klimienko gefunden wurden. Dies kann ich auf Grund meiner Präparate bestätigen, wo die Balantidien in zahlreichen Gefäßen nachweisbar sind. Askanazy untersuchte die Dickdärme von Schweinen, in deren Darminhalt Balantidien vorzufinden waren, fand jedoch die Parasiten daselbst nie, nicht einmal in Fällen, wo die Schleimhaut ausgesprochene entzündliche Veränderungen darbot. Das würde der Erfahrung entsprechen, daß die Balantidien bei Schweinen keine pathologischen Veränderungen hervorrufen.

Es ist fraglich, ob sich die Balantidien in der Darmwand vermehren. Die großen Nester, in welchen sich die Balantidien in der Submucosa eingelagert befinden, sprechen dafür, daß die Parasiten sich im Darmgewebe vermehren. Fast ganz freie Parasitenkerne sind in der Darmwand zu finden. Dieselben wurden von Solowjew für junge, von Askanazy für untergehende Ciliaten gehalten. Löhlein und Jaffé fanden, daß die freien Parasitenkerne sowie kernlose Balantidien stets nur in den Nekrosen zu finden sind. Jaffé denkt daher daran, daß die lebenden Parasiten zwar ein Stoffwechselprodukt absondern, das zu Infiltrationen Anlaß gibt, jedoch selten so stark wirkt, daß dadurch Gewebnekrosen erzeugt werden; er glaubt, daß die letzteren vielmehr erst durch beim Zerfall der Parasiten freiwerdende giftige Substanzen entstehen (Jaffé, 11). Was die Lage der freien Kerne und der kernlosen Balantidien betrifft, so kann ich auf Grund meiner Präparate den Befund von Jaffé bestätigen.

Den Befund zusammenfassend, war an meinen Präparaten folgendes zu sehen: Oberflächliche Darmgeschwüre, die bis zur Muscularis mucosae reichten. Granulationsgewebe in der Schleimhaut mit zahlreichen Mastzellen und neutrophilen Leukozyten. Unversehrte Muscularis mucosae. In der Submucosa Nekrosen und Entzündung mit starker Verdickung dieser Schicht. In der Muscularis an einzelnen

Stellen Rundzelleninfiltrate. In sämtlichen Schichten sind die Balantidien zu finden in den verschiedensten Lebensfunktionen. Eisenreaktion gaben dieselben nicht, enthalten jedoch sich mit Jod stahlblau färbende Körner, sowie weiße Blutzellen. Sie sind in den Kapillaren und in den größeren Gefäßen massenhaft zu finden. Zwischen den Kernen sind einzelne hantelförmige. Freie Kerne und kernlose Parasiten sind in den Nekrosen zu finden. An einzelnen Stellen sind Bazillen, an anderen Kokken, darunter auch Kettenkokken, zu finden.

Es kann nun die Frage aufgeworfen werden, ob die Balantidien bei der, in diesem Falle gleichzeitig gefundenen Endocarditis und Sepsis keine Rolle gespielt haben? Die Balantidien konnten die Endocarditis selber verursachen, da sie in den Gefäßen in so großen Massen vorzufinden sind. Es kann aber den Balantidien auch die Rolle des Kartoffelnährbodens zukommen, der mit den Kokken in Ribberts Experiment benützt wurde. Die Balantidien sind vom Darmlumen aus in die Gefäße eingedrungen und konnten dadurch das Eindringen von Bakterien erleichtern. Von Klimenko wurden sogar Bakterien beobachtet, die an den Cilien der Balantidien zu finden waren.

Da jedoch die Diagnose der Balantidiasis erst später, auf Grund histologischer Untersuchung gestellt wurde, konnten leider weder fernere bakteriologische Untersuchungen, noch eventueller histologischer Nachweis vorgenommen werden; es ist daher zwar nicht begründet, den Balantidien bei dem Hervorrufen der Endocarditis eine Rolle zuzuschreiben, doch ist diese Möglichkeit nicht auszuschließen.

#### Literatur.

- 1) Hartmann, M., u. Schilling, L., Die pathogenen Protozoen. 1917. S. 409.
- 2) v. Prowazek, S., Handb. d. pathog. Protozoen. Lief. 6. S. 842. 1914.
- 3) Siwers, R., Ueber *Balantidium coli* im menschlichen Darm und dessen Vorkommen in Schweden und Finnland. (Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. 5. 1900.)
- 4) Malmsten, Virch. Arch. Bd. 12. 1857.
- 5) Solowjew, Das *Balantidium coli* als Erreger chronischer Durchfälle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29.)
- 6) Glaessner, Ueber Balantidienenteritis. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.)
- 7) Askanazy, Verhandl. d. deutsch. Pathologischen Gesellsch. 1902.
- 8) Klimenko, Beitrag zur Pathologie des *Balantidium coli*. (Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. 33. 1903.)
- 9) Jollos, Darminfusorien des Menschen. (Handb. d. pathog. Mikroorgan. v. Kolle u. Wassermann. 2. Aufl. Bd. 6. 1913. S. 704.)
- 10) Dopter, Arch. de méd. expérim. et d'anat. pathol. T. 19. 1907.
- 11) Jaffé, Centralbl. f. Path. Bd. 30. Nr. 7.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein neuer Fall von *Taenia cylindrica*.

[Aus dem Parasitologischen Laboratorium der Universität Jassy].

Von Prof. Dr. N. Leon.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Dieser Bandwurm, welcher in den Fäkalien einer Patientin des St. Spiridon-Krankenhauses in Jassy gefunden wurde, wurde unserem Laboratorium von meinem früheren Schüler, Adrian Dornescu zugeschickt. Auf den ersten Blick hatte er den Anschein eines Nematel-

minthen; näher betrachtet, zeigte sich jedoch, daß wir es mit einer 52 cm langen *Taenia cylindrica* zu tun hatten, welcher der Kopf fehlte. In dem gleichen Glasgefäß befanden sich noch 3 Strobilastücke, und zwar 1 von 3 cm, 1 von 9 cm und die letzte von 4 cm Länge. Ihrer zylindrischen Form nach konnte man mit Leichtigkeit erkennen, daß diese nur losgerissene Bruchstücke aus dem Körper des großen Wurmes waren, so daß die Gesamtlänge des Bandwurmes — ohne Kopf und Hals — etwa 58 cm beträgt.

Der 24 cm lange Vorderteil des Bandwurmes besteht aus vollkommen zylindrischen Gliedern, welche eine Länge von 5—6 mm und eine Dicke von 1 mm Diameter haben.

Der etwa 28 cm lange hintere Teil besteht aus alten Gliedern, deren verzweigte Uteri vollgefüllt mit Eiern waren; die längsten davon waren



Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Verschiedene Gliederstrecken einer *Taenia cylindrica*. Natürl. Größe. A. Vorderer Teil. B. Hinterer Teil.

Fig. 2. Querschnitt durch die Proglottis des vorderen Teiles von *Taenia cylindrica* durchgeführt.

28 mm lang und 1,05 mm breit. Obwohl die Glieder auf den ersten Blick zylindrisch erscheinen, sind sie in Wirklichkeit doch breit und schwächig und ihr Querschnitt ist nicht kreisförmig, sondern rechteckig.

Bei näherer Betrachtung der älteren Glieder habe ich eine gewisse Ähnlichkeit mit *Taenia tenella* Cobbold (nec *T. tenella* Pallas, 1781; nec *T. tenella* Pruner, 1847) bemerkt.

Die Verzweigungen des Uterus sind alle mit Eiern gefüllt und ihre Aeste derartig untereinander verflochten, daß wir ihre genaue Zahl nicht bestimmen konnten; die Genitalpapillen alternieren am Rande unregelmäßig.

Die Unterschiede sind noch viel größer als die Ähnlichkeiten. Die Cobboldsche Art wurde begründet nach kleinen Exemplaren mit langen Gliedern von nur 7,62 mm, die 3,8 mm breit waren, während unser Exemplar eine Länge von 52 cm hat und seine älteren Glieder (Fig. 1 B) sind 28 mm lang und sehr schwächig sind. Diese Tatsache scheint zu



beweisen, daß M. Brauns Behauptung, daß *Taenia tenella* Cobbold weiter nichts sei als eine schwächige *T. solium*, begründet ist.

Unsere *Taenia* scheint sich nach ihrer Länge und anderen Charakteren mehr der von Guzzardi Asmundo beschriebenen *Taenia solium* var. *minor* zu nähern. Ihr ähnelt sogar die Länge der reifen Glieder als auch die Form der Eier, von denen einige ovoidal, andere rund sind. Trotzdem unterscheidet sie sich auch von dieser Art durch die zylindrische Form ihrer Glieder. Brunneau, zitiert von R. Blanchard in seiner *Zoologie médicale*. p. 359, beschreibt ein 75 cm langes Stück eines von einer Frau stammenden Bandwurmes, welcher sehr kleine, jedoch beinahe zylindrische Glieder hatte und deren Genitalporen eine sehr ausgesprochene Prominenz zeigten.

Diese *Taenia* von Brunneau war dunkelbraun, während unser Exemplar weiß ist. Im vorliegenden Falle glauben wir es mit einer *Taenia cylindrica* tun zu haben, wie man aus Fig. 1 wie auch an der Fig. 2, die Photographie eines Querschnitts durch die Proglottiden des vorderen Teiles, ersehen kann. Die letzten Glieder, d. h. die älteren, haben ihre Form erst geändert, nachdem ihre Geschlechtsorgane verschwunden sind; sie sind dadurch breit und schwächig geworden.

*Nachdruck verboten.*

## Reduktionsversuche mit Bakterien.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität in Budapest  
(Direktor: Prof. Hugo Preisz).]

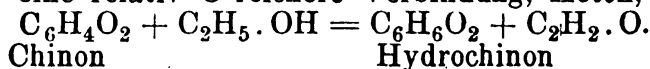
Von Dr. Ludwig Gózony und Dr. Eugen Kramár.

Ueber die reduzierende Fähigkeit der Bakterien ist schon ziemlich viel gearbeitet worden. Daß wir trotzdem auf diesen Gegenstand zurückkommen, ist einerseits dadurch begründet, daß wir in der uns zur Verfügung stehenden Literatur keine diesbezügliche systematische Untersuchung gefunden haben und andererseits die verschiedenen Untersucher widersprechende Angaben machen.

Die durch Bakterien verursachte Reduktion steht nach den bisherigen Untersuchungen zweifellos mit ihrem O<sub>2</sub>-Verbrauch im Zusammenhang. Nach Palladin<sup>1)</sup> kann Oxydation auf dreierlei Art stattfinden:

1) Oxydation auf Kosten des O<sub>2</sub> der Luft,

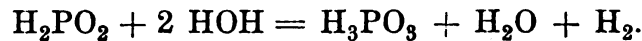
2) Oxydation durch H-Entziehung. In diesem Falle wird das Molekül durch H-Austritt nur relativ reicher an Oxygen. Es ist von Ciamician<sup>2)</sup> festgestellt, daß Alkohole durch das Sonnenlicht zu Ketonen oxydiert werden, wenn Chinon als Oxydationsmittel zugegen ist. Diese Wirkung kommt derart zustande, daß H aus dem Alkohol in das Chinon tritt, wodurch dieses zu Hydrochinon wird, während aus dem Alkohol eine relativ O-reichere Verbindung, Keton, entsteht.



1) *Biochem. Zeitschr.* Bd. 35. S. 1.

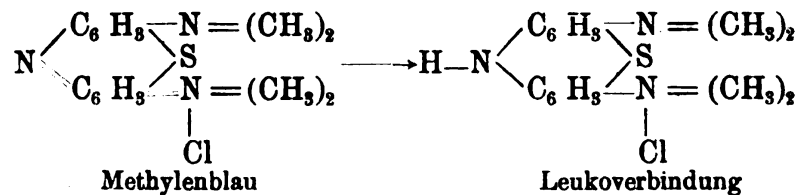
2) *Ber. d. Deutsch. Chem. Ges.* Bd. 34. S. 1530.

3) Oxydation auf Kosten von gebundenem O. Wenn Methylenblau reduziert wird, findet unter Benützung des im Wassermolekül gebundenen O auch eine derartige Oxydation statt. Bach<sup>1)</sup> hat gefunden, daß eine wässrige Lösung von Hypophosphorsäure, mit Palladiumschlamm vermengt, Phosphorsäure ergibt, während H<sub>2</sub> frei wird. Wenn diesem Gemisch vorher Methylenblau zugefügt wurde, dann ging die Entfärbung des Methylenblaus Hand in Hand mit der Oxydation der Hypophosphorsäure.



Das frei werdende H<sub>2</sub> tritt in das Methylenblaumolekül, welches dadurch zur farblosen Leukoverbindung wird.

Es ist wahrscheinlich, daß die Bakterien das Methylenblau auf dieselbe Art reduzieren. Indem sie den Sauerstoff des Wassers benützen, wird H frei, dieses tritt in das Methylenblau-Molekül, welches dadurch zur Leukoverbindung wird.



Ob diese Reduktion mit dem Leben der Zellen unmittelbar zusammenhängt, ist strittig und die vorliegenden Untersuchungen haben zum Teil auch den Zweck, diese Frage zu klären.

Im Laufe unserer Versuche haben wir zuerst den für das Studium der Reduktion geeignetsten Farbstoff gesucht. Zu diesem Zwecke haben wir aus den 27 Std. alten Agarkulturen von *B. coli*, *anthracis*, *dysenteriae* Shiga, *dysent. Y*, *dysent. Strong*, *Vibrio cholerae* und *Staphylococcus* möglichst dicke Suspensionen gemacht und zu je 1 ccm der Suspensionen verschiedene Farbstoffe gefügt (Methylenblau, Methylenazur, Toluidinblau, Thionin, Lackmus, Indigokarmin, Neutralrot, Pyronin, Wollschwarz, Trypanblau, Fluorescein).

Dieser Versuch hat uns gezeigt, daß die der Methylenblaugruppe angehörigen Farbstoffe (Methylenblau, Toluidinblau, Thionin, Methylenazur) von den bakterienreichen Emulsionen sofort und gleichartig reduziert werden, während diese Wirkung bei den andern erst nach Std. (manchmal erst nach 24 Std.) eintritt und sich die Veränderung auch nach Bakterienarten verschieden gestaltet. So verändern z. B. *Bac. anthracis* und *Vibrio cholerae* Pyronin und Neutralrot selbst nach 24 Std. nicht; jedoch werden diese Farbstoffe von *B. coli*, *dysenteriae* Shiga, *Y*, und *Staphylococcus* wenn auch erst nach längerer Zeit, entfärbt. Der zeitliche Ablauf der Reaktion ist bei diesen beiden Farbstoffgruppen so verschieden, daß diese bei der letztgenannten vielleicht gar nicht in der geschilderten Weise abläuft.

Durch diesen Vorversuch haben wir das Methylenblau als den geeignetsten Farbstoff zur Untersuchung der reduzierenden Fähigkeit der Bakterien festgestellt.

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 31.

Da der eventuell geringe Einfluß der Bedingungen auf die Reduktion nur zu beobachten ist, wenn wir die genaue Dosierung der Bakterien in der Hand haben, war unsere nächste Aufgabe, eine entsprechende Methode auszuarbeiten. Die von den Voruntersuchern angewendeten Verfahren erwiesen sich nicht als zweckmäßig; auch fanden wir es nicht richtig, die Bakterien zu wiegen, wie das Cathcart und Hahn<sup>1)</sup> getan haben, weil ja die gleich schweren Bakterien Dosen, von dem Flüssigkeitsgehalt abhängig, verschieden viel Bakterien enthalten können. Doch hängt die Reduktionsfähigkeit, wie das aus unseren späteren Untersuchungen hervorgeht, unter sonst gleichartigen Bedingungen in ziemlich empfindlicher Weise von der Bakterienzahl ab. Wir haben deshalb eingesehen, daß eine objektive Auswertung unserer Versuche nur bei Anwendung einer solchen Methodik möglich ist, welche durch serienweise Einstellung einen Vergleich ermöglicht.

Zu diesem Zwecke gingen wir folgendermaßen vor: Kulturen auf schiefem Agar wurden mit physiol. Kochsalzlösung abgewaschen, die so gewonnenen gleichmäßigen Suspensionen zu Fünfer-Serien verarbeitet. Es wurde nämlich in gleichgroße Probierröhrchen von je 12 mm Durchmesser nacheinander 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 ccm Suspension abgemessen und, nachdem diese Quanten mittels physiol. Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt waren, 2 Tropfen 0,4‰ frischer Methylenblaulösung zugefügt. Nun wurde der Inhalt durch 3maliges Heben und Senken des Röhrchens vermischt und 2 fingerbreit steriles Paraffinöl darüber geschichtet. Hierauf beobachteten wir den Reduktionslauf mit ständiger Aufmerksamkeit. Die Reduktion beginnt am Grunde des Röhrchens, was durch das Abblauen des Methylenblauen angezeigt wird (+); später wird das Methylenblau am Grund des Röhrchens vollständig farblos, die himmelblaue Farbe darüber blaßt weiter ab (++, bzw. +++ Reaktion), noch später ist nur noch unter der Paraffinschicht ein 5 mm dicker, blauer Ring zu sehen (++++), welcher im Falle vollständiger Reduktion bald farblos wird (++++).

Auf diese Weise stellten wir den Grad der Reduktion durch Berücksichtigung dreier Faktoren (Zeit, Dichte der Bakterien, Intensität der Entfärbung) fest.

In der folgenden Darstellung sind die Tabellen aus äußeren Gründen fortgelassen worden. Interessenten stehen sie im Manuskript zur Verfügung.

## I. Der Einfluß des Alters der Bakterien auf die Reduktion.

Wir haben zu diesen Versuchen zweierlei Kulturen angewendet, solche auf schiefem Agar und Bouillonkulturen. Die verschiedenen (1—9 Tage alten), bei 37° gezüchteten Agarkulturen wurden mit 2 ccm physiol. Kochsalzlösung abgewaschen und die so gewonnenen Suspensionen in Fünfer-Serien von 0,1—0,5 ccm ansteigend in Probierröhrchen verteilt. Zugleich wurden zwecks Feststellung der Zahl der in der Suspension enthaltenen lebenden Keime 2 mg Suspension in 5 ccm Verdünnungsbouillon übertragen und mit 2 mg aus dieser Verdünnung Platten gegossen. Die so gefundene Keimzahl wurde auf 0,5 ccm der ursprünglichen Suspension umgerechnet.

Aus diesen Versuchen war folgendes ersichtlich:

1) Arch. f. Hyg. Bd. 44.

1) Die auf festem Nährboden wachsenden Bakterien reduzieren ohne Ausnahme in den 24 Std. alten Kulturen am besten. Die Feststellung der Tatsache, daß die Keimzahl stets in der 24 Std.-Kultur am größten ist, erklärt uns diese Beobachtung. So wie die Keimzahl mit dem Alter der Kultur abnimmt, verringert sich auch der Grad der Reduktion.

2) Um eine vollständige Reduktion (+ + + + +) zu erzielen, benötigen wir eine gewisse Anzahl von Keimen. Diese minimale Keimzahl ist für die verschiedenen Bakterienarten nicht gleich, d. h. die Bakterien reduzieren in verschiedener Stärke.

*Vibrio cholerae* gehört zu den am besten reduzierenden Bakterien, ganz gut reduzieren auch *B. paratyphi* B und *Proteus* X<sub>19</sub>; hingegen ist die reduzierende Fähigkeit von *B. coli*, *dysenteriae* Shiga, *dysent. Strong*, *B. typhi* schon viel geringer. Von den von uns untersuchten Bakterien reduzierte unser Stamm von *B. enteritidis* Gärtner am schlechtesten, wir brauchten zur Erreichung der vollständigen Reduktion das 10fache an Keimen, wie von *Vibrio cholerae*. Dieser Unterschied wird noch auffallender, wenn wir diejenige Keimzahl suchen, bei welcher eine sichtbare Reaktion noch zustande kommt: während 35 Millionen Keime von *Vibrio cholerae* das Methylenblau wenigstens zum Teil entfärben, werden von dem *B. enteritidis* Gärtner 3423 Millionen Keime, also das 100fache, benötigt.

3) Die Reduktionsfähigkeit hört bei den verschiedenen Bakterienarten in verschieden alten Kulturen auf. So zeigen z. B. selbst die 9 Tage alten Kulturen von *B. typhi*, *paratyphi* A und B, *enteritidis* Gärtner, *Coli*, *Bipolaris* Spuren der Reduktion, während *B. dysenteriae* Shiga, in 4—6 Tage alter, *Dysent. Strong* in 6, *Vibrio cholerae* in 8, *Micrococcus tetragenus* auch schon in 5 Tage alter Agarkultur nicht mehr reduzieren. Das Ergebnis der Keimzählung erklärt uns auch diese Erscheinung: die Keimzahl der letztgenannten Bakterienarten nimmt in den älteren Kulturen viel rascher ab. Es sind z. B. in der 24 Std. alten Kultur von *B. dysent. Strong* auf  $\frac{1}{2}$  ccm der Suspension berechnet, 21804 Millionen lebender Keime enthalten, in der 6 Tage-Kultur nur mehr 267 Millionen (keine Reduktionswirkung) und in der 10 Tage-Kultur sinkt diese Zahl auf 81 Millionen. Demgegenüber zählten wir bei *B. coli* in der Kultur nach 1 Tage 6720 Millionen Keime, nach 6 Tagen 3762 Millionen und auch die 9 Tage alte Kultur mit 769 Millionen lebenden Keimen reduziert noch.

Wir wollen nunmehr untersuchen, was für Ergebnisse die gleichalten Bouillonkulturen zeigen. Zu diesem Zwecke entnahmen wir den Kulturen die Mengen von 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 ccm direkt; im übrigen verfahren wir wie beim oben beschriebenen Versuch.

1) Die auf flüssigem Nährboden wachsenden Bakterien reduzieren durchschnittlich in 5 Tage alter Kultur am besten. Die Erklärung ergibt sich wiederum aus der Untersuchung der Keimzahl. Denn, während am Agar die 1 Tag alte Kultur am meisten Keime enthält, sind in der Bouillonkultur am 5. Tage die meisten lebenden Keime enthalten. In den meisten Fällen hat die 1 Tage alte Kultur überhaupt nicht reduziert, was man mit der geringen Keimzahl erklären kann; mit der Vermehrung der Bakterien

tritt die Reduktion auf, am 5. Tage erreicht sie ihr Maximum, um dann wiederum abzunehmen.

2) Die zur Erreichung der vollständigen Reduktion notwendige kleinste Keimzahl ist bei derselben Bakterienart wesentlich kleiner wie bei Anwendung der Agarkultur. So brauchten wir zur vollständigen Reduktion mit Bac. Shiga 6526 Millionen, wenn er auf festem Nährboden gezüchtet wurde, jedoch genügten 33 Millionen Keime aus der Bouillonkultur; es war nicht einmal selbst die 30fache Menge, d. h. 1,144 Millionen von der Agarkultur, ausreichend, um auch nur Spuren einer Reduktion hervorzurufen. Diese Erscheinung veranlaßte uns, den Einfluß der verschiedenen Medien und anderer Umstände auf die Reduktionsfähigkeit der Bakterien zu untersuchen. Ueber das Ergebnis dieser Untersuchungen werden wir später berichten.

Nach den Untersuchungen von Cathcart und Hahn, Cahen<sup>1)</sup> und anderen reduzieren ältere Kulturen schlechter. Unsere beiden Versuchsreihen bestätigen auch zum Teil dieses Ergebnis. Gleichzeitig zeigen aber die von uns gemachten Bestimmungen der Keimzahl, daß der Einfluß des Alters der Kultur auf die Reduktion nur ein scheinbarer ist, und der Grund dazu ist einfach darin zu suchen, daß in einer älteren Kultur viel weniger lebende Keime sind, wie in einer jungen. Der Grad der Reduktion steht unter sonst gleichen Bedingungen in geradem Verhältnis zur Keimzahl. Daher kommt es, daß ein und dasselbe Bakterium, auf Agar gezüchtet, in 1 Tage alter Kultur, in Bouillon gezüchtet, in 5 Tage alter Kultur am besten reduziert.

## II. Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Reduktionsfähigkeit der Bakterien.

In unserer vorigen Mitteilung haben wir auf den Unterschied hingewiesen, welcher zwischen den auf festem Nährboden und in Bouillon gezüchteten Bakterien hinsichtlich ihrer Reduktionsfähigkeit besteht, nämlich auf den, daß man zur Erreichung der vollständigen Reduktion von den in Bouillon gezüchteten Keimen viel weniger als von den anderen benötigt. Um die Ursache dieser Erscheinung zu ergründen, haben wir in erster Linie den Einfluß der Reaktion des Mediums auf den Reduktionsablauf untersucht.

Zu diesem Zwecke wurden Kulturen auf Schrägagar mit 3 ccm physiol. Kochsalzlösung abgewaschen, zu je 0,5 ccm der so gewonnenen Suspension verschieden viel Säure bzw. Lauge gegeben, dann haben wir diese Gemische auf je 1 ccm so ergänzt, daß die Bakterien schließlich in je 1 ccm Lauge bzw. Säure von  $n/200$ ,  $n/100$ ,  $n/60$ ,  $n/50$ ,  $n/40$ ,  $n/30$  Konzentration suspendiert waren. Nun wurden je 2 Tropfen 0,4<sup>0/00</sup> Methylenblau zugefügt und das Ganze mit sterilem Paraffinöl verschlossen. Zur Kontrolle haben wir eine Suspension nur mit Kochsalzlösung eingestellt.

Ein Versuch mit *Vibrio cholerae* ergibt, daß diese Mikrobenart bei  $n/200$  Alkaligehalt viel energischer reduziert wie in neutraler Umgebung; ja sogar eine Konzentration von  $n/60$  Lauge wirkt reduktionsfördernd, bei einer Konzentration von  $n/50$  geht die Reduktion ebenso von statten, wie in neutralem Medium; noch stärkere Kon-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2.

zentration wirkt hemmend. Anwesenheit kleinster Säuremengen ( $n/400$ ) hebt die reduzierende Fähigkeit des *Vibrio cholerae* vollständig auf. Wir haben auch bemerkt, daß die Reduktionsfähigkeit nicht zurückkehrte, wenn wir eine Cholera-Emulsion von  $n/200$  Säuregehalt mit Lauge überneutralisierten, so daß die Bakterien schließlich in die Reduktion sonst befördernde  $n/100$  Lauge suspendiert waren. Wie wir uns durch Züchtungsversuche überzeugten, ist dieses dadurch begründet, daß schon  $n/200$   $H_2SO_4$  die Vibrionen binnen 1 Min. vollständig vernichtet, während wir in der Kochsalzkontrolle auch nach 10 Min. 10824 lebende Keime fanden.

Die reduktionsfördernde Wirkung der  $n/200$  Lauge ist in einer Versuchsanordnung, bei welcher wir Serien von wachsenden Bakterienmengen mit der gleichen Laugenkonzentration versehen, noch auffälliger.

Es ist schon lange bekannt, daß der *Vibrio cholerae* gegen Säuren sehr empfindlich ist, wir haben diesen Versuch deshalb mit anderen Bakterien wiederholt. Wir fanden bei *Bac. paratyphi* B. daß die Reduktion in einer  $n/200$ — $n/60$  konzentrierten Lauge besser vonstatten geht, wenngleich diese Förderung weit hinter der bei *Vibrio cholerae* beobachteten zurückbleibt,  $n/50$ — $n/40$  normale Lauge beeinflußt die Reduktion nicht, während  $n/30$  Lauge schon hemmend wirkt.

Die Reduktionsfähigkeit von *B. coli* wird durch  $n/200$ — $n/100$  Lauge gefördert,  $n/60$  ist indifferent, doch wirkt schon  $n/50$  Lauge, noch mehr aber  $n/40$  hemmend. Säure wirkt auf diesen Bazillus ebenso, wie oben auf *V. cholerae*.

In diesen Versuchen haben wir also festgestellt, daß die Reaktion des Mediums den Reduktionsprozeß in bestimmter Weise beeinflußt. In alkalischer Umgebung reduzieren die Bakterien allgemein besser, in saurer schlechter als bei neutraler Reaktion.

### III. Der Einfluß der Salze auf die Reduktion.

In den folgenden Versuchen haben wir aus 27-stünd. Agarkulturen mit ganz wenig destill. Wasser eine Stammsuspension gemacht, von welcher wir 0,2 ccm zu je 1,5 ccm isotonischer Lösung verschiedener Salze gaben. In Serien von je 5 Proberöhrchen wurden von den so gewonnenen Suspensionen je 0,1—0,5 ccm abgemessen und dann mit der entsprechenden Salzlösung auf 1 ccm aufgefüllt.

Aus diesen Versuchen geht folgendes hervor:

1) Verschiedene Salze üben auf die Reduktionsfähigkeit der Bakterien einen verschiedenen Einfluß aus. Im allgemeinen reduzieren die Bakterien in physiol. NaCl-Lösung besser, als in destilliertem Wasser; den Lösungen von  $CaCl_2$  und  $KNO_3$  gegenüber verhalten sich die Bakterien verschieden: während z. B. die reduzierende Fähigkeit von *B. coli* und *anthracis* abnimmt, ändert sie sich bei *Vibrio cholerae* nicht.

2) Wenn wir zur physiol. Kochsalzlösung Spuren von  $CaCl_2$  geben (die Lösung dieses Salzes allein ist entweder indifferent, oder wirkt sogar hemmend), nimmt die Reduktionsfähigkeit ausnahmslos stark zu.

Seit den Versuchen von Loeb ist die hemmende Wirkung der Na-Ionen auf die Entwicklung der Eier bekannt; diese toxische Wir-

kung ist durch minimale Gaben von Ca-Ionen aufzuheben. Shearer<sup>1)</sup> gelang es, diese Wirkung auch für Bakterien zu beweisen. Er untersuchte die elektrische Leitfähigkeit der Bakterien und fand, daß nur lebende Bakterien die Leitfähigkeit des Mediums verringern. Wenn er in einer NaCl-Lösung von 26,7 Ohm (ca. 0,85 Proz.) Bakterien suspendierte, stieg der Widerstand der Suspension anfangs auf 110 Ohm, sank aber später fortwährend, um nach 30—40 Min. die ursprünglichen 26,7 Ohm zu erreichen. Fügt er jedoch der NaCl-Lösung Spuren von CaCl<sub>2</sub> bei, so blieb der durch Bakterien erhöhte Widerstand lange bestehen.

Im Laufe unserer Versuche haben wir öfters beobachtet, daß sich die durch die in Kochsalzlösung suspendierten Bakterien verursachte ursprünglich vollständige Reduktion nach längerer Zeit zurückbildete. Diese Erscheinung glauben wir folgendermaßen erklären zu können: Durch den Paraffinverschluß wird der Luftzutritt zur Suspension nicht vollständig verhindert. Solange die Reduktionsfähigkeit der Bakterien die Ueberhand hat, stört die ständige Zufuhr dieser kleinen O-Mengen nicht. Wenn jedoch ein Teil der Bakterien durch die NaCl-Wirkung abstirbt, wird das Gleichgewicht zwischen verbrauchtem und zuströmendem O gestört und die Reduktion bildet sich zurück. Die Wirkung des Ca besteht eben darin, daß es diese toxische Wirkung der Na-Ionen aufhebt.

#### IV. Der Einfluß der Temperatur auf die Reduktion.

Wir haben im Laufe unserer Versuche oft beobachtet, daß die Reduktion abhängig von der Zimmertemperatur (bei Anwendung einer Bakteriensuspension von gleicher Dichte und Zusammensetzung) in verschieden langer Zeit einsetzt und abläuft. Die Erscheinung hat uns dazu veranlaßt, den Einfluß der Temperatur auf die Reduktion systematisch zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke haben wir je 2 Schrägagarkulturen von *B. coli* und *Staphylococcus* mit 15 ccm Kochsalzlösung abgespült und mit 0,1—0,5 ccm dieser Suspension Serien zu je 5 Proberöhrchen versehen, dann mit Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt. Dann wurden diese Proberöhrchen in Wasserbädern auf verschiedene Temperatur gebracht, 2 Tropfen Methylenblau zugegeben und Paraffinöl darüber geschichtet.

Die Bakterien bei 1° C reduzieren nicht, aber auch bei 5—10° C ist nur eine minimale Wirkung zu beobachten; bei 15° C sehen wir eine vollständige Reduktion eintreten und darüber hinaus bis 37° C geht die Entfärbung immer rascher vor sich, zwischen 30—37° C mit ungefähr gleicher Geschwindigkeit.

Der gegen höhere Temperatur empfindliche *B. coli* zeigt bei 45° C nur mehr eine kaum merkliche Reduktion, der *Staphylococcus* reduziert noch gut, jedoch keineswegs besser wie bei 37°. Wir können also Cathcart und Hahn nicht beipflichten, welche beobachtet haben, daß der *Staphylococcus* bis zu 55° C besser reduziert, wie bei tieferer Temperatur, — im Gegenteil fanden wir, daß die Suspension (wenn sie vor Zufügung des Farbstoffes auf die betreffende Temperatur erhitzt wird) kaum reduziert.

1) Journ. of Hyg. Vol. 18.

Obige Versuche zeigen, daß die Bakterien bei ungefähr derselben Temperatur reduzieren, zwischen deren Grenzen sie sich auch vermehren. Diese Tatsache wollen wir in einer späteren Mitteilung würdigen.

### V. Die Wirkung der Eiweiße und Eiweißabbauprodukte auf die Reduktion der Bakterien.

Die Mikroorganismen haben zum Aufbau ihrer Körper Stickstoff nötig. Es sind nur wenige Bakterien bekannt, die ihren N-Bedarf aus anorganischen Substanzen zu decken vermögen; von der Mehrzahl der Bakterien werden organische Stickstoffverbindungen, Eiweiße und Eiweißabbauprodukte beansprucht. Das hat uns zu untersuchen veranlaßt, inwieweit die Eiweiße und ihre Abbauprodukte die Bakterienreduktion beeinflussen können, um so mehr, da wir diesbezüglich in der uns zur Verfügung stehenden Literatur nur wenige Angaben fanden.

Bevor wir die Wirkung der verschiedenen Eiweiße zu prüfen begannen, orientierten wir uns in einigen Vorversuchen über den Einfluß der Eiweißkonzentration auf die Reduktion. Es wurde je eine 24-stünd. Agarkultur von *B. paratyphi* B mit 5, bzw. 15 ccm NaCl-Lösung abgespült, von den 2 verschiedenen dichten Suspensionen je 0,5 ccm in Eprouvetten abgemessen und einem jeden Rohr wurde dann 0,5 ccm der mit physiol. Kochsalzlösung hergestellten Ovalbuminlösungen von verschiedener Konzentration zugefügt.

Die Ergebnisse dieser 2 Versuche sind gleichwertig: es stellt sich heraus, daß die Reduktion am vollkommensten in der 1-proz. Eiweißlösung vonstatten geht und — da wir bei den 2 Versuchen eine dünnere und eine dichtere Bakteriensuspension angewendet hatten — ist weiter auch das ersichtlich, daß die Dichtigkeit der Bakteriensuspensionen auf diese Wirkung von keinem Einflusse ist.

Nach Feststellung dessen, daß die 1-proz. Eiweißlösung die größte Wirkung ausübt, benützten wir bei den weiteren, die verschiedenen Eiweiße vergleichenden Untersuchungen diese Konzentration.

Bei den folgenden Versuchen wurde von den mit möglichst minimalem destillierten Wasser bereiteten Stammsuspensionen je nach ihrer Konzentration 0,2—0,4 ccm abgemessen und denselben je 1,5 ccm der mit physiol. Kochsalz versetzten Lösungen der zu prüfenden Eiweiße bzw. Abbauprodukte zugefügt. Aus den derart zubereiteten, jetzt schon eiweißhaltigen Suspensionen sind dann die aus 5 Röhren bestehenden Serien eingestellt worden (0,1—0,5 ccm). In jedem Rohr wurde die abgemessene Bakteriensuspension mit der entsprechenden Eiweißlösung auf 1 ccm ergänzt.

Nach unseren Versuchen ergibt sich:

1) daß der größte Teil der Eiweiße und Eiweißabbauprodukte gegenüber der Kochsalzkontrolle eine sehr ausgeprägte befördernde Wirkung auf die Reduktion der Bakterien ausübt. Der Colibazillus wurde z. B. in derart verdünnter Suspension angewandt, daß in der NaCl-Kontrolle selbst die 0,5 ccm-Dosis fast keine Entfärbung verursachen konnte (+), in Gegenwart von Albumin bewirkte dagegen schon  $\frac{1}{5}$  Teil, 0,1 ccm derselben Emulsion in gleicher Zeit eine vollständige (++++) Reduktion.

2) Der Einfluß der verschiedenen Eiweiße auf die Bakterienreduktion ist nicht gleichartig. Im allgemeinen kann



festgestellt werden, daß das Ovalbumin die Reduktion jeder untersuchten Bakterie gewaltig steigert. Außer dem Ovalbumin kann das noch am besten von der Albumose gesagt werden, die auch auf die meisten Bakterien befördernd wirkt, ausgenommen den Staphylococcus, dessen Reduktion durch Albumose nicht beschleunigt, sondern sogar behindert wird. Das Pepton hat sich, mit Ausnahme des Staphylococcus und der Choleravibrionen, im allgemeinen neutral, oder ein wenig günstig erwiesen. Von den Aminosäuren befördert auch Arginin die Reduktion in mäßigem Grade.

Dieser fast spezifische Einfluß der verschiedenen Eiweiße auf die Reduktion der einzelnen Bakterien hat uns zur Untersuchung angeregt, ob der Verschiedenheit des Einflusses auf den Reduktionsablauf nicht eine Verschiedenheit der Vermehrung der betreffenden Bakterien entsprechen würde, wenn wir diese Eiweiße als Nährboden verwenden. Zu dem Zwecke wurden aus den entsprechenden Eiweißen mittels physiol. Kochsalzlösung 1-proz. Lösungen bereitet, von denen wir je 2 ccm in Eproutetten sterilisiert hatten. Das Ovalbumin haben wir aus frischem Ei steril entnommen. Diese Nährböden wurden dann mit möglichst gleicher Menge Bakterien beimpft, dann sofort, und nach 6stünd. Verweilen im Brutschranke, zur Bestimmung der Zahl der lebenden Keime mit herausgenommenen kleinen Proben Platten gegossen.

Die Ergebnisse entsprachen unseren Erwartungen. Wir sahen, daß Albumose die durch *B. typhi* verursachte Reduktion stark beschleunigt, während auf sie Pepton kaum einen nennenswerten Einfluß ausübt; auf die Reduktion der Colibazillen haben dagegen beide Eiweißabkömmlinge ungefähr die gleiche Wirkung. Dementsprechend haben sich die Typhusbazillen nach 6 Std. in der Peptonlösung kaum vermehrt (von 58 Millionen auf 68 Millionen), während sich die Keimzahl in der Albumose von 57 Millionen auf 152 Millionen, also beinahe auf das 3fache der geimpften Menge erhöht hatte. Bei den Colibazillen geschah dagegen die Vermehrung der Keime in den beiden Lösungen fast gleichförmig.

Ovalbumin steigert die Reduktionsfähigkeit des Staphylococcus ganz bedeutend, während Albumose auf dieselbe fast hemmend wirkt. Dementsprechend dient Ovalbumin auch als guter Nährboden für die Staphylokokken, während in der Albumoselösung anstatt der Vermehrung der Keime eher eine Verminderung derselben zu beobachten war.

Albumose besitzt einen begünstigenden, Pepton einen hemmenden Einfluß auf die Reduktionsfähigkeit der Choleravibrionen. 2 Versuche haben einheitlich zu dem überraschenden Ergebnis geführt, daß die in ziemlich großer Menge geimpften Choleravibrionen in der Peptonlösung schon in 6 Std. zugrunde gehen, sich in der Albumoselösung dagegen gewaltig vermehren. Das Peptonwasser ist in der bakteriologischen Technik seit langem als ein elektiver Choleranährboden bekannt. Hier soll betont werden, daß man das sog. Peptonwasser allgemein aus Witte-Pepton herzustellen pflegt, welcher aber bekanntlich größtenteils aus Albumosen besteht, so daß unsere Versuchsergebnisse mit diesem in der Praxis erprobten und bewährten Cholerazüchtungsverfahren nicht im Gegensatze stehen.

Zusammenfassend: Aus unseren Versuchen kann gefolgert werden, daß diejenigen Eiweiße und Eiweißabkömmlinge, welche die Reduktion eines Bakteriums be-

fördern, sich in reiner Lösung angewandt auch als geeigneter Nährboden für dasselbe Bakterium erweisen.

## VI. Der Einfluß der Kohlehydrate auf die Bakterienreduktion.

Es wurde in dem vorigen Kapitel festgestellt, daß die Eiweiße von den Bakterienarten abhängig einen verschiedenen Einfluß auf den Ablauf der Reduktion ausüben; in nachstehenden Versuchen haben wir die Wirkung der Kohlehydrate beobachtet. Beim Studium der Eiweißwirkung gewannen wir die Erfahrung, daß diejenigen Eiweiße, welche sich als geeigneter Nährboden für irgendein Bakterium erweisen, zugleich auch die Reduktionsfähigkeit desselben Bakteriums zu steigern vermögen. Da viele Bakterien in Gegenwart von Zucker bekanntlich besser gedeihen, haben wir mit Recht vermutet, daß auch die Kohlehydrate nicht ohne Einfluß auf die Bakterienreduktion bleiben werden, obwohl nach einigen in der Literatur befindlichen Angaben die verschiedenen Zuckerarten keine reduktionsfördernde Wirkung besitzen (Cathcart und Hahn).

Bevor wir die Prüfung der verschiedenen Kohlehydrate hätten vornehmen können, war es zuerst notwendig, den Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Reduktionsfähigkeit festzustellen.

Zu diesem Zwecke wurde eine Schrägagarkultur von *B. bipolaris* mit 2,5 ccm physiol. NaCl-Lösung abgewaschen, von den so erhaltenen Bakteriensuspensionen je 0,5 ccm in Versuchsröhren abgemessen und jedem Rohr 0,5 ccm Milchzuckerlösung verschiedener Konzentration zugefügt.

Es war zu ersehen, daß der Zucker, gegenüber der Kontrolle in 1-proz. Konzentration den größten Einfluß auf die Reduktion besitzt; in dünneren oder dichterem Lösungen ist die Wirkung schon eine geringere.

Nach der Feststellung der optimalen Konzentration des Zuckers wurde die Wirkung der einzelnen Kohlehydrate geprüft. Aus Schrägagarkulturen bereiteten wir mit möglichst minimalem destilliertem Wasser Stammsuspensionen, von welchen je nach ihrer Konzentration 0,2 bis 0,4 ccm in Röhren abgemessen —, und hierzu je 1,5 ccm der mit physiol. NaCl bereiteten 1-proz. Lösungen der zu prüfenden Kohlehydrate zugefügt wurden. Aus den derart bereiteten, jetzt schon zuckerhaltigen Suspensionen sind dann die aus 5 Röhren bestehenden Serien (0,1 bis 0,5 ccm) eingestellt worden. In jedem Rohr wurde die abgemessene Bakteriumsuspension mit der entsprechenden Zuckerlösung auf 1 ccm ergänzt.

Die Versuche ergaben, daß:

1) die Kohlehydrate die Bakterienreduktion im allgemeinen günstig beeinflussen, obwohl diese befördernde Wirkung bei weitem nicht so augenfällig ist, wie wir es bei den Eiweißen beobachtet hatten.

2) Der Einfluß der einzelnen Zuckerarten auf die Reduktionsenergie der verschiedenen Bakterien ist nicht gleichförmig.

Die Reduktionsfähigkeit der Bakterien der Typhusgruppe wird z. B. von den meisten Zuckerarten gegenüber der Kontrolle gesteigert; man findet jedoch Unterschiede zwischen den einzelnen Mitgliedern der Typhusgruppe; so wird die Reduktion von *B. typhi*, *paratyphi A* und *B* durch Fruktose eher gehemmt, während die Reduktion des *B.*

coli selbst dieser Zucker begünstigt. Mannit, Maltose und Galaktose befördert die Reduktion der Typhusgruppe fast gleich; die Staphylococcus-Reduktion wird dagegen durch Maltose stark beschleunigt, während sie Mannit und Galaktose unbeeinflusst läßt.

Dieser Unterschied zeigte sich bei den Staphylokokken derart auffallend, daß es nicht ohne Interesse war, zu untersuchen, wie sich dieses Bakterium in den Zuckerlösungen als Nährflüssigkeit verhält. Es wurden daher aus den 3 Zuckerarten (Mannit, Maltose und Galaktose) mittels physiol. Kochsalzlösung 1-proz. Lösungen bereitet, von denen je 2 ccm in Epruvetten sterilisiert und nachher mit möglichst gleicher Menge Bakterien beimpft, dann sofort nach dem Beimpfen und nach 6stünd. Verweilen im Brutschranke mit herausgeholtten kleinen Proben zur Zahlbestimmung der lebenden Keime Platten gegossen. Die gefundenen Keimzahlen sind dann auf die ganzen 2 Kubikzentimeter bezogen worden.

Aus diesem Versuch hat sich herausgestellt, daß sich die Staphylokokken in der Maltoselösung nach 6 Std. auf das 6fache vermehrten, während sie in der Mannit- und Galaktoselösung anstatt sich zu vermehren, sich eher verminderten.

Ähnliche Versuche sind auch mit anderen Bakterien angestellt worden; der N-Bedarf dieser Bakterien übertraf aber den der Staphylokokken, so daß sie in reiner Zuckerlösung überhaupt nicht gediehen sind. Mit der Zugabe von Eiweiß oder Albumose waren dagegen die erhaltenen Resultate infolge der dominierenden Wirkung des Eiweißes nicht mehr entsprechend verwertbar.

In dem vorigen Kapitel haben wir festgestellt, daß ein Eiweiß oder Eiweißabkömmling, welches die Reduktion eines Bakteriums zu fördern vermag, sich für dasselbe Bakterium auch als guter Nährboden eignet.

Nach den oben geschilderten Versuchen ist noch dazuzufügen: ein Zucker, der die Reduktion eines Bakteriums beschleunigt, wird auch gleichzeitig die Vermehrung desselben günstig beeinflussen.

## VII. Zusammenhang der Virulenz und Reduktionsfähigkeit.

Oben haben wir die Tatsache festgelegt, daß die Reduktionsfähigkeit einer Bakteriensuspension mit der Zahl der enthaltenen lebenden Keime in geradem Verhältnisse steht. Weiterhin wurde auch festgestellt, daß die Reduktionsenergie der verschiedenen Bakterienarten nicht gleich stark ist: man findet gut und weniger gut reduzierende Bakterienarten, und sogar zwischen den verschiedenen Stämmen derselben Species ist diesbezüglich manchmal ein Unterschied zu beobachten.

Von früheren Forschern [Behring<sup>1)</sup>, Cathcart und Hahn<sup>2)</sup>] wurde ein Parallelismus zwischen der Reduktionskraft der Bakterien und ihrer Virulenz stets vermißt. Diese Versuche haben aber die vorhandene Keimzahl nicht berücksichtigt, so daß es uns nicht unmöglich erscheint, daß die mit verschiedenen Bakteriendosen durchgeführten Versuche das negative Ergebnis verursacht haben.

Unsere Versuche wurden mit *B. bipolaris septicus* und *B. anthracis* angestellt.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7.

2) Arch. f. Hyg. Bd. 44.

### B. bipolaris septicus.

Den in dem Bakteriologischen Institut befindlichen *B. bipolaris*-Stamm haben wir durch mehrfache Mäusepassage möglichst virulent gemacht, und inzwischen vergleichende Untersuchungen angestellt zur Feststellung, ob sich die Reduktionsenergie des Passagestammes im Vergleich zur Reduktionsfähigkeit der Stockkultur nicht verändert hatte, wobei die Keimzahl der zu der Reduktion verwendeten Bakteriumsuspensionen stets berücksichtigt worden ist. Die Einstellung der Reduktionsversuche geschah in gleicher Weise, wie wir es oben bei der Besprechung unserer Methodik ausführlich dargestellt haben. Die zu den Versuchen verwendeten verschiedenen Kulturen standen unter denselben Bedingungen (27-stünd. Agarkulturen auf 37° C).

Aus den Ergebnissen unserer Versuche war ersichtlich, daß bereits der 1. Passagestamm gegenüber der Stockkultur bedeutend energischer reduziert, obwohl die Stockkultur beinahe um die Hälfte dichter war, als die Passagekultur. Diese Verstärkung der Reduktion war bei den weiteren Passagen noch mehr augenfällig, so daß z. B. 5696 Keime aus der V. Passage besser reduzierten als 7875 von der Stockkultur.

Daß nicht das tierische Eiweiß, welches beim Ausimpfen aus dem Herzblut des verstorbenen Tieres in minimaler Menge evtl. auf das Agar gelangen hätte können, die Reduktionsfähigkeit des Passagestammes günstig beeinflußt hatte, zeigen die Tabellen 54—55. Bei diesen Versuchen arbeiteten wir nämlich teils mit einem auf festem Nährboden mehrmals überimpften Passagestamm, teils mit aus der Stockkultur und der 1. Passage nach längerer Zeit verimpften, 11 Tage alten Bouillonkulturen. Bei der Untersuchung dieser Bouillonkulturen hat sich z. B. gezeigt, daß 63 Millionen der Passagebazillen besser reduzierten als 140 Millionen aus der Stockkultur. Dieser Befund erklärt uns auch, warum Behring die auf Agar kultivierten avirulenten Antraxbazillen besser reduzierend fand als die virulenten. Wir müssen es für wahrscheinlich halten, daß ebenso wie aus unseren *B. bipolaris*-Kulturen die Stockkultur sich in derselben Zeit besser vermehren konnte, auch das Gedeihen des avirulenten Antraxbacillus auf Agar-Agar üppiger war. Da aber die große Zahlüberlegenheit des avirulenten Bakteriums das mit der gesteigerten Reduktionsenergie bedingte Reduktionsplus des virulenten Bakteriums auszugleichen vermag, ist es leicht verständlich, daß dieser Umstand bei einer Versuchseinstellung, wo die Keimzahl nicht berücksichtigt wird (Behring hat die Reduktion durch Züchtung auf Lackmusagar geprüft), leicht auf Irrwege führen konnte.

### B. anthracis.

Bei diesen Versuchen haben wir die uns von Herrn Prof. Preisz freundlich überlassenen Stämme verschiedener Virulenz angewandt, von welchen der mit „A 90 I“ bezeichnete schon derart gemildert war, daß er auf Mäuse keine Pathogenität hatte, der virulenteste „A 11“ dagegen in 2 Tagen sogar Kaninchen zu töten vermochte.

Bei der Einstellung dieser Versuche war unser Verfahren verschieden. Im 1. Versuch wurden die 2. obenerwähnten, hinsichtlich ihrer Virulenz voneinander am weitesten stehenden Stämme verglichen. Da uns aber von diesen Bakterien eine gleichmäßige Suspension zu be-

reiten nicht gelang, bzw. die Homogenität der 2 Suspensionen voneinander derart abstach, so waren wir, von unserer bisherigen Methodik abweichend, die verwandte Bakterienmenge mit der analytischen Wage abzumessen gezwungen. Die abgewogenen Bakterienmengen wurden dann (jede separat) je in 2 ccm NaCl-Lösung suspendiert, und nach Zugabe von je 2 Tropfen Methylenblaulösung mit einer Paraffinschicht verschlossen.

Aus unseren Versuchen ergab sich, daß der virulente Anthraxstamm wenigstens noch einmal so stark reduziert als der avirulente.

Bei den folgenden Versuchen stellten wir 6 Anthraxstämme von verschiedener Virulenz nebeneinander und entnahmen ihren 2 Tage alten Bouillonkulturen je 1 ccm.

Nach unseren Versuchen besteht zwischen der Reduktionsenergie und der Tötungsfähigkeit dieser Stämme ein ausgesprochener Parallelismus.

Es muß erwähnt werden, daß die Sporenbildung auf die Reduktion dieser Bazillen nachteilig wirkt, was man bei der Einstellung solcher Versuche immer zu berücksichtigen hat.

### VIII. Ist die Reduktionsfähigkeit der Bakterien eine Lebenserscheinung?

1861 fand Schönbein<sup>1)</sup>, daß organische (pflanzliche oder tierische) Substanzen aus Nitraten Nitrite zu bereiten imstande sind. Später machte Schardinger<sup>2)</sup> die Erfahrung, daß frische Kuhmilch, welche allein auf das Methylenblau ohne Wirkung ist, in Gegenwart von Formaldehyd oder Azetaldehyd dieselbe zur Leukoverbindung reduziert; bald wies Tromsdorff<sup>3)</sup> nach, daß die Milch ein präformiertes Enzym (Reduktase) enthält. Nach Bach<sup>4)</sup> wird das Methylenblau auch durch frische Kalbsleber stark reduziert; Aufkochen oder Aldehydzugabe hindert diese Reduktion. Es gelang ihm aber, ein Ferment aus der Leber herzustellen, welches die Schardinger'sche Reduktion gut gibt und durch Kochen diese Fähigkeit gleichfalls verliert. Hopkins<sup>5)</sup> isolierte aus Hefezellen, aus den Muskeln und Leber der Säugetiere ein Dipeptid, also eine lebenslose Substanz, welche ausschließlich Glutaminsäure und Cystein enthält. Durch das Cysteindipeptid wird Methylenblau entfärbt.

Aus den oben geschilderten Untersuchungen geht hervor, daß die Reduktion des Methylenblaus auch lebenslose Substanzen zustande bringen können.

Bezüglich des Wesens der Bakterienreduktion teilen sich die Forscher in 2 Parteien: nach der einen (Rózsahégyi<sup>6)</sup>, Baginsky<sup>7)</sup>, Müller<sup>8)</sup> wird die Reduktion durch Verdauungsprodukte der Bakterien hervorgerufen, die andere (Cahen<sup>9)</sup>, Spina<sup>10)</sup>, Smith<sup>11)</sup>, Rothberger<sup>12)</sup>) schreibt dieselbe der Tätigkeit des lebenden Protoplasmas zu. Diejenigen, die in der Verdauungsproduktion der Bakterien, oder in Fermentwirkung das Wesen der Methylenblau-reduktion erblicken, glauben ihren Standpunkt damit begründen zu können, daß, wenn sie den Farbstoff zum Nährboden fügen, die Reduktion nicht nur an der Stelle der Kolonien zustande kommt, sondern zufolge der

- 1) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 84.
- 2) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmitt. Bd. 5.
- 3) Centralbl. f. Bakt. Bd. 49.
- 4) Biochem. Zeitschr. Bd. 31.
- 5) Bisch. Journ. Vol. 15.
- 6) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3.
- 7) Dtsch. med. Wochenschr. 1888.
- 8) Centralbl. f. Bakt. Bd. 26.
- 9) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2.
- 10) Ebenda.
- 11) Centralbl. f. Bakt. Bd. 19.
- 12) Ebenda. Bd. 24—25.

**Diffusion der Bakterienverdauungsprodukte in dem Nährboden sich auch eine Fernwirkung geltend macht.**

Ueber mehr Beweise verfügen die Autoren, die die Reduktion als eine Lebenserscheinung betrachten. Sie führen an, daß ältere Kulturen nicht reduzieren, obwohl die Verdauungsprodukte dort in größerer Menge vorhanden sein müssen, da der größte Teil der Bakterien in solchen Kulturen schon zugrunde gegangen ist, — weiter, wenn die Bakterien durch Hitze abgetötet werden, dies das Auslöschen der Reduktionsfähigkeit zur Folge hat; ferner, daß die von den Bakterienleibern durch Filtration beraubten Kulturen ihre Reduktionsfähigkeit auch einbüßen.

Ueberblicken wir jetzt die Ergebnisse unserer Untersuchungen, und betrachten wir, welche Auffassung sie zu unterstützen scheinen.

In dem 1. Kapitel haben wir festgestellt, daß zwischen der Reduktionsfähigkeit einer Bakteriensuspension und der Zahl der vorhandenen lebenden Keime ein enger Zusammenhang besteht. In diesem Zusammenhang fanden wir die Klärung jener Erscheinung, daß die jungen Kulturen besser reduzierten, als die älteren, da in den letzteren der größte Teil der Keime schon abgestorben ist. Wenn es richtig ist, daß die Stoffwechselprodukte die Reduktion hervorrufen, dann müßten gerade im Gegenteil die alten Kulturen besser reduzieren, da in denselben die Stoffwechselprodukte in größerer Menge vorhanden sind. Dies müßte besonders bei den Bouillonkulturen der Fall sein, die sämtliche Stoffwechselprodukte in gelöstem Zustande enthalten.

Diese Tatsache spricht also jedenfalls gegen die Bedeutung der Bakterienstoffwechselprodukte.

In dem 2. Kapitel, in welchem wir den Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Reduktion studierten, wurde beobachtet, daß die Bakterien im allgemeinen bei Gegenwart von Säuren viel schlechter reduzieren als im alkalischen Medium; es wurden sogar Bakterien gefunden, deren Reduktion unter der Wirkung von minimaler Säure vollkommen ausblieb. Die Reduktion ist hier auch in dem Falle nicht aufgetreten, wenn die Säure derart überneutralisiert wurde, daß hiermit eine auf die Reduktion optimale Laugenkonzentration entstand. Die Ursache dieser Erscheinung fanden wir z. B. in bezug der Cholera-vibrionen darin, daß dieselbe in solchem sauren Medium schon nach einigen Minuten zugrunde gingen.

Bevor wir aus dieser Tatsache Folgerungen geleitet hätten, fanden wir es für notwendig, behufs Vergleichung festzustellen, wie sich die Schardingersche Reduktase unter denselben Bedingungen verhält. Das Schardingersche Enzym enthält nämlich die frische Kuhmilch, welche in Gegenwart von Formaldehyd auf 70° C das Methylenblau zur Leukoverbindung reduziert. Ohne Formaldehyd bleibt diese Erscheinung aus.

Es wurden zu 10 ccm frischer Kuhmilch 2 Tropfen Formalin beigegeben und unter der Wirkung von Säuren bzw. Laugen der Reduktionsablauf beobachtet.

Säure hemmt die Reduktion der Milch ähnlich jener der Bakterien, während Lauge sich in gewissen Konzentrationen als neutral erweist. Die im aziden Medium suspendierten Cholera-vibrionen zeigten auch nach der Ueberneutralisierung keine Reduktionserscheinung; dagegen wenn wir die mit  $n/200$   $H_2SO_4$  15 Min. lang stehen gelassene Milch mit Lauge

überneutralisieren, wird die Reduktion ebenso zustande kommen, wie bei der frischen unbehandelten Kuhmilch. Mit anderen Worten, die Säure ruft bei den Bakterien einen durch die Abtötung derselben entstandenen endgültigen Zustand hervor, während sie die Wirkung des Enzyms nur aufgehoben hatte, das Enzym selbst aber nicht mehr imstande war, zu vernichten.

Da die Schardingersche Reduktase nur in Gegenwart von Formaldehyd reduziert, war es nicht ohne Interesse, nachzusehen, ob Formalin auch auf die Reduktion der Bakterien so günstig einzuwirken vermag. Zu diesem Zwecke wurde in einem parallelen Versuche zu 5 ccm Milch, andererseits zu 5 ccm dichter Anthraxbazillenemulsion je 2 Tropfen Formalin und je 4 Tropfen Methylenblaulösung beigegeben. Als Kontrolle benützten wir 5 ccm Bazillenemulsion ohne Formalin. Die Milch (mit Formalin) und die zur Kontrolle verwendeten Anthraxbazillussuspensionen (ohne Formalin) werden, auf 37<sub>0</sub> gehalten, in 5 Min. vollkommen entfärbt, die Formalin enthaltende Bazillussuspension zeigte dagegen auch nach Stunden gar keine Spur einer Reduktion.

Wir wählten zu diesem Versuche absichtlich den Anthraxbazillus, welcher gegen Formalin bekanntlich sehr empfindlich ist.

Wir glauben aus unseren, die einerseits durch die Schardingersche Reduktase, andererseits durch Bakterien zustande gebrachte Reduktion vergleichenden Versuchen mit Recht folgern zu können, daß die 2 erwähnten Prozesse nicht analog sind. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Wirkung des Schardingerschen Enzyms am besten bei 70<sup>0</sup> C zur Entfaltung gelangt, während die Reduktionsfähigkeit der Bakterien — wie aus dem den Einfluß der Temperatur behandelnden Kapitel hervorgeht — schon bei viel niedrigeren Temperaturen (über 55<sup>0</sup> C) eingebüßt wird.

Bei der Prüfung der Salzwirkung auf die Reduktion wurde konstatiert, daß die Reduktionsfähigkeit der Bakterien durch minimale Ca-Ionzugabe zu einem rein NaCl enthaltenden Medium gesteigert wird. Es ist aus den Shearerschen Untersuchungen — wie auch wir bereits oben hingewiesen hatten — bekannt, daß dem Ca die Fähigkeit eigen ist, die bakterienschädigende Wirkung des NaCl zu paralysieren; daher wird die Reduktionsfähigkeit eher verbleiben, bzw. vollkommener ablaufen als in der reinen physiol. Kochsalzlösung, wenn wir das Leben der Bakterien durch Zugabe von Ca-Ionen schützen.

Bei der Besprechung der Eiweißwirkung haben wir gesehen, daß, während die Mehrzahl der Eiweiße eine die Reduktionsfähigkeit der Choleravibrionen steigernde Eigenschaft besitzt, in reiner Peptonlösung dieselben Bakterien überhaupt nicht reduzieren. Die Erklärung dieser Erscheinung fanden wir dann darin, daß die reine Peptonlösung (nicht Witte-Pepton, welche größtenteils aus Albumosen besteht) ein ungeeigneter Nährboden für die Choleravibrionen sei. In entgegengesetzter Richtung wurde auch beobachtet, daß, wenn eine Eiweißart die Reduktionsfähigkeit eines Bakteriums steigert, sich eben in derselben auch die entsprechenden Keime besser vermehren, daß also zwischen Reduktionsfähigkeit und Vermehrung der Keime ein gewisser Parallelismus besteht.

Aus dem Obenangeführten kann gefolgert werden, daß, wenn die Bakterien infolge irgend einer chemischen oder physi-

kalischen Wirkung zugrunde gehen, mit ihrer Vernichtung ihre Reduktionsfähigkeit auch gleichzeitig eingebüßt wird. Dies erfolgt öfters auch zufolge solcher Einwirkungen (wie Formalin, 70° C Hitze), welche evtl. die Reduktionswirkung anderer Substanzen noch beschleunigen können. Aus dem Umstande aber, daß solche physikalischen oder chemischen Faktoren, welche das Scharingersche Enzym nicht schädigten, die Reduktionsfähigkeit der Bakterien aber einstellten, kann mit Bestimmtheit noch nicht der Schluß gefolgert werden, daß das Wesen der Bakteriumreduktion keine Enzymwirkung sei; es ist nämlich die Möglichkeit noch nicht ausgeschlossen, daß dieselben physikalischen oder chemischen Faktoren, welche die Bakterien vernichteten, gleicherhand auch dazu geeignet waren, die Wirkung des evtl. Reduktionsfermentes der Bakterien aufzuheben. Wir haben daher versucht, ein solches bakterientötendes Verfahren anzuwenden, bei welchem eine auf die evtl. Enzyme ausgeübte schädigende Wirkung von vornherein unwahrscheinlich schien.

Es ist bekannt, daß frisches normales Kaninchenserum die Cholera-vibrionen tötet, durch Aufwärmen des Serums auf 60° aber diese Normalbakterizidie aufgehoben werden kann. Es ist weiter auch bekannt, daß das Taubenserum auf dasselbe Bakterium fast ohne Wirkung ist. Wenn wir im Reduktionsversuch finden würden, daß in dem aktiven Kaninchenserum, wo die Bakterien zugrunde gehen, auch die Reduktionsfähigkeit eingebüßt wird, in dem unwirksamen inaktivierten Kaninchenserum, resp. in dem nur schwachtötenden Taubenserum sich dagegen die Reduktion einstellt, dann werden wir mit Recht behaupten können, daß die Reduktionsfähigkeit der Bakterien an das Leben derselben gebunden sei.

Zu diesem Zwecke wurde eine 24-stünd. Choleraschiefagarkultur mittels 5 ccm physiol. Kochsalzlösung abgespült und von dieser Suspension je 0,1 ccm in 4 Probierröhrchen abgemessen. Ins 1. Röhrchen haben wir dann 0,9 ccm aktives Kaninchenserum, ins 2. 0,9 ccm inaktiviertes Kaninchenserum, in das 3. aber gleiche Menge Taubenserum gegeben, während das 4. Röhrchen mit 0,9 ccm physiol. NaCl zur Kontrolle diente. Nach 1-stünd. Verweilen im Brutschranke sind in jedes Röhrchen 2 Tropfen Methylenblaulösung geträufelt worden, und die Flüssigkeit mit sterilem Paraffinöl überschichtet. Es wurden 3 Parallelversuche angestellt; bei dem einen (59b) haben wir sofort und nach 1 Std. behufs Bestimmung der lebenden Keime auch Platten gegossen (59d).

Diese Versuche entsprachen unseren Erwartungen vollkommen: während in dem bakteriziden aktiven Kaninchenserum die Zahl der Cholera-vibrionen derart abgenommen hatte, daß dort die zum Auftreten der Reduktion notwendige minimale Anzahl von lebenden Keimen nicht mehr vorhanden war (59d), sind in dem inaktiven Kaninchenserum und Taubenserum die Vibrionen fast intakt geblieben. Dementsprechend stellte sich die Reduktion in diesen letzten Proben überall ein, ja sie gewann unter der befördernden Wirkung der anwesenden Serumeiweiße über die in der Kontrolle beobachtete Reduktion sogar die Oberhand.

Dieser Versuch wurde unter denselben Versuchsbedingungen auch mit sporenfreien Antraxbazillen wiederholt.

Die Entsporung der Anthraxbazillen war deshalb notwendig, weil wir schon lange wahrgenommen haben, daß die mehrtägigen Anthrax-



kulturen, die schon größtenteils aus Sporen bestehen und vegetative Formen kaum enthalten, nur wenig oder überhaupt gar nicht zu reduzieren pflegen.

Es ist bekannt, daß bei den Sporen sämtliche Lebenserscheinungen reduziert sind und es steht damit offenbar die Tatsache im Zusammenhange, daß die Reduktionsfähigkeit solcher Kulturen stets eine mindere ist, was wiederum den Beweis liefert, daß die Reduktionsfähigkeit zu den Lebensäußerungen der Bakterien gehört.

Unsere Untersuchungen sprechen dafür, daß die durch lebende Bakterien verursachte Reduktion des Methylenblaus zur farblosen Leukoverbindung eine Lebenserscheinung dieser Zellen ist. Damit wollen wir aber durchaus nicht behaupten, daß aus Bakterien hergestellte lebenslose Substanzen keine Reduktionsfähigkeit besitzen können. Es gelang tatsächlich mehreren Forschern, aus großen Mengen von Mikroorganismen (Hefezellen) in geringem Maße reduzierende Substanzen herzustellen; diese Reduktionsfähigkeit war aber im Vergleich zur aufgearbeiteten Materiemenge verhältnismäßig so gering, daß damit allein die durch relativ geringe Anzahl lebender Bakterien hervorgerufene, schnell ablaufende und vollkommene Reduktion bei weitem nicht erklärt werden kann; durch diese Tatsache wird daher die aus unseren Versuchen sich ergebende Folgerung, daß nämlich die durch lebende Bakterien verursachte schnelle und vollkommene Reduktion eine Lebensäußerung dieser Zellen ist, überhaupt nicht berührt. Wir können höchstens behaupten, daß die Reduktion der lebenden Bakterienkulturen sich aus 2 Faktoren zusammensetzt: aus der Hauptreduktion, welche dem lebenden Protoplasma eigen ist, und aus der akzessorischen Reduktion, die durch die in Bakterienkulturen befindlichen lebenslosen Substanzen (Zerfallprodukten, Enzyme) hervorgerufen werden. Diese akzessorische Reduktion ist aber so verschwindend gering, daß ihr neben der Hauptreduktion fast keine Bedeutung zukommt; diese reduzierende Substanz kann ja doch nur aus großer Bakterienmenge in solcher Quantität hergestellt werden, daß ihr dann auch eine augenscheinliche Wirkung zufällt.

Ebenso wie wir zweierlei Reduktionen anzunehmen geneigt sind, und zwar eine dominierende Hauptreduktion, welche eine Lebenserscheinung ist, und eine akzessorische Reduktion von fermentativer Natur, welche gegen die Hauptreduktion ganz im Hintergrunde steht — unterscheiden Batelli und Stern<sup>1)</sup> ähnlich bei der Atmung der Zellen eine Hauptatmung und eine akzessorische Atmung. Die Hauptatmung ist nach ihrer Ansicht eine Grundeigenschaft jeder lebenden Zelle, sie kann ohne lebende Zellen gar nicht zustande kommen; die akzessorische Atmung ist dagegen fermentativer Natur, deren Entstehung nur an die Gegenwart der Zellgranula gebunden ist; sie wird neben der Hauptatmung eine ganz untergeordnete Rolle spielen.

Die Aehnlichkeit zwischen Hauptatmung und Hauptreduktion ist so auffallend, daß wir es gar nicht für ausgeschlossen halten, daß es sich hier nicht um zwei verschiedene Lebenserscheinungen, sondern nur um den auf zweierlei Wege erbrachten Nachweis einer und derselben Lebensäußerung handelt.

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 21.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der Konservierung präzipitierender Antisera. [Aus der Bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamts.]

Von **H. Beger.**

In einer Arbeit von Weidanz aus dem Jahre 1908 (1) sind die Gründe angegeben, weshalb bei der Aufbewahrung der präzipitierenden Antisera für praktische Zwecke in der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts von der Verwendung der üblichen chemischen Konservierungsmittel (Karbolsäure, Chloroform, Trikresol, Toluol, Xylol, Benzol, Sublimat, Lysoform, Glyzerin usw.) und der von Corin, Biondi, Jacobsthal und v. Eisler empfohlenen Antrocknungsmethode Abstand genommen und auf Grund der Erfahrungen von Uhlenhuth (2) die Sterilfiltration durch Berkefeld-Kerzen und Einschmelzung in sterilen Glasröhrchen vorgezogen wird. Diese Konservierungsmethode für präzipitierende Antisera hat sich im Laufe der Jahre ziemlich allgemein eingebürgert, wozu die Verwendung des von Uhlenhuth und Weidanz angegebenen Filtrierabfüllapparates wesentlich beigetragen hat. Manteufel und Beger (3) haben dann die früher zur Aufbewahrung der Antisera verwendeten Uhlenhuth-Röhrchen aus braunem Glas durch ähnliche mit einem kapillaren Zapfenansatz versehene ersetzt, in dem sich die im Laufe der Aufbewahrung öfter entstehenden Bodentrübungen beim Zentrifugieren sammeln, so daß sie durch das Abpipettieren nicht wieder aufgewirbelt werden; dadurch wird eine restlose Ausnützung des Inhaltes gewährleistet.

Immerhin haften auch diesem Konservierungsverfahren noch gewisse Nachteile an. So geht einmal bei der Filtration ein gewisser Teil des kostbaren Antiserums verloren (der Abgabepreis für 1 cm beträgt z. Z. Mk. 40 und eine weitere Erhöhung dürfte nicht zu umgehen sein), andererseits büßen manche Antisera dabei in störendem Maße an Wirksamkeit ein, so daß sie nach der Filtration den vorgeschriebenen Titer 1:20 000 nicht mehr erreichen und für die Abgabe an andere Dienststellen verloren gehen. Auch kann es vorkommen, daß vor dem Filtrieren absolut artspezifische Antisera nach der Filtration störende Trübungen in den stärkeren Konzentrationen der heterologen Eiweißlösungen zeigen, was sie ebenfalls zur Abgabe ungeeignet macht. Dazu kommt in der heutigen Zeit der ganz beträchtliche Preis für die Filterkerzen, so daß auch bei mehrmaliger Benutzung derselben Kerze eine bedauerliche Verteuerung des Herstellungspreises für ein Antiserum eintritt. (Gegenwärtiger Preis für eine kleine Filterkerze M. 435)<sup>1)</sup>.

Diese Gründe lassen weitere Versuche berechtigt erscheinen, für die Konservierung der präzipitierenden Antisera ein einfacheres und billigeres Verfahren ausfindig zu machen, und zwar versuchte ich die sog. oligodynamische Wirkung der Metalle hierzu nutzbar zu machen. Ermutigende Ergebnisse bei der Verwendung von Kupfer-

1) Ausreichende Erfahrungen über die Filtration mit Seitz'schem Filter stehen uns noch nicht zur Verfügung.

blech zur Herstellung von Paratyphusimpfstoff nach den Angaben von Laubenheimer (4) sind der Anlaß für Versuche in dieser Richtung gewesen.

Von den verschiedenen zur Abgabe an andere Dienststellen hergestellten präzipitierenden Antisera wurde ein Teil in der üblichen Weise durch Berkefeld-Kerzen filtriert und in sterilen zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrt. Der Rest der einzelnen Sera wurde ohne Filtration in sterile Reagenzgläschen abgefüllt und auf 1 ccm Antiserum 1 qcm dünnes Kupferblech ohne weitere Vorbereitung derart hinzugefügt, daß es vollkommen von der Flüssigkeit bedeckt war. Das Kupferblech wurde 8 Tage, 14 Tage, 3 Wochen und so fort in den Antisera belassen und in Abständen von 3—4 Wochen eine Titerbestimmung vorgenommen. Eine Verringerung des Titers gegenüber den filtrierten Kontroll-Antisera konnte selbst bei den 1 Jahr lang unter der Einwirkung des Kupfers aufbewahrten Antisera nicht festgestellt werden.

Das Aussehen der Antisera erfährt durch das Aufbewahren mit Kupfer keine nachteilige Veränderung; bei längerer „Kupferung“ nehmen die Antisera einen grünlichen Farbenton an, der besonders dann eintritt, wenn das Kupferblech aus der Serumflüssigkeit herausragt. Sofern man vor dem Beschießen mit Kupfer genügend lange zentrifugiert hat, stehen solche „gekupferte“ Antisera den filtrierten an Klarheit kaum nach.

Nach den Ergebnissen bei der Impfstoffbereitung war zu erhoffen, daß es auf diesem Wege gelingt, nicht nur eine Abtötung der bei der Entblutung der Kaninchen in das Serum gelangten Luftkeime usw. zu erzielen, sondern auch eine Sterilhaltung im Sinne einer Konservierung der Antisera zu bewirken. Um festzustellen, ob in der Tat eine Sterilisierung der Antisera durch die Kupfereinwirkung zustande kommt, impfte ich Staphylokokken, Streptokokken, Typhusbazillen, Pestifer-Bazillen und Proteus-Bazillen in einzelne Antisera ein und untersuchte von Tag zu Tag durch Ausstreichen auf Platten und Beimpfen von Nährbrühe. Dabei ergab sich z. B., daß nach 14-tägiger Einwirkung des Kupfers auf ein Antiserum eine ganze eingepfimte Oese einer 24-std. frischen Agarkultur der genannten Bakterien durchschnittlich in 3 Tagen vollkommen abgetötet war. Nach Einsaat einer 2. Oese war das Antiserum spätestens nach 7 Tagen wieder steril; der gleichen Zeitdauer bedurfte es, um eine 3. Oese abzutöten, dagegen konnten die Bakterien der 4. und 5. Oese bis zu etwa 14 Tagen nachgewiesen werden. Auch wenn das Kupfer länger als 14 Tage vor der Einsaat auf das Antiserum eingewirkt hatte, war keine nennenswerte Änderung dieser Verhältnisse zu beobachten.

Dagegen gelang es auch bei langdauernd „gekupferten“ Antisera nicht, eingepfimte Schimmelpilze zur Abtötung zu bringen. Wenn auch bei der Entwicklung von Schimmelpilzen keine Abschwächung der präzipitierenden Antisera stattfindet, so wird doch immerhin durch das Vorhandensein von Schimmel in einem Antiserum das Aussehen beeinträchtigt. Auch eingepfimte Sporen gegenüber, z. B. von Erdbazillen, reichte die Sterilisationskraft der mit Kupfer vorbehandelten Antisera nicht aus; doch spielen sporenhaltige Bakterien bei der Infektion der Antisera anscheinend keine große Rolle, da ich bei den „gekupferten“ Antisera niemals eine derartige Verunreinigung beobachten konnte.

Nach meinen Versuchen kann man also eine Konservierung von präzipitierenden Antiseren durch metallisches Kupfer erzielen, wenn man das möglichst keimarm gewonnene Serum mit Kupferblech (1 qcm auf 1 ccm Serum) beschickt und dieses darin 10—14 Tage beläßt. Eine längere Einwirkung hat keinen Zweck, da die bakterizide Wirkung des Serums dann nicht mehr zunimmt, dagegen das Aussehen der Sera infolge Verfärbung leidet. Es muß natürlich zunächst einer längeren Erfahrung vorbehalten bleiben, ob sich die Kupferung der Antisera in der Praxis bewährt, worüber berichtet werden wird.

Neuerdings ist von G. Straßmann (5) zur Konservierung von Antigenseren und Antiseren für die gerichtsarztliche Praxis Yatren empfohlen worden, und ich kann bestätigen, daß präzipitierende Antisera durch 3-proz. Yatrenzusatz keimfrei erhalten werden können und dabei nichts von ihrer ursprünglichen Klarheit verlieren. Dagegen konnte ich die Angabe Straßmanns, daß die präzipitierenden Antisera an Wertigkeit nach Yatrenzusatz nicht einbüßen, nicht bestätigen; vielmehr zeigten die mit Yatren (1—3-proz.) konservierten Antisera im Vergleich zu filtrierten und mit Kupfer behandelten Kontroll-Antiseren eine so erhebliche Abnahme des Titors, daß ihre Verwertbarkeit für die Praxis in Frage gestellt ist. Auch werden bei Anstellung der Reaktion nach der Methode von Uhlenhuth durch die gelbbraune Färbung der Antisera hauchartige Trübungen, besonders in den stärkeren Antigenverdünnungen bisweilen vollkommen verdeckt. Nach den Angaben von Straßmann tritt dieser Nachteil der mit Yatren konservierten Antisera bei der Anstellung der Präzipitinreaktion in Hauserschen Kapillaren anscheinend nicht hervor; dagegen kann ich sie zur Verwendung bei dem Verfahren von Uhlenhuth nicht empfehlen, sondern muß mich in dieser Hinsicht vollkommen der Meinung Herzbergs (6) anschließen, der aus dem gleichen Grunde die Verwendung von Yatren zur Konservierung von präzipitierenden Antiseren für unzweckmäßig erklärt.

Ebensowenig kann ich die Injektion mit Yatren konservierter Sera als Antigen zur Erzeugung präzipitierender Antisera empfehlen. Von der Erwartung ausgehend, daß man durch Einspritzen einer Yatren-Serum-Mischung neben dem spezifischen einen unspezifischen Reiz ausüben und damit die Gewinnung hochwertiger präzipitierender Antisera begünstigen oder beschleunigen könne, injizierte ich 3 Kaninchen nach der in der Arbeit von Manteufel und mir (3) geübten Methode je 1 ccm Pferdeserum + 1 ccm 3-proz. Yatrenlösung intravenös, während drei weitere Kaninchen zur Kontrolle nur 1 ccm reines Pferdeserum erhielten. Bei der Probeentnahme am 18. Tage zeigten die Sera der 3 mit Yatren-Pferdeserum vorbehandelten Kaninchen ein Uebergreifen auf sämtliche mitgeprüften heterologen Antigene (Mensch, Hammel, Ziege, Rind, Schwein), während die Sera der in der üblichen Weise angesetzten Tiere keine heterologen Trübungen bewirkten. Diese Tatsache weist von neuem auf die in der gleichen Arbeit (3) betonte Zweckmäßigkeit der Verarbeitung von frischen Antigenen oder solchen, die durch die Aufbewahrung oder Konservierung noch keinerlei Abbau der artspezifischen Eigenschaften erfahren haben, für die Herstellung der präzipitierenden Antisera hin. Die hohen Ausgaben für große Kaninchen, die sich zur Antiserungsgewinnung eignen, haben mich abgehalten, weitere Versuche in dieser Richtung vorzunehmen.

Immerhin glaube ich, auch diese Ergebnisse mitteilen zu sollen, um von der Verwendung von Yatren zur Konservierung der Antisera und Antigene für die Eiweißdiagnostik durch Präzipitation abzuraten.

#### Zusammenfassung.

1) An Stelle der kostspieligen Filtration der präzipitierenden Antisera durch Berkefeld-Kerzen wird eine einfache und billigere Methode in Vorschlag gebracht, bei der das Antiserum durch Einwirkung von metallischem Kupfer sterilisiert wird.

2) Von der Verwendung von Yatren zur Konservierung der Antisera und Antigene für die Eiweißdiagnostik mittels Präzipitation wird abgeraten.

#### Quellenangaben.

1) Weidanz, Arb. a. d. K. Gesundheitsa. Bd. 29. 1908. S. 394—402; siehe auch Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 42. 1909. Beih. 1908. S. 168—170.) — 2) Uhlenhuth, Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Jena 1905. — Ders. u. Weidanz, Kraus u. Levaditi, Handb. d. Technik u. Methodik der Immunitätsforsch. Bd. 2. S. 816—820. — Ders. u. Steffenhagen, Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 3. S. 298—300. — Ders. u. Beumer, Zeitschr. f. Medizinalbeamt. 1903. Nr. 5/6. — 3) Manteufel u. Beger, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 33. 1921. S. 348 bis 374. — 4) Laubenheimer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921. S. 78—114. — 5) Strassmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 487 u. 488. — 6) Herzberg, Klin. Wochenschr. 1922. H. 37. S. 1830—1833.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Meinickesche Trübungsreaktion (M.T.R.) bei Lues.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. Hans Bering.

Schon in der ersten Veröffentlichung ihrer neuen Methode des serologischen Luesnachweises durch Ausflockung wiesen Sachs und Georgi (1) darauf hin, daß in stark positiven Seris oft schon nach ca. 4-std. Brutraumaufenthalt der Versuchsröhrchen eine deutliche Trübung der zunächst mehr oder weniger klaren Serum-Extraktgemische zu beobachten ist.

Dold (2) ging dieser Beobachtung weiter nach und analysierte die hierbei in Frage kommenden Vorgänge genauer. Er konnte die Sachs'sche Angabe bestätigen und war seinerseits bemüht, diese früh eintretende Reaktion, die der Ausdruck der 1. Phase des im weiteren Verlauf von der kolloiden zur grob-dispersen Zone führenden Flockungsvorganges ist, für die Luesdiagnose brauchbar zu gestalten. Er erreichte dieses Ziel durch eine geringfügige Aenderung des Sachs-Georgischen Systems, nämlich durch Anwendung einer größeren Menge unverdünnten Serums (0,4 ccm), der 2 ccm eines nach dem Vorgang von Sachs cholesterinierten Rinderherzextraktes zugesetzt wurden (3). Die 1. Ablesung als „Trübungsreaktion“ empfahl Dold nach 4 Std. Brutraumaufenthalt, die 2. als „Flockungsreaktion“ nach weiteren 20 Std. vorzunehmen. Die Beurteilung des Resultates richtete sich nach dem stärkeren oder schwächeren Trübungsgrade der Gemische im Vergleich zu einer stets anzustellenden Extrakt- und den zugehörigen Serumkontrollen, außerdem empfahl er, jedesmal einen bekannten positiven und negativen Kontrollfall mit in den Versuch aufzunehmen.

Diese Art der Ablesung begründete eine gewisse Umständlichkeit der Reaktion, denn die graduelle Unterscheidung der Trübungen gestaltete sich in vielen Fällen außer-

ordentlich schwer. Ein weiterer Umstand, der einer allgemeineren Anwendung dieser sogenannten „Doldschen Trübungsreaktion (D.T.R.)“ im Wege stand, war der, daß doch nur ein gewisser Prozentsatz der WaR.-positiven Sera eine bald einsetzende makroskopisch erkennbare Trübung aufwies, andererseits dagegen auch Sera nicht syphilitischer, z. B. tuberkulöser Patienten diese — unspezifische — Trübung zeigten, so daß die Beurteilung nach 24 Std. im Interesse eines einwandfreien Resultates unbedingt erforderlich war. Somit hatte aber die doch eigentlich eine Abkürzung der Reaktion erzielende Methode dieses für die Praxis wertvolle Ziel nicht erreicht, und so blieb man für diese Zwecke lieber bei den immerhin doch besser erprobten Originalmethoden von Sachs-Georgi und Meinicke.

Poehlmann (4), der wohl als erster eine Nachuntersuchung der Doldschen Angaben veröffentlichte, lehnt jedenfalls auf Grund seiner Versuchsergebnisse die „Trübungsreaktion“ als Mittel einer zuverlässigen Serodiagnose der Lues ab. Gegenüber der Original-S.G.R. hatte die D.T.R. den Nachteil, daß sie eine größere Serum- und Extraktmenge erforderte, jedoch den Vorteil, daß das Serum unverdünnt verwendet wurde. Trübe (chylöse, hämolytische u. ä.) Sera waren für die Trübungsreaktion unbrauchbar, ebenso — wie schon erwähnt — Sera Tuberkulöser, die sehr häufig eine positive Trübungsreaktion zeigten, ein Vorkommnis, das bei der Brutschrankmethode der S.G.R., ganz besonders aber bei der D.M. nicht zu befürchten ist. An Spezifität für Lues war also die D.T.R. gleichfalls der S.G.R., D.M. und WaR. unterlegen; vgl. dazu auch Winkler (5), der im übrigen zu einem ähnlichen Urteil über die D.T.R. wie Poehlmann gelangte. Stempel (6) betont ebenfalls die Schwierigkeiten der Beurteilung, zumal schwach positiver Fälle; an sich schon trübe und hämolytische Sera lassen sich nach diesem Autor „nur bedingt“ verwenden. Im Gegensatz zu Poehlmann hält St. die Methode jedoch für brauchbar, event. unter Anwendung mehrerer Extrakte. Bachman (7), der die D.T.R. neben der S.G.R. und D.M. als Vergleichsreaktion zu der WaR. heranzog zur experimentellen Klärung unspezifischer Hemmungen der WaR., sah bei seinen Kaninchenversuchen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, niemals Versager der D.T.R. Auch Zieler (8) sagt von der D.T.R., daß sie infolge ihrer seltenen unspezifischen Ausfälle, die er nur bei schweren Erkrankungen, wie z. B. Tuberkulose, beobachtete, eine „wesentliche Bereicherung unserer Untersuchungsverfahren“ darstellt, wenn sie auch im allgemeinen bei Lues weniger häufig positiv ausfällt als die WaR. und S.G.R.

Eine gewisse Vereinfachung der D.T.R. bedeutete dann die in der Folgezeit von Dold angegebene Formolkontrolle (9). Er konnte nämlich zeigen, daß die zwischen Luesserum und Extraktverdünnung normalerweise erfolgende Reaktion durch Zusatz von Formaldehyd unterdrückt wird. Es lag nahe, diesen Umstand für die Versuchsanordnung der D.T.R. heranzuziehen, um auf diese Weise eine einfache Ausübung der Kontrollen zu gewinnen (10). Die Extraktkontrolle erübrigte sich, an Stelle der umständlichen Serumkontrollen trat die einfache Formolkontrolle derart, daß zu 0,4 ccm Patientenserum 2 Tropfen verdünntes Formalin und danach 2 ccm Extraktverdünnung hinzugefügt wurden; das positive und negative Vergleichsserum wurde in gleicher Weise behandelt. Die Beurteilung berücksichtigte demnach nur die im Vergleich mit der jedem Serum zugehörigen Formolkontrolle eingetretene stärkere (positiv) oder unverändert gebliebene (negativ) Trübung.

Fast zu derselben Zeit veröffentlichte auch Meinicke (11) eine von ihm ausgearbeitete Trübungsreaktion mit seinen für diese Zwecke cholesterinierten und mit 96-proz. Alkohol 3:2 verdünnten Pferdeherzextrakten. Als Kontrollflüssigkeit gibt M. einen stark verdünnten, in seinem Opaleszenzgrad genau auf denjenigen des Versuchsextraktes eingestellten Extrakt (Aetherauszug) an. Diese Kontrollflüssigkeit verursacht keine Trübung der Sera und hat den Vorteil, daß Hauptversuch und Kontrolle den gleichen Opaleszenzgrad aufweisen. Im übrigen hält sich M. an die Mengenverhältnisse der D.T.R., also 0,4 ccm Serum und 2 ccm Extraktverdünnung; die Ablesung erfolgt nach 2—3 Std. Brutraumaufenthalt. Die schon ohne Cholesterin stark eingestellten Meinicke-Extrakte erwiesen sich auch in dieser Versuchsanordnung nach Angabe Meinickes den Rinderherzextrakten Sachs-Georgis überlegen. Diese sogenannte M.T.R. war nach 24 Std. gleichfalls als Flockungsreaktion abzulesen; jedoch zeigte es sich, daß infolge des stark verdünnten Extraktes nicht alle positiven Sera, die sonst für die D.M. so charakteristische eindrucksvolle Flockung aufwiesen, so daß M. selbst die Cholesterinextrakte nur für die „Trübungs“- , nicht für die „Flockungs“-reaktion empfiehlt. Die Einstellung der serologischen Luesdiagnose ganz auf das Prinzip der Trübungsreaktion führte M. dann weiter aus, indem er zu seinen cholesterinierten Pferdeherz-Aetherrestextrakten noch Balsamum toltanum hinzusetzte, wodurch er eine Verklebung der dispersen Flockenteilchen herbeizuführen glaubt, die die Trübung der positiven Sera bis zur Undurchsichtigkeit steigert (12). Betreffs aller Einzelheiten begnüge ich mich hier mit dem Hinweis auf die angegebene Literatur. Der hauptsächlichste

Fortschritt der neuen Modifikation der M.T.R. gegenüber den bisherigen Luestrübungsreaktionen war darin zu sehen, daß die Beurteilung sich nicht mehr nach den unterschiedlichen Trübungsgraden richtete, sondern danach, ob der Hauptversuch undurchsichtig geworden oder durchsichtig geblieben war. Gegenüber den nach 24 Std. Brutraumautenthalt auftretenden Flockenbildungen der M.T.R. verhält sich M. sehr vorsichtig, indem er den Flocken in einem so stark eingestellten System, das absichtlich nur für die Frühablesung bestimmt war, nicht ohne weiteres den Charakter der Spezifität zusprach, obwohl er im Verlauf seiner Versuche keinen Unspezifitäten begegnet war.

Felke (13), von dem die erste Nachprüfung dieser neuen M.T.R. vorliegt, hält sie für die empfindlichste Luesreaktion, die aber zweifellos unspezifische Resultate aufweist und daher nur mit Vorsicht zu verwenden ist. Dahingegen glaubt Klein (14) zu der Angabe berechtigt zu sein, daß der M.T.R., zumal nach 24-stünd. Brutraumautenthalt (!) — also als einer überaus verfeinerten Flockungsreaktion — keine größere Neigung zu unspezifischen Ausschlägen anhaftet als des Wa.R. und D.M., während sie nach 4 Std. nicht völlig zuverlässig ist.

Die Ergebnisse der Nachuntersuchungen der M.T.R. sind also ebensowenig gleichsinnig ausgefallen wie die der D.T.R. Dold selbst versuchte (15) die Mißerfolge z. B. Pöhlmanns aus einer zu stark dispersen Beschaffenheit der verwendeten Extraktverdünnungen erklären zu können, andererseits aber aus mangelnder Beachtung seiner Vorschriften. In der genannten Arbeit schildert Dold, wie sich Differenzen zwischen den einzelnen Reaktionen zwanglos erklären lassen durch Darstellung der 4 von ihm beobachteten Verlaufstypen des Präzipitationsvorganges, die im einzelnen bedingt sind durch die Einwirkungen der individuell verschiedenen Sera auf den jeweils vorhandenen Dispersitätsgrad der Extraktverdünnungen, dessen Optimum in einem gewissen mittleren Grade zu suchen ist. Für die Praxis der serologischen Luesdiagnostik bedeutete es dann weiterhin einen Fortschritt, daß Dold zum Zwecke der Vereinfachung der D.T.R. die Serumkontrollen nur noch bei an sich schon trüben und ähnlichen Seris ausgeführt wissen will (16). Er nähert sich damit dem Standpunkt Meinickes, der ja schon bei der D.M. auf Kontrollen verzichtete und sie für die M.T.R. höchstens „im Interesse der Sicherheit“ angibt mit dem Hinweis, daß der „Geübte auf die sogenannte Serumkontrolle verzichten kann“. Eine Herabsetzung der Serum- oder Extrakt Dosen empfiehlt Dold nur dann, wenn „Fall und Lage es erfordern“; eine frühere Ablebung als nach 4 Std. ist nach seiner Meinung nicht angängig.

In mehreren Arbeiten (17, 18, 19, 20) vertreten nun Sachs und seine Schule den Standpunkt, daß keine Berechtigung dazu vorliegt, prinzipiell eine Abgrenzung „der Trübungs“- von den „Flockungs“-reaktionen vorzunehmen, da die Unterschiede in den quantitativen Verhältnissen nicht maßgeblich sein können. Sachs setzt sich mit den Anschauungen Dolds und Meinickes eingehend auseinander und gibt einen historischen Ueberblick über die Entwicklung der modernen Serodiagnose der Lues, in dem er schließlich in der Anwendung der Trübungsreaktionen keinen „praktisch wesentlichen Fortschritt“ erblicken kann.

Ich werde im folgenden über eigene Untersuchungen berichten, die im Laufe des Winters 1921/22 begonnen wurden, dann aus äußeren Gründen längere Zeit unterbrochen werden mußten, um erst während der Sommermonate ihren Abschluß zu finden.

Zunächst wurde mit der ursprünglichen D.T.R. gearbeitet, deren Resultate mit denen der Wa.R., S.G.R. und D.M. verglichen wurden. Nach Bekanntwerden der Formolkontrolle wandten auch wir die D.T.R. in dieser Form an. Die M.T.R. wurde erst mit den balsamfreien Extrakten ausgeführt; als die Balsamextrakte dann von der Adlerapotheke in Hagen i. W. erhältlich waren, arbeiteten wir ausschließlich mit diesen. Zahlenmäßig ist das Material, an dem wir die D.T.R. und die 1. M.T.R. nachprüften, ein nur geringes (c. 300 Fälle), so daß sich eine eingehendere Besprechung und tabellarische Zusammenstellung erübrigt.

Im allgemeinen erzielten wir eine nur mäßige Übereinstimmung zwischen der Wa.R. und den Trübungs- und Flockungsreaktionen (ca. 80 Proz.), die auf das relativ häufige negative Resultat der Trübungsreaktion bei positiven Flockungsreaktionen und Wa.R. zurückzuführen war. Schwierigkeiten in der Beurteilung der Trübungen hatten auch wir, zumal bei der ursprünglichen D.T.R.; diese wurden durch die

Einführung der Formolkontrolle beträchtlich verringert. Die M.T.R. schien uns deutlichere Bilder zu geben als die D.T.R., entsprechend den größeren Flockenbildungen, wie wir sie bei der D.M. im Vergleich zu der S.G.R. zu sehen gewohnt waren (21)<sup>1)</sup>. In gleicher Weise war die Übereinstimmung der M.T.R. mit der Wa.R. und den Flockungsreaktionen eine etwas bessere. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Trübungsreaktionen ist wohl, wie es auch Meinicke annimmt, auf die bessere Eignung der Pferdeherzextrakte zurückzuführen<sup>2)</sup>. Waren nun die Unterschiede in den Erfolgen zwischen den beiden Modifikationen der D.T.R. und der ursprünglichen M.T.R. an sich keine bedeutenden, so wurden sie nach Einführung der Balsamextrakte so offensichtlich, daß wir die D.T.R. zugunsten dieser neuen M.T.R. aufgaben und in der Folgezeit lediglich mit dieser, der D.M. und der Wa.R. arbeiteten.

Insgesamt wurden ca. 1000 Fälle nach dieser Methode untersucht, von denen zunächst ca. 100 Fälle rein orientierenden Zwecken zum Vergleich mit D.T.R. und 1. M.T.R. dienten, so daß wir nur auf die restlichen 900 Fälle hier näher eingehen wollen. Als Extrakt gelangte der von der Hagener Apotheke bezogene „E 23 mit Balsamzusatz“ zur Anwendung. In der Ausführung der M.T.R. hielten wir uns streng an die Vorschriften Meinickes. Alle Gebrauchsgegenstände (Gefäße, Pipetten) wurden im Brutschrank, ebenso wie der Extrakt und die 2-proz. Kochsalzlösung gut vorgewärmt, dann die Kochsalzlösung und die jeweilige Extraktmenge so schnell als möglich aus Bechergläsern zusammengeworfen und mit vorgewärmter Pipette die Extraktmischung aufgefüllt. Die Ablesung nahmen wir nach 1—2-stünd. Brutraumaufenthalt der Versuche vor und wiederholten sie nach 20—24 Std. im Agglutinoskop. Die D.M., die wir am hiesigen Institut seit  $\frac{1}{2}$  Jahr ständig und vorher in einem großen Teil der Untersuchungen neben der Wa.R. — letztere nach Reichsvorschrift — ausführen, bewährte sich uns in über 6000 Fällen aufs beste. Wir möchten in ihr für die Zukunft tatsächlich, wie auch Epstein und Paul (22), eine Ersatzreaktion der Wa.R. erblicken. Hervorzuheben ist, daß auch bei der D.M. sowohl Mischgefäße wie auch Extrakt und Aqua dest. gut vorgewärmt sein müssen — für die 2-proz. NaCl-Lösung ist dies hierbei nicht nötig — und daß die Mischung Extrakt + Aqua dest. mindestens 1 Std. an einem warmen Orte steht, nachdem sie vorher gut umgeschüttelt und durch Bedecken z. B. mit feuchtem Fließpapier vor Verdunstung geschützt ist. Ob man aktives oder inaktives Serum, bei Verwendung des aktiven Serums, den Extrakt mit 2- oder 3-proz. NaCl-Lösung verdünnt verwendet, ist u. E. gleichgültig. Bei den in der folgenden Zusammenstellung berücksichtigten Versuchen wurde die D.M. mit inaktiviertem Serum und 2-proz. NaCl-Lösung zur Extraktverdünnung ausgeführt. Eine kurze Bemerkung sei noch zur Ablesung der D.M. gestattet. Es ist wünschens-

1) Die von Stern-Düsseldorf (München. med. Wochenschr. 1921. Nr. 49) vorgeschlagene Kombination der D.M. und S.G.R. lieferte uns keine besseren Resultate als die Orig. D.M.

2) In einer aus der letzten Zeit stammenden Arbeit (Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 33) führt übrigens Felke den Nachweis, daß Rinder- und Pferdeherzextrakte für die Flockungsreaktionen prinzipiell einander gleichwertig sind.

Anm. bei der Korrektur: v. Gutfeld u. Prag (Med. Klin. 1922. Nr. 43), Dziuban (Česká derm. III. 1922. Nr. 10) verwenden mit Erfolg die Zentrifugiermethode zur Ausführung der D.T.R.



wert, die Resultate nach 24- und 48-std. Brutraumaufenthalt zu beurteilen, um auf diese Weise auch die bei der D.M. allerdings seltenen Spätflockungen zu erkennen, die man fast ausschließlich bei Fällen von behandelter Lues sieht. In der Statistik ist jedenfalls das endgültige, d. h. 48-std. Ergebnis der D.M. zum Vergleich mit der Wa.R. berücksichtigt. Aus äußeren Gründen ließ sich allerdings nicht in allen Fällen die 2-malige Ablesung durchführen. Ich habe schon in einer früheren Arbeit (21) hervorgehoben, daß hinsichtlich der Häufigkeit der D.M.-Spätflockungen bei den einzelnen Extrakten gewisse Unterschiede bestehen, so daß es sich bei vielen Extrakten, sobald man ihre Wirkungsart kennt, erübrigt, eine 48-std. Beobachtungszeit einzuhalten.

Unter den 900 Fällen reagierten in allen 3 Reaktionen übereinstimmend  
 positiv 180 Fälle = 20 Proz.  
 negativ 592 „ = 65,8 „

Es bestand also in 772 Fällen = 85,8 Proz. eine völlige Uebereinstimmung zwischen Wa.R., D.M. und M.T.R. Das Untersuchungsmaterial setzte sich in erster Linie aus Fällen von behandelter Lues, Primäraffekten, Luesverdacht und schließlich verschiedenen Erkrankungen zusammen, bei denen die serologische Untersuchung wohl nur aus dem Grunde vorgenommen wurde, um durch ihr Ergebnis eine latente Lues entweder auszuschließen oder aufzudecken.

Die 128 Fälle (14,2 Proz.), die eine Differenz im Ausfall der Seroreaktionen aufwiesen, habe ich eingeteilt in nur geringe und in starke Differenzen, letztere werden bei der Erläuterung der Tab. I nach obigen klinischen Gesichtspunkten besonders berücksichtigt. Auf die geringen Differenzen näher einzugehen, erübrigt sich aus zwei Gründen. Einmal da die Differenzen meistens nur so gering sind (z. B. Wa.R. ±, D.M., M.T.R. — u. ä.), daß auf sie kein entscheidender Wert zu legen ist, und zweitens, weil die etwas deutlicheren unter ihnen (z. B. Wa.R. ++, D.M. und M.T.R. — oder umgekehrt) in der überwältigenden Anzahl ihres Vorkommens der Klasse „behandelte Lues“ angehören.

Tabelle I.

Ausfall der einzelnen Reaktionen	Wa.R. different vom Ausfall beider M.Rr. 1)	Wa.R. stimmt mit dem Ausfall einer M.R. überein	
		Wa.R.    M.T.R.	Wa.R.    D.M.
	36	23	69
Wa.R. > M.Rr.	26 (10)	.	.
Wa.R. < M.Rr.	10 (5)	.	.
Wa.R. u. M.T.R. + D.M. —	.	1 (1)	.
Wa.R. u. M.T.R. — D.M. +	.	22 (4)	.
Wa.R. u. D.M. + M.T.R. —	.	.	51 (22)
Wa.R. u. D.M. — M.T.R. +	.	.	18 (7)

Anm. Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die starken Differenzen.

Wir sehen also, daß unter den 128 differenten Fällen nur 36mal der Ausfall der Wa.R. von dem beider M.Rr. verschieden war = 4 Proz., während 92mal = 10,2 Proz. eine teilweise Uebereinstimmung bestand, und zwar in 23 Fällen zwischen Wa.R. und M.T.R. und in 69 Fällen zwischen Wa.R. und D.M. Hieraus ergibt sich, daß zwischen Wa.R. und D.M. in 841 Fällen = 93,5 Proz. eine völlige Uebereinstimmung bestand.

1) M.Rr. = D.M. und M.T.R.

	geringe Differenzen	in 39 Fällen = 4,3 Proz.
	starke	„ 20 „ = 2,2 „
völlige Uebereinstimmung zwischen	Wa.R. und M.T.R.	„ 795 „ = 88,2 „
	geringe Differenzen	„ 61 „ = 6,8 „
	starke	„ 44 „ = 4,9 „
völlige Uebereinstimmung zwischen	D.M. und M.T.R.	„ 808 „ = 89,8 „
	geringe Differenzen	„ 58 „ = 6,4 „
	starke	„ 34 „ = 3,8 „

Betrachten wir uns jetzt die Differenzen der 1. und 2. Spalte der Tab. I näher, so sehen wir, daß die Wa.R. in 26 Fällen beiden M.Rr. überlegen, d. h. positiv bei negativem Resultat der M.Rr. war, und zwar beobachteten wir unter diesen 26 Fällen 10mal starke Differenzen. Die betreffenden Diagnosen lauteten: 4mal Lu. beh., 3mal „Nervenleiden“, 1mal progressive Paralyse, 2mal Lues II. Es sei schon hier bemerkt, daß die M.T.R. bei 2. Ablesung nach 24 Std. — also als Flockungsreaktion — in 2 Fällen von behandelter Lues und in dem 1 Fall von unbehandelter Lues II gleichfalls, wenn auch z. T. nicht so stark wie die Wa.R. positiv wurde. Die 3 Fälle von unklarem „Nervenleiden“ bedeuten keine tatsächliche Ueberlegenheit der Wa.R. über die M.Rr. im Sinne eines Werturteiles, denn bei einer nochmaligen Untersuchung war bei zweien dieser Fälle auch die Wa.R. negativ, von dem 3. Fall war leider kein Material mehr zu erhalten. Da ich schon früher die Beobachtung machen konnte, daß Sera Nerven- oder Geisteskranker relativ häufig eine positive Wa.R. bei negativen Trübungs- und Flockungsreaktionen zeigen, bei einer 2. Untersuchung jedoch auch in der Wa.R. einwandfrei negativ reagieren — also eine sog. paradoxe Wa.R. aufweisen<sup>1)</sup> —, so möchte ich auch dem positiven Ausfall dieses 3. Falles bei negativen M.Rr. ohne Nachuntersuchung keine diagnostische Bedeutung zumessen. Wenn man also das Endergebnis der M.T.R. zur Beurteilung mit heranzieht, so bestand eine tatsächliche deutliche Ueberlegenheit der Wa.R. über beide M.Rr. nur in 4 Fällen, nämlich 2mal „Lu. beh.“, 1mal Lues II und 1mal progressive Paralyse.

In Spalte 2 haben wir die Ueberlegenheit der M.Rr. über die Wa.R. ausgedrückt. Sie trat in 10 Fällen zutage, davon 5mal deutlich; in allen diesen 5 Fällen handelte es sich um behandelte Lues.

Spalte 3: Nur 1 Fall zeigte einen stark positiven Ausfall von Wa.R. und M.T.R. bei negativer D.M., die Diagnose lautete „Epilepsie“. Eine nochmalige Einsendung von Untersuchungsmaterial fand nicht statt. Es ist ohne klinische Kenntnis dieses Falles unmöglich, ein endgültiges Urteil zu äußern; ein Versager der D.M. ist möglich, ebensogut aber auch ein unspezifisches Ergebnis von Wa.R. und M.T.R. Daß umgekehrt viel häufiger Wa.R. und M.T.R. negativ ausfallen bei positiver D.M., zeigt Spalte 4 = 22 Fälle, unter denen allerdings in nur 4 Fällen die Ueberlegenheit der D.M. eine starke war. 3mal handelte es sich hierbei wieder um behandelte Lues, in 2 von diesen Fällen war die M.T.R. nach 24 Std. gleichfalls positiv, ebenso in dem 4. Fall, in dem keine Diagnose angegeben war. Ohne diesen letzteren Fall hiermit diagnostizieren zu wollen, möchte ich betonen, daß die meisten der uns ohne Diagnose eingesandten Blutproben von behandelten Patienten stammen, wie wir bei gelegentlichen Rückfragen bei den einsendenden Ärzten immer wieder erfahren konnten. Einige wenige Fälle waren leider nicht aufzudecken.

1) Eine stattgehabte Veronal- oder Scopolaminmedikation könnte diese vielleicht erklären.

In den letzten Spalten 5 und 6 sind die Fälle gesammelt, die eine Uebereinstimmung zwischen Wa.R. und D.M. aufweisen (positiv oder negativ) bei entgegengesetztem Ausfall der M.T.R. Spalte 5 weist die größte Anzahl aller Differenzen auf: 51 Fälle. In 22 Fällen waren die Differenzen deutlich, und zwar setzten sich diese zusammen aus 17mal „Lues behandelt“, 1mal „P.A.“, 1mal „multiple Sklerose“, einmal „Tabes“, 2mal ohne Diagnose. Nach 24-std. Brutraumaufenthalt zeigten jedoch 15 Fälle von behandelter Lues, der Fall von P. A., die beiden Fälle von — wahrscheinlich wohl nur symptomatischer — „multipler Sklerose“ und „Tabes“ sowie das eine der unbekanntenen Sera eine teils nur geringe, teils stärkere Flockung der M.T.R.

Was endlich die letzte Spalte 6 anbetrifft, so handelt es sich hier um 18 Fälle, in denen eine negative Wa.R. und D.M. einer positiven M.T.R. gegenüberstehen. Darunter weisen 7 Fälle starke Differenzen auf: 5mal lag „Lu. beh.“ vor, 1mal „P.A.“ und 1 Fall ohne Diagnose.

Insgesamt läßt sich feststellen, daß die M.T.R. als „Trübungsreaktion“ abgelesen, in 36 Fällen ein negatives Resultat zeitigte gegenüber einem stark positiven Ausfall der Wa.R. und D.M., daß aber in 26 von diesen 36 Fällen nach 24 Std. eine deutliche Flockung eingetreten war, somit in nur 10 Fällen = 1,1 Proz. die M.T.R. auch nach 24 Std. noch negativ war bei positiver Wa.R. oder D.M. Wie häufig bei der M.T.R. an sich eine Flockung eintritt, ohne daß sich die Frühtrübung zeigt, ist aus Tab. II ersichtlich.

Tabelle II.

M.T.R. I. Ablsg. — II. Ablsg. +	Luesbehandl. 112	P.A. 9	Verdacht auf Lues II 5	Ein Ehegatte luisch. infiz. 5	Lues cong. 4	Lues II 3	Tabes, Lues cereb. 3	Ver- schiedenes 11	? 17	173
Wa.R. u. D.M. —	74	7	9	5	3	1	2	9*)	10	120
Wa.R. u. D.M. +	26	2	.	.	1	.	1	1 <sup>1)</sup>	2	33
Wa.R. — u. D.M. +	7	.	.	.	.	.	.	1 <sup>2)</sup>	5	13
Wa.R. + u. D.M. —	5	.	.	.	.	2	.	.	.	7

\*) Je 2mal „Psychose“, „Ulcus cruris“, je 1mal „Balanitis“, „Muskelatrophien“, „Glaskörpertrübungen“, „Hämolytischer Ikterus“, „Iritis“.

Von den 691 bei der Frühablesung negativen Resultaten der M.T.R. wurden also 173 = 25 Proz. im weiteren Verlauf noch positiv. Für die Gesamtheit der 900 Untersuchungen bedeutet dies 19,2 Proz., in denen also die Reaktion erst nach 24 Std. abgelaufen war. Den überragenden Anteil der Fälle von „Lu. beh.“ an dem Konto der nachträglichen Flockungen zeigt die 1. Spalte der Tab. II. 67 Proz. = 112 von den 173 Fällen gehören behandelten Luespatienten an! Die in der M.T.R. nach 24 Std. gebildeten Flocken bei negativer Frühablesung sind im allgemeinen nur als schwach, aber doch deutlich positiv zu bezeichnen. Von den relativ seltenen Fällen, in denen trotz negativer Trübung nach 24 Std. eine starke Flockung eintritt, läßt sich sagen, daß man derartige Vorkommnisse am häufigsten wiederum bei den Seris behandelter Syphilitiker sieht, aber auch in Fällen von

1) „Multiple Sklerose“.

2) „Ikterus“.

P.A. und Luesverdacht, also in Fällen, in denen sichere Lues vorliegt oder nach den gegebenen Umständen mit größter Wahrscheinlichkeit eine luische Infektion anzunehmen ist. Die Möglichkeit einer unspezifischen Flockenbildung ist jedoch auch bei einem stark geflockten Serum nicht in allen Fällen mit Sicherheit auszuschließen, z. B. gehören die beiden Fälle von „Psychose“ aus der Klasse „Verschiedenes“ hierher wie der Fall von „Muskelatrophie“.

Bemerkenswert ist weiterhin die 2. Spalte mit den Fällen von Primäraffekt. In 7 sicheren Frühlyuesfällen zeigte nur die M.T.R. — allerdings als Flockungsreaktion — die spezifische Infektion an! In dieselbe Klasse gehören wohl auch die 5 Fälle, in denen ein Ehegatte luisch infiziert war und z. T. in spezifischer Behandlung stand. Nicht ganz sicher beweisend sind die Fälle von Lues II-Verdacht, unter denen jedoch 2 eine starke Flockenbildung aufwiesen und man nach den angegebenen Diagnosen — die eine „verdächtige Angina, als Infektionsquelle bezeichnet“, die andere „Drüenschwellung und suspektes Exanthem“ — das Vorhandensein einer Lues immerhin berücksichtigen muß. Die übrigen Fälle von Luesverdacht zeigten eine nur geringfügige Flockung bei ähnlich lautenden Diagnosen, so daß ich die Spezifität dieser Flockenbildungen nicht a priori leugnen kann. Die anderen aufgeführten Spalten erfordern weiter keine Erläuterungen bis auf die letzte, die Klasse „Verschiedenes“. Betreffs der starken Flockenbildungen verweise ich auf das schon oben Gesagte, die andern Fälle boten nur eine schwache Flockung dar, deren Spezifität man nach den klinischen Diagnosen und dem übrigen serologischen Befund wohl mit Recht bezweifeln muß. Ob allerdings die „Iritis“ nicht doch eine spezifische war, läßt sich ohne persönliche Kenntnis des Falles und ohne nochmalige serologische Untersuchung nicht entscheiden.

Im allgemeinen haben wir von dem positiven Ausfall der M.T.R. nach 24 Std. bei negativer Trübung den Eindruck einer hohen Spezifität für Lues. Noch mehr aber von der positiven Trübung, der nach meinen Erfahrungen eine höhere Spezifität als der Wa.R. zukommt. Eine reversible Trübung, d. h. eine Trübung ohne nachfolgende Ausflockung, analog der reversiblen Flockenbildung bei der S.G.R., wie sie von verschiedenen Autoren — z. B. von Rabinowitsch-Kempner (23) — beschrieben wurde, habe ich bei der M.T.R. nicht zu sehen bekommen. Wie sich die S.G.R. in dieser Hinsicht verhält, darüber sind Untersuchungen noch im Gange; auf diese wird später zurückzukommen sein.

Wie sich die Gesamtausbeute an negativen und positiven Resultaten durch die einzelnen Reaktionen gestaltet, möge diese kurze Zusammenstellung zeigen.

Tabelle III.

	Wa.R.	M.T.R.	D.M.
Negativ	642	691	637
Positiv	258	209	263

Wir sehen, daß die Wa.R. hinsichtlich ihres positiven oder negativen Ausfalles in der Mitte steht zwischen M.T.R. und D.M., wobei erstere weniger positive, letztere weniger negative Resultate liefert. Beurteilen wir jedoch die M.T.R. nach 24 Std., dann übertrifft sie sowohl die Wa.R. als auch die D.M. erheblich an Zahl positiver Aus-

fälle, da zu den 209 primär positiven sich noch die 173 spätgeflockten Fälle hinzugesellen.

Auf Grund dieser Untersuchungen kommen wir zu der Feststellung, daß die M.T.R. eine für die Serodiagnose überaus wertvolle Methode darstellt. Als die empfindlichste der heute bekannten Trübungs-Flockungsreaktionen ist ihr Ergebnis nach 24 Std. nur mit Vorsicht zu verwerten, deshalb wird sie in Zweifelsfällen vorläufig nur als Zusatzreaktion zu der Wa.R. oder einer Flockungsreaktion auszuführen sein. In behandelten und Frühlesfällen ist ihr Ausfall häufiger, als es bei den bisher geübten Methoden der Fall ist, positiv, so daß sie in diesen Fällen, falls es erforderlich sein sollte, an Stelle der bisherigen Methoden ausgeführt werden kann.

Als sehr vorteilhaft erwies sich uns die Einteilung der Sera in trübe und klare (s. o.). Während man bei den klaren Seris auf eine Kontrolle ohne weiteres verzichten kann, sind wir bei den trüben so vorgegangen, daß wir, um eine Vergleichsmöglichkeit zu gewinnen, zu jedem derartigen Serum die Formolkontrolle ausführten. Negative Sera zeigen dann nach 1—3 Std. eine in beiden Röhrchen unverändert gebliebene mehr oder weniger deutliche Trübung, während die positiven eine gegenüber der Kontrolle auffallende Trübungszunahme aufweisen. Eine absolute Hemmung der Flockenbildung wird durch den Formolzusatz nicht erreicht. Stark positive Sera weisen — allerdings nur in einem kleinen Prozentsatz als Ausnahmeerscheinung — auch in den mit Formol versetzten Kontrollröhrchen nach 24 Std. eine feinkörnige Flockung auf.

#### Zusammenfassung.

Die M.T.R. stellt eine sehr brauchbare Methode des serologischen Luesnachweises dar, deren positives Frühergebnis für Lues in einem höheren Grade als das der Wa.R. charakteristisch zu sein scheint, während man sich gegenüber den nach 24 Std. auftretenden Flocken je nach der klinischen Stellung des Falles vorsichtig verhalten muß.

#### Literaturnachweis.

- 1) Sachs-Georgi, Med. Klin. 1918. Nr. 33. — 2) Dold, Arb. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt 1921. Nr. 14. — 3) Ders., Med. Klin. 1921. Nr. 31. — 4) Poehlmann, München. med. Wochenschr. 1921. Nr. 42. — 5) Winkler, Med. Klin. 1921. Nr. 51. — 6) Stempel, München. med. Wochenschr. 1922. Nr. 3. — 7) Bachmann, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 34. 1922. H. 4. — 8) Zieler, München. med. Wochenschr. 1922. Nr. 14. S. 531. — 9) Dold, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 49. — 10) Ders., Ibid. 1922. Nr. 8. — 11) Meinicke, Ibid. 1922. Nr. 7. — 12) Ders., Ibid. 1922. Nr. 12. — 13) Felke, München. med. Wochenschr. 1922. Nr. 30. S. 1136. — 14) Klein, Ibid. 1922. Nr. 31. S. 1168. — 15) Dold, Med. Klin. 1922. Nr. 7. — 16) Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 24. — 17) Sachs, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 132. — 18) Ders., Jahresk. f. ärztl. Fortbild. 1921. H. 10. — 19) Ders., Med. Klin. 1922. Nr. 27. — 20) Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 27. — 21) Bering, Med. Klin. 1922. Nr. 32. — 22) Epstein u. Paul, Ibid. 1921. Nr. 37. — 23) Rabinowitsch-Kempner, Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 12.

*Nachdruck verboten.*

## Universalpipette für serologische Arbeiten (speziell für Wassermann-Untersuchungen mit $\frac{1}{4}$ -Dosen).

[Aus der serologischen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ (Abteilungsdirektor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Otto).]

Erwiderung auf die Bemerkungen von Priv.-Doz.  
Dr. F. W. Bach.

Von Dr. Georg Blumenthal, Assistent am Institut.

Meine Beschreibung einer Pipette für serologische Arbeiten in Bd. 87. 1921. Heft 4 Abt. I. Orig. hat Bach veranlaßt, in demselben Centralbl. Bd. 88. 1922. S. 255 eine im Serologischen Laboratorium des Bonner Hygiene-Institutes schon seit ca. 7 Jahren verwendete „2 ccm-Pipette mit  $\frac{1}{4}$ - und  $\frac{1}{100}$ -Einteilung“ zu beschreiben, die mir bis heute unbekannt war. Sie soll der von mir im vorigen Jahre angegebenen „Universalpipette“ ähneln, ja in gewissen Punkten nach Ansicht des Verf. überlegen sein.

Auf die hierfür angeführten Gründe, die keineswegs stichhaltig sind, will ich hier nicht näher eingehen, sondern nur die folgenden 3 besonders wichtigen Unterschiede zwischen meiner „Universalpipette“ und dem von Bach angegebenen Instrument aufmerksam machen.

Zunächst handelt es sich um die Ziffernbezeichnung von unten nach oben. Diese ist, da die Feinteilung von der Spitze nur bis 0,5 ccm (seit einiger Zeit, aber noch vor Erscheinen des Bachschen Artikels, bis zu 1,0 ccm) geht und die jeweils abzumessende geringere Menge selbstverständlich von der Spitze aus abgelesen werden muß, absichtlich so angebracht. Die umgekehrte Reihenfolge erscheint nicht nur mir, sondern offenbar auch Bach selbst als weniger praktisch, indem er meint, daß „der im Pipettieren Geübte“ sich doch kaum mehr an die absoluten Zahlen halten, sondern in jedem beliebigen Intervall abmessen wird. Im übrigen dürfte die Durchführung der Feinteilung durch die ganze Pipette wohl überflüssig sein. Wenigstens kommt bei der WaR. nach der Originaltechnik eine fortlaufende Abmessung von 0,05 ccm nicht in Frage.

Der 2. Punkt betrifft die Verwendung meiner Pipette als Auslaufpipette. Bei allen serologischen Untersuchungen, speziell bei der WaR., für die ja die Universalpipetten in der Hauptsache gedacht sind, sollen sie nicht nur zum reihenweisen Einfüllen der einzelnen Reagentien (wie z. B. von Antigen, Komplement usw.), sondern auch vornehmlich zur Verteilung der Sera dienen. In unserem Laboratorium werden sie bei der Ausführung der WaR. neben besonders langen 5 ccm-Pipetten, die durchlaufend mit schwarzen Strichen bei den 0,5 ccm-Abmessungen versehen sind und zur Einfüllung des Ambozeptor-Blutgemisches dienen, für alle übrigen Reagentien ausschließlich benutzt. Bei den geringen Blutmengen, die oft eingesandt werden, und der Notwendigkeit sterilen Arbeitens, da man ja einzelne Sera als Kontrollen aufheben muß oder, falls sie zu weiterer wissenschaftlicher Bearbeitung Verwendung finden sollen, ist die Benutzung von Nicht-Auslaufpipetten direkt unpraktisch

und unökonomisch. Wenn die Endgraduierung der Spitze fehlt, könnte man einzelne Sera, von denen nur wenig vorhanden ist (z. B. nur 0,25 ccm, die geringste Serummenge, die nach der amtlichen Vorschrift zur Anstellung der WaR. erforderlich ist) gar nicht abmessen und einfüllen. Außerdem würde man beim Abmessen des immerhin kostbaren unverdünnten Ambozeptors oder der noch bedeutend teureren Antigene stets zu viel verbrauchen. Die Möglichkeit, die Bachsche Pipette auch nach Beschädigung der Spitze noch gebrauchen zu können, wiegt die eben geschilderten großen Nachteile nicht auf. In solchen Fällen werden bei uns die Pipetten in der Flamme unten wieder neu ausgezogen und dann als Nicht-Auslaufpipetten, aber nur zur Einfüllung von Reihenverdünnungen von je 0,25 ccm, unter Außerachtlassung der Spitzengraduierung benutzt.

Was 3. die verschiedene Färbung der beiden Graduierungen betrifft, so gibt auch Bach ihre Vorzüge zu, scheint aber ihren eigentlichen Sinn vollkommen mißverstanden zu haben. Die durch die ganze Pipette einheitlich durchgeführte, tiefschwarze, eingebrannte und daher dauerhafte Markierung der  $\frac{1}{4}$  ccm-Teilung soll sich nicht nur von ikterisch und blutig tingierten Flüssigkeiten, sondern vor allem von der unten angebrachten farblosen Feinteilung gut und deutlich abheben. Durch Einreiben der von Bach empfohlenen Mittel läßt sich dagegen nur eine gleichmäßige, unterschiedslose Färbung der gesamten Graduierung erreichen, die noch dazu beim Reinigen und Spülen der Pipetten mehr oder weniger rasch wieder verloren geht.

Dies wären kurz die Hauptunterschiede zwischen beiden Pipetten. Sie scheinen mir nicht nur die Ueberlegenheit meiner „Universalpipette“, sondern auch die Berechtigung ihres Anspruches auf Neuheit zu erweisen.

*Nachdruck verboten.*

## Zwei Bemerkungen zum Aufsatz „Giemsa: Das Wesen der Giemsa-Färbung“.

In diesem Bande S. 99.

Von P. G. Unna.

1) Obwohl die Anschauungen von Giemsa und mir sich in vielen Punkten genähert haben, kann ich seine Meinung, daß ich „meinen Standpunkt im Laufe der meinem Vortrag folgenden Diskussion schließlich aufgegeben habe“, nicht zugeben. Um weiteren Mißverständnissen vorzubeugen, gebe ich hier noch einmal schematisch meine Ansicht vom Zustandekommen der beiden thiazinroten Färbungen der Mastzellen einerseits, der Protistenkerne andererseits:

Eiweißverwandtschaft des Thiazinrots.

A. Einfache Färbung.

Mastzellenkörnung — Thiazinrot  
sauer basisch.

## B. Beizenfärbung

Protamin und Histon — Eosin — Thiazinrot  
 der Protistenkerne zweibasische Beize basisch  
 basisch sauer basisch

Die Färbung der Protistenkerne ist die kirschrote Farbe des Anhydrids vom Thiazinrot. Die Hauptfunktion des Eosins als zweibasischer Säure ist die Verkettung der beiden Basen: Thiazinrot und basisches Eiweiß des Protistenkernes. Das Einzige, was ich Giemsa zugegeben habe, ist die Nüanzierung der Farbe des Protistenkernes durch den Eintritt des gelbroten Eosins in die Tripelverbindung und die dadurch bewirkte leuchtendere Färbung. Worauf es aber hauptsächlich ankommt, die Verkettung des Thiazinrots mit dem basischen Eiweiß des Protistenkernes, so kann diese auch ohne Eosin durch farblose Verbindungen wie Tribromphenolkalium erzielt werden.

2) Giemsa ist nicht der Ansicht, daß sich das rote Basenanhydrid mit dem Protistenkerne verbinden könne, und stützt sich dabei teilweise darauf, daß der Protistenkern „stark sauer“ sei. Auch hierin bin ich entschieden anderer Ansicht und halte die Protistenkerne für wesentlich basischer Natur, seitdem ich das stark basische Protamin im Außenkerne der *Amoeba limax*<sup>1)</sup> und das ebenfalls basische Histon im Kern des *Trypanosoma gambiense*<sup>2)</sup> nachweisen konnte, die stark saure Nukleinsäure der Metazoenkerne jedoch vermißte.

1) Unna u. Tielemann, Zur Chemie der Amöben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. Heft 1/3.)

2) Dies., Zur Chemie des *Trypanosoma gambiense*. (Arch. f. Schiff- u. Tropenhyg., Bd. 23. 1919. S. 37.) — Dies., Das Histon des *Trypanosomenkernes*. (Ebenda. Bd. 25. 1921. S. 141.)

## Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Beger, H.</b>, Zur Frage der Konservierung präzipitierender Antisera, S. 210.</p> <p><b>Bering, Hans</b>, Ueber die Meinickesche Trübungsreaktion (M.T.R.) bei Lues, S. 213.</p> <p><b>Blumenthal, Georg</b>, Universalpipette für serologische Arbeiten (speziell für Wassermann-Untersuchungen mit <math>\frac{1}{2}</math>-Dosen). Erwiderung auf die Bemerkungen von Priv.-Doz. Dr. F. W. Bach, S. 222.</p> <p><b>Braun, H.</b>, u. <b>Chao Shi-Tsing</b>, Ueber das Blutgift der Proteus-Bazillen. Zugleich ein Beitrag zur Genese der Bakterienblutgifte, S. 139.</p> <p><b>Bukofzer, Adolf</b>, Versuche zur Feststellung des Gehaltes an ablenkenden Substanzen in verschiedenen gegen die Erreger der hämorrhagischen Septikämie gerichteten Immunseren, mit besonderer Berücksichtigung der Geflügelcholera, S. 161.</p> <p><b>Engering, Paul</b>, Zur bakteriologischen Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen, S. 120.</p> <p><b>Forrai, Elemér</b>, Balantidien-Colitis. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 186.</p> | <p><b>Gózony, Ludwig</b>, u. <b>Kramár, Eugen</b>, Reduktionsversuche mit Bakterien, S. 193.</p> <p><b>Jacobitz, E.</b>, u. <b>Engering</b>, Die Kodama'sche Syphilisreaktion, S. 116.</p> <p><b>Kimmelstiel, P.</b>, Ueber eine biologische Eigenschaft eines Wurzelbazillus. Mit 1 Abbildung im Text, S. 113.</p> <p><b>Leon, N.</b>, Ein neuer Fall von <i>Taenia cylindrica</i>. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 191.</p> <p><b>Ruge, Heinrich</b>, Vergleichende Untersuchungen über die Methoden der serologischen Luesdiagnostik. Mit 1 Kurve im Text, S. 127.</p> <p><b>Unna, P. G.</b>, Zwei Bemerkungen zum Aufsatz „Giemsa: Das Wesen der Giemsa-Färbung“, S. 223.</p> <p><b>van Heelsbergen, T.</b>, Kuhpocken beim Menschen durch das Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa equi. [Der Zusammenhang zwischen der Stomatitis pustulosa contagiosa equi, den spontanen Kuhpocken, den Geflügelpocken und der Vakzine]. Mit 1 Tafel, S. 173.</p> <p><b>Zehetmayr, Hans</b>, Ueber die Wirksamkeit des normalen Rinderserums bei der Milchbrandinfektion, S. 153.</p> |
|---|--|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



*Nachdruck verboten.*

## Die Beziehung des bakterizidiefesten Tuberkelbazillus zur Tuberkuloseimmunität.

[Aus dem Bakteriolog. Laborat. der Nippon med. Hochschule zu Mukden.]

Von Prof. Dr. **Hidezo Toyoda** und Dr. **Yung-nen Yang**.

Mit 1 Tafel.

R. Koch hat über die Tuberkuloseimmunität ein interessantes Experiment gemacht: Wenn man ein gesundes Meerschweinchen mit einer Reinkultur von Tuberkelbazillen impft, verklebt in der Regel die Impfwunde und scheint in den ersten Tagen zu verheilen: Erst im Laufe von 10–14 Tagen entsteht ein hartes Knötchen, welches bald aufbricht und bis zum Tode des Tieres eine ulzerierende Stelle bildet. Ganz anders verhält es sich, wenn ein bereits tuberkulöses Meerschweinchen geimpft wird. Am besten eignen sich hierzu Tiere, welche 4–6 Wochen vorher erfolgreich geimpft waren. Bei einem solchen Tiere verklebt die kleine Impfwunde anfangs ebenfalls, aber es bildet sich kein Knötchen, sondern schon am nächsten oder zweitnächsten Tage tritt eine eigentümliche Veränderung an der Impfstelle ein. Sie wird hart und nimmt eine dunkle Färbung an, und zwar beschränkt sich dies nicht auf die Impfstelle selbst, sondern breitet sich auch auf die Umgebung bis zu einem Durchmesser von 1 cm aus.

In den nächsten Tagen stellt sich dann immer deutlicher heraus, daß die so veränderte Haut nekrotisch ist; sie wird schließlich abgestoßen und es bleibt eine flache Ulzeration zurück, welche gewöhnlich schnell und dauernd heilt, ohne daß die benachbarten Lymphdrüsen infiziert werden.

Diese Tatsache ist leicht nachweisbar, wenn die Reinfektionsdosis der Kulturbazillen sehr klein gewählt wird. Hieraus ist ersichtlich, daß die Immunität auch bei den tuberkulösen Tieren hervortritt. Aber es ist bei der gewöhnlichen Auffassung von der Immunität schwer verständlich, daß die Reinfektionsstelle so leicht heilt, während die bei der 1. Infektion entstandenen Herde sich immer weiter entwickeln. Zur Erklärung dieser Tatsache erdachte *Weleminsky* die Lymphbahnimmunität, *Petruschky* die Durchseuchungsresistenz und *Neufeld* die relative Immunität. Die bisherigen Tuberkuloseforscher dachten nur an die Immunität der mit Tuberkulose infizierten Menschen oder Tiere, nicht aber an das Bakterizidiefestwerden des in den Körper eingedrungenen Tuberkelbazillus.

Einer von uns, *Toyoda*, hat früher über das Zustandkommen der Serumfestigkeit der *Recurrens*spirochäte und des Typhusbazillus gearbeitet und auf Grund seiner Arbeiten vermutete er, daß andere pathogene Mikroorganismen auch serumfest werden, und daß für die noch nicht geklärten Immunitätszustände bei chronischen Infektionskrankheiten, z. B. Tuberkulose, Rotz, Syphilis, Trypanosomenkrankheiten usw., sich

leicht eine Erklärung finden läßt, wenn sie in Verbindung mit der Bakterizidiefestigkeit der Erreger gebracht werden.

Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir über die Tuberkuloseimmunität folgende Untersuchungen angestellt:

#### Versuch I.

Meerschweinchen von 400–600 g Körpergew. wurde je  $\frac{1}{100}$  mg Bouillonkultur von Tuberkelbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Ein Teil von ihnen wurde nach 26 Tagen mit Gewebsaufschwemmung tuberkulöser Meerschweinschen, ein anderer Teil nach 27 Tagen mit Reinkultur von Tuberkelbazillen reinfiziert, um zu vergleichen, welche Veränderung durch die Reinfektion in beiden Fällen eintreten.

Die Gewebsaufschwemmung wurde auf folgende Weise gewonnen: Einem Meerschweinchen wurde 4 Wochen nach der Impfung mit Tuberkelbazillen-Bouillonkultur eine geschwollene Inguinaldrüse exstirpiert und die Drüse in einem Mörser unter Zusatz einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung fein zerrieben. In der Flüssigkeit befanden sich durchschnittlich zirka 4 Tuberkelbazillen in 1 Gesichtsfelde. Zur Impfung eines Tieres benutzten wir 0,3 ccm von der Flüssigkeit. Die Kulturbazillienemulsion zur Reinfektion wurde auf folgende Weise gewonnen: Eine ziemlich große Menge einer Bouillonkultur desselben Stammes wurde in einem Mörser zerrieben, unter Zusatz von physiol. Kochsalzlösung emulgiert und durch sterilisiertes Filterpapier filtriert, um große Bazillenhaufen zu entfernen. Das Filtrat wurde mit Kochsalzlösung verdünnt, bis es zirka 3–4mal mehr Bazillen als die Gewebsemulsion enthielt. 0,3 ccm von dieser wurde je 1 Tier eingepflegt.

Der Befund bei der Erstinfektion war bei allen Tieren so ziemlich derselbe: 2 Wochen nach der Impfung entstand ein hartes Knötchen an der Impfstelle, das nach zirka 3 Wochen aufbrach und sich zu einem unheilbaren Geschwür entwickelte. Der Befund der Reinfektion der einzelnen Tiere ist in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tuberkulöse Tiere	Nr. 1 mit Aufschwemmung tuberkulösen Gewebes reinfiziert.	Nach einer Woche ein fingerspitzen großer Knoten, der nach 16 Tagen aufbricht und sich zu einem bis zum Tode des Tieres bleibenden Ulcus ausbildet. † nach 32 Tagen.
	No. 2 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Der Knoten nach 21 Tagen aufgebrochen. † nach 24 Tagen mit Ulcus.
	Nr. 3 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Nach 26 Tagen Knoten aufgebrochen. † nach 29 Tagen mit Ulcus.
	Nr. 4 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Knoten nach 29 Tagen aufgebrochen. Das daumenkopfgroße Ulcus noch jetzt nach 8 Wochen vorhanden.
	Nr. 5 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Nach 50 Tagen aufgebrochen. Befund nach 8 Wochen wie Nr. 4.
Gesunde Tiere	Nr. 6 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Nach 26 Tagen aufgebrochen, nachher Ulcus entstanden.
	Nr. 7 dgl.	dgl.
Tuberk. Tiere	Nr. 8 mit den Kulturtuberkelbazillen reinfiziert.	Man konnte fast keine Veränderung bis zum Tode beobachten. Das Tier nach 11 Tagen gestorben.
	Nr. 9 dgl.	Ohne Veränderung nach 5 Wochen.
Gesunde Tiere	Nr. 10 dgl.	Ein kleines Knötchen nach 2 Wochen entstanden. Nach 24 Tagen aufgebrochen.
	Nr. 11 dgl.	Befund nach 2 Wochen wie Nr. 10. Nach 29 Tagen aufgebrochen.

Aus den 2 Versuchen geht hervor, daß bei tuberkulösen Tieren, die mit kleinen Mengen der Aufschwemmung tuberkulösen Gewebes reinfiziert wurden, sich an den Impfstellen der Reinfektion Ulzerationen bildeten, wie bei der ersten Impfung, nicht aber bei Tieren, die mit den

## Versuch II.

In dem Versuch wurde die Reinfektion 39 Tage nach der ersten Impfung vorgenommen.

Das Ergebnis war ähnlich dem ersten Versuche, wie folgende Tabelle zeigt:

Tuberk. Tier	Nr. 1 mit Aufschwemmung tuberkulösen Gewebes reinfiziert.	Fingerkopfgroßer Knoten nach einer Woche, der nach 20 Tagen aufbricht. † am nächsten Tage.
Ges. Tier	Nr. 2 dgl.	Befund nach einer Woche wie Nr. 1. Nach 3 Wochen taubeneigroßer Knoten.
Tub. Tier	Nr. 3 mit den Kulturbazillen infiziert.	Keine Veränderung nach 3 Wochen.
Ges. Tier	Nr. 4 dgl.	Kleiner Knoten nach 2 Wochen, der nach 3 Wochen erbsengroß ist.

Kulturbazillen reinfiziert wurden, obwohl die letzteren mit zirka 3—4mal mehr Bazillen als die ersten geimpft wurden.

Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß die Tuberkelbazillen in den Drüsen sicher eine gewisse Bakterizidiefestigkeit besitzen. Dadurch können wir leicht das Ergebnis des Kochschen Experiments erklären: Die Tuberkelbazillen in den durch die erste Infizierung entstandenen Herden sind bakterizidiefest; deshalb sind die Herde unheilbar, während die Reinfizierungsstellen mit den Kulturbazillen leicht heilbar sind.

Römer hat bei tuberkulösen Tieren, bei denen  $2\frac{1}{2}$  oder  $7\frac{1}{2}$  Mon. nach der Impfung verlaufen waren, mit den Tuberkelbazillen aus den Lymphdrüsen dieser Tiere eine Autoinokulation vorgenommen. Dabei fand er, daß die Tiere, die mit einer großen Menge von Bazillen geimpft wurden, sich reinfizieren, dagegen die Tiere, die mit einer kleinen Menge geimpft wurden, nicht. Daraus zog er den Schluß, daß die tierischen Bazillen von den Kulturbazillen nicht unterscheidbar sind (zit. nach Hiroshige, Kekkaku-zashi, Bd. 5. Nr. 4).

Die Resistenzfähigkeit der bakterizidiefesten Bazillen ist nicht absolut gegen die bakterizide Wirkung; deswegen wird die Bakterizidiefestigkeit nur in dem Fall nachgewiesen, in dem die tierischen Bazillen und die Kulturbazillen in gleicher Zahl oder, wie bei unserer Untersuchung, vergleichend geprüft wurden.

Bei den tuberkulösen Tieren, die zur Autoinokulation benutzt wurden, war nach der Impfung eine geraume Zeit verstrichen. Bei solchen Tieren beobachtet man oft Heilneigung der Impfungshautulcera, und zwar ist die Haut die erste Infektionsstelle. Also scheint es, als ob die Schutzkraft der Haut stärker als die der anderen Teile des Tieres sei. Deswegen können wir vermuten, daß solche Tiere gegen die Autoinokulation stark resistenzfähig sein können, d. h. solche Tiere scheinen sich zum Nachweis der Bakterizidiefestigkeit nicht zu eignen.

Hamburger hat eine interessante Tatsache beobachtet, nämlich daß unter Umständen die längst völlig verheilte Wunde an der Reinfektionsstelle nach vielen Wochen oder Monaten auf einmal sich leicht infiltriert und es sogar zur Geschwürsbildung kommen kann. Auch diese Tatsache ist durch die Bakterizidiefestigkeit leicht erklärbar: Die meisten zur Reinfektion benutzten Bazillen werden wegen der Immunität des Tieres abgetötet, aber die wenigen Bazillen, die resistenzfähiger sind,

bleiben im Ruhezustand im Gewebe. Während ihres Aufenthaltes dort werden die Bazillen bakterizidiefest und geben auf diese Weise zu einem Wiederaufflammen der Reinfektionsstelle Veranlassung. Dieser Mechanismus ist dem Rezidiv von Recurrensfieber vergleichbar. Unsere neue Beobachtung ist nicht nur von Interesse für die Immunitätslehre, sondern sie hat auch große Bedeutung für praktische Probleme. Es gab Autoren, die aus dem Kochschen Experiment die Schlußfolgerung zogen, die meisten Menschen infizierten sich schon im Kindesalter mit Tuberkulose und gewannen dabei eine gewisse Immunität, und diese Immunität verhindere die Entwicklung einer tuberkulösen Erkrankung bei Reinfektion. Die Menschen infizieren sich aber immer mit Bazillen, die von tuberkulösen Menschen direkt ausgeschieden werden. Wenn nun die Serumfestigkeit dieser Bazillen den Immunitätsgrad des betreffenden Menschen übertrifft, so kommt es zu einer Entwicklung der durch Reinfektion gesetzten Herde. Die obige Annahme ist also nicht immer richtig.

Endlich haben wir noch folgendes zu beachten: Wenn man in der Prophylaxe oder der Therapie der Tuberkulose einen immunologischen Erfolg erzielen will, muß eine so starke Immunität aktiv oder passiv erzeugt werden, daß sie die bakterizidiefesten Bazillen vernichten kann.

#### Literatur.

1) Koch, Dtsch. med. Wochenschr. 1891. — 2) Petruschky, Ergebnisse der Immunitätsf. usw. von Weichardt. Bd. 2. 1914. — 3) Neufeld, Zeitschr. f. Tuberk. Bd. 34. — Ders., Ebenda. Bd. 35. — 4) Wassermann, Ebenda. — 5) Toyoda, The Kitasato Arch. of exper. med. Vol. 4. 1920. Nr. 1. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Org. Bd. 88. 1922. — 6) Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1911. — 7) Hayek, Zeitschr. f. Tuberk. Bd. 35. — 8) Löwenstein, Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 5. S. 660. — 9) Kawamura, Nippon-no-ikai. 1921. — 10) Arima, Ijikoron. 1922.

#### Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Ein tuberkulöses Tier, das mit Aufschwemmung tuberkulösen Gewebes infiziert wurde. U.R. = Ulzeration der Impfstelle der Reinfektion.

Fig. 2. Ein Kontrolltier, das mit derselben Aufschwemmung infiziert wurde. U.I. = Ulzeration der Impfstelle.

Fig. 3. Ein tuberkulöses Tier, das mit Kulturbazillen reinfiziert wurde. O.R. = Ohne Veränderung der Impfstelle der Reinfektion.

Fig. 4. Ein Kontrolltier, das mit denselben Kulturbazillen infiziert wurde. U.I. = Ulzeration der Impfstelle.

*Nachdruck verboten.*

## Versuche über das Verhalten hämolytischer Streptokokken im Mäusekörper.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag  
(Vorstand: Prof. O. Bail).]

Von Dr. O. Nakamura.

Die folgenden, in ziemlich beträchtlichem Umfange angestellten Versuche sollten einen Beitrag zu der gegenwärtig viel studierten Frage der Umwandlung von pathogenen Bakterien durch den infizierten Tierkörper bringen. Daß bei der Infektion eine Veränderung der Bakterien

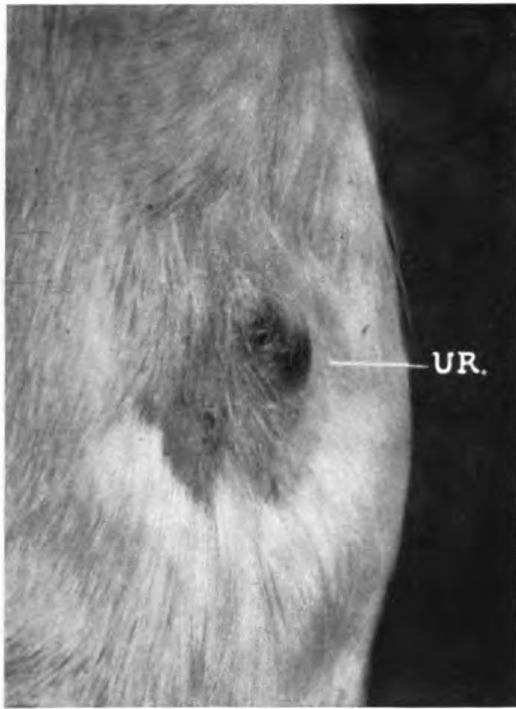


Fig. 1.

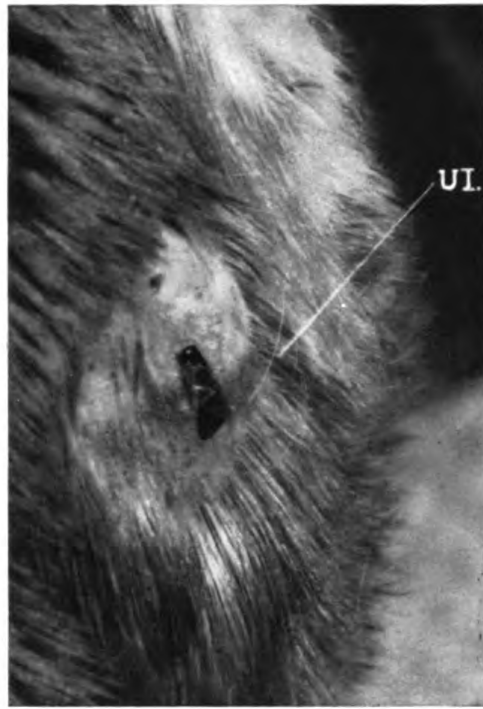


Fig. 2.

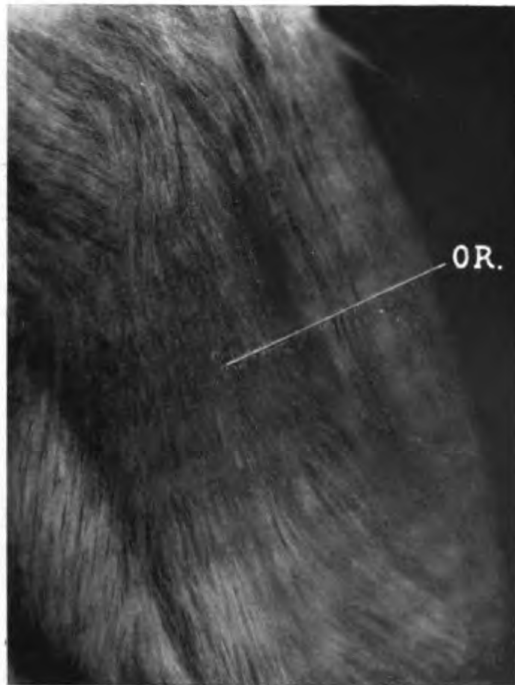


Fig. 3.

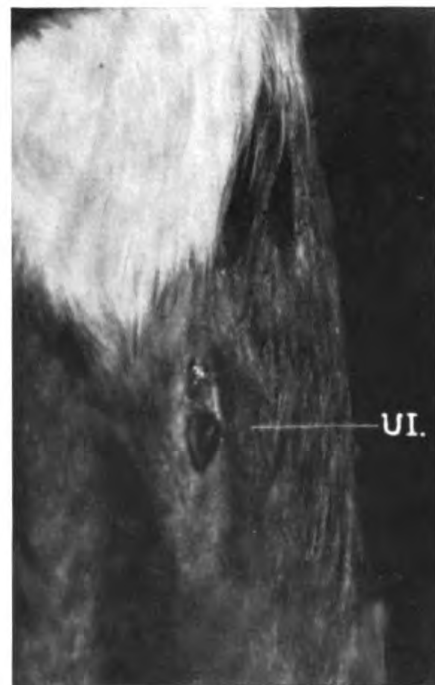


Fig. 4.



eintreten muß, läßt sich aus theoretischen Erwägungen ableiten und ist durch zahlreiche Befunde an verschiedenen Bakterien erhärtet. [Vgl. dazu Bail, Das Problem der bakteriellen Infektion. Leipzig (Klinkhardt) 1911 u. Weichardts Jahresber. f. 1912. Sowie: Die Studien über Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 46).]

Bei diesen Untersuchungen handelte es sich zumeist um Veränderungen des physiologischen Verhaltens von Bakterien, aus welchen ein Schluß auf eine Sicherung des Wachstums im Tierkörper, auf eine erhöhte Infektiosität durch Ueberwindung der Körperschutzkräfte gezogen wurde, oder auch um Aenderung des serologischen Verhaltens. Es ist aber ohne weiteres denkbar, daß unter Umständen auch eine gegenteilige Aenderung eintreten kann, daß nicht der Bazillus zur Ueberwindung der Körperschutzkräfte gelangt, sondern daß ihm seitens dieser jede Fähigkeit dazu, vorübergehend oder dauernd, genommen wird. Der Streptococcus ist in dieser Hinsicht in neuerer Zeit Gegenstand eifriger Untersuchungen gewesen.

Die Unterscheidung der Streptokokken nach ihrem Verhalten auf Blutagar ist bekannt, viel diskutiert aber wurde über die Frage, ob die Trennung in hämolytische, anhämolitische und vergrünende Stämme eine durchgreifende sei oder nicht; bezüglich der reinen hämolytischen Fähigkeit dürfte heute wohl feststehen, daß sie eine dem Wandel ebenso unterworfenen physiologische Fähigkeit sei, wie so viele andere auch, daß ein Streptococcus haemolyticus die Fähigkeit der Blutlösung verlieren kann, um sie wiederzugewinnen oder nicht. Sicherer zu trennen schienen Streptococcus haemolyticus (und anhaemolyticus) vom Str. viridans zu sein, und dessen Entdecker, Schottmüller<sup>1)</sup>, steht seit je auf dem Standpunkte, daß dieser nicht in den Str. haemolyticus übergehen, oder aus ihm hervorgehen könne. Rosenow<sup>2)</sup> gab an, daß der Str. haemolyticus unter verschiedenen Bedingungen (vermehrte Sauerstoffspannung, Symbiose mit B. subtilis) in Viridans überführt werden könne, und führte dies bei 21 Stämmen durch. Weiter gibt Rosenow an, daß der Viridans in den Pneumococcus überführt werden könne, umgekehrt aber auch der Pneumococcus in den Str. haemolyticus, oft auf dem Umwege über Viridans-Formen. Demgegenüber erzielten Morgenroth, Biberstein und Schnitzer<sup>3)</sup>, Schnitzer und Kühlewein<sup>4)</sup>, Schnitzer und Munter<sup>5)</sup>, Kuczynski und Wolff<sup>6)</sup> die Umwandlung hämolytischer Streptokokken in Viridans im infizierten Tiere, weitaus am öftesten in der mit chemotherapeutischen Mitteln oder ohne solche behandelten Maus. In der Regel handelte es sich um hämolytische Streptokokken, die entweder frisch vom Menschen gezüchtet waren, oder auch um ältere Laboratoriumsstämme von mäßiger Virulenz. Die Technik bestand im Ausstreichen der Organe der gestorbenen oder in verschiedenen Zeiten nach der Infektion getöteten Tiere auf Blutagarplatten. Eine besondere Regel im Auftreten der Zeit oder dem Orte nach ließ sich nicht erkennen, nur Kuczynski und Wolff geben an, daß die Lunge (Mitwirkung von Endothelien?) besonders häufig zu dieser Umwandlung Veranlassung gebe, was aber Schnitzer und Munter bestreiten. Von einer Umwandlung zu Viridans im Kulturversuch sprechen die genannten Autoren nicht, führen vielmehr ausdrücklich die Konstanz ihrer hämolytischen Stämme außerhalb des Tierkörpers an. Eine kürzlich (nach Abschluß der eigenen Versuche erschienene Arbeit von Hintze und Kühne<sup>7)</sup> berichtet über gelungene Umwandlungsversuche des hämolytischen Streptococcus in den vergrünenden, die bei einigen Stämmen sowohl bei der Fortzucht auf Nährböden als im Tierkörper, und zwar in den ersten Stunden nach der Infektion, eintrat. Ziemlich übereinstimmend geben die Versucher an, daß gleichzeitig mit dem Umschlag der hämolytischen Wirkung in eine vergrünende eine Virulenzverminderung, ja sogar ein vollständiger Virulenzverlust einhergehe. In der Absicht, diese Virulenzverminderung

1) Deutsche med. Wochenschr. 1922. S. 182.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. S. 284.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1920. Nr. 13.

4) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 92. p. 495.

5) Ibid. Bd. 93. p. 96.

6) Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 24. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. p. 119.

7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. Nr. 3.

und damit zusammenhängend den antigenen Bau der umgewandelten Stämme im Vergleich mit den Ausgangsstämmen zu studieren, wurden eigene Versuche unternommen.

Bei den Versuchen der 1. Serie war die Ausgangsinfektiosität der benutzten Stämme nicht vorher bestimmt, vielmehr dienten sie zur Virulenzbestimmung, bei welcher gleichzeitig eine etwa eintretende Umwandlung in *Viridans* beobachtet werden konnte. Obwohl sie daher bis zu einem gewissen Grade mehr als Vorversuche aufzufassen sind, werden sie doch deshalb angeführt, weil sie ein sehr beträchtliches Material darbieten, das u. a. die Auffindung eines *Viridans* ermöglicht hat.

Str. 1 aus Rachensekret (Angina) gezüchtet; Aszitesbrühe trüb mit Satz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagar stark hämolytisch.

18. Nov. Maus 1: 0,2 ccm 24<sup>h</sup> Aszitesbouillonkultur i.p. Nach 24<sup>h</sup> tot. Auf Blutagarplatte aus Peritoneum und Herzblut massenhaft hämolytische Str.

Maus 2: 0,02 ccm wie Maus 1. Am 23. Nov. krank, mit Chloroform getötet. Auf Blutagarplatte aus Peritoneum hämolytische Str. Sonstige Organe frei.

Maus 3: 0,002 ccm wie Maus 1. Tot am 23. Nov. Auf Blutagarplatte aus Peritoneum hämolytische Str. Sonstige Organe frei.

Nach diesem Versuche würden 0,02 und 0,002 ccm subakut tödlich sein. Eine Veränderung der eingespritzten Str. war innerhalb des 5-täg. Verweilens im Organismus nicht eingetreten. Anschließend wurde ein Versuch unternommen, schwer infizierte Mäuse verschiedene Zeiten nach der Infektion auf den Zustand der in ihnen enthaltenen Kokken zu untersuchen.

21. Nov. Maus 1: 0,3 ccm von Bouillonaufschwemmung einer 24-stünd. Loeffler-Serumkultur. i.p. Nach 1 Std. getötet B.a.p.; P, H, L, N<sup>1</sup>): h.

Maus 2: 0,3 ccm, nach 3 Std. getötet B.a.p.: P, H, L, N: h.

Maus 3: 0,3 ccm, nach 13 Std. getötet B.a.p.: P, H, L, N: h.

Es war somit keine Andeutung einer Veränderung der eingespritzten Kokken aufzufinden, allerdings auch bei der Schwere der gesetzten Infektion kaum zu erwarten, falls die Annahme der meisten Autoren zu Recht besteht, daß die Umwandlung des Str. *haemolyticus* in Str. *viridans* mit der vom Organismus geleisteten Abwehr zusammenhängt.

Maus 1 (0,02 i.p.)	Maus 2 (0,002 i.p.)	Maus 3 (0,0002 i.p.)
Nach 1 Std. K.p. h	K.p. h	K.p. h
„ 3 „ getötet. B.a.p.: P: h, sonstige Organe steril.	K.p. h	K.p. h
„ 8 „	getötet. B.a.p.: P: h sonstige Organe steril.	K.p. h
		nach einer Woche noch lebend.

Es ist somit auch hier keine Andeutung einer Umwandlung des hämolytischen Vermögens der Str. zu sehen gewesen.

Str. 2 aus Rachensekret (Angina) Aszitesbouillonkultur trüb mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagar stark hämolytisch.

Str. 2 Maus 1: 0,3 einer 24-stünd. Aszitesbouillonkultur i.p. Nach 20<sup>h</sup> tot. B.a.p.: P, H, L, N: h.

Maus 2: 0,3 einer 24-stünd. Aszitesbouillonkultur i.p. Nach 24<sup>h</sup> sehr krank, mit Chloroform getötet. B.a.p.: P: h + n.h. M: h + n.h. Niere; h + n.h. H: steril; L: steril.

Hier, wo ohne Zweifel die Infektion als sehr schwer bezeichnet werden muß, war eine Veränderung der im toten Tiere aufgefundenen Kokken unverkennbar. Ein Teil der aus dem Tiere 2 gezüchteten Kokken vermochte das Blut der Platte überhaupt nicht zu verändern; es fand keine Vergrünung statt, sondern es war völliger Verlust des hämolytischen Vermögens eingetreten, worüber später im Zusammenhange gesprochen werden soll.

Str. 9 aus Nasensekret (Nasendiphtherie). Aszitesbouillon klar mit flockigem Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte schwach hämolytisch.

1) Es bedeutet: P = Bauchhöhlenflüssigkeit, H = Herzblut, L = Lunge, N = Niere, h = *Streptococcus haemolyticus*, n.h. = nicht hämolysierender *Streptococcus*, B.a.p. = Blutagarplatte, K.p. = Kapillarpunktat aus der Bauchhöhle.



1. Dez. Maus 1: 0,02 ccm einer 24stünd. Aszitesbouillonkultur i.p. nach 48<sup>h</sup> Kapillarpunktat: zahlreiche n.h.-Kolonien. Nach 72<sup>h</sup> tot. B.a.p.: P: n.h. + h; L: h; H: h; N: steril. M (Milz) meistens n.h.

Maus 2: 0,002 ccm einer 24stünd. Aszitesbouillon i.p. nach 48<sup>h</sup> Kapillarp.: steril; lebt noch nach 2 Wochen.

Von diesem Stamme tötete 0,02 ccm noch akut, 0,002 überhaupt nicht mehr, wobei die Kokken nach 48<sup>h</sup> vom Infektionsorte verschwunden waren. Bei dem gestorbenen Tiere war wieder das Auftreten nicht hämolytischer Kokken festzustellen, die nach 48<sup>h</sup> und im toten Tiere sich an der Infektionsstelle und überdies nur in der Milz fanden, während in den übrigen Organen und im Blute die hämolytische Fähigkeit erhalten war.

Um die Verhältnisse im Peritoneum der Maus gegen diesen Stamm aufzuklären, wurde später ein eigener Versuch angestellt, bei dem das Peritonealexsudat der verschieden schwer infizierten Tiere zu verschiedenen Zeiten entnommen wurde.

29. Jan. Maus 1: 0,04 einer 24stünd. Aszitesbouillonkultur i.p.; Maus 2: 0,004 i.p.; Maus 3: 0,0004 i.p.

	Maus 1	Maus	Maus 3
Kapillarpunktat nach	1 <sup>h</sup> h	h	n.h.
	3 <sup>h</sup> h	—	—
	7 <sup>h</sup> h	—	—
	24 <sup>h</sup> —	—	—

13. Febr. tot.

Die Umwandlung der hämolytischen in den anhämolysierenden Stamm war nur in der leichtest infizierten Maus in zweifelhafter Weise eingetreten; die Lebensdauer am Infektionsorte war sehr gering; nnr bei der größten Kokkenmenge fanden sich lebende Keime bis zu 7<sup>h</sup>, sonst waren sie schon 3<sup>h</sup> nach der Infektion nicht mehr nachweisbar. Gegen den vorigen Versuch war ein deutlicher Virulenzverlust eingetreten.

Strept. 12 aus Rachensekret (Angina) Aszitesbouillon klar mit flockigem Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

Maus 1: 0,3 ccm 24<sup>h</sup> Aszitesbouillonkultur i.p. am folgenden Tage tot. B.a.p.: P, H, L, N, M: h.

29. Dez. 2 Mäuse eingestellt.

	Maus 1 (0,2 ccm i.p.)	Maus 2 (0,02 ccm i.p.)
Kapillar-	1 <sup>h</sup> h	h
punktat	3 <sup>h</sup> h	h
	7 <sup>h</sup> h	h
	10 <sup>h</sup> h	h

30. Dez. tot B.a.p.: P, M, H, N, L: h.

30. Dez. tot B.a.p.: P, L, H, N, M: h.

9. Febr. 2 Mäuse eingestellt.

	Maus 1 (0,2 ccm i.p.)	Maus 2 (0,02 ccm i.p.)
Kapillar-	1 <sup>h</sup> h	h
punktat	3 <sup>h</sup> h	h
	8 <sup>h</sup> h	h
	24 <sup>h</sup> tot B.a.p.: P, L, N: h.	—

10. Febr. tot B.a.p.: P, L, H, N: h + gewisse Anzahl n.h. N. h. auf die B.a.p. weiter überimpft; aber nicht gewachsen.

Die Infektiosität dieses Stammes war ansehnlich und erhielt sich durch fast 2 Mon. ungeschwächt. Nur in einem Tiere wurde das Auftreten anhämolysierender Kokken beobachtet.

Strept. 16 aus Nasensekret (Diphtherie) Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte schwach hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup> h	h
	3 <sup>h</sup> h	h
	8 <sup>h</sup> h	h
	24 <sup>h</sup> h	h

nach 3 Tagen tot. B.a.p.:

P, L, H, N: h + vereinzelt n.h.

Die Menge von 0,2 ccm Aszitesbouillon vermochte kaum mehr akut zu töten, 0,02 war wirkungslos, es handelte sich also um einen sehr wenig virulenten Stamm, dessen an sich schwache Hämolyse im Tierkörper bis auf das vereinzelt Auftreten anhämolysierender Kolonien nicht beeinflusst wurde.

Strept. 22 aus Nasensekret (Diphtherie) Aszitesbouillonkultur klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten; auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h
	3 <sup>h</sup>	h
	8 <sup>h</sup>	h
	24 <sup>h</sup>	h
	nach 1 Woche am Leben	nach 1 Woche am Leben

Somit ein bei starkem hämolytischen Vermögen ganz wenig virulenter, wenn nicht avirulenter Stamm, bei dem aber wenigstens in der Bauchhöhle (dem Infektionsorte) keine Aenderung des hämolytischen Vermögens eintrat.

Strept. 23 aus Nasensekret (Diphtherie), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h
	3 <sup>h</sup>	h
	8 <sup>h</sup>	h
	24 <sup>h</sup>	h
	nach 1 Woche tot. B.a.p.: P, L, H: h	nach 1 Woche noch lebend.

Es gilt von diesem Stamme im ganzen das Gleiche wie von Str. 22.

Strept. 24 aus Nasensekret (Diphtherie), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,3 i.p.)	Maus 2 (0,03 i.p.)	Maus 3 (0,003 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h	h
	3 <sup>h</sup>	h	h
	8 <sup>h</sup>	h	h
	24 <sup>h</sup>	h	h
	tot B.a.p.: P, L, H, N: h	nach 2 Tagen tot. B.a.p.: P, L, H: h	nach 3 Tagen tot B.a.p.: alle Organe: h

Die Virulenz ist ansehnlich, eine Aenderung der hämolytischen Fähigkeit der Kokken wurde nicht beobachtet.

Strept. 26 aus Rachensekret (Angina scarlatinosa), Aszitesbouillon mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h
	3 <sup>h</sup>	h
	8 <sup>h</sup>	h + n.h.
	24 <sup>h</sup>	h
	nach 4 Tagen tot. B.a.p.: P, H, N, L: h	tot B.a.p.: P, L, N, H: h

Virulenz somit sehr mäßig, kaum eine Aenderung der Hämolyse der Strept. beobachtet.

Strept. 27 aus Pleuraexsudat (Empyema), Aszitesbouillon trüb, mit Bodensatz, bildet daselbst kurze Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h
	3 <sup>h</sup>	h + n.h.
	8 <sup>h</sup>	h
	nach 2 Tagen tot. B.a.p.: P, H, L: h	nach 4 Tagen tot. B.a.p.: P, N: h M, H, L: steril

Es gilt von diesem Stamme das Gleiche wie von früheren.

Strept. 28 aus Pleuraexsudat (Empyema), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange bis lange Ketten, auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup>	h
	3 <sup>h</sup>	Punktat zu gering
	8 <sup>h</sup>	dgl.
	nach 4 Tagen tot, alle Kolonien sehen wie n.h. aus. Ueberimpfung auf die B.a.p. nicht gelungen	nach 1 Woche am Leben

Die Virulenz ist offenbar sehr gering. In der mit 0,2 ccm geimpften Maus blieben die Str. bis 8<sup>h</sup> lebend und in ihrem hämolytischen Vermögen unverändert. Im toten

Tiere hatten die noch nachweisbaren Keime zwar die Hämolyse, gleichzeitig aber auch ihre Lebenskraft eingebüßt.

Strept. 29 aus Rachensekret (Angina), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange bis sehr lange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup> h	h
	3 <sup>h</sup> h	h
	8 <sup>h</sup> Punktat zu wenig	Punktat zu wenig
	nach 8 Tagen tot B.a.p.: Aus P: h + spärliche n.h. Ueberimpfung auf die B.a.p.: nicht gelungen	
	nach 1 Woche am Leben	

Bei geringer Virulenz kaum eine nachweisbare Veränderung des hämolytischen Vermögens.

Strept. 35. Aus Eiter (Abszeß) Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)	Maus 3 (0,002 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup> h	h	h
	3 <sup>h</sup> getötet. B.a.p.: P: h	h	h + n.h.
	sonstige Organe: steril		
	8 <sup>h</sup>	getötet B.a.p.: P, L: h, sonst. Org.: steril	noch lebend
	24 <sup>h</sup>		

Ueber die Virulenz läßt sich eine Aussage nicht machen, da die meisten Tiere vorzeitig getötet wurden, um die etwaige Umwandlung der Str. zu untersuchen, die vermißt wurde; dabei hatte allerdings keinerlei Ausbreitung der Kokken über die Organe stattgefunden.

Strept. 36. Eiter, Aszitesbouillon trüb mit Bodensatz, bildet daselbst kurze bis mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)	Maus 3 (0,002 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup> h	h	h
	3 <sup>h</sup> getötet. B.a.p.: P: h	h	h
	sonstige Organe: steril		
	8 <sup>h</sup>	getötet. B.a.p.: P: h.	nach 1 Woche tot. B.a.p.: sonstige Organe: steril P: h. sonstige Organe: steril

Strept. 10 aus Rachensekret (Angina), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst kurze Ketten. Auf Blutagarplatte hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)	Maus 3 (0,002 i.p.)
2 <sup>h</sup> Kapill.:	h	Kapill.: h	Kapill.: h
3 <sup>h</sup> "	h	" h + n.h.	h
24 <sup>h</sup> getötet (munteres Tier) B.a.p.: P, H, L: h	getötet (munteres Tier) B. a-p.: P: h. + n.h. L: n.h. + h	getötet B.a.p.: P: h H: h + n.h. L: h	

Bezüglich dieser beiden Streptokokken gilt das bei Streptokokken 36 Gesagte, doch hat der Strept. 10 sich über die Organe verbreiten können.

Strept. 37 aus Menschenblut, Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte hämolytisch.

	Maus 1 (0,3 i.p.)	Maus 2 (0,03 i.p.)	Maus 3 (0,003 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>h</sup> h	h	h
	3 <sup>h</sup> getötet. B.a.p.: P: h. sonstige Organe steril	h	h
	8 <sup>h</sup>	getötet. B.a.p. P: h, sonstige Organe steril	nach 3 Tagen tot B.a.p.: P, H, N: n.h. L: h + n.h.

Der Tod von Maus 3 nach 3 Tagen mit dem Befunde von hämolytischen, zum großen Teil aber anhämolysierenden Strept. ließe auf eine größere Virulenz schließen.

Diese zahlreichen Versuche mit verschiedenen Strept. haben somit bestimmt keine Umwandlungen des hämolytischen in den vergrünenden

Typus ergeben. Die einzige Aenderung, welche in mehreren Fällen zu bemerken war, bestand in dem Auftreten von Kolonien aus dem Tierkörper, welche ihr hämolytisches Vermögen nicht mehr zu äußern vermochten. Ueber diese ist zu sagen, daß sie in vielen Fällen außerordentlich kümmerlich waren, was auch dadurch bestätigt wurde, daß ihre Weiterführung von der Platte weg, nicht mehr gelang. Es handelte sich also um Keime, die durch den Aufenthalt im Tierkörper aufs Schwerste geschädigt waren, sozusagen bis auf einen Rest von Lebenskraft, der nur noch zu einem dürftigen Angehen auf Blutagar, nicht mehr aber zur Ausübung sonstiger Lebensäußerungen, wie die Hämolyse, ausreichte. In anderen Fällen gelang die Weiterführung der Kolonien, die sich dabei erhielten und auch wieder hämolytisch wurden. Die ganze Erscheinung kann daher nicht als Ausbildung eines neuen Typus angesehen werden, sondern nur als eine durch äußere Umstände herbeigeführte Modifikation mit einiger Nachwirkung.

In methodischer Hinsicht ist zu bemerken, daß alle die erwähnten Versuche in der bisher im Institute üblichen Weise unter Verwendung von Kaninchenblutagar angestellt wurden (0,8—1,0 ccm frisch defibrin. Blutes auf 10 ccm Agar). Die Erfahrung hat gelehrt, daß Kaninchenblut am sichersten sterile Platten gibt, die bei entsprechender Herstellung fast niemals verunreinigende Kolonien aufweisen, was bei Blut von größeren Tieren (Schlachthausblut zu verwenden, geht für solche Versuche überhaupt nicht an) recht oft der Fall ist. Daß sich Kaninchenblut zum Studium der Vergrünung durchaus eignet, beweisen Versuche mit sicheren Viridans-Stämmen, von denen 8 zur Untersuchung gelangen. Sie wachsen auf der Blutplatte als zarte Kolonien mit grünem Hof.

Die Eignung der Kaninchenblutagarplatte steht somit außer Frage. Gleichwohl haben eigene Versuche doch öfters den Eindruck erweckt, als ob Hammelblut bei sonst gleicher Anwendung sich noch besser als Kaninchenblut eignen würde, was möglicherweise mit der Konzentration der Blutkörperchen zusammenhängt. Denn die schon mehrfach betonte Erscheinung, daß Zusatz von allzuviel Blut der deutlichen Sichtbarkeit der Vergrünung und auch der Hämolyse hinderlich ist, konnte auch hier beobachtet werden. Es wurden daher 2 Versuche mit Hammelblutagarplatten angestellt:

Strept. 17 aus Rachensekret (Angina), Aszitesbouillon klar mit Bodensatz, bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte stark hämolytisch.

	Maus 1 (0,2 i.p.)	Maus 2 (0,02 i.p.)
Kapillarpunktat	1 <sup>b</sup> h + vereinzelt n.h.	h + vereinzelt n.h.
	3 <sup>b</sup>	h
	8 <sup>b</sup> h + vereinzelt n.h.	h + vereinzelt n.h.
nach 2 Tagen tot.	B.a.p.: P, L, M, N: h	nach 3 Tagen getötet. B.a.p.: P, L, H, N: h aus der Platte mit Peritonealexsudat ein Viridans

Die Virulenz des Stammes ist offenbar eine sehr mäßige. Gezüchtet wurde aus Maus 1 nur Strept. haemolyticus und anhaemolyticus ohne Lebenskraft, aus der lebenden Maus 2 nur diese beiden, aus der toten aber, und zwar von der Infektionsstelle weg, eine zweifellos grüne Kolonie.

Strept. 9 aus Nasensekret (Nasendiphtherie) Aszitesbouillon klar mit flockigem Bodensatz bildet daselbst mittellange Ketten. Auf Blutagarplatte schwach hämolytisch.

Maus 1 (0,04 i.p.)	Maus 2 (0,004 i.p.)	Maus 3 (0,0004 i.p.)
1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h	Kapillarp.: h + vereinzelte grüne Kolonien	h
3 <sup>b</sup> getötet. B.a.p.: P, H, L, N: h + vereinzelt grüne Kolonien in allen Organen	nach 8 <sup>b</sup> getötet, B.a.p.: P: h + vereinzelt grüne Kolonien, L, H, N: vereinzelte grüne Kolonien.	nach 2 Tagen getötet. B.a.p.: P: h, sonstige Organe steril.

Diese grünen Kolonien liegen teils an der Oberfläche, teils in der Tiefe, sind meistens Diplokokken und haben in der Anordnung einzelner Kokken eine große Ähnlichkeit mit Tetrageses.

Ueber die Virulenz gibt der Versuch keinen Aufschluß. Dagegen ist hier ein Auftreten vergrünender Kolonien beobachtet worden, allerdings unter Umständen, welche eine Umwandlung der eingespritzten Kokken zweifelhaft erscheinen lassen. Einige dieser Kolonien lagen in der Tiefe, einige waren an der Oberfläche, bestanden aber nicht aus Ketten, sondern zeigten Diplokokken und oft Tetrageses-Anordnung. Es wird davon später noch die Rede sein.

Die folgende Serie von Versuchen wurde unter genauer Berücksichtigung der Dosierung und der Infektionszeit angestellt, wobei überdies eine eingehendere Untersuchung aller aus dem Tierkörper gezüchteten, irgendwie abweichenden Kolonien erfolgte.

Strept. 24, vergl. den früheren Versuch mit diesem Stamme.

Maus 1 (0,03 i.p.)	1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h.	
	3 <sup>b</sup> " h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ.	
	8 <sup>b</sup> " h.	
	24 <sup>b</sup> tot, alle Organe: h, aus N: n.h.: Ueberimpfung: h.	
Maus 2 (0,003 i.p.)	1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h.	
	3 <sup>b</sup> " h.	
	8 <sup>b</sup> " h.	
	24 <sup>b</sup> tot, alle Organe: h. aus L: n.h.: Ueberimpfung: h.;	
	aus H: n.h.: Ueberimpfung: teils h.	
	teils n.h.: 2. Ueberimpfung: h.	
Maus 3 (0,0003 i.p.)	1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h.	
	3 <sup>b</sup> " h.	
	8 <sup>b</sup> " h. + 1) winzigkleine n.h.: Ueberimpfung: negativ.	
		2) etwas größere n.h.: " h.
		3) große, runde n.h.: " h.
		4) große, ungleichmäßige n.h.: Ueberimpfg.: h.
	nach 3 Tagen tot: nicht untersucht.	
Maus 1 (0,003 i.p.)	} nach 3 <sup>b</sup> getötet. B.a.p. {	P: h. sonstige Organe steril.
" 2 (0,0003 i.p.)		alle Organe steril.
" 3 (0,00003 i.p.)		alle Organe steril.
" 4 (0,003 i.p.)	} nach 3 <sup>b</sup> Ka- { h. } nach 6 <sup>b</sup> ge- { P: h. sonstige Organe steril.	
" 5 (0,0003 i.p.)		h. } tötet. B.a.p. { P: h. sonstige Organe steril.
" 6 (0,00003 i.p.)		h. } steril (alle Organe).

Die Virulenz ist somit eine ansehnliche. Eine Umwandlung des hämolytischen Strept. war weder bei Verwendung tödlicher noch untödlicher Mengen eingetreten; die hier und da aufgetretenen anhämolysierenden Kokken verhielten sich, wie früher beschrieben. Ganz analog verliefen Versuche mit 3 anderen Streptokokkenstämmen.

Strept. 17, vergl. den früheren Versuch mit diesem Stamme.

Maus 1 (0,3 i.p.)	1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h.	
	3 <sup>b</sup> " h.	
	8 <sup>b</sup> " h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ.	
	nach 2 Tagen tot. B.a.p.: P, H, L, N: h.	
Maus 2 (0,03 i.p.)	1 <sup>b</sup> Kapillarp.: h.	
	3 <sup>b</sup> " h.	
	8 <sup>b</sup> tot. B.a.p.: P, H, L, N: h., aus N: n.h.: Ueberimpfung: h.,	
	aus P: n.h.: Ueberimpfung: n.h.:	
	Mikroskop.: Stäbchen.	

Maus 3 (0,003 i.p.)  $\left. \begin{array}{l} 1^b \text{ Kapillarp.: h. + n.h.:} \\ 3^b \text{ " h. + n.h.:} \\ 8^b \text{ " h. + n.h.:} \\ 24^b \text{ tot.: B.a.p.: P, H, N, L: h.} \end{array} \right\} \text{Ueberimpfung negativ.}$

Maus 1 (0,003 i.p.) nach  $2^b$  getötet. B.a.p.: P: h. L: n.h.: Ueberimpfung: negativ.  
 " 2 (0,0003 i.p.) "  $2^b$  " B.a.p.: P: h. + n.h.: " "  
 " 3 (0,00003 i.p.) "  $2^b$  " B.a.p.: P: h.  
 " 4 (0,003 i.p.) "  $2^b$  Kapillarp.: h., nach  $8^b$  getötet. B.a.p.: P, H, L: h.  
 " 5 (0,0003 i.p.) "  $2^b$  " h. "  $8^b$  " B.a.p.: P: h., sonstige Organe steril.  
 " 6 (0,00003 i.p.) "  $2^b$  " h. "  $8^b$  " B.a.p.: P: h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ. Sonstige Organe steril.

Strept. 12, vergl. die früheren Versuche mit diesem Stamme.

Maus 1 (0,02 i.p.) nach  $2^b$  und  $8^b$  Kapillarp.: h., nach  $24^b$  tot. B.a.p.: alle Organe: h.  
 N: n.h.: Ueberimpfung: negativ  
 H: n.h.: Ueberimpfung: negativ  
 L: n.h.: Ueberimpfung: h.

Maus 2 (0,002 i.p.) nach  $2^b$  und  $8^b$  Kapillarp.: h., nach  $24^b$  tot. B.a.p.: alle Organe: h.  
 N: n.h.: Ueberimpfung: negativ  
 H: n.h.: Ueberimpfung: negativ

Maus 3 (0,0002 i.p.) nach  $2^b$  und  $8^b$  Kapillarp.: h. + 3 n.h.: Ueberimpfung: h., nach  $48^b$  tot. B.a.p.; alle Organe: h. + einige n.h.: Ueberimpfung: negativ.

Maus 1 (0,0002 i.p.) nach  $3^b$  getötet. B.a.p.: P: h. }  
 " 2 (0,00002 i.p.) "  $3^b$  " B.a.p.: P: h. } sonstige Organe steril  
 " 3 (0,000002 i.p.) "  $3^b$  " B.a.p.: P: h. }  
 " 4 (0,0002 i.p.) "  $3^b$  Kapillarpunktat: h. nach  $7^b$  getötet P, L: h.  
 " 5 (0,00002 i.p.) "  $3^b$  " h. "  $7^b$  " P: h.  
 " 6 (0,000002 i.p.) "  $3^b$  " h. "  $7^b$  " P: h., andere Organe bei Maus 4, 5 und 6 sämtlich steril.

Strept. 29, vergl. den früheren Versuch mit diesem Stamme.

Maus 1 (0,02 i.p.) nach  $1^b$  getötet }  
 Maus 2 (0,002 i.p.) nach  $1^b$  getötet } B.a.p. { P: h.  
 H: h. + n.h.: Ueberimpfung: h.  
 L: h. + n.h.: Ueberimpfung: h.  
 N: steril  
 Maus 3 (0,0002 i.p.) nach  $1^b$  getötet } P: h.  
 L: steril  
 H: "  
 N: "

Maus 4 (0,02 i.p.) nach  $1^b$  Kapillarp.: h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ } nach  $6^b$  getötet { P: h.  
 H: h.  
 L: h.  
 B.a.p. { N: h.  
 Maus 5 (0,002 i.p.) nach  $1^b$  Kapillarp.: h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ } nach  $6^b$  getötet { P: h.  
 L: n.h.: Ueberimpfung: n.h.:  
 B.a.p. { Mikroskop. Diplococcus  
 H: steril  
 N: steril  
 Maus 6 (0,0002 i.p.) nach  $1^b$  Kapillarp.: h. + n.h.: Ueberimpfung: negativ } nach  $6^b$  getötet { P: h.  
 H: h.  
 L: steril  
 B.a.p. { N: steril

Maus 7 (0,02 subkutan injiziert), nach  $24^b$  getötet. Lokal: h. B.a.p.: P: h. H: h.  
 L: h. + n.h.: Ueberimpfung: h. N: h.

Maus 8 (0,002 subkutan injiziert), nach  $24^b$  tot. Lokal: keine Spur einer Reaktion.  
 B.a.p.: P: h. H: h. + n.h.: Ueberimpfung: h. L: n.h.: Ueberimpfung: h.  
 N: steril.

Somit hatte auch diese, in verschiedener Richtung variierte Versuchsreihe keine Andeutung einer Umwandlung eines Auftretens von Viridans ergeben. Da dieses negative Ergebnis mit den Angaben der Literatur in Widerspruch stand, lag die Vermutung nahe, daß es einer besonderen Versuchstechnik bedürfe, die bisher nicht eingehalten worden war. Aus diesem Grunde ersuchte der inzwischen unter so tragischen Umständen verstorbene Prof. Weil Herrn Prof. Morgenroth, mir die Fortführung der Versuche in seinem Laboratorium zu gestatten. Ich fühle mich verpflichtet, Herrn Prof. Morgenroth sowie den Herren Dr. Munter und Schnitzer, unter deren Leitung die folgenden Versuche angestellt sind, auch an dieser Stelle für die bewiesene Freundlichkeit zu danken.

Die folgenden Versuche sind genau nach den Aufzeichnungen im Morgenroth'schen Institute wiedergegeben, unter Beibehaltung der dort üblichen Bezeichnungsweise (z. B. für die Virulenzbestimmung).

Str. SH II. Alter Laboratoriumstamm. Virulenz: 0,3 1:1 Million — 1:10 Millionen, tötet in 2—3 Tagen (i.p.). Wachstum in Serumbouillon: leicht trüb, mit geringem Bodensatz. Auf Blutagar zarte Kolonien mit starker Hämolyse. Spaltet bei fraktionierter Aussaat nie grüne Kolonien ab. Präparat: sehr kleine, runde Kokken in kurzen Ketten.

Str. 57 stammt aus Douglas-Abszeß. Auf Blutagar zarte Kolonien mit Hämolyse. In Serumbouillon trüb, mit gebaltem, mäßig zähem Bodensatz. Präparate: stark gewundene, lange Ketten. Bei fraktionierter Aussaat keine Abspaltung grüner Kolonien.

Tiereinstellung: 0,3 1:10 i.p. Tod am folgenden Tage. 0,3 1:100 i.p. 0,3 1:1000 i.p. tötet nicht.

Str. 58 stammt aus Pleuraempyem. Auf Blutagar: zarte Kolonien mit starker Hämolyse. In Serumbouillon: klar, mit krümligem Bodensatz. Präparate: sehr kleine, runde Kokken in langen Ketten. Bei fraktionierter Aussaat keine Abspaltung grüner Kolonien.

Tiereinstellung: 0,3 1:10 i.p. am nächstfolgenden Tage tot. 0,3 1:100 i.p., bleibt gesund.

4 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:1000 Str. 57 i.p. (Pferdeblutagar).

Maus 1	getötet nach 1 <sup>b</sup> .	B.a.p.:	P: ++ h.	+ 1 grüne Kolonie
			N: + h.	+ 1 „ „
			HB: 0	
			L: 25 h.	
Maus 2	Kapillarpunktat nach 1 <sup>b</sup> :		+ h.	
„ 3	„ „ 1 <sup>b</sup> :		+ h.	
„ 4	„ „ 1 <sup>b</sup> :		+++ h.	+ 1 n.h.
Maus 2	getötet nach 2 <sup>b</sup> .	B.a.p.:	P: ++ h.	
			N: + h.	+ 2 grüne Kolonien
			H: 0	
			L: 0	
Maus 3	Kapillarpunktat nach 2 <sup>b</sup> :		2 grüne, 6 h.	
„ 4	„ „ 2 <sup>b</sup> :		+ h.	+ 2 grüne Kolonien
„ 3	getötet nach 3 <sup>b</sup> .	B.a.p.:	P: + h.	
			N: 10 h.	
			HB: 0	
			L: 0	
Maus 4	getötet nach 3 <sup>b</sup> .	B.a.p.:	P: 12 h.	
			N: 0	
			HB: 1 grüne Kolonie	
			L: 1	

Es wurden folgende grüne oder anhämolysische Kolonien abgeimpft:

- 1) Maus 1 P. Schwach hämolytisch, wurde nicht weitergeführt.
- 2) „ 1 N. Kein Wachstum.
- 3) „ 4 Kapillarpunktate 1<sup>b</sup>: sehr zarte Kolonien mit schwachgrünlicher Verfärbung des Nährbodens, Str. 57 Gr. 1.
- 4) „ 2 N. a) sehr üppiges Wachstum mit intensiv grünlicher Verfärbung des Nährbodens, Str. 57 Gr. 2.  
b) dasselbe Wachstum Str. Gr. 3.

- 5) Maus 3 Kapillarpunktat nach 2<sup>a</sup> a) Wachstum intensiv grüner Kolonien Str. 57 Gr. 4.  
 b) dasselbe Wachstum Str. 57 Gr. 5.  
 6) „ 4 Kapillarpunktat nach 2<sup>a</sup> a) sehr spärliches Wachstum vollkommener anhämolysischer Kolonien.  
 b) kein Wachstum.  
 7) „ 4 H: Wachstum intensiv grüner Kolonien Str. 57 Gr. 6.  
 8) „ 4 L: dasselbe Wachstum Str. 57 Gr. 7.  
 Str. 57 Gr. 1—5 und 7 wachsen trüb mit Bodensatz.  
 Str. 57 Gr. 6 wächst klar mit Bodensatz.

Weiter (in Prag) untersucht wurden Str. 57 Gr. 1 und Gr. 4.  
 Str. 58, 4 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:10 Str. 58 i. p. (Pferdeblutagar).  
 Maus 1 getötet nach 1<sup>a</sup> starkes Exsudat in der Bauchhöhle B.a.p.

P: +++ h + anh.  
 N: +++ h + grüne Kolonie  
 HB: 9 h  
 L: + h

- Maus 2 Kapillarpunktat nach 1<sup>b</sup>: ++ h.  
 „ 3 „ „ 1<sup>b</sup>: ++ h.  
 „ 4 „ „ 1<sup>b</sup>: +++ h. + anh.  
 Maus 2 getötet nach 2<sup>b</sup> B.a.p. P: +++ h.  
 N: + h. grüne Kolonie  
 H: + h.  
 L: ++ h. grüne Kolonie  
 Maus 3 Kapillarpunktat nach 2 Std.)  
 „ 4 „ „ 2 „ } +++ h.  
 Maus 3, getötet nach 3<sup>b</sup> B.a.p.: P: ++ h.  
 N: 12 h.  
 HB: 0  
 L: 0  
 Maus 4, getötet nach 3<sup>b</sup> B.a.p.: P: + h. 3 grüne Kolonien  
 N: + h.  
 HB: 0  
 L: 10 h.

Es wurden folgende grüne und anhämolysische Kolonien weitergeführt:

- 1) Maus 1. P: kein Wachstum
- 2) „ 1. N: Wachstum intensiv grüner Kolonien Str. 58 Gr. 1 wächst auf Serumbouillon klar mit Bodensatz.
- 3) „ 4. Kapillarpunktat nach 1<sup>b</sup> Rückschlag auf h.
- 4) „ 2. N: Teilweiser Rückschlag.
- 5) „ 2. L: Wachstum sehr zart. Schwach hellgrüne Verfärbung des Nährbodens Str. 58 Gr. 2 wächst auf Serumbouillon klar mit Bodensatz.
- 6) „ 4. P: a) Rückschlag auf h.  
 b) Teilweiser Rückschlag auf h.  
 c) Rückschlag auf h.

Str. SH II. 3 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:100 000 i.p. (Pferdeblutagar).

- Maus 1, getötet nach 1<sup>b</sup> B.a.p.: P: + h. 1 anh.  
 N: + h.  
 HB: 1 grüne . . . Gr. 2.  
 L: 0  
 Maus 2, Kapillarpunktat nach 1<sup>b</sup> + h. 1 anh.  
 „ 3, „ „ 1<sup>b</sup> + h.  
 „ 2, getötet nach 2<sup>b</sup>: B.a.p.: P: + h.  
 N: + h. 1 grüne Kolonie  
 HB: 10 h. 1 „ „  
 L: 2 h.  
 Maus 3, Kapillarpunktat nach 2 h : 20 h.  
 „ 3, getötet nach 3<sup>b</sup>. B.a.p. P: + h. grüner Rasen . . . Gr. 6  
 N: + h. 3 grüne Kolonien  
 HB: 7 h.  
 L: 4 h.

Von den abgespaltenen wurden Str. SH II Gr. 2 und Gr. 6 weiter geführt.  
 3 Mäuse erhalten 0,3 ccm 1:1 000 000 SH II i.p.



Maus 1, getötet nach 1 <sup>h</sup> B.a.p.:	P: 3 h.	
	N: 3 h.	
	HB: 0	
	L: 0	
Maus 2, Kapillarpunktat nach 1 <sup>h</sup> :	7 h.	
„ 3, „	1 <sup>h</sup> : 6 h.	
„ 2, getötet nach 2 <sup>h</sup> B.a.p.:	P: 1 h.	1 grüne Kolonie
	N: 0	
	HB: 5 h.	grüner Rasen
	L: 0	
Maus 3, Kapillarpunktat nach 3 <sup>h</sup> :	1 h.	
„ 3, getötet nach 3 <sup>h</sup> B.a.p.:	P: h	
	N: 0	
	HB: 0	
	L: 0	

Zunächst ist zu diesen Versuchen zu bemerken, daß das in Prag aufgefundene Verhalten anhämolysierender, aus dem Tiere gezüchteter Kokken auch bei diesen Versuchen zu beobachten war. Die Weiterführung dieser Kolonien gelang zum Teil überhaupt nicht, zum Teil schlugen sie sehr rasch in die hämolytische Stammform zurück. Interessant ist, daß auch bei Kolonien, die auf der Originalplatte aus dem Tiere als „grüne“ notiert waren, zum Teil dieser Umschlag eintrat. Kuczynski und Wolff (Ztschr. f. Hyg. Bd. 92 S. 120) geben an, daß man unter günstigen Umständen bei echt hämolytischen Streptokokken vor vollendeter Hämolyse ebenfalls Grünfärbung nachweisen könne, und bezeichnen als Pseudoviridans-Stämme solche, bei denen sie Ähnliches, wie hier geschildert wurde, beobachten konnten.

Ohne Zweifel liegen hier die gleichen Verhältnisse vor wie bei den einfach als anhämolysierend bezeichneten Kolonien: eine Schwächung der Lebenskraft mit Nachwirkung auf der Platte. Eine erst ganz im Beginn stehende Hämolyse oder ein geringer Rest hämolytischer Kraft können dabei den gleichen Anblick hervorbringen, was besonders bei gewissen Blutarten (Pferde- oder Hammelblut, nicht Kaninchenblut) als Vergrünung erscheinen kann.

Bei der genaueren Untersuchung dieser Stämme im Vergleich mit unseren sicheren Viridans-Kulturen zeigte sich, daß Str. 57 Gr. 4, ferner Str. 58 Gr. 1 und Gr. 2 auf Pferdeblut, wie auch auf Kaninchenblutplatte, eigentümlich schmutzgrün verfärbten, im auffallenden Gegensatz zu dem schönen Grün des Viridans-Wachstums. Ueberdies diffundierte die Vergrünung weit in den Agar hinein, während sie bei Viridans einen relativ scharfen Hof um die Kolonie bildete. Nach einigen Tagen wird dieser Unterschied sehr auffallend, weil die schmutzgrünen merkbar weiterwachsen. Noch wichtiger war das Verhalten bei der mikroskopischen Untersuchung von Präparaten aus Aszitesbouillonkulturen. Während die Originalstrept. 57 und 58 in langen Ketten wuchsen, zeigten diese Stämme keine Ketten, sondern Diplokokken, überaus oft Tetragones-Form, was bei unseren Viridans-Stämmen niemals der Fall war. Ueberdies wuchsen sie auf gewöhnlichem Agar sehr viel üppiger, als dies für Viridans und auch für die Stämme SH II Gr. 2, SH II Gr. 6 und Str. 57 Gr. 1 zutrifft; das üppige Wachstum zeigte sich auch in Bouillon.

Die beiden Stämme SH II Gr. 2 und Gr. 6 sowie Str. 57 Gr. 1 waren zweifellose Streptokokken, wuchsen dürftig und brachten nur eine so schwachgrüne Verfärbung hervor, daß diese von manchen geübten Bakteriologen, denen sie vorgelegt wurde, überhaupt angezweifelt wurde.

Sie machten durchaus den Eindruck stark verkümmertes, gewöhnlicher Streptokokken und mußten, um sie zu erhalten, sehr häufig überimpft werden. Sie wichen jedenfalls stark von echten *Viridans*-Stämmen ab. Eine Verstärkung des Vergrünungsvermögens wurde bei der Weiterzucht nicht beobachtet.

Mit Rücksicht auf die Bedenken, welche die genaue Untersuchung der in Berlin isolierten, vergrünenden Stämme erweckt hatte, wurde mit den Berliner Originalstämmen SH II und 57 eine neue Versuchsserie unternommen, die mit möglichst peinlicher Sorgfalt unter Verwendung von Kaninchen- wie Ziegen- und Hammelblutplatten durchgeführt wurde.

Strept. SH II: 3 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:100 000 Aszitesbouillonkultur i.p.

Maus 1 getötet nach 1<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
N: h.  
H: h. + anh. Ueberimpfung: anh. Str.  
L: h.

Maus 2 Kapillarpunktat nach 1<sup>h</sup>: h.  
" 3 " 1<sup>h</sup>: h.  
" 2 getötet nach 2<sup>h</sup>, B.a.p.: P: h.  
N: h. anh. Ueberimpfung: negativ  
H: h.  
L: h.

Maus 3 Kapillarpunktat nach 2<sup>h</sup>: h.  
" 3 getötet nach 3<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
N: h. + anh. Ueberimpfung: negativ  
H: h.  
L: h.

3 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:100 000 i.p. (Ziegenblutagar).

Maus 1 getötet nach 1<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
H: h.  
L: h.  
N: h.

Maus 2 Kapillarpunktat nach 1<sup>h</sup>: h.  
" 3 " 1<sup>h</sup>: h.  
" 2 getötet nach 2<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
H: h.  
L: h.  
N: h.

Maus 3 Kapillarpunktat nach 2<sup>h</sup>: h.  
" 3 getötet nach 3<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
H: h.  
L: h.  
N: h.

Es war somit nicht gelungen, auch nur *viridans*-verdächtige Kolonien mit dem Stamme SH II zu gewinnen.

Str. 57. 3 Mäuse erhalten je 0,3 ccm 1:1000 i.p.

Maus 1 getötet nach 1<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
N: h.  
H: 0  
L: 0

Maus 2 Kapillarpunktat nach 1<sup>h</sup>: h.  
" 3 " 1<sup>h</sup>: h.  
" 2 getötet nach 2<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h.  
H: h.  
N: h.

Maus 3 Kapillarpunktat nach 2<sup>h</sup>: h.  
" 3 getötet nach 3<sup>h</sup>. B.a.p.: P: h, H: h, N: h, L: h.

Auch hier trat keine Kolonie auf, welche nur den Verdacht einer Vergrünung erweckt hätte. Ein anderes Resultat ergab sich, sobald Hammelblutagar angewendet wurde. Das Blut für denselben wurde den im Institut für Wassermann-Reaktion gehaltenen Schafen unter den üblichen aseptischen Maßregeln entnommen, defibriert und frisch verwendet.



Maus 3 mit 57, Kapillarentnahme nach 2 Std., welche ebenfalls als *Viridans* zu bezeichnen sind und anscheinend ganz auf der Oberfläche der Platte wachsen. Angesichts der Feststellung aber, daß auf den mit dem betreffenden Hammelblute angelegten Platten grüne Kolonien auch in der Tiefe aufgetreten waren, ist die Wahrscheinlichkeit, daß die oberflächlichen ebenfalls dem verwendeten Blute entstammen, zu groß, als daß die Befunde für die Annahme einer Umwandlung der hämolytischen Streptokokken im Tiere verwendet werden könnten.

Ob im Blute des Schafes schon derartige Keime kreisen können, oder ob sie von der naturgemäß kaum ganz aseptisch zu machenden Haut dieser Tiere stammen, läßt sich schwer sagen, jedenfalls konnten wir in Prag das Auftreten grüner Kolonien nie auf Kaninchen- und Ziegenblutagar, nur auf Schafblutagar, beobachten und wenigstens in einem „blinden“ Versuche trat auch auf einer nicht geimpften Platte eine vergrünende Kolonie auf.

Selbstverständlich richtet sich die kritische Beurteilung und die Erklärung der Befunde nur gegen die eigenen Versuche, muß aber zu dem Schlusse führen, daß eine sichere Abspaltung von *Viridans* aus hämolytischen Streptokokken, beziehungsweise die Umwandlung letzterer in erstere bei den benützten Stämmen nicht mit der für weitergehende Folgerungen nötigen Sicherheit festzustellen war. Insofern schließen sich die vorliegenden Versuche der von Schottmüller geäußerten Ansicht an.

Gegenüber den bereits zahlreichen Angaben über positive Befunde von *Viridans*-Formen nach Impfung mit *Streptococcus haemolyticus* muß betont werden, daß offenbar nur manche Stämme sich eignen, viele andere hingegen keine Resultate erwarten lassen.

Es blieb noch zu untersuchen, ob in dem serologischen Verhalten der Ausgangsstämme einerseits, der bei den Tierversuchen damit gewonnenen vergrünenden Stämme andererseits, eine Uebereinstimmung bestehe. In Betracht konnte dafür, da die Agglutination kaum verwendbar ist, nur die Komplementbindung kommen.

Durch 3malige intravenöse Injektion von Kaninchen mit dem Zentrifugat aus *Aszitesbouillonkulturen* der untersuchten Stämme und Blutentnahme nach 6 Tagen wurden Seren gewonnen und in der üblichen Weise verwendet. Zum Versuch gelangten: Strept. SH II (Berliner Ausgangsstamm), Strept. SH II Gr. 2 (in Berlin daraus gewonnener grüner Stamm) Strept. 57 (Berliner Stamm), Strept. 57-Gr. 1 (grüner), Gr. 4 (schmutziggrüner Stamm in Berlin aus Maus 2 und 3 gewonnen), Strept. 58, Strept. 58 Gr. 1 (Berliner Stamm und daraus gewonnener schmutziggrüner Diplococcus).

Mit SH II hergestelltes Immuneserum, geprüft mit den Stämmen SH II, SH II Gr. 2. Verwendet wurden nach dem Ergebnisse eines Vorversuches von SH II: 4, von SH II Gr. 2: 4 Tropfen einer 24stünd. *Aszitesbouillonkultur*.

Komplement: 1 Tropfen.

Verdünnung	SH II	SH II Gr. 2
1:50	0	st
1:100	0	st
1:200	0	k
1:500	k	k

Antigenkontrolle: k, IS.-Kontrolle: k.

Es war somit mit dem erzeugenden Stamm bis 1:200 völlige Komplementbindung zu erzielen, während der daraus mit Hilfe des Tieres gewonnene vergrünende kaum Spuren davon zeigte.

Mit SH II Gr. 2 hergestelltes Immuneserum, geprüft mit den Stämmen SH II (4 Tropfen), SH II Gr. 2 (4 Tropfen).

Komplement: 1 Tropfen.

Verdünnung	SH II	SH II Gr. 2
1:50	fk	0
1:100	fk	0
1:200	k	0
1:500	—	st

Antigenkontrolle: k, IS.-Kontrolle: k.

Das mit SH II Gr. 2 hergestellte Serum bindet also mit dem eigenen Stamme sehr gut, mit dem angeblichen Ausgangsstamme so gut wie kein Komplement. Der Ausfall der Versuche I und II ist ein so unzweideutiger, daß man die beiden Stämme als serologisch ganz verschieden bezeichnen muß.

Mit Strept. 57, 57 Gr. 1 und 57 Gr. 4 hergestellte Immunsereen, geprüft mit Strept. 57 (3 Tropfen), 57 Gr. 1 (3 Tropfen), 57 Gr. 4 (3 Tropfen).

Komplement: 1 Tropfen.

	Verdünnung	57	57 Gr. 1	57 Gr. 4
IS. 57	1:50	0	w	sp
	1:100	sp	fk	st
	1:200	st	fk	st
	1:500	k	k	k
IS. 57 Gr. 1	1:50	fk	0	st
	1:100	k	0	k
	1:200	k	0	k
	1:500	k	st	k
	1:1000	k	k	k

Antigenkontrolle: k, Serumkontrolle: k.

IS. 57 Gr. 4	1:50	st	st	0
	1:100	fk	fk	0
	1:200	fk	fk	0
	1:500	k	k	sp
	1:1000	k	k	sp

Antigenkontrolle: k, Serumkontrolle: k.

Für die Immunsereen 57 Gr. 1 und 57 Gr. 4 unzweideutig, für IS. 57 schwächer, aber ebenfalls deutlich erkennbar, gilt Aehnliches wie in den vorigen Versuchen, daß sie nur mit dem eigenen Stamme Komplement binden. Auch hier ist der serologisch nachweisbare Bau des Ausgangsstammes und der vermeindlich daraus abgeleiteten Stämme ein ziemlich verschiedener.

Mit Strept. 58, 58 Gr. 1 hergestellte Immunsereen, geprüft mit Strept. 58 (1 Tropfen), Strept. 58 Gr. 1 (2 Tropfen).

	Verdünnung	58	58 Gr. 1
IS. 58	1:20	0	0
	1:50	0	0
	1:100	0	0
	1:200	0	st
	1:500	w	fk
	1:1000	k	k
IS. 58 Gr. 1	1:20	0	0
	1:50	0	0
	1:100	w	0
	1:200	st	0
	1:500	k	w
	1:1000	k	k

Antigenkontrolle: k, Serumkontrolle: k.

Wenngleich in der geringen Verdünnung beide Immunsereen von 58 und 58 Gr. 1 mit allen Stämmen Komplement binden, so ist für jedes Serum die Komplementbindung mit dem eigenen Stamme doch so viel stärker, daß auch hier der frühere Schluß der Verschiedenheit des serologischen Baues von Ausgangsstamm und angeblichem Tochterstamm gerechtfertigt erscheint.

In der weit überwiegenden Mehrzahl der Fälle spricht somit der serologische Versuch eindeutig für eine Verschiedenheit im Rezeptoren-

aufbau der verwendeten Stämme. In der Tat hat SH II mit SH Gr. 2 für die Komplementbindung gar nichts gemein, für 58 und 58 Gr. 1 und sowie 57 und 57 Gr. 1 und Gr. 4 gilt Ähnliches. Es müßte bei der Annahme einer Bildung der vergrünenden Stämme aus den hämolytischen Ausgangsstämmen innerhalb kurzer Zeit eine so vollständige Umwandlung stattgefunden haben, daß man sich kaum eine Vorstellung davon machen könnte.

Dieser Schluß wird auch nicht berührt durch Zweifel darüber, ob die Komplementbindung sonst als Grundlage für eine Gruppeneinteilung der Streptokokken brauchbar ist oder nicht. Hierüber wurde im Anschluß eine Reihe von Versuchen mit Seren angestellt, welche in der oben erwähnten Weise von Kaninchen gewonnen waren. Untersuchungen über die Differenzierung der Str. durch Komplementbindung sind sehr spärlich; ich konnte nur einige Angaben in der Literatur finden. 1906 hat Eysbrock<sup>1)</sup> angegeben, daß alle Str., gleichgültig von welcher Herkunft, mit Antistreptokokkenserum gemischt, eine Komplementbindung zeigen, aber auch Pneumokokken und selbst Typhusbazillen. Nach Swift und Thro<sup>2)</sup> (1911) sollen stammesspezifische Antikörper durch Komplementbindung zu erweisen sein. Floyd Cleveland und Wolbach<sup>3)</sup> konnten eine Gruppeneinteilung von Str. nicht nur nach deren Gärungsvermögen, sondern auch mit Agglutination und Komplementbindung erzielen. Rolly<sup>4)</sup> hatte mit Patientenseren teils negative, teils nur geringe Komplementbindung bei menschlichen Streptokokken gesehen. Etta Fisk und Burkey<sup>5)</sup> (1922) führen an, daß Gruppenunterschiede durch die Komplementbindung nicht nachzuweisen seien, was mit den Ergebnissen von Kinsella und Swift sowie von Howell und Hitchens übereinstimmt.

Es ist somit jedenfalls eine Trennung der Str. in serologisch differente Gruppen mindestens durch Komplementbindung sehr unsicher, so daß eigene Versuche berechtigt erschienen. Die hierfür verwendeten Immunsereen wurden von Kaninchen gewonnen, welche in Zwischenräumen von 4 Tagen je 2 ccm Aszitesbouillonkultur der betreffenden Str. intravenös erhielten und denen 6 Tage nach der letzten Einspritzung Blut entnommen wurde. Im übrigen war die Versuchsanordnung die gewöhnliche: jedesmal wurde in einem Versuch die anwendbare Menge des Antigen in Tropfen einer frischen Aszitesbouillonkulturaufschwemmung ( $\frac{3}{4}$  Std. bei 56°) ermittelt. Zur Immunisierung wurden sowohl hämolytische Streptokokken wie Viridans-Stämme benützt.

Die Versuche ergaben als Hauptresultat, daß die Komplementbindung zur Einteilung der Str. in Gruppen nicht geeignet ist, daß insbesondere eine Uebereinstimmung im Verhalten hämolytischer und Viridans-Formen nicht besteht. Nicht einmal zur Trennung von Str. und Pneumokokken reicht sie aus. Die Zahl der angestellten Versuche ist groß genug, um dies Urteil, wenigstens für die dabei eingehaltene Versuchsanordnung hinreichend zu stützen.

Es gibt Stämme von Str., welche Seren erzeugen, die fast ausschließlich stammesspezifisch sind. Hierher gehört vor allem der hämolytische Str. 2.

1) Referat: Weichardts Jahresber. üb. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1906. S. 154.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 51. 1912. S. 645.

3) Referat: Centralbl. f. Bakt. Refer. Bd. 61. 1914. S. 590.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1912. S. 86.

5) The Journ. of Infect. Dis. Vol. 30. 1922. S. 128.

Tabelle 1.  
Komplementbindung mit Immuns serum-Streptococcus h. 2.

In Tropfen Antigenmengen für	Str. 2		Str. 5	Str. 9	Str. 15	V. 11	V. 3	V. 20	V. 25		
	2	3	2	4	1	4	4	4	4		
I.S.-Ver- dünnung.	1: 20	sp	0	0	0 od. sp	0	fk	0	w	w	sp
	1: 50	0	0	0	w	w	fk	k	k	fk	st
	1: 100	0	0	w	st	st	k	k	k	k	k
	1: 200	sp	sp	fk	k	k	k	k	—	—	—
	1: 500	k	sp	k	k	k	k	k	—	—	—

Zeichenerklärung: Str. = Streptococcus, V. = Viridans, sp = Spur, w = wenig, st = stark, fk = fast komplett, k = komplett.

Als besonders stark kann die komplementbindende Kraft überhaupt nicht bezeichnet werden; sie tritt gegen den eigenen Stamm stark, wenn auch bei 3facher Wiederholung des Versuches, nicht immer in gleicher Weise hervor. Mit 2 anderen hämolytischen Stämmen ist sie wesentlich schwächer, fehlt beinahe vollständig gegen einen anderen hämolytischen und gegen 4 echte Viridans-Stämme. Immerhin könnte man aus dem Verhalten dieses Serums noch den Schluß ziehen, daß es zwar nicht sicher gelingt, durch Komplementbindung die hämolytischen Streptokokkenstämme zusammenzuhalten, wohl aber die Viridans-Stämme von den hämolytischen serologisch zu trennen.

Jedoch ergab schon das nächste, mit dem hämolytischen Str. 15 hergestellte Serum ein wesentlich anderes Resultat:

Tabelle 2.  
Komplementbindung mit Immuns serum Streptococcus h. 15.

Antigen	Str. h. 15 (1 Tropfen)	Str. h. 2 (2 Tropfen)	Str. h. 5 (2 Tropfen)	Str. h. 11 (2 Tropfen)	
IS.	1: 20	0	0	0	
	1: 50	0	0	0	
	1: 100	0	st	0	
	1: 200	sp	k	w	k
	1: 500	st	k	k	k

Antigen	Str. v. 11 (3 Tr.)	Str. v. 30 (1 Tr.)	Str. v. 32 (4 Tr.)	Str. v. 31 (4 Tr.)	Str. v. 33 (4 Tr.)
IS.	1: 20	0	0	0	0
	1: 50	sp	0	0	0
	1: 100	fk	0	0	st
	1: 200	k	0	k	k
	1: 500	k	k	—	—

Außer mit dem eigenen Stamm bindet dieses Serum also auch mit anderen hämolytischen, aber auch mit 5 echten Viridans-Stämmen Komplement. Man darf wohl sagen, in gleicher Weise, da gewisse Schwankungen in der Stärke der Komplementbindung auch mit dem eigenen Stamm bei 3facher Wiederholung vorkamen. Von einigem Interesse ist der Befund, daß trotzdem mit dem hämolytischen Str. 2, der mit seinem eigenen Serum stark reagiert, fast keine Komplementbindung zu erzielen war.

Die „Polyvalenz“ dieses Serums ging aber noch weiter, sie erstreckte sich außer auf neu in Versuch genommene hämolyt. Str. auch auf Erysipel- und Drusestreptokokken auf Streptococcus mucosus und einen Pneumococcus.

Tabelle 3.

Antigen	Str. h. 27 (1 Tr.)	Str. h. 28 (1 Tr.)	Erysipel (1 Tr.)	Druse (1 Tr.)	Str. muc. (4 Tr.)	Pneumokokken (4 Tr.)
IS.	1: 20	0	0	0	0	0
	1: 50	0	0	0	0	0
	1: 100	w	w	0	w	fk
	1: 200	st	st	st	fk	—
	1: 500	fk	k	k	k	—

Als sehr polyvalent erwies sich das mit dem Berliner Stamm SH II hergestellte Serum.

Tabelle 4.

Antigen	Str. h.	Sh. II (1 Tr.)		Str. h. 9 (1 Tr.)	Str. h. 15 (1 Tr.)	Str. h. 57 (1 Tr.)		Str. h. 58 (1 Tr.)	
K.M.	2	6	6	6	6	2	5	2	6
IS.	1:20	—	—	0	0	—	—	—	—
	1:50	sp	0	0	0	0	0	0	0
	1:100	0	0	0	0	0	0	0	0
	1:200	0	0	0	0	0	0	0	0
	1:500	0	0	sp	sp	sp	0	w	0
	1:1000	w	0	k	k	k	—	0	—

Antigen	Str. v. 14 (1 Tr.)	Str. v. 30 (1 Tr.)	Str. v. 32 (1 Tr.)	Str. v. 34 (2 Tr.) (2 Tr.) (1 Tr.)			Str. v. 39 (1 Tr.)
K.M.	6	6	3	3	6	6	6
IS.	1:20	0	—	—	—	0	—
	1:50	0	0	0	sp	0	0
	1:100	0	0	sp	st	0	0
	1:200	0	0	st	k	0	0
	1:500	sp	0	k	k	0	sp
	1:1000	k	w	—	—	w	k

Die Komplementbindung ist bei diesem Serum ausgesprochener als sonst, erstreckt sich aber, von gewissen Schwankungen bei den Einzelversuchen abgesehen, gleichmäßig auf hämolytische wie Viridans-Stämme. Sie geht aber noch weiter und greift auch auf Pneumokokken über.

Bemerkung: K.M. = Komplementmenge in Tropfenzahl.

Die geringste, nach einem Vorversuche bestimmte Komplementmenge, welche dem oben angegebenen Antigen zugesetzt, noch 1 ccm sensib. Blut komplett aufgelöst hat.

Tabelle 5.

Komplementbindung von Immunserum-*Streptococcus h. SH II* mit Pneumokokken (Pn.).

Antigen	Pn. aI (2 Tr.)	Pn. II (1 Tr.)	Pn. 5 (1 Tr.)	Pn. 8 (1 Tr.)	Pn. 13 (1 Tr.)	Pn. I (1 Tr.)	Pn. 46 (1 Tr.)
K.M.	6	6	6	6	6	6	6
IS.	1:50	0	0	0	0	0	0
	1:100	0	0	0	0	9	0
	1:200	0	0	0	0	0	0
	1:500	sp	w	sp	w	sp	fk
	1:1000	fk	k	k	k	k	k

Die mit allen 7 Pneumokokkenstämmen erzielte Komplementbindung verlief also fast genau gleich stark und ist der mit dem *Streptokokken* erzielten nahezu gleichzusetzen. Bezüglich der mit den Berliner hämolytischen Str. 57 und 58 erzeugten Immunsera sei nur zusammenfassend bemerkt, daß Immunserum 58 mit 3 hämolytischen 2 *Viridans*-Stämmen fast gleich gut reagierte, Immunserum 57 mit 3 hämolytischen nahezu gleich gut, aber mit dem eigenen Stamm am stärksten, mit 3 *Viridans*-Stämmen (den gleichen, die mit Immunserum 58 stark Komplement banden) war die Reaktion wesentlich schwächer. Wurden *Viridans*-*Streptokokken* für die Vorbehandlung von Kaninchen benützt, so verhielten sich die gebildeten Immunsere ebenfalls recht verschieden.



Tabelle 6.  
Komplementbindung mit dem Immunserum Viridans 32.

Antigen	V. 32 (2 Tr.)	V. 34 (2 Tr.)	Str. h. SH II (1 Tr.)	Str. h. 57 (1 Tr.)	Str. h. 58 (1 Tr.)
K. M.	3	3	3	3	3
IS.	1:20	0	0	0	0
	1:50	0	0	0	0
	1:100	0	sp	0	0
	1:200	0	sp	st	0
	1:500	0	fk	k	w
	1:1000	k	—	—	—

Die Komplementbindung mit dem eigenen Stamm ist stark, wird aber mit dem hämolytischen Stamm erreicht. Etwas schwächer, aber unzweifelhaft positiv reagiert ein anderer Viridans und 2 hämolytische Streptokokken.

Tabelle 7.  
Komplementbindung mit dem Immunserum Viridans 34.

Antigen	V. 30 (1 Tr.)	V. 32 (2 Tr.)	V. 34				Str. h. 9 (1 Tr.)	Str. SH II (1 Tr.)	Str. h. 57 (1 Tr.)	Str. h. 58 (1 Tr.)
K. M.	6	3	3	6	6	6	6	3 6 6	3 5	3 6
IS.	1:20	0	0	0	0	—	0	0 — 0	0 —	0 —
	1:50	0	0	0	0	0	sp	0 0 0	0 0	0 0
	1:100	0	sp	0	0	sp	0	fk st 0 st	w 0	0 0
	1:200	sp	st	0	sp	st	w	k fk st k	fk sp	w st
	1:500	st	fk	0	fk	fk	st	k k k	k fk	st fk
	1:1000	st	k	k	k	k	k	— — k	— k	— k

Die Unterschiede im Komplementbindungsvermögen mit dem eigenen Stamm, anderen Viridans- und hämolytischen Stämmen sind nicht derart, daß die Reaktion verwertbar wäre.

Tabelle 8.  
Komplementbindung mit dem Immunserum Viridans 11.

Antigen	Str. V. 11				Str. V. 14	Str. V. 3	Str. V. 20	Str. V. 30
	(3 Tr.)	(2 Tr.)	(1 Tr.)	(1 Tr.)	(4 Tr.)	(4 Tr.)	(4 Tr.)	(5 Tr.)
IS.	1:20	0	0	0	0	0	0	0
	1:50	0	0	0	0	0	w	k
	1:100	0	0	0	0	0	0	—
	1:200	0	0	0	0	w	w	—
	1:500	w	sp	st	sp	fk	k	fk

Antigen	Str. V. 32 (4 Tr.)	Str. h. 5 (2 Tr.)	Str. h. 11 (2 Tr.)	Str. h. 23 (2 Tr.)	Erysipel (1 Tr.)	Druse (1 Tr.)	Pn. 2 (4 Tr.)
IS.	1:20	0	0	0	0	0	0
	1:50	K	fk	st	w	st	fk
	1:100	—	k	st	0	K	k
	1:200	—	K	K	w	k	k
	1:500	—	—	k	k	—	—

Mit dem erzeugenden Stamm ergab dieses Immunserum somit konstant eine sicher verwendbare starke Komplementbindung. Nahezu ebenso stark verlief sie mit 3 anderen, aber nicht mit allen Viridans-Stämmen. Mit hämolytischen Streptokokken, ebenso mit Erysipel und Drusekokken war die Reaktion in der Regel sehr schwach, auch mit Pneumokokken sehr gering.

Es würde danach im letzten Serum eine schwache Andeutung einer für Viridans kennzeichnenden Komplementbindung vorliegen. Sie ist

aber, besonders wenn man die Ergebnisse der anderen hergestellten Immunsereen mitberücksichtigt, zu gering, um das aus diesen Versuchen hervorgehende negative Urteil zu ändern, daß die Komplementbindung mit in der üblichen Weise hergestelltem Kaninchenserum eine Trennung der verschiedenen Streptokokken und ihre Einteilung in Gruppen nicht zu leisten vermag. Zu bemerken ist noch, daß normale Kaninchenserum höchstens in den geringen Verdünnungen von 1:20 Andeutungen von Komplementbindungen zeigten. Ob durch Veränderung der Methodik der Versuchsanstellung, namentlich durch Verbesserung der Serumherstellung, bessere Fortschritte zu erzielen sein werden, muß dahingestellt bleiben.

Hingewiesen sei nur auf den Einfluß, den der Nährboden für die angewendeten Streptokokken hat. Es lassen sich mit vielen Stämmen (hämolytische wie Viridans) ausreichende Kokkenmengen nur unter Verwendung von Serum oder Aszitesbouillon gewinnen, die also, wenn auch in geringster Menge, mit in die immunisierten Kaninchen kommt und ihrerseits antigen sein kann<sup>1)</sup>. Ranque, Senes und Fiessinger<sup>2)</sup> fanden, daß Benützung von Aszitesflüssigkeit als Nährmittel die antigene Wirkung von Bakterien überhaupt und Streptokokken insbesondere umzugestalten vermag; mit Aszitesstreptokokken behandelte Kaninchen bildeten Antikörper, die durch Komplementbindung nur mit Aszitesstreptokokken reagierten, während sie mit Aszitesflüssigkeit allein sich negativ verhielten, banden sie auch mit Staphylokokken und anderen Bakterien, die in Aszites gezüchtet waren, Komplement. Bordet und Sleswyk<sup>3)</sup> stellten fest, daß der Keuchhustenbazillus sich mit seinen Kulturmedien verändere. Auf gewöhnlichem Agar und auf Blutnährböden entstehen geradezu verschiedene Rassen. Das Serum eines gegen den Blutstamm immunisierten Pferdes agglutiniert den Agarstamm nicht und bindet sehr viel stärker Komplement mit ihm, als mit jenem. Noch deutlicher zeigte sich dieses Phänomen im Serum von Keuchhusten-Rekonvaleszenten, das fast nur mit dem Blutstamme, fast gar nicht mit

Tabelle 9.

IS. 57 K. M.	Str. 57 (1 Tr.)		Str. 57 Gr. 1 (2 Tr.)		Str. 57 Gr. 4 (2 Tr.)		Paratyphus (1 Tr.)		Staphylokokken (1 Tr.)		
	4 As.	6 Tr.	6 As.	4 Tr.	6 As.	6 Tr.	7 As.	4 Tr.	6 As.	6 Tr.	
IS.	1:20	0	0	0	0	w	0	0	0	0	
	1:50	0	0	0	0	st	0	0	0	st	
	1:100	0	0	0	0	fk	0	0	0	k	
	1:200	0	0	0	sp	fk	0	st	0	k	
	1:500	0	fk	st	st	0	k	w	fk	0	k
1:1000	0	k	k	k	k	k	k	k	w	k	
IS. 57 Gr. 4											
IS.	1:20	w	fk	0	0	0	0	fk	st	fk	fk
	1:50	fk	k	0	st	0	0	k	fk	k	k
	1:100	fk	k	0	fk	0	0	k	k	k	k
	1:200	k	k	0	fk	0	0	k	k	k	k
	1:500	k	k	0	k	0	0	k	k	k	k
1:1000	k	k	st	k	st	st	k	k	k	k	

1) Selbstverständlich waren in allen Versuchen die in Aszitesbouillon gewachsenen Kokken abzentrifugiert und mit gewöhnlicher Bouillon oder Kochsalzlösung gewaschen worden. Immerhin können noch geringe Spuren antigenen Materials anhaften.

2) Compt. rend. Soc. de Biolog. T. 81. 1918. S. 392—531. Referat Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1920—1921. S. 230.

3) Annales de l'Institut Pasteur. 1910. S. 476.

dem Agarstamme Komplement zu binden vermochte. Jedenfalls zeigt diese genaue Studie den Einfluß des Nährbodens auf den Ablauf serologischer Reaktionen aufs deutlichste.

Um selbst über diese Frage einigen Aufschluß zu erhalten, wurde eine Reihe von Bakterien durch 5 Generationen bei täglicher Ueberimpfung einerseits in Aszites-, andererseits in 2-proz. Traubenzuckerbouillon weitergeführt. Es waren dies der hämolytische *Streptococcus* 57, die bei seiner Verwendung aus der Maus gezüchteten Stämme 57 Gr. 1 und Gr. 4, ferner ein *Paratyphus* B und ein *Staphylococcus*. Die 5. Generationen aller dieser Bakterien wurden nach Ermittlung der erforderlichen Antigen- und Komplementmengen durch einen Vorversuch mit den Immunsereen 57 und 57 Gr. 4 auf Komplementbindung geprüft.

Die Komplementbindung mit Ascitesantigen fällt bei Immunsereum 57 durchgehend stärker aus als mit Traubenzuckerantigen; damit verwischt sich der Unterschied in den Antigenen so, daß *Staphylokokken* und *Paratyphus* fast ebenso stark mit den Immunsereen Komplement binden, wie der eigene *Streptococcus*. Bei Verwendung von Traubenzuckerantigen treten viel deutlicher Unterschiede hervor, am deutlichsten bei *Strept.* 57 Gr. 4 und dem *Staphylococcus*. Freilich bleibt das Serum 57 auch dann noch immer „polyvalent“.

Immunsereum 57 Gr. 4 bindet mit dem eigenen Stamm am stärksten, gleichgültig, ob er in Aszites- oder Zuckerbouillon gewachsen war, und so gut wie gar nicht mit *Strept.* 57, *Paratyphus* und *Staphylokokken*, gleichgültig in welcher Flüssigkeit diese gezüchtet sind. Es erweist sich danach als deutlich stammesspezifisch. Ueberraschend ist aber der große Unterschied in der Komplementbindung mit *Strept.* 57 Gr. 1, je nachdem, ob derselbe in Aszites- oder in Zuckerbouillon herangezüchtet wurde.

Klar sind die Verhältnisse keineswegs; es ist aber jedenfalls der Einfluß des Nährmediums für künftige Versuche eingehend zu berücksichtigen.

Schließlich wurde in einer längeren Versuchsreihe das Verhalten einer großen Zahl von hämolytischen (22) und *Viridans*-*Streptokokken* (8) gegenüber der bakteriziden Wirkung von Säften und Leukozyten des Meerschweinchens untersucht. Es erschien nicht unmöglich, daß hierin sich Unterschiede finden könnten, welche zu einer Gruppierung der *Streptokokken* führen würden. Tatsächlich haben Schleißner und Spät<sup>1)</sup> auf diesem Wege Differenzen zwischen gewöhnlichen septischen und Scharlachstreptokokken ermitteln können.

Ohne an dieser Stelle die umfangreichen Versuche ausführlich wiederzugeben, sei nur erwähnt, daß sich die *Viridans*-Stämme fast sämtlich durch eine besondere Empfindlichkeit gegen die Meerschweinchenleukozyten auszeichneten. Besonders im aktiven Meerschweinchenserum und in Kochsalzlösung, die an sich nur höchstens entwicklungshemmend wirkten, entfalteten die Leukozyten starke, oft bis zur Sterilisierung gehende Wirkungen, die aber auch in inaktivem Serum und in Bouillon noch sehr merklich waren. Nur ein Stamm (*Viridans* 14) erwies sich widerstandsfähiger, da er nur der Mischung von aktivem Serum und Leukozyten erlag. Die hämolytischen *Streptokokken* erwiesen sich sämtliche als viel resistenter, nur bei 3 Stämmen gelang eine Sterilisierung der eingeführten 5000, 7000 und 16000 Kokken in Mischungen von Leukozyten mit aktivem Serum; die anderen Aufschwemmungsflüssigkeiten riefen höchstens Hemmung hervor. Von den 22 hämolytischen Kokken wurden 7 Stämme durch Meerschweinchenleukozyten überhaupt so gut wie nicht beeinflusst, 11 Stämme zeigten ansehnliche Keimabtötung durch aktives Serum mit Leukozyten, Hemmung in Kochsalzlösungs-Leukozytenmischung, keinerlei Beeinflussung durch Leukozyten im inaktiven Serum und Bouillon; 4 Stämme zeigten wenigstens im aktiven Serum mit Leukozyten Hemmung.

Es scheint nicht unmöglich, daß die Leukozytenwirkung für eine Einteilung der *Streptokokken* brauchbare Anhaltspunkte geben könnte.

1) *Jahrb. f. Kinderheilk.* Bd. 23. 1911. Nr. 3.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion<sup>1)</sup>.

[Aus dem Wissenschaftlichen Mikrobiologischen Institut in Moskau.  
(Direktor: Prof. W. Barikin).]

Von Dr. L. Silber, Assistenten des Instituts.

Die Frage über das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion ist von erheblichem Interesse nicht nur in Anbetracht der Bedeutung dieser Reaktion für die Diagnose des Flecktyphus, der ja in Rußland einen erschreckenden, geradezu pandemischen Umfang erreicht hat, sondern auch darum, weil die betr. Reaktion beträchtliches theoretisches Interesse bietet.

Die Tatsache, daß der Bac. Proteus X 19, der nach der Ansicht der meisten Forscher beim Flecktyphus keine ätiologische Rolle spielt, mit auffallender Beständigkeit, selbst bei sehr großen Verdünnungen, die Agglutinationsreaktion (und andere Immunitätsreaktionen) mit Flecktyphusserum ergibt, läßt sich nicht ohne weiteres in unsere üblichen Auffassungen von den Immunitätsreaktionen einfügen und hat keine Analogien bei anderen Infektionskrankheiten. Daher das sorgfältige Erforschen der Komponenten der Reaktion, die große Reihe der zu ihrer Erklärung aufgestellten Hypothesen und der heftige Streit, der hinsichtlich des vorliegenden Problems noch immer nicht verstummt ist, seitdem Weil und Felix ihre erste Arbeit hierüber veröffentlicht haben. Die Fülle des in Betracht kommenden Literaturmaterials gestattet mir nicht, dasselbe, wenn auch nur in Kürze, darzustellen; ich beschränke mich darum auf die Anführung der wichtigsten Theorien, welche auf eine mehr oder minder vollständige Erklärung der W.-F.-Reaktion Anspruch erheben.

Friedberger hält bekanntlich den Bac. Proteus X 19 für den Erreger des Flecktyphus und somit die W.-F.-Reaktion für eine gewöhnliche Immunitätsreaktion. Dieser Autor stützt nun, in seinen beiden Vorträgen<sup>2)</sup> 1920 und 1921, seine früheren diesbezüglichen Ueberlegungen durch folgendes neues Beweismaterial: er konstatierte bei Meerschweinchen, die mit O-Formen des Bac. Proteus X 19 infiziert worden waren, im Gehirn das Auftreten von Knötchen, die mit denjenigen, wie sie bei mit Flecktyphus infizierten Meerschweinchen und Menschen beobachtet werden, identisch sind; fernerhin gelang es ihm, bei Meerschweinchen, die Flecktyphus durchgemacht hatten, Immunität nachzuweisen bei Einspritzung einer multipliziert letalen Dose der O-Formen des Bac. Proteus X 19. Das waren die wesentlichsten neuen Argumente Friedbergers. Jedoch wurde das von demselben, übrigens nur bei 17 Proz. der mit O-Formen der X 19 infizierten Meerschweinchen beobachtete, pathologisch-histologische Bild auf dem Jenaer Kongreß (Jacobsthal) einer scharfen Kritik unterworfen; seine Versuche mit kreuzweiser Immunisation sind nicht überzeugend, weil hierbei als Kriterium für die Feststellung der Flecktyphuserkrankung der Meerschweinchen das Auftreten der W.-F.-Reaktion beim Kaninchen nach Injektion von Hirn des betr. Meerschweinchens galt, eine von Weil und Felix vorgeschlagene Methode, deren Richtigkeit durch hervorragende Forscher, wie Doerr und Pick, Kraus und de la Barrera, bestritten wird.

Der betr. Anschauung Friedbergers widerspricht eine ganze Reihe von Versuchen (Landsteiner und Hausmann, Doerr und Pick, Ritz, Lowy, Rosnатовski u. a.), bei denen die Immunisation mit X 19 ebensowenig gegen den Flecktyphus schützt, wie Immunisation mit Flecktyphusblut gegen die Proteus-Infektion. Es ist auch überaus schwierig, Friedbergers Standpunkt in Einklang zu bringen mit der seltenen Ausscheidung des X 19 aus dem Organismus beim Flecktyphus (wie das die Arbeiten von Felix, Schürer und Wolf, Zeiß, Wolf zeigen), sowie mit den deutlichen Differenzen zwischen dem Flecktyphusserum und dem X 19-

1) Vortrag, gehalten auf dem VI. Allrussischen Kongreß der Bakteriologen und Epidemiologen, 4. Mai 1922.

2) Der erste Vortrag zusammen mit Schröder und Seifert, der zweite zusammen mit Schiff.

Immunsrum (Csepai, Jacobitz, Braun und Salomon, Werner und Leoneanu) und auch mit der sicher festgestellten serologischen Verschiedenartigkeit verschiedener Flecktyphus-Protei der Gruppen X 2 und X 19 (Weil und Felix, Sachs, Braun und Mitarbeiter, Börnstein).

Viele von diesen Er widerungen lassen sich auch der anderen Hypothese, nach welcher der X 19 ein beständiger Begleiter der Mischinfektion beim Flecktyphus ist, gegenüberstellen. Einen derartigen Standpunkt nehmen Schürer und Wolf, Möllers und Wolf u. a. ein. Der Anschauung von Weil und Felix über die von ihnen beschriebene Reaktion (wie sie in ihren Arbeiten aus 1920 deutlich formuliert ist) in dem Sinne, daß das Flecktyphusvirus Antigenrezeptoren, die identisch mit spezifischen Hauptrezeptoren des X 19 sind, besitzt, widersprechen, abgesehen von den oben erwähnten Tatsachen, auch das Vorhandensein einer serologischen Verschiedenartigkeit der X-Protei und das Ausbleiben der W.-F.-Reaktion bei mit Flecktyphus infizierten Tieren. (Bei Wiederholung der Versuche von Weil und Felix, die die Agglutination bei Kaninchen feststellten, erzielten Kraus und de la Barrera kein positives Resultat.)

Braun und Salomon, fernerhin Schaeffer, führen die betr. Reaktion auf durch Einwirkung des Flecktyphusvirus bedingte quantitative Steigerung der normalen Blutagglutinine, die zufällig dem X 19 gegenüber sich als wirksam erweisen, zurück. Diese Autoren weisen auf den Umstand hin, daß beim Flecktyphus überhaupt im Blute Steigerung resp. Auftreten der verschiedenartigsten Agglutinine stattfindet und führen zur Erklärung dieser Zufälligkeit an, daß beispielsweise jedes normale Rinderserum den Cholerabazillus agglutiniert. Um die Annahmen von Braun zu rechtfertigen, sind zwei Voraussetzungen erforderlich, nämlich 1) daß zwei Arten von normalen, „zufällig wirksamen“ Agglutininen — gegenüber dem X 2 und gegenüber dem X 19 — existieren (da bei Agglutination von Flecktyphusserum jede von diesen Gruppen durch verschiedene Agglutinine vor sich geht); 2) daß beim Flecktyphus die normalen Agglutinine dem X 19 gegenüber sich stärker als dem X 2 gegenüber vermehren (da das Flecktyphusserum den X 19 stärker als den X 2 agglutiniert). Es handelt sich hier um Voraussetzungen, welchen jegliche experimentelle Grundlage fehlt.

Epstein weist energisch darauf hin, daß der W.-F.-Reaktion physikalisch-chemische Veränderungen des Flecktyphusserums zugrunde liegen. In demselben sei das Verhältnis zwischen den Globulinen und Albuminen gestört und es besitze (besonders während des Temperaturfallens) mehr Globuline als Normalserum. Wird Flecktyphusserum der Dialyse unterworfen, so wäre das hierbei restierende Globulin imstande, ohne Zusatz von Bakterienemulsion auszufallen. Eine derartige Labilität des Globulins als Träger der Agglutininsubstanz wird nach Epsteins Ansicht durch die Trübungsreaktion nach Weltmann, sowie die WaR., die mit Seris, welche bei der W.-F.-Reaktion die größten Titer aufweisen, positiv ausfallen, bestätigt. Es wäre somit verständlich, daß ein Serum, welches solch labiles Globulin in beträchtlicher Menge enthält, eine gesteigerte Tendenz zu Agglutinationsreaktionen zeigt. Dank der Einwirkung dieses physikalisch-chemisch veränderten Serums auf den aus dem Darm stammenden Bac. Proteus vulgaris entstehe nun ein neuer biochemischer Typus, der Bac. Proteus X 19. Bei dieser Einwirkung mache der B. Prot. vulg. tiefgreifende Veränderungen seiner Struktur durch, die bei ihm zum Auftreten einer kolloidal-chemischen Affinität zum Flecktyphusserum führt. Diese Epsteinsche Theorie liefert in erster Linie eine Erklärung der Polyagglutinabilität des Flecktyphusserums. Die Fähigkeit desselben, die Agglutinationsreaktion mit sehr vielen Bakterienarten einzugehen, darf als festgesetzte Tatsache gelten (Kreuscher, Dienes, Loewenhardt, Stärkenstein und Zitterbart, Werner und Leoneanu, Mühlens und Stojanoff, Gluchow u. a.). Offenbar hängt diese Fähigkeit des Flecktyphusserums von zwei Momenten ab: 1) beim Flecktyphus dringen dank der Vulnerabilität der Gefäße in den Blutstrom verschiedenartige Bakterien, die mit dem Serum Immunitätsreaktionen ergeben, worauf Barikin hinweist; 2) kommt hierbei die Veränderung der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Serums in Betracht, worauf Epstein hinweist (derartige Veränderungen hält Barikin für wahrscheinlich, indem er sie auf Schädigung des Gefäßendothels zurückführt).

Die Theorie, welche die Weil-Felixsche Reaktion durch Paraagglutination im Sinne von Kuhn und Woithe<sup>1)</sup> erklärt, schließt sich eng den Epsteinschen Anschauungen an. Diese Theorie vertritt die Mehrzahl der Autoren, unter ihnen Oettinger, Papamarku, Grütz, Otto, Jötten.

1) Diese Untersucher züchteten aus den Fäzes bei Dysenterie B. coli commune, das Agglutination mit dem Serum dieser Patienten ergab. Die Erscheinung einer derartigen Paraagglutination wurde von mehreren Autoren auch bei anderen Infektionskrankheiten beobachtet.

Tatsächlich drängt uns der in jeglicher Beziehung überaus variable Charakter der Protei-Gruppe zu der Annahme, daß der *B. Proteus* X 19 eine serologische Modifikation des *B. Proteus vulgaris*, von dem er sich bloß durch serologische Eigenschaften unterscheidet, darstellt<sup>1)</sup>. Der morphologische Polymorphismus des *B. Proteus* ist eine längst festgestellte Tatsache. Sein kultureller Polymorphismus ist durch die Arbeiten von Metschnikoff, Ziklinskaja, van Loghem, Baerthlein, Schäffer, Weil und Felix, Braun und seinen Mitarbeitern festgestellt. Im pathogenetischen Sinne variiert der *Proteus*, angefangen vom harmlosen Saprophyten bis zur schweren Allgemeinerkrankung (Much und Soucek, Uffenorde und Much) und selbst letalen Ausgang (Fedosejew).

Endlich stellt auch in serologischer Beziehung der *Proteus* keinen einheitlichen Typus dar, da sein agglutinogener Apparat sehr mannigfaltig und modifikationsfähig ist. Weil und Felix haben aus alten Agarkulturen *Proteus*-Formen, die keine Schwärmerbildungen erzeugen und keine Gruppenagglutinogene aufweisen, gezüchtet. Das sind die sog. O-Formen (ohne Hauchbildung), die Friedberger angewandt hat und sie so zum Unterschiede von den H-Formen (mit Hauchbildung), welche Schwärmerbildungen ergeben und Gruppenagglutinogene enthalten, benannt sind. Analoge Formen sind von Braun und Salomon, sowie Schöffler auf Karbolagar und „Hungeragar“ (der weniger Fleischsaft als in der Norm enthält) gezüchtet worden. Fernerhin wiesen diese Forscher nach, daß Gruppenagglutinogene an Geißeln gebunden sind und letztere bei verschiedenen serologischen *Proteus*-Gruppen verschiedenartigen Bau aufweisen. Die Verschiedenartigkeit des agglutinogenen Apparates bei verschiedenen Gruppen der X-Protei darf, wie gesagt, als feststehende Tatsache gelten. Die Gruppen X 2 und X 19 werden durch aparte, aber in demselben Flecktyphusserum enthaltene Agglutinine agglutiniert, Agglutinogene, welche den Gruppen X 2 und X 19 gemeinsam sind, besitzen auch die vulgären Protei. Allein dieser Umstand widerspricht keineswegs einer Erklärung der W.-F.-Reaktion durch Paraagglutination, da ein und dieselbe Ursache — das Flecktyphusvirus — verschiedene serologische Mutationen — in Abhängigkeit von der Art des agglutinogenen Apparates des *Proteus*, der der Einwirkung des Flecktyphusvirus unterlag — zur Folge haben kann. Die Möglichkeit einer artifiziellen Modifikation des agglutinogenen Apparates des *Proteus* ist durch die Versuche von Oettinger, Papamarku und Grütz bewiesen, die beim Kultivieren des *Bac. Proteus vulgaris* in Nährböden, denen Flecktyphusblut oder Serum aus den ersten Krankheitstagen zugefügt worden war (oder direkt in Flecktyphusblut resp. Serum), beim betr. Bazillus das Auftreten einer Agglutinabilität in bezug auf Flecktyphusserum beobachteten, ferner durch die Arbeiten von Schiff und Michaelis, welche die Abhängigkeit der Agglutinabilität der X-Protei vom Gehalt des Traubenzuckers und der Nitrose im Nährboden nachwiesen.

Der *Proteus* stellt also auch in serologischer Hinsicht eine höchst variable Bakterienart dar, so daß wir, von einer Reihe anderer dafür sprechenden Tatsachen abgesehen, berechtigt sind, anzunehmen, daß die X-Protei eine serologische Modifikation der vulgären *Proteus*-Arten darstellen und daß die W.-F.-Reaktion eine Paragglutination ist. Jedoch um diese Annahme in eine einwandfreie Ueberzeugung umzuwandeln, wären folgende drei Momente zu beweisen:

1) Die Möglichkeit einer serologischen Modifikation des *B. Proteus* vulg. im lebendigen Organismus.

2) Der Nachweis, daß der *B. Proteus* vulg. im lebendigen Organismus durch das Flecktyphusvirus derartig umgeändert wird, daß menschliches Flecktyphusserum ihn agglutiniert.

3) Der Nachweis, daß der Grad und die Stabilität dieser Modifikation der Ständigkeit der serologischen Eigenschaften des X 19, resp. anderer X-Protei gleichkommt.

Eine positive Lösung dieser drei Fragen würde das vorliegende Problem dahin entscheiden, daß die W.-F.-Reaktion eine Paragglutination darstellt.

1) Siehe die Arbeiten von Weil und Felix, Dietrich, Epstein und Morawetz, Epstein, Braun und Salomon, Braun und Schäffer, Schäffer, Croner, Zeiß, Wolf, Schürer und Wolf, Jötten und Bach.

Auf Veranlassung meines hochgeehrten Chefs, Prof. W. Barikin, versuchte ich nun, an die Klarstellung der angegebenen Momente auf experimentellem Wege heranzutreten.

Die Grützchen Versuche, welche die Möglichkeit einer serologischen Modifikation des *B. Proteus vulgaris* in vitro demonstrieren, weisen darauf hin, wie stabil der agglutinogene Apparat bei verschiedenen Stämmen des *B. Prot. vulg.* ist. Bevor wir daher einen bestimmten *Proteus*-Stamm zu Tierversuchen wählten, untersuchten wir ihn nach der Grützchen Methode.

Der *B. Prot. vulg.* (Hauser), dessen kulturellen und morphologischen Eigenschaften mit den Literaturangaben über diese Bakterienart übereinstimmen, wurde auf defibriniertem, einem Flecktyphuskranken am 4.—6. Krankheitstage entnommenen Blut ausgesät. Aus von mir unabhängigen Umständen konnte die Grützche Methodik nicht genau befolgt werden: die Verimpfung der Röhren fand nicht sofort nach der Blutentnahme statt und die Kultivierung ging nicht bei 39—40°, sondern bei 37° vor sich. Nichtsdestoweniger waren diese Versuche von Erfolg, obgleich hohe Titres, von denen bei Grütz die Rede ist, nicht erzielt wurden.

Der *B. Prot. vulg.* wurde vor den Versuchen mit mehreren (über 10) Flecktyphuseris geprüft; keine derselben ergab, selbst in Verdünnung von 1:10, Agglutination. Bei weiteren Experimenten wurde späterhin ein Serum gewonnen (Maximatiter für den X19 1:3200), welches Agglutination mit dem untersuchten *Prot. vulg.* im Titer 1:50 gab. Nachdem der betr. *Proteus* 4—5 Tage lang in defibriniertem Flecktyphusblut kultiviert worden war, wurde er in gewöhnlichen neutralen Agar übertragen, und mit der Agarkultur wurden dann die Agglutinationsversuche vorgenommen. Wir erhielten deutliche, wenn auch ohne vollständige Klärung der Flüssigkeit einhergehende, Agglutination in Verdünnung von 1:100 mit Seris, die den betr. *Proteus* vor seinem Passieren durch das Flecktyphusblut überhaupt nicht agglutinierten. Aus einem Teile der Probierröhren wurde der *Proteus* nach 5-täg. Wachstum in defibriniertem Blute wiederum auf denselben Nährboden ausgesät und nach weiterem 5-täg. Wachstum auf dem letzteren in gewöhnlichen neutralen Agar übertragen. In diesem Falle wurde er durch das Flecktyphusserum bei einer Verdünnung von 1:200, und zwar mit vollständiger Aufhellung der Flüssigkeit, agglutiniert.

Diese Versuche zeigten, daß der agglutinogene Apparat des untersuchten *Proteus*-Stammes biegsam genug ist und modifiziert werden kann; er wurde deswegen für die weiteren Tierexperimente benutzt.

Dieser Stamm wurde uns von Prof. P. Ziklinskaja zur Verfügung gestellt; er war von ihm aus Exkrementen bei Kindergastroenteritis gezüchtet worden. Wir benutzen die Gelegenheit, Herrn Prof. Ziklinskaja hier dafür unseren Dank auszusprechen.

In dem Bestreben, solche Versuchsbedingungen zu schaffen, die nach theoretischer Ueberlegung der Flecktyphusinfektion bei Menschen analog sind, wählten wir folgende Methode: Ein Kolloidsäckchen, gefüllt mit einer Emulsion der Agarkultur unseres *Proteus*, wurde in die Leibeshöhle eines Meerschweinchens, das 4—7 Tage zuvor mit Flecktyphusblut infiziert worden war, gebracht. Die betreffenden Säckchen wurden nach der Citronsen Methode<sup>1)</sup> mit einigen von Prof. W. A. Barikin stammenden Modifikationen angefertigt. Das Meer-

schweinchens hungerte 24 Std. lang vor der Laparotomie, die streng aseptisch ausgeführt wurde. In der Regel wurden die Säckchen in der Leibeshöhle des Meerschweinchens bis zum Beginne des Temperaturabfalles gelassen und sodann entfernt. Die aus dem Säckchen vermittelst einer Spritze entnommene Emulsion wurde auf gewöhnlichen neutralen Agar gesät und nach 24-stünd. Wachstum der Agglutinationsversuch vorgenommen. Vor und nach dem Versuche wurde der Proteus mit folgenden Seris geprüft: menschliches Flecktyphusserum, menschliches Normalserum, Meerschweinchens-Normalserum, Serum des Versuchsmeerschweinchens.

Die von uns erzielten Resultate lassen sich durch folgende Versuche demonstrieren:

### III. Versuch.

Meerschweinchens, infiziert durch intraabdominale Injektion von 3 ccm defibriertem Blut von Flecktyphuspatienten (am 5. und 6. Krankheitstage mit deutlicher Roseola und hoher Temperatur). Am 8. Tage Einlagerung des Säckchens in die Leibeshöhle; am 13. begann das Versuchstier zu fiebern; am 30. wurde das Säckchen entfernt, nachdem es in dem Abdomen des Meerschweinchens 12 Tage gelegen hatte. Die Emulsion aus dem Säckchen wurde auf gewöhnlichen neutralen Agar gesät. Die Agglutination der letzten Kultur ergab folgendes Resultat:

Sera	Verdünnung										
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	K.
Flecktyphusserum	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
Meerschweinchennormalserum	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Versuchsmeerschweinchensserum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Menschliches Normalser.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Das bei diesem Versuche angewandte Flecktyphusserum agglutinierte den uns zur Verfügung stehenden X 19 (Saratow'scher Stamm) in einer maximalen Verdünnung von 1:1600. Die durch dieselben Sera bewirkte Agglutination des ursprünglichen, in angegebener Weise nicht passierten Stammes zeigte folgendes Bild:

Sera	Verdünnung									
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	K.
Flecktyphusserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meerschweinchennormalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Versuchsmeerschweinchensserum	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Menschliches Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Der Grenztiterwert des in diesem Versuche angewandten Flecktyphusserums war gegenüber dem X 19 = 1:1600. Das Serum des Versuchsmeerschweinchens, welches wir stets am selben Tage, wo das Kolloidsäckchen entfernt wurde, entnahmen, agglutinierte in diesem

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 27. H. 4.



VI. Versuch.

Meerschweinchen infiziert wie in Versuch III, Säckchen mit Emulsion desselben Stammes des *Proteus vulg.*, eingelagert am 7. Tage nach der Infektion, entfernt nach 13 Tagen.

Weitere Versuchsanordnung wie im Versuch III.

Das Agglutinationsresultat nach der Passage ist folgendes:

Sera	Verdünnung										
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	K.
Flecktyphusserum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
Meerschweinchennormalserum	+++	+++	+++	+++	++	—	—	.	.	.	—
Versuchsmeerschw.-Serum	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Menschliches Normalser.	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—

Falle den ursprünglichen Stamm in einer Maximalverdünnung von 1:100. Nach 3-maliger Aussaat auf neutralen Agar begann der in diesem Versuche passierte *Proteus* durch dasselbe Flecktyphusserum bei einer Verdünnung von 1:800 agglutiniert zu werden, jedoch fiel der Agglutinationstiter des normalen Meerschweinchensersums auf 1:50.

In den weiteren Versuchen (4), ausgenommen 1 Fall, erzielten wir Resultate, die den angegebenen vollständig analog waren, jedoch mit dem Unterschiede, daß der passierte *B. Proteus* nicht immer die Fähigkeit, durch normales Meerschweinchens Serum agglutiniert zu werden, gewann, und in diesen Fällen stimmten die Titer der Agglutination des ursprünglichen und des passierten *Proteus* durch das Serum des Versuchsmeerschweinchens überein.

Das Titer verhielt sich bei den in diesen Versuchen passierten *Proteus* gegenüber dem Flecktyphusserum folgendermaßen: 1:1600, 1:800 und 1:400. In einem Falle, wo beim Meerschweinchen eine sekundäre Infektion auftrat, konnten wir keinerlei Veränderungen der serologischen Eigenschaften bei dem *Proteus*, der dieses Meerschweinchens passiert hatte, konstatieren.

Wir waren also imstande, uns zu überzeugen, daß der Aufenthalt des *B. Proteus vulgaris* im flecktyphuskranken Meerschweinchen (unter den geschilderten Bedingungen) dessen serologische Eigenschaften stark modifiziert. Die wesentlichste unter diesen Veränderungen ist das Auftreten der Fähigkeit, durch das Flecktyphusserum agglutiniert zu werden. Eine weitere, nicht immer und weit weniger intensiv ausgeprägte Modifikation ist das Auftreten der Fähigkeit, durch normales Meerschweinchens Serum agglutiniert zu werden, und endlich die Fähigkeit des passierten Stammes, in einigen Fällen stärker als der ursprüngliche Stamm durch das Serum des Versuchsmeerschweinchens agglutiniert zu werden.

Der Umstand, daß der passierte *Proteus* durch das Serum des Versuchs-, also des Flecktyphusmeerschweinchens, agglutiniert wird, war uns anfangs unerwartet, da wir voraussetzten, daß unser *Proteus*, insofern als er gegenüber dem Flecktyphusserum die Eigenschaft des *X-Proteus* gewann, auch gegenüber dem Serum des Fleck-

typhusmeerschweinchens sich wie letzteres verhalten, d. h. durch dieses Serum nicht agglutiniert werden wird. Die Erklärung dieser auffallenden Tatsache war höchst einfach. Bei Untersuchung des aus dem Meerschweinchen entfernten Kolloidsäckchens im hängenden Tropfen fanden wir zuweilen inmitten der beweglichen Bakterien auch Leukozyten. Dieselben konnten ins Säckchen bloß in dem Falle geraten, wenn dort ursprünglich eine kleine Oeffnung vorhanden war oder sich gebildet hatte. Durch eine solche Oeffnung konnte die Immunisation des Meerschweinchens durch den Proteus vor sich gehen. Daß solche Immunisation tatsächlich stattfand, ist dadurch bewiesen, daß auch der ursprüngliche, nicht im Säckchen gewesene Stamm des Prot. vulg. durch das Serum des Versuchsmeerschweinchens agglutiniert wurde. Die Differenz der Titer, die wir bei Agglutination des ursprünglichen und des durch das Serum des Versuchsmeerschweinchens passierten Proteus beobachteten, spricht dafür, daß nicht nur eine Modifikation des Serums (Immunisation), sondern auch eine Modifikation des Proteus stattgefunden hatte<sup>1)</sup>.

Nun mußte nachgewiesen werden, daß die wesentlichste Modifikation des passierten Proteus, nämlich das Auftreten der Fähigkeit, durch Flecktyphusserum agglutiniert zu werden, auf das Flecktyphusvirus zurückzuführen ist. Zu diesem Zwecke wurde nach der geschilderten Methode ein Versuch mit einem gesunden Meerschweinchen angestellt. Das Säckchen verblieb in demselben 15 Tage. Der aus dem Säckchen gezüchtete Proteus wurde folgendermaßen agglutiniert:

Sera	Verdünnung							K.
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	
Flecktyphusserum	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Meerschweinchen-Normalserum	+++	—	—	—	—	—	—	—
Versuchsmeerschweinchenserum	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
Menschliches Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Agglutination des ursprünglichen Stammes durch dieselben Sera ergab folgendes Bild:

Sera	Verdünnung							K.
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	
Flecktyphusserum	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Meerschweinchen-Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—
Versuchsmeerschweinchenserum	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
Menschliches Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—

Das zu diesem Versuche genommene Serum stellt eben das einzige Serum, welches den ursprünglichen Stamm des B. Prot. vulg. agglutinierte, dar.

Die Vergleichung dieser beiden Tabellen zeigt, daß gegenüber dem Flecktyphusserum bei dem durch das gesunde Meerschweinchen passierten Proteus vulg. keine Steigerung der Agglutinabilität stattfindet. Die einzige serologische Modifikation, die wir in diesem Falle beobachteten, ist das Auftreten einer geringen Tendenz, durch nor-

1) Vielleicht bewirkte dieser technische Defekt unserer Versuche, der die Veranlassung eines stärkeren Säfteaustausches zwischen Meerschweinchen und Säckchen war, auch eine stärkere Modifikation des Proteus.

males Meerschweinchenserum agglutiniert zu werden, was jedoch in Uebereinstimmung mit den Resultaten der oben angeführten Versuche die Möglichkeit einer serologischen Modifikation des *Proteus vulg.* im lebenden Organismus beweist.

Da in einigen Fällen der im Kolloidsäckchen durch das Flecktyphusmeerschweinchen passierte *B. Prot. vulg.* durch Flecktyphusserum in stärkeren Verdünnungen als der X19 agglutiniert wurde, war die Annahme, daß sein agglutinogener Apparat nach dem Typhus X19 (und nicht X2) verändert war, naheliegend. Um diese Frage aufzuklären, stellten wir in einem Falle den Erschöpfungsversuch nach der Castellanische Methode an: Ein Flecktyphusserum von maximalem Titer 1:1600 gegenüber dem X19 wurde durch denselben erschöpft und mit dem *B. Prot. vulg.*, der durch ein Flecktyphusmeerschweinchen passiert war und gleichfalls durch Flecktyphusserum bei einer Verdünnung von 1:1600 agglutiniert wurde, geprüft. Diese Agglutinationsprobe fiel negativ, sogar bei einer Verdünnung von 1:10, aus; umgekehrt konstatierten wir bei diesem Serum, das durch den passierten *Proteus vulg.* erschöpft worden war, den Verlust der Fähigkeit, den X19 zu agglutinieren. Doch darf die Bedeutung dieses einzelnen Versuches nicht verallgemeinert werden; es läßt sich natürlich nicht behaupten, daß der agglutinogene Apparat bei dem auf angegebene Weise passierten *B. Proteus vulg.* stets identisch mit demjenigen des X19 wäre.

Unsere Ergebnisse bestätigen also unsere zwei oben erwähnten Voraussetzungen zweifellos und die dritte teilweise. Wir konnten nachweisen, daß der *B. Prot. vulg.* überhaupt fähig zur Modifikation im lebenden Organismus ist, doch geht unter der Einwirkung des Flecktyphusvirus diese Aenderung derartig vor sich, daß menschliches Flecktyphusserum ihn agglutiniert, und fernerhin, daß der Grad dieser Modifikation den serologischen Eigenschaften des X19 analog ist. Es blieb uns nun noch übrig, nachzuweisen, daß die Stabilität der betr. Modifikation den serologischen Eigenschaften des X19 nicht nachsteht.

Unsere Versuche in dieser Richtung sind noch nicht abgeschlossen, und die vorliegende Mitteilung besitzt somit in dieser Beziehung nur einen vorläufigen Charakter.

Bei den passierten Protei hielt die Agglutinabilität nicht lange an. In der Regel wurde schon am Ende der 2. Woche ein beträchtliches Sinken derselben beobachtet, und am Ende der 3. Woche verschwand sie vollständig und der passierte Stamm verwandelte sich in den ursprünglichen. Die serologische Modifikation erwies sich also als labil. Nachdem der betr. Stamm, der zum ersten Male im Versuche VI passiert war, seine Agglutinabilität verloren hatte, ließen wir ihn zum zweiten Male durch ein Flecktyphusmeerschweinchen nach der angegebenen Methode passieren. Das Säckchen verblieb im Abdomen des Meerschweinchens 5 Tage lang (entsprechend dem Verlauf des Fiebers). Der aus diesem Säckchen gezüchtete *Proteus* ergab bei der Agglutination folgendes:

Serum	Verdünnung									
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	K.
Flecktyphusser.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
Meerschwein.- Normalserum	—	—	—	—	—	.	.	.	.	—
Menschliches Normalserum	—	—	—	—	—	.	.	.	.	—

Stellen wir diese Tabelle der bei der Darstellung des Versuches VI angeführten gegenüber, so bemerken wir, daß die Agglutinabilität des Proteus bei der zweiten Passage um 4mal in die Höhe ging, da wir auch in diesem Falle ein ebenso titriertes Serum wie im Versuch VI benutzten. Die betr. Modifikation ist offenbar weit stabiler, da dieser zweimal passierte Proteus nach Ablauf von 2 Mon. seine Agglutinabilität nicht nur bewahrt hat, sondern sogar keine Verringerung derselben aufweist<sup>1)</sup>.

Das berechtigt uns zu der Annahme, daß es uns gelingen wird, durch mehrmalige Passage des B. Prot. vulg. durch ein Flecktyphusmeerschweinchen nach der angegebenen Methode bei demselben auch eine Stabilität der serologischen Modifikation, analog der beim X19 beobachteten, zu erzielen.

Der verschiedenartige Verlauf der Flecktyphusinfektion beim Menschen und Meerschweinchen erklärt uns mit Leichtigkeit, warum in einem Falle die serologische Modifikation des B. Prot. vulg. sich als stabil erweist, in dem anderen Falle jedoch (bei einmaliger Passage) die Stabilität fehlt. Offenbar spielen hierbei eine Rolle: die Intensität des Virus, der Zeitpunkt seiner Einwirkung und die indirekten Einflüsse, welche die das Flecktyphusvirus veränderten Säfte des menschlichen Organismus auf den Proteus ausüben. Das ist um so eher möglich, als bei Versuchen in vitro die serologische Modifikation des Proteus sich desto stabiler erweist, je länger die sie auslösende Ursache einwirkt (Karbolarversuche von Braun und Schaeffer).

Unsere Versuche lösen also nicht das Problem der Weil-Felixschen Reaktion, insofern die hierzu erforderliche Beantwortung der Frage über die Stabilität der serologischen Modifikation des B. Prot. vulg. ausblieb, doch begründen sie gewissermaßen experimentell die Behauptung, daß der W.-F.-Reaktion Paragglutinationserscheinungen zugrunde liegen und daß der B. Prot. X19 eine serologische Modifikation des B. Prot. vulg. ist.

Aus dem dargestellten Material lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1) Durch Züchtung des B. Prot. vulg. im Kolloidsäckchen innerhalb der Bauchhöhle des Meerschweinchens gelingt es, die Möglichkeit einer serologischen Modifikation dieser Bakterienart nachzuweisen.

2) Der auf diese Weise passierte B. Prot. vulg. wird durch menschliches Flecktyphusserum bisweilen bei stärkeren Verdünnungen als der Proteus X19 agglutiniert; in einigen Fällen wird er auch durch normales Meerschweinchenserum agglutiniert.

1) Anm. bei der Korrektur. Dieser Stamm, der zum zweiten Mal im Februar 1922 passiert war, behält seine Agglutinabilität bis jetzt (Dezember 1922).

3) Die in 1 Falle nach der Castellanischen Methode vorgenommene Untersuchung wies die Identität der agglutinogenen Apparate seitens des auf die erwähnte Art passierten B. Prot. vulg. und B. Prot. X19 nach.

4) Die serologische Modifikation des B. Prot. vulg. erweist sich bei derartiger Passage nicht als stabil, doch wird bei wiederholter Passage sowohl der Grad wie die Stabilität der betr. Modifikation gesteigert.

5) Die vorliegenden Resultate geben eine experimentelle Base für die Anschauung, daß der Weil-Felixschen Reaktion Paragglutinationserscheinungen zugrunde liegen, und daß der B. Prot. X19 eine serologische Modifikation des B. Prot. vulg. ist.

Zum Schlusse erlaube ich mir, dem hochverehrten Prof. W. Barikin, unter dessen Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde, für die Anregung zu derselben und die wertvolle Anleitung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

#### Literatur.

- 1) Barikin, W., Sypnoi typh. i jego wobuditel. Rostow a./D. 1920. p. 183. [russ.] — 2) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. H. 6. — 3) Braun u. Salomon, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 81. H. 1/2; Bd. 82. H. 3/4. — 4) Braun, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 27. — 5) Braun u. Schaeffer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 89. 1919. S. 339; Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 18. — 6) Bach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. H. 4, u. Bd. 85. 1921. H. 5. — 7) Börnstein, Ztschr. f. Hyg. Bd. 91. 1921. H. 3. — 8) Croner, Ztschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. — 9) Csepai, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 1264. — 10) Doerr u. Pick, Ztschr. f. Hyg. Bd. 89. 1919. S. 243. — 11) Dienes, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 461. — 12) Dietrich, Ebenda. 1916. S. 1570. — 13) Epstein u. Morawetz, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 393. — 14) Epstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 3. — 15) Fedosejew, Charjkowski med. Journ. 1914. Nr. 17. [russ.] — 16) Friedberger, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1314, 1353, 1390. — 17) Ders., Schröder u. Seifert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. H. 6/7. — 18) Ders. u. Schiff, Berlin. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 13. — 19) Felix, München. med. Wochenschr. 1917. S. 1259. — 20) Grütz, Ztschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919. H. 3. — 21) Gluchow, Sbornik trudow konfer-sjezda po sypnomy typhi. Petrograd 1920. p. 39. — 22) Jacobitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 251. — 23) Jötten, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 270. — 24) Kreuzscher, Ebenda. 1918. S. 374. — 25) Kraus u. de la Barrera, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 34. H. 1/2. — 26) Kuhn u. Woithe, Med. Klin. 1909. S. 1709. — 27) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 6. — 28) Landsteiner u. Hausmann, Med. Klin. 1918. Nr. 21. — 29) Lowy, Wien. klin. Wochenschrift. 1919. S. 477. — 30) Loewenhardt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. H. 3. — 31) Much u. Soucek, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1191. — 32) Möllers u. Wolf, Ebenda. 1919. S. 349. — 33) Mühlens u. Stojanoff, Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. 21. 1917. S. 213. — 34) Oettinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. S. 304. — 35) Otto, Dtsch. med. Wochenschr. 1919. S. 817. — 36) Papamarku, Ztschr. f. Hyg. Bd. 87. 1918. H. 3. — 37) Ritz, Dtsch. med. Wochenschr. 1918. S. 562. — 38) Rosnatowski, Epidemitscheski sbornik. Rostow a./D. 1921. p. 59. [russ.] — 39) Starckenstein u. Zitterbart, Wien. klin. Wochenschr. 1918. S. 131. — 40) Schaeffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 6. S. 430. — 41) Sachs, Dtsch. med. Wochenschr. 1918. S. 459. — 42) Schürer u. Wolf, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 7. — 43) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 33, 974; 1917. S. 393, 1509; 1918. S. 637; 1920. S. 423. — 44) Werner u. Leoneanu, München. med. Wochenschr. 1918. S. 887. — 45) Weltman, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 4089. — 46) Wolf, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1507. — 47) Zeiß, Ebenda. 1917. S. 1227; Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. H. 5/6. — 48) Ziklinskaja, Utschenie o mikroorganizmach. Rukowodstwo prof. Zlatogorowa. Bd. 3. 1916. p. 203. [russ.] — 49) Uffenorde u. Mauch, Dtsch. med. Wochenschr. 1918. S. 587.

*Nachdruck verboten.*

## Die Gonokokkenkultur durch Zellaufschliessung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg  
(Direktor: Prof. Dr. Selter).]

Von Generaloberarzt Dr. Sachs-Mücke, Königsberg i. Pr.

In neuerer Zeit wurden verschiedentlich Versuche mitgeteilt, welche die bekannten Schwierigkeiten der Gonokokkenzüchtung zu verringern streben. Man muß jedoch zugeben, daß unabhängig von dem eingeschlagenen Kulturverfahren sich in vielen Fällen ein brauchbares Ergebnis erzielen läßt, sobald die von der Frische des Materials, dem Temperaturoptimum und einem geeigneten Nährboden abhängigen Züchtungsbedingungen günstige sind.

Aber schon die recht verschiedene Bewertung der Gonokokkenkultur lehrt, daß trotz anscheinend günstigster Zuchtbedingungen die Kulturmethode vielfach versagt, zum mindesten nicht einfach ist. Bei der Schwierigkeit der Züchtung ist es nicht zu verwundern, daß viele der empfohlenen Nährböden verschieden beurteilt werden und trotz ihrer Brauchbarkeit, wie der Bumsche Plazentaragar, der Blutagar nach Pfeiffer bzw. Abel oder der Wassermannsche Schweineserumnitroseagar sich nicht allgemeine Anerkennung verschaffen konnten, so daß als der beste Gonokokkennährboden im allgemeinen immer noch der Asziteagar gilt. Aber auch dieser hat seine Nachteile, da Aszitesflüssigkeit nicht immer steril und auch nicht jede für die Kultur geeignet ist.

Großer Wert wird in der Literatur der Beschaffenheit des Materials beigemessen, das frisch von der Harnröhre weg verarbeitet werden soll. Aber auch hierbei sind noch genug Mißerfolge zu verzeichnen, wie aus den Berichten einzelner Laboratorien hervorgeht. So viel scheint festzustehen: je frischer eine Gonorrhoe, je frischer das Material, je weniger Begleitbakterien, desto leichter gelingt die Züchtung. Alles in allem spielen bei der Gonokokkenzüchtung eine Menge von Einwirkungen mit, die für ein positives Ergebnis berücksichtigt werden müssen und eine allgemeine Einbürgerung des Kulturverfahrens, wie es vielleicht für die Autovakzinebehandlung wünschenswert wäre, verhindert haben.

Wenn ich mich früher nach den Gründen der gelungenen oder mißlungenen Gonokokkenzüchtung fragte, wollte es mir scheinen, daß ein positives Ergebnis am ehesten dann vorlag, wenn das Ausgangsmaterial viele einzeln liegende Gonokokken erkennen ließ. Gonorrhöen mit solchen sind bekanntlich auch als therapeutisch leichter beeinflussbar bezeichnet worden. Die extrazelluläre Lagerung, wie sie neben der intrazellulären und der Auflagerung auf den Epithelzellen vorzugsweise der frischen Erkrankung eigen ist, erklärt daher auch bei letzterer die meist guten Züchtungsergebnisse.

Wenn die Einzellagerung der Gonokokken tatsächlich eine Hauptbedingung für das Gelingen der Kultur ist, so liegt der Gedanke nahe, sie künstlich durch Aufschließen der Eiterzellen herbeizuführen, zumal ein nicht unbeträchtlicher Teil der intrazellulären Kokken lebens-

fähig ist. Hierzu sind naturgemäß zelllösende Mittel, wie Antiformin, durchaus ungeeignet. Die Befreiung der in den Eiterzellen eingeschlossenen Gonokokken muß vielmehr durch mechanische Einwirkung erfolgen. Eine solche ist schon bis zu einem gewissen Grade bei der Entnahme des Materials denkbar, da nach Lanz das Ausdrücken des Eiters aus der Harnröhre eine mehr extrazelluläre Lagerung bewirkt<sup>1)</sup>.

Auf die durch das mechanische Moment des Ausstreichens und Eintrocknens geplatzten Eiterzellen, die ihren Inhalt in die Umgebung entleert haben, machen bereits A. Neißer und W. Scholz<sup>2)</sup> aufmerksam und erwähnen, daß man bei der Vitalfärbung nach Plato durch leichte mechanische Einwirkung — schwachen Druck auf das Deckglas — das Platzen mit Kokken vollgepfropfter Leukozyten in höchst anschaulicher Weise zeigen kann. Für Kulturzwecke muß die Aufschließung durch ein Mittel erfolgen, das die Zellen ohne Schädigung der Kokken mechanisch zerreißt. Ein solches ist stark verdünntes, etwa 0,1—0,3-proz. säurefreies Wasserstoffsuperoxyd, das durch den entstehenden Sauerstoff wirkt. Das mikroskopische Bild des so aufgeschlossenen Eiters zeigt zerrissene Zellen, aus denen die Kokken ausgetreten sind, Protoplasmareste und Kerne, zahlreiche einzelne und in Haufen frei liegende Gonokokken. Man erhält ein derartiges Bild, wenn man harnröhrenfrischen Eiter in einem Zentrifugierrohrchen in  $H_2O_2$ -Lösungen bringt, sowohl in den Präparaten, die aus dem Schaum als auch besonders in den, die aus dem Zentrifugat angefertigt werden. Eine Schädigung der Gonokokken durch schwache  $H_2O_2$ -Lösungen ist um so weniger anzunehmen, als sogar die mit viel stärkeren Lösungen arbeitende Provokationsmethode durch Mobilisierung der Gonokokken mit Erfolg zur Reinfektion führt, und da nach den Ausführungen von Mendel<sup>1)</sup> der Sauerstoff in statu nascendi so gut wie gar nicht desinfizierend wirkt. Diese Ansicht deckt sich mit meinen Versuchen, wonach eine der Einwirkung von  $H_2O_2$  unterworfenen Gonokokkenreinkulturaufschwemmung sowohl nach 2 Min. als auch sogar noch nach 26 Std. in 2—0,1-proz. Lösungen noch Wachstum zeigte, das allerdings nach der längeren Einwirkungszeit und in den stärkeren Lösungen schwächer ausfiel. Auch eine Reihe anderer pathogener Bakterien wurde in keiner Weise durch den entstehenden O geschädigt.

Bei Innehaltung der übrigen Züchtungsbedingungen dürften aus dem Zentrifugat angelegte Kulturen kaum negativ ausfallen, wobei die Wahl eines geeigneten Nährbodens ziemlich belanglos ist. Es ist Aszitesagar nicht unbedingt hierzu erforderlich. Ebensogut brauchbar erwiesen sich der mit Blut bestrichene Agar nach Abel (strenge Sterilität vorausgesetzt) und ganz besonders auch der Wassermannsche Schweineblutserumnutroseagar.

Da die Frischverarbeitung des Materials anerkanntermaßen eine Grundbedingung für das Gelingen der Kultur ist, möchte die Aufschließung harnröhrenfrischen Eiters überflüssig erscheinen. Sie dürfte aber doch angebracht sein, wenn man an die nicht seltenen Fehlschläge beim einfachen direkten Ausstrich denkt. Wenn auch die Zellaufschließung zuweilen Mißerfolge hatte, so lag dies meines Erachtens an anderen Fehlern (unzweckmäßige Materialentnahme, Tem-

1) Bei Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 4. Aufl. S. 272.

2) Kolle-Wassermann, 1. Aufl. Bd. 3. S. 153/54.

3) München. med. Wochenschr. 1915. Nr. 27.

peratur, Nährboden, Feuchtigkeitsgrad, Ueberwuchern, säurehaltige  $H_2O_2$ -Lösung usw.). Immerhin erschien eine Verbesserung der positiven Ergebnisse durch die Aufschließung erreicht zu sein.

Der Wert der Aufschließung ergibt sich vor allem bei der Verarbeitung älteren Materials, wobei die Grundbedingung der Frischverarbeitung im Gegensatz zu der bisher üblichen Methodik grundsätzlich vermieden wird. Der gonorrhoeische Eiter wird mit dem Wattebauschchen der (gut sterilisierten) Tupferröhrchen abgetupft und in diesen verschlossen dem Laboratorium übersandt. Hier wird der Wattebausch in ein Zentrifugieröhrchen, das eine schwache 0,1—0,3-proz.  $H_2O_2$ -Lösung enthält, eingetaucht, bis er sich vollgesogen hat und dann an der Wand oberhalb der Flüssigkeit gründlichst verrieben, wobei die mechanische Wirkung des Druckes sich mit der des entstehenden O verbindet. Der gebildete Schaum läßt sich leicht in die Flüssigkeit hineinbringen. Das Zentrifugat kann, nach Abgießen der Flüssigkeit mit der Oese oder besser ohne Abgießen mit einer Kapillarpipette aufgenommen, zur Kultur verwendet und zu Präparaten verarbeitet werden.

Vergleichende Untersuchungen mittels des direkten Ausstrichs und der Aufschließungsmethode ergaben folgendes:

Waren nach der Materialentnahme nur wenige Stunden vergangen, so glückte, falls die Watte noch feucht war, und das Ausgangsmaterial zahlreiche, extrazelluläre Kokken aufwies, auch wiederholt die Kultur durch direkten Ausstrich.

Nach 24 Std. konnte nach einer Versuchsreihe von 13 Proben durch direkten Ausstrich nur 3mal, durch Ausstreichen des aufgeschlossenen Sediments aber stets Gonokokkenwachstum erzielt werden.

Nach 48 Std. war unter weiteren 8 Fällen die Kultur durch direkten Ausstrich stets negativ, durch Aufschließung dagegen 3mal positiv. Sogar über diese Zeit hinaus glückte die Kultur mittels der Aufschließung einmal nach 4 Tagen bei von außerhalb eingesandten, allerdings infolge guten Verschlusses noch feucht gebliebenem Materiale. Es scheint ihr also durch die zunehmende Eintrocknung eine natürliche Grenze gesetzt zu sein, welche durch guten Verschluß des Versandtgefäßes möglichst hinausgeschoben werden muß. Trotz anscheinend völlig eingetrockneten Eiters wurde innerhalb von 48 Std. zuweilen noch eine Kultur gewonnen. Die in den Leukozyten eingeschlossenen Kokken müssen also in ihrem Gefängnis gegen das Austrocknen länger geschützt und lebensfähig geblieben sein.

Bei diesen vergleichenden Untersuchungen zeigte sich also die Zellaufschließung dem direkten Ausstrich überlegen. Allerdings wurde die Brutschranktemperatur von  $36^{\circ}$  genau inne gehalten bei Kultur auf Menschenblutserumagar.

Die bis jetzt übliche Frischuntersuchung gestattete nur ösenweise Verwendung von Material zur Kulturanlage. Auch ein Auffangen des Eiters in sterilisierten Blockschälchen mit nachfolgender  $H_2O_2$ -Behandlung ist unpraktisch. Das Auffangen des Eiters mit Tupferröhrchen erlaubt dagegen auf einfachste Weise reichliche Materialentnahme. Da der kulturelle Erfolg um so sicherer ist, je weniger Zeit bis zur Verarbeitung im Laboratorium vergeht, so ist dabei immer noch die Möglichkeit einer gewissen, mehr oder weniger verzögerten Frischbehandlung gegeben.

Von dem Gedanken ausgehend, daß die Gonokokken doch durch den entstehenden O geschädigt würden, wurde eine bei  $37^{\circ}$  bebrütete



Versuchsreihe in der Weise verarbeitet, daß nach Vollaugen des Wattestäbchens mit der  $H_2O_2$ -Lösung als Verreibungs- und Zentrifugierflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung genommen wurde. Hierbei waren die Ergebnisse schlechter. Es waren nämlich von 13 Proben nur 7 positiv. Davon waren 4 nach 2—4 Std. nach der Entnahme verarbeitet worden. Von 5 nach 24 Std. angesetzten Proben fielen nur 2 positiv aus. Aber auch 1 erst nach 48 Std. verarbeitete Probe war positiv.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte eine weitere bei  $37^{\circ}$  bebrütete Versuchsreihe von 12 Fällen, bei denen als Zentrifugierflüssigkeit Traubenzuckerbrühe verwendet wurde. Von den 6 positiven Ergebnissen wurde 3mal das Material nach 3—4 Std., 1mal nach 24, 2mal nach 48 Std. verarbeitet. Bei den negativen Ergebnissen handelt es sich um stark angetrocknetes, 48 Std. altes Material.

Das schlechteste Ergebnis hatte eine ebenfalls bei  $37^{\circ}$  bebrütete Versuchsreihe von 13 Proben, bei denen als Zentrifugierflüssigkeit wieder physiologische Kochsalzlösung und als Nährboden Aszitesagar genommen wurden. Es waren hierbei nur 4 Proben positiv. Eine war nach 4, eine zweite nach 6 Std. verarbeitet worden. Eine 3. war positiv unter 6 nach 24 Std. verarbeiteten Proben. Von 4 nach 48 Std. angesetzten Proben war keine einzige, dagegen eine noch nach 50 Std. verarbeitete Probe positiv. Die bei dieser vergleichsweise angelegte Kultur mittels direkten Ausstrichs war negativ ausgefallen.

Es ist möglich, daß diese schlechteren Ergebnisse zum Teil durch das aus äußeren Gründen nicht erreichte Temperaturoptimum von  $36^{\circ}$  bedingt waren.

Die Prüfung der Reinkulturen erfolgte nach Aussehen, Form, Wachstum, Verhalten nach Gram, ihre Aufbewahrung monatelang mit Erfolg nach dem Verfahren von Buschke-Langer<sup>1)</sup>. Infolge des Aufträufelns des Sediments zeigte sich häufig ein Gonokokken-Mischrasen, aus dem erst die Reinkultur durch wiederholte Umzüchtungen zu gewinnen waren. Auch Mischkolonien waren, wie das auch bei Meningokokken der Fall ist, häufig, und erforderten allmähliche, mühevoll, oft erst nach 14 Tagen erreichbare Reinzüchtung. Wenn also auch die Technik der Reinkulturgewinnung bei Anwendung des Zellaufschließungsverfahrens immer noch häufig recht schwierig ist, so läßt dieses doch unter gewissen Bedingungen eine nicht harnröhrenfrische Materialverarbeitung unter Aussicht auf mehr oder weniger Erfolg zu.

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 3.

*Nachdruck verboten.*

## Beziehung des bakterizidiefesten Rotzbazillus zur Rotzimmunität.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium der Nippon med. Hochschule zu Mukden.]

Von Prof. **Hidezo Toyoda** und **Kunitake Tsuru**.

Mit 1 Tafel.

Die Immunitätsverhältnisse liegen bei Malleus ähnlich wie bei der Tuberkulose. R. Koch konnte experimentell zeigen, daß die Reinfektion beim tuberkulosekranken Meerschweinchen rasch abheilt, während die bei der ersten Infektion entstandenen Herde sich weiter entwickeln.

Toyoda und Yang (Centralbl. f. Bakt. Bd. 2) reinfizierten eine Reihe von tuberkulosekranken Meerschweinchen mit Aufschwemmung einer tuberkulösen Drüse und eine andere Reihe mit Tuberkelbazillenreinkultur. Bei den ersteren Tieren entwickelten sich die Ulcera, wie bei der 1. Impfung, bei den letzteren nicht. Daraus konnten sie schließen, daß die im tierischen Organismus gewachsenen Tuberkelbazillen bakterizidiefest sind, und erklären das Ergebnis des Kochschen Experiments folgendermaßen: Die Tuberkelbazillen in den Primärherden sind bakterizidiefest, deshalb sind die Herde unheilbar, während die mit Tuberkelbazillenreinkultur gesetzten Reinfektionsstellen leicht heilbar sind. Wir haben angenommen, daß dasselbe Immunitätsverhältnis auch beim Rotz vorliege, und folgende Untersuchung angestellt:

Zum Versuch benutzten wir Kulturen auf Glycerin-Eigelbnährböden eines Stammes, der im April dieses Jahres aus einem rotzkranken Pferde isoliert worden war.

### Versuch I.

Mehreren Meerschweinchen von 260–350 g Körpergewicht wurden je  $\frac{1}{100}$  mg Rotzbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Ein Teil von ihnen wurde nach 2 Wochen mit Gewebsaufschwemmung eines rotzkranken Meerschweinchens, ein anderer Teil mit Rotzbazillenreinkultur reinfiziert.

Die Gewebsaufschwemmung wurde auf folgende Weise gewonnen: Einem mit Rotzbazillen geimpften Meerschweinchen wurde 2 Wochen nach der Impfung eine geschwollene Inguinaldrüse exstirpiert und in einem Mörser unter Zusatz einer kleinen Menge physiol. Kochsalzlösung fein zerrieben. In der Flüssigkeit befanden sich durchschnittlich ca. 7–8 Rotzbazillen in einem Gesichtsfelde. Zur Impfung eines Tieres benutzten wir 0,2 ccm von dieser Flüssigkeit, aus der sich, auf einem Nährboden ausgestrichen, zahlreiche Kolonien in dichten Haufen entwickelten.

Von der Reinkultur wurde zur Reinfektion je  $\frac{1}{100}$  mg subkutan eingespritzt. Durch mikroskopische Untersuchung und Kultivierung wurde festgestellt, daß diese Bazillenmenge das 3–4fache der mit Gewebsaufschwemmung verimpften Bazillenmenge betrug.

Diese kleinen Mengen von Bazillen wurden zur Reinfizierung benutzt, weil auch Kulturbazillen, wenn man mit einer großen Menge von ihnen reinfiziert, ein positives Resultat ergaben.

Der Verlauf der ersten Infizierung war bei allen Tieren sehr ähnlich: an der Impfstelle entstand ein Infiltrat, das nach 7–8 Tagen aufbrach. Die Ulzeration zeigte keine Neigung zur Heilung. Die regionären Lymphdrüsen waren vergrößert und gingen nach einiger Zeit in Vereiterung über. Der Befund der Reinfizierung bei den einzelnen Tieren ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Rotzkranke Tiere	Nr. 1	Mit Gewebsaufschwemmung infiziert	Eine strangartige Infiltration am 5. Tage, am 6. aufgebrochen, am 14. ein Strang mit einem bohngroßen Geschwür. Am nächsten Tage †.
	„ 2	dgl.	Eine soyabohnengroße Infiltration am 5. Tage, am 10. fingerspitzen groß geworden, am 15. zwei Knoten vorhanden.
	„ 3	dgl.	Befund am 5. Tage wie Nr. 2, am 10. aufgebrochen, am 15. ein Strang mit einem kleinen Geschwür vorhanden.
	„ 4	dgl.	Am 2. Tage eine kleine Infiltration. Am 4. Tage †.
Gesunde Tiere	„ 5	dgl.	Strangartige Infiltration, am 5. Tage bis zur Brust ausgebreitet, am 7. aufgebrochen, am 15. ein Strang mit einem daumenspitzen großen Geschwür.
	„ 6	dgl.	Kleine Infiltration am 3. Tage. Am 4. Tage †.
Rotzkranke Tiere	„ 7	Mit Reinkultur infiziert	Keine Veränderung am 2. Tage. Am 4. Tage †.
	„ 8	dgl.	Noch keine Veränderung nach 14 Tagen vorhanden.
	„ 9	dgl.	Dgl., aber am nächsten Tage †.
Gesunde Tiere	„ 10	dgl.	Bohngroße Infiltration am 5. Tage, am 9. aufgebrochen. Am 13. Tage †.
	„ 11	dgl.	Befunde am 5. und 9. Tage wie Nr. 10, am 15. ein erbsengroßes Geschwür mit einer Kruste.
	„ 12	dgl.	dgl.

(Die gestorbenen Tiere Nr. 1, 4, 7 und 9 wurden sezirt, und die rotzigen Veränderungen in den inneren Organen nachgewiesen.)

Aus dem Versuche geht hervor, daß sich bei rotzkranken Tieren, die mit kleiner Menge Gewebesaufschwemmung reinfiziert waren, an den Reinfektionsstellen Ulzerationen bildeten, wie bei der 1. Impfung, nicht aber bei Tieren, die mit den Kulturbazillen reinfiziert wurden, obwohl die letzteren mit 3—4mal mehr Bazillen als die ersten geimpft wurden.

#### Versuch II.

Bei dem ersten Versuche wurden die Tiere am 14. Tage nach der Impfung mit den im gleichzeitig infizierten Tier vorhandenen Bazillen infiziert. Bei dem zweiten Versuche aber wurden die Tiere am 18. Tage nach der Infizierung mit Gewebesaufschwemmung eines Tieres, das am 14. Tage seiner Infizierung stand, reinfiziert.

Rotzkranke Tiere	Nr. 13	Mit Gewebsaufschwemmung infiziert	Noch keine Veränderung nach 14 Tagen.
	„ 14	dgl.	dgl.
Gesunde Tiere	„ 15	dgl.	Bohngroßes Infiltrat am 5. Tage, am 9. aufgebrochen, am 14. noch ein fingerspitzen großes Geschwür.
	„ 16	dgl.	Wie Nr. 15, aber am 8. Tage aufgebrochen.

Daraus geht hervor, daß die Bazillen im Tier am 14. Tage nach der Infizierung die Tiere, die am 18. Tage der Infizierung stehen, nicht infizieren können wie die Kulturbazillen.

Aus den 2 Versuchen läßt sich schließen, daß die Rotzbazillen im Tierkörper eine gewisse Bakterizidiefestigkeit besitzen, und daß die Rotzimmunität schon nach wenigen Tagen einen deutlichen Gradunterschied bei der Infizierung erkennen läßt. Es wurde bisher von vielen Autoren beim Rotz beobachtet, daß die Reinfektionsstellen sehr leicht heilen, während die primäre Herde sich immer weiter entwickeln. Die Tatsache ist so zu erklären, daß die Bakterizidiefestigkeit bei den zur Reinfektion benutzten Bazillen gar nicht vorhanden oder sehr schwach gewesen ist.

Vormals führte man zu diagnostischen Zwecken an rotzkranken Pferden die sogenannte Autoinokulation aus, welche darin bestand, daß dem verdächtigen Pferde seine eigenen pathologischen Produkte (Eiter, Nasensekret) in gesunde Stellen der Haut oder Schleimhaut eingepflegt wurden. Diese Impfungen ergaben häufig nur abortive Prozesse auf der Haut resp. Schleimhaut. Man muß wohl annehmen, daß das daher kommt, daß die verwendete Bazillenmenge zu gering gewesen ist. Wenn statt dessen Kulturbazillen in gleicher Menge eingepflegt worden wären, so wäre gar keine Veränderung an den Stellen entstanden.

Unsere Beobachtung hat auch Interesse für die Praxis insofern, als auch eine spontane Reinfektion beim Rotz möglich ist; ferner zeigt sie, daß eine so starke Immunität aktiv oder passiv erzeugt werden muß, daß sie die bakterizidiefesten Bazillen vernichten kann, wenn man in der Prophylaxis oder Therapie des Rotzes einen immunisatorischen Erfolg erzielen will.

#### Erklärung zu den Abbildungen.

Fig. 1. Ein rotzkrankes Tier, das mit den tierischen Bazillen reinfiziert wurde.  
U.R. = Ulzeration der Reimpfstelle. U.P. = Ulzeration der Primärimpfstelle.

Fig. 2. Ein Kontrolltier, das mit denselben tierischen Bazillen infiziert wurde.  
U.I. = Ulzeration der Impfstelle.

Fig. 3. Ein rotzkrankes Tier, das mit den Kulturbazillen reinfiziert wurde.  
O.R. = Ohne Veränderung der Reinfektionsstelle. U.P. = Ulzeration der Primärimpfstelle.

Fig. 4. Ein Kontrolltier, das mit denselben Kulturbazillen infiziert wurde.  
U.I. = Ulzeration der Impfstelle.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen zu der Frage, ob die pathogenen Spirochäten sauerstoffbedürftige oder sauerstoffscheue Mikroorganismen sind<sup>1)</sup>.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamts.]

Von P. Manteufel.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Schereschewsky (1) und von Mühlens (2) über die Entwicklungsbedingungen der Pal-

1) Vortrag auf der Tagung der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft in Hamburg (17.—19. Aug. 1922).

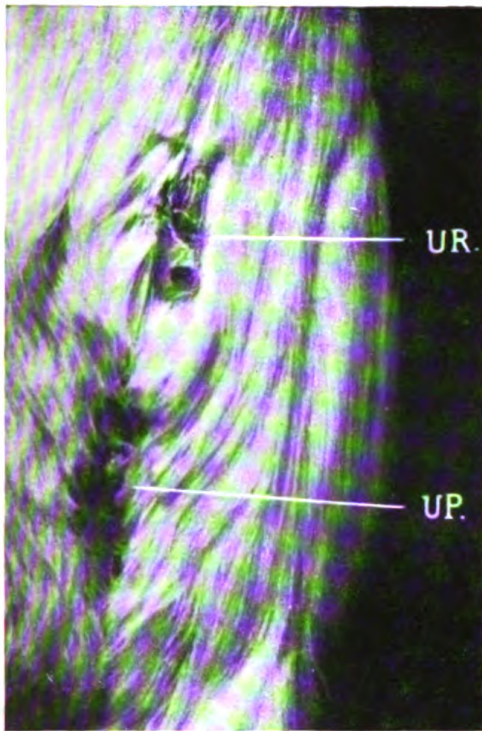


Fig. 1.

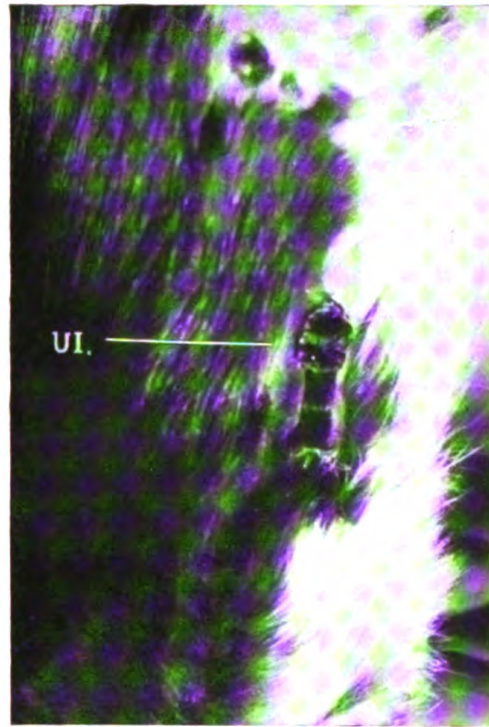


Fig. 2.

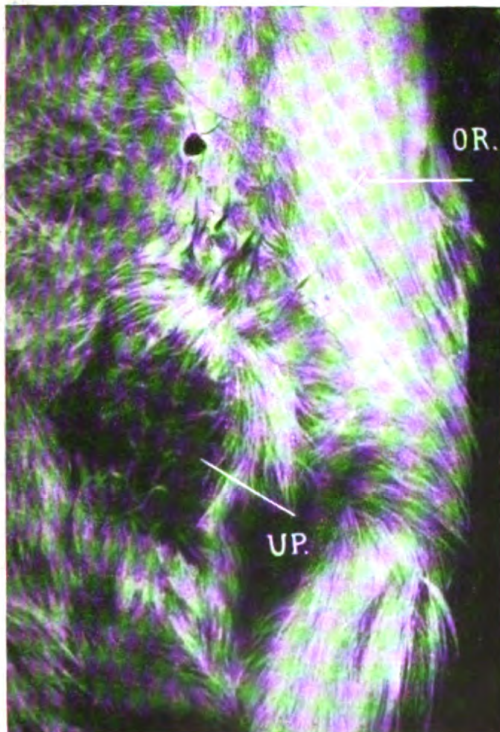


Fig. 3.

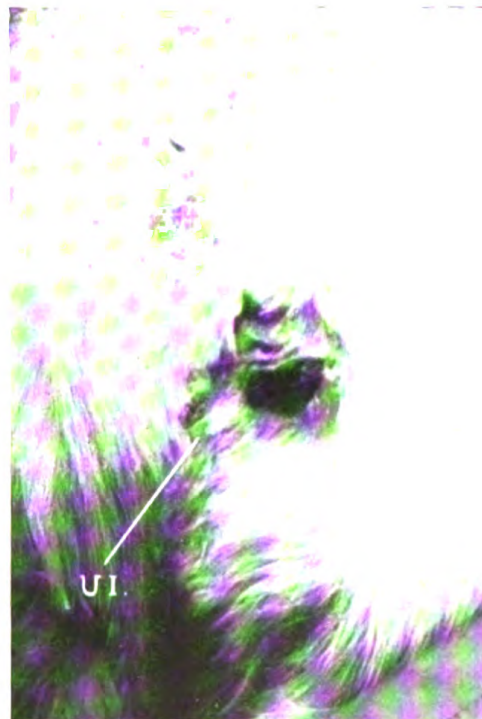


Fig. 4.



lida-Kultur stehen die pathogenen Spirochäten in dem Verdacht, strenge Anaerobier zu sein. So sind auch die ersten erfolgreichen Kulturversuche mit der Spirochäte der Weilschen Krankheit von dem Gedanken ausgegangen, daß man die Wachstumsbedingungen möglichst anaerob gestalten müsse [Ungermann (3), sowie Inada-Ido mit ihren Mitarbeitern (4)]. Durch die gegenteiligen Angaben von Noguchi (5) und von Griffith (6), die aus eigenen, ebenfalls erfolgreichen Kulturergebnissen auf eine strenge Aerobennatur dieser Spirochäten schließen zu müssen glaubten, wurden Zweifel in dieser Frage wachgerufen, die auch mich zu einer Nachprüfung veranlaßten. Dabei konnte einerseits die Beobachtung der letztgenannten Autoren bestätigt werden, daß die Weil-Spirochäten bei unbehindertem Luftzutritt ebenso üppig in den Kulturen gedeihen wie bei Luftabschluß durch ein Paraffin-„siegel“ (Ungermann) und besser als nach dem Tarozzi-Verfahren (Inada-Ido und ihre Mitarbeiter); andererseits blieb die Tatsache bestehen, daß die Kultur auch unter solchen Bedingungen gelingt, bei denen Anaerobier zur Entwicklung gebracht werden können, nämlich beispielsweise nach dem Buchnerschen Pyrogallusverfahren oder bei Verwendung von Platinschwamm als Reduktionsmittel oder in Symbiose mit starken Sauerstoffzehrern wie Alkaligenes-Bazillen. Ich bildete mir dadurch die Meinung, daß die Spirochäten der Weilschen Krankheit sowohl unter aeroben als unter anaeroben Bedingungen gedeihen (7). Die bemerkenswerten Widersprüche bei der Bearbeitung der Frage haben aber verschiedenen Forschern Anlaß gegeben, die üblichen anaeroben Kulturverfahren unter Kontrolle eines Sauerstoffindikators einer genaueren Prüfung zu unterziehen, und dabei hat sich gezeigt, daß die gebräuchlichen Verfahren für Anaerobenzüchtung oft durchaus keine strengen anaeroben Bedingungen gewährleisten, sondern nur eine Herabsetzung des Sauerstoffdruckes bewirken. Diese Herabsetzung des Sauerstoffdruckes reicht zwar aus, um auch sog. strenge Anaerobier zur Entwicklung kommen zu lassen, aber die Schlußfolgerung, daß alle Keime, die unter den Sauerstoffbedingungen eines derartigen Anaerobienverfahrens gedeihen, als Anaerobier anzusehen seien, ist trügerisch, denn bei herabgesetztem Sauerstoffdruck können sowohl strenge Aerobier wie strenge Anaerobier wachsen. Die Definition „obligater Anaerobier“ ist dementsprechend auch nicht so zu fassen, daß es sich um ein nur bei Abwesenheit von Luft bzw. Sauerstoff gedeihendes Lebewesen handelt (8) — ob es derartige pathogene Keime gibt, scheint mir überhaupt fraglich oder unbewiesen — sondern um ein Lebewesen, das bei vollem Sauerstoffdruck nicht zu leben vermag. Ebenso ist für einen obligaten Aerobier die Möglichkeit des Wachstums nicht an den ungehinderten Sauerstoffzutritt gebunden — er gedeiht auch bei herabgesetztem Sauerstoffdruck — sondern das Kennzeichnende ist, daß ein obligater Aerobier bei völliger Abwesenheit von Luft bzw. Sauerstoff sich nicht zu entwickeln vermag. Man sollte also die strengen Aerobier mit Kruse (9) besser als aërophile oder besser sauerstoffbedürftige (oxygenophile) Keime bezeichnen und die strengen Anaerobier als aërophobe oder besser sauerstoffscheue (oxygenophobe). Damit ist gleichzeitig ausgedrückt, daß das Wachstumsoptimum der ersteren auf der Seite der stärkeren, das der letztgenannten auf der Seite der geringeren Sauerstoffspannung liegt.

Will man prüfen, ob eine Mikrobekultur auch bei völliger Ab-

wesenheit von Sauerstoff zu gedeihen vermag, so bedarf es eines Verfahrens, durch welches der in dem Nährboden enthaltene Sauerstoff rasch und vollständig beseitigt wird und während der Beobachtungszeit auch von außerhalb nicht nachdringen kann. Reduktionsmittel wie Traubenzucker und tierisches Gewebe reichen dazu, weil zu langsam und ungleichmäßig wirkend, nicht aus, und ebenso geht bei dem Pyrogallusverfahren nach Buchner die Absorption des Sauerstoffs aus hohen Nährbodenschichten nur sehr allmählich vonstatten. Auch die Ueberschichtung der Nährböden mittels flüssigem Paraffin zwecks Absperrung der Außenluft hat sich durch die Untersuchungen von Gates und Olitsky (10) und anderen Forschern, die ich bestätigen kann, als unsicher herausgestellt, da das flüssige Paraffin die Außenluft noch in ziemlich hoher Schicht durchläßt. So kommt es, daß bei den verschiedenen Verfahren der Anaërobenkultur auch Keime mit ziemlich großem Sauerstoffbedarf und z. B. sogar die streng aëroben Cholera-vibrionen gelegentlich die Möglichkeit zur Entwicklung finden.

Dagegen läßt sich dieser Versuch ganz einfach mittels einer Modifikation der ursprünglich von Trenkman angegebenem Natriumsulfidmethode durchführen, die ich im Sitzungsbericht der diesjährigen Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie beschrieben habe. Das Verfahren besteht darin, daß man einen für den besonderen Zweck geeigneten flüssigen Nährboden mit geringen Mengen einer schwachen Natriumsulfidlösung als Reduktionsmittel beschickt, mit dem zu untersuchenden Kulturmaterial beimpft und dann sogleich mit verflüssigter Vaseline „siegelt“. An der Hand eines mitlaufenden Kontrollröhrchens, dem Methylenblau (1proz. wässrige Lösung) als Sauerstoffindikator zugesetzt wird, kann man feststellen, daß nach wenigen Min. Sauerstofffreiheit des Nährbodens eingetreten ist, ein Zustand, der während einer langen Beobachtungsdauer auch unverändert bestehen bleibt. Die Reduktionswirkung des Natriumsulfids erklärt sich damit, daß eine Oxydation zu Sulfit und Sulfat erfolgt, bei der, da der Luftsauerstoff durch das Vaselinesiegel abgesperrt ist, der im Nährboden befindliche Sauerstoff gebunden wird. Bei dieser Oxydation entsteht auch freier Schwefelwasserstoff.

Mit dieser Methode habe ich Reinkulturen der Weilkrankheitsspirochäten bezüglich ihrer Abhängigkeit vom Sauerstoff untersucht und zunächst festgestellt, daß die erforderlichen kleinen Mengen von Natriumsulfid das Wachstum einer solchen Kultur nicht beeinträchtigen. Auch gasförmiger Schwefelwasserstoff läßt nach Untersuchungen von Uhlenhuth und Zuelzer (12) die Lebensfähigkeit dieser Spirochäten nach 2st. Durchleiten unbeeinflusst. Im einzelnen ist die Versuchsanordnung so, daß man eine Anzahl etwa (8—10) Uhlenhuth-Röhrchen, die je 2 ccm 10-proz. Kaninchenserumwasser enthalten, mit mehreren Tropfen einer gut angegangenen Kultur beimpft und dann die Hälfte der Röhrchen mit 0,1 ccm einer frisch bereiteten  $\frac{1}{2}$ -proz. Natriumsulfidlösung und einem Vaselinesiegel beschickt; ein Röhrchen mit der gleichen Menge Nährflüssigkeit, dem man außer der Natriumsulfidlösung einen Kapillartropfen einer 1-proz. wässrigen Methylenblaulösung und das Vaselinesiegel zugesetzt hat, läßt man als Sauerstoffkontrolle mitgehen. Bei der Untersuchung der Kulturen nach 4tägigem Aufenthalt auf dem 37°-Schränk ergab sich ausnahmslos, daß die sauerstofffreien Röhrchen keine Entwicklung aufkommen lassen, während die aëroben Kulturen in der normalen Weise gedeihen.



In Verbindung mit den früheren Beobachtungen ergibt sich mithin, daß die Spirochäten der Weilschen Krankheit sauerstoffbedürftige Mikroben sind, die zwar auch bei Herabsetzung des Sauerstoffdrucks, nicht aber bei völligem Fehlen desselben gedeihen können. Das in einer früheren Arbeit auch von mir bestätigte Wachstum unter anaëroben Bedingungen erklärt sich dadurch, daß diese anscheinend anaëroben Bedingungen gegen die frühere Erwartung die Anwesenheit von Sauerstoff in geringeren Mengen nicht ausgeschlossen haben. Das gilt sowohl für den Ungermannschen Nährboden (unverdünntes Kaninchenserum, aus dem die Luft durch Erwärmung auf 60° verjagt werden sollte — was nicht gelingt —, und dann mit einer hohen Paraffinschicht gesiegelt), als auch für den nach Tarozzis Angaben hergestellten Nährboden von Noguchi, den Inada, Ido und ihre Mitarbeiter für der Züchtung der Gelbfieber-Spirochäte der Fall.

Ebenso wie die eben genannte Spirochäte ist auch der verwandte Erreger des japanischen Siebentagefiebers, von dem im Gesundheitsamt ein Stamm fortgezüchtet wird, ein sauerstoffbedürftiger Keim, und anscheinend ist das nach den Angaben von Noguchi auch bei der Züchtung der Gelbfieber-Spirochäte der Fall.

Während die Lebenderhaltung von Reinkulturen des Weil-Typus bei etwa 14tägiger Ueberimpfung von 10-proz. Serumwasser unter aëroben Bedingungen, wie ich es in einer früheren Arbeit beschrieben habe, ohne Fehlresultate vor sich geht, macht die Fortzüchtung der Rekurrensspirochäten nach der Methode von Ungermann auch bei 4- bis 5tägiger Ueberimpfung dauernd gelegentliche Schwierigkeiten, aus denen man schließen muß, daß die Kulturbedingungen dieses Spirochätentypus noch nicht optimal getroffen sind. In der Tat stehen sich auch hier bereits gegensätzliche Auffassungen gegenüber, indem Ungermann besonderen Wert auf einen sorgfältigen Luftabschluß der Kulturen mittels hoher Paraffinschicht legen zu müssen glaubte, während Noguchi (13) und Hata (14), die die ersten Rekurrenskulturen gezüchtet haben, im Gegenteil die Anwesenheit von Sauerstoff für vorteilhaft halten. Kligler und Robertson (15) erklären die Rekurrensspirochäten sogar für strenge Aërobier. Allerdings überschichten auch diese beiden Autoren ihre aus verdünntem Serum bestehende Nährflüssigkeit mit einer dünnen Paraffinschicht, aber diese Maßnahme soll nach ihren Untersuchungen lediglich den Zweck haben, das Entweichen von Kohlensäure aus der Nährflüssigkeit und die dadurch entstehende zunehmende Reaktionsänderung (Alkalisierung) zu verhindern. Daß Paraffinschichten unter etwa 2 cm Dicke das Eindringen von Luftsauerstoff in einen flüssigen Nährboden nicht sehr verhindern, ist bereits von verschiedenen Seiten nachgewiesen und von mir bestätigt worden.

Der Nährboden von Noguchi besteht bekanntlich aus Aszitesflüssigkeit, der ein Stück frischer Niere beigefügt wird, d. h. also aus einem Medium, das sich erfahrungsgemäß zur Züchtung von sauerstoffscheuen Keimen unter scheinbar aëroben Bedingungen eignet. Hata hat die Aszitesflüssigkeit durch halberstarres Pferdeserum und die Nierensubstanz durch entsprechende Stücke des speckigen Fibringerinnsels vom Pferdeblut ersetzt. Auch dieser Nährboden ist ein Substrat, das für Anaërobier Wachstumsmöglichkeiten bietet. Kligler und Robertson verdünnen flüssiges Kaninchen- oder Pferdeserum auf das Doppelte bis Dreifache mit physiologischer Kochsalzlösung und

fügen 1 Proz. Peptonbrühe als Puffersubstanz hinzu, worauf aus den oben angegebenen Gründen Paraffinöl bis zu einer Höhe von 1,5 cm überschichtet wird<sup>1)</sup>).

Der Ungermansche Nährboden, der aus unverdünntem Kaninchenserum, mit Paraffinöl überschichtet, besteht — das Inaktivieren ist nach meinen Erfahrungen nicht notwendig — ist an sich zweifellos sehr einfach in der laufenden Handhabung, doch hat er insofern eine störende Unbequemlichkeit an sich, als man häufig, d. h. etwa 2mal in der Woche, weiterimpfen muß, um vor einem unvorhergesehenen Abreißen der Passagen sicher zu sein. Hata sowie Kligler und Robertson geben demgegenüber an, daß sie nur alle 2 bis 3 Wochen weiterzuimpfen brauchten. Meine eigenen Untersuchungen über diesen Punkt sind leider nicht zu einem abschließenden Urteil gediehen, aber ich kann vorläufig angeben, daß mir die Kultur der Rekurrensspirochäten unter den Bedingungen strengster Anaerobiose trotz zahlreicher Bemühungen nicht gelungen ist. Dagegen entwickeln sich die Kulturen in unverdünntem Kaninchenserum bei Benutzung eines ganz feinen Paraffinsiegels, das, wie erwähnt, das Eindringen von Luftsauerstoff nicht verhindert, ebensogut wie bei Verwendung einer hohen Paraffinüberschichtung. Es ist also sicher, daß auch die Rekurrensspirochäten keine strengen Anaerobier sind.

Zum Schluß noch eine kurze Bemerkung über die Pallida-Kultur. Seit 1909 sind die Züchtungsverfahren von Schereschewsky und von Mühlens bekannt und bezüglich ihrer Brauchbarkeit durch verschiedene Nachuntersuchungen, von denen ich nur die von W. H. Hoffmann und Noguchi nenne, bestätigt worden. Trotzdem besitzen auch heute noch Reinkulturen der Pallida, wie Wassermann und Ficker (16) mit Recht feststellen, einen Seltenheitswert. Ich habe mich schon mehrere Jahre vergeblich bemüht, von Kaninchenhodenmaterial ausgehend, flüssige Reinkulturen zu erhalten, wobei immer von der Voraussetzung ausgegangen wurde, daß man es mit einem strengen Anaerobier zu tun hat. Diese Voraussetzung scheint mir einer Revision zu bedürfen, nachdem die Untersuchungen bei den anderen Spirochätentypen die Irrtümlichkeit unserer bisherigen Auffassung ergeben haben.

#### Quellenangaben.

- 1) Schereschewsky, J., Dtsch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 19, 29 u. 38. —
- 2) Mühlens, P., ebenda. 1909. Nr. 29. — 3) Ungermann, E., Berlin. klin. Wochenschrift. 1916. Nr. 15; Arb. a. d. Reichsgesundheitsa. Bd. 51. 1919. — 4) Inada, Ido, Hoki, Kaneko and Ito, Journ. exp. Med. Vol. 23. 1916. — 5) Noguchi, H., Ibid. Vol. 27. 1917. — 6) Griffith, A. St., Journ. of Hyg. Vol. 18. 1919. — 7) Manteufel, P., Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 17. — 8) Gotschlich, P., Kolle-Wassermanns Handb. Bd. 1. S. 91—96. — 9) Kruse, W., Einführung in die Bakteriologie. Berlin-Leipzig 1920. S. 34. — 10) Gates, F., and Olitski, Journ. exp. Med. Vol. 33. 1921. p. 51. — 11) Trenkmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. — 12) Uhlenhuth, P., u. Zuelzer, M., ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 147<sup>a</sup>. — 13) Noguchi, H., Journ. exp. Med. Vol. 16. 1912. — 14) Hata, S., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1914. — 15) Kligler, J., and Robertson, O. H., Journ. exp. Med. Vol. 35. 1922. — 16) v. Wassermann, A., u. Ficker, M., Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 21. S. 1101.

1) Ueber das Verfahren zur Züchtung von Rekurrensspirochäten nach Aristowsky-Kasan (cf. Bericht über den allruss. Bakt.-Kongreß 1922 im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 74/22) sind keine genauen Angaben vorhanden.

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Kenntnis der Rickettsia Prowazeki.**[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten  
(Direktor: Prof. Dr. Nocht).]

Vorläufige Mitteilung.

Von H. Sikora.

Die Leibeshöhle der Laus, das Cölom, erwies sich als eine Art Nährboden in vivo, in dem sich nicht nur Kokken und Bakterien, sondern auch die vermutlich zu den Chlamydozoen gehörenden Rickettsien stark vermehren. (Trypanosomen gehen im Lauscölom bald zugrunde, mit Ausnahme der Schaflauscrithidie, die sich dort nur zu halten vermag, während sie sich im Magen der Laus stark vermehrt, stellenweise über dem Epithel einen dichten Rasen bildend. Es wäre der Mühe wert, auch mit *T. gambiense* in dieser Richtung Versuche zu machen.) Die Rickettsien des Katzenflohes und der Vogelmilbe (*Dermanyssus*) vermehren sich, unter aseptischen Kautelen der Laus in das Cölom gespritzt, lebhaft. Auch die nichtpathogene Lausrickettsia, *R. pediculi*, vermehrt sich im Cölom und bildet große, scharfkonturierte (mit Giemsa dunkelrote) Klumpen um die Tracheen, vermutlich unter deren gedehnter Tunica propria, große, polsterartige Einlagerungen zwischen der Basalmembran des Magens und dessen ebenfalls mit einer Membran verbundenem Muskelgitter; in unverletzte Zellen scheint sie nicht eindringen zu können, auch bleibt ihr ihr natürlicher Aufenthaltsort, die Magenöhle, vom Cölom aus unzugänglich.

Die *Rickettsia Prowazeki*, der mutmaßliche Fleckfiebererreger, erwies sich bei der Cölomimpfung als echter Zellparasit. Sie befiel bei Stichimpfung durch die Vagina, von dem alle Organe umspülenden Blut der Laus aus das Magenepithel, den dünnen Epithelbelag über den (syncytialen?) Zellwülsten der Enddarmdrüse, einzelne Dickdarmepithelzellen, das Receptaculum seminis (Müllersche Ovarampullen), Ovidukte, Uterus, einzelne Kittdrüsenzellen, die schon bei schwacher Vergrößerung durch ihre gedunsene Form und helle Farbe von den flachen, dunkelblauen Nachbarzellen abstechen, ebenso wie dies bei den wenigen befallenen Hypodermiszellen der Fall ist. Das Epithel der Stachelscheide, des Pharynx und des Fulkrums war auch stark befallen, ersteres auch stark vergrößert. Auch Muskelzellen waren teils diffus im vergrößerten Sarkoplasma, teils herdförmig in der Muskelsubstanz selbst, mit Rickettsien durchsetzt.

Bohnenförmige und hufeisenförmige Speicheldrüsen enthielten keine Rickettsien.

Die Kopfspeicheldrüse war sehr stark infiziert, die Zellen waren gedunsen, wie stark befallene Magenepithelzellen. Bemerkenswert ist, daß das Sekret dieser in die Stachelscheide mündenden Drüse, im Gegensatz zu dem der vorhergenannten, nicht in die Hautwunde gespritzt

wird, sondern die Stachelscheide und die Mundhöhle während des Saugens auszufüllen bestimmt ist.

Die Cölominfektion führte, je nachdem viel oder wenig Virus eingespritzt wird, in 4—15 Tagen den Tod der Laus herbei, unter diesem kurz vorausgehenden Krankheitszeichen: Trägheit, Anschwellung des Abdomens, weißliche, bräunliche, rote oder rotschwarze Verfärbung.

Eine unter Luftabschluß bei 26° aufbewahrte, rickettsienhaltige Lausmagenaufschwemmung war noch nach 48 Std. infektiös für die Laus, nach 4 und 6 Tagen aber nicht mehr. Lufttrockener Läusekot war noch nach 3 × 24 Std. bei 26° infektiös für die Laus, nach 16 Tagen nicht mehr. Ein Meerschweinchen, dem 6—10 Std. alter, trockener Kot auf die vorsichtig mit der Scheere geschorene, naßgemachte Haut aufgestrichen und noch älterer Läusekot in die Nase geblasen worden war, bekam typisches Fieber und erwies sich später als immun, ebenso wie ein Meerschweinchen, an dem eine infizierte Laus gesogen hatte.

#### Zusammenfassung.

1) In das Cölom der Laus gespickt, dringt die *Rickettsia Pro-wazeki* in Zellen ein und vermehrt sich dort, im Gegensatz zu allen anderen Rickettsienarten.

2) In lufttrockenem Läusekot bleibt die *Rickettsia Pro-wazeki* mindestens 3 × 24 Std. am Leben.

*Nachdruck verboten.*

## Soll und kann eine Verwurmung von Schulkindern bekämpft werden?

### Ausgeführt an einem Beispiel aus Thüringen.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für die Typhusbekämpfung in Mitteldeutschland beim Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. Hage, Leiter der Anstalt.

Im Frühjahr 1921 wurde eine größere Anzahl von Stuhlproben (400) von Gesunden und Darmkranken aus den verschiedensten Gegenden Thüringens zur Feststellung von Darmprotozoen mikroskopiert und gleichzeitig das Vorkommen von Wurmeiern als Nebenbefund festgestellt (1). Aus den hierbei gewonnenen Zahlen schien der Schluß gerechtfertigt zu sein, daß von einer stärkeren Verwurmung in Thüringen nicht gesprochen werden könnte. Im Winter 1921 wurden Stuhluntersuchungen der gesunden Angehörigen von 6 Familien, den Bewohnern eines einzelnen Hauses einer kleinen Gemeinde Thüringens, auf Typhusbazillen vorgenommen und bei dieser Gelegenheit auch die Stühle mikroskopisch untersucht. Da zeigte es sich, daß die geringe allgemeine Verwurmung in Thüringen erheblichen Ausnahmen, wenigstens bei einem beschränkten Personenkreise, unterliegt, denn von 13 Erwachsenen fanden sich 6, von 12 Kindern 10 mit Würmern infiziert, vorwiegend mit Spulwürmern.

Im Februar 1922 wurden die Stühle sämtlicher Schul Kinder derselben Gemeinde zur Feststellung etwa vorhandener Typhusbazillen 3mal eingesandt, da im Jahre vorher zur gleichen Zeit eine größere Typhusepidemie in diesem Orte mit starker Beteiligung der Kinder (42,4 Proz.) geherrscht hatte. In der Annahme, daß entsprechend der großen Verwurmung der bisher untersuchten Kinder bei den Schulkindern allgemein Eingeweidewürmer in größerer Zahl vorhanden seien, wurden sämtliche Stuhlproben mikroskopisch untersucht, und zwar 3mal, wenn sie bei der 1. oder 2. Untersuchung nicht schon positiv gewesen waren. Die Ergebnisse sind in einer Tabelle zusammengefaßt. Es ergab sich, daß bei 300 Schulkindern 120mal Ascaris-Eier (40 Proz.), 11mal Trichocephalus (3,7 Proz.), 24mal Oxyuren (8 Proz.) und 1mal Taenia saginata-Eier 0,3 Proz.) durch einfache Stuhluntersuchung gefunden wurden. Mit Würmern überhaupt behaftet waren 85 Knaben gleich 58,3 Proz., 71 Mädchen gleich 46 Proz., Schul Kinder insgesamt 165 gleich 52 Proz. Knaben waren infiziert mit:

Ascaris in 46 Proz. der Fälle	(5,8 Proz.)
Trichocephalus	4,9 Proz.
Oxyuren	7,5 "
Tänien	0 "

Mädchen waren infiziert mit:

Ascaris in 34 Proz. der Fälle	(7,5 Proz.)
Trichocephalus	2,6 Proz.
Oxyuren	2,4 "
Tänien	0,7 "

(Die in Klammern gesetzten Zahlen beziehen sich auf früher gefundene Ascaris-Infektionen in Thüringen allgemein.) Eine erhebliche Verwurmung der Schul Kinder der Gemeinde S. mit Ascaris lag also demnach vor, besonders wenn man die im Vorjahre gefundenen Zahlen für ganz Thüringen damit vergleicht. In der Klasse V und VI waren die Knaben sogar in 60 Proz. der Fälle mit Ascaris infiziert. Gering waren, wie schon für ganz Thüringen festgestellt werden konnte, die für Trichocephalus gefundenen Zahlen. Dagegen war in einer größeren Zahl das Vorkommen von Oxyuren im Stuhl festzustellen, die Würmer selbst waren nur einmal zu finden, und da zeigte sich die Stuhlprobe frei von Eiern. Die Stühle der 5 Lehrer wurden einmal untersucht, und erwiesen sich frei von Wurmeiern. Zu ähnlichen Zahlen wie die hier vorliegenden kommt v. Gottberg (2), der im Jahre 1919 200 Schul Kinder in Bonn untersucht hat und 62,5 Proz. Parasitenträger feststellte. Oxyuren fand er in 32,0 Proz., Ascariden in 40,0 Proz., Trichocephalus in 4 Proz., Oxyuren und Ascaris in 11,5 Proz., Ascaris und Trichocephalus in 2 Proz. Wie aus der Tabelle weiter hervorgeht, wurde die überwiegende Anzahl der mit Würmern Infizierten schon bei der ersten Untersuchung festgestellt. Trotzdem sind eine zweite und eine dritte Untersuchung nicht überflüssig, es wird durch sie immer noch eine nicht zu vernachlässigende Zahl Infizierter gefunden. Anreicherungen wurden zunächst nicht vorgenommen, da diese für Massenuntersuchungen zu umständlich und zu zeitraubend sind. Es sollte versucht werden, mit möglichst einfacher und schneller Technik einen Ueberblick über den Stand der Verwurmung der Kinder zu gewinnen. Anreicherungen wurden erst später vorgenommen, und zwar nach der von Kofoid und Barber angegebenen, von Fülleborn (3) vereinfachten Methode mit konzentrierter Salz-

	Ascaris	Trichoceph.	Oxyuren	Tänien	Ascaris + Trichoceph.
<b>Klasse 1 u. 2. Knaben im Alter von 12—14 Jahren. Kopfzahl: 34</b>					
1. Untersuchung	10	2	6	—	—
2. "	—	—	—	—	—
3. "	1	—	—	—	—
Summe	11	2	6	—	—
<b>Klasse 1 u. 2. Mädchen im Alter von 12—14 Jahren. Kopfzahl: 35</b>					
1. Untersuchung	12	1	1	—	1
2. "	—	—	—	—	—
3. "	2	—	3	1	—
Summe	14	1	4	1	1
<b>Klasse 3 u. 4 Knaben im Alter von 11—12 Jahren. Kopfzahl: 39</b>					
1. Untersuchung	15	1	—	—	1
2. "	1	1	—	—	—
3. "	—	—	—	—	—
Summe	16	2	—	—	1
<b>Klasse 3 u. 4. Mädchen im Alter von 11—12 Jahren. Kopfzahl: 44</b>					
1. Untersuchung	14	1	—	—	—
2. "	—	—	3	—	—
3. "	—	—	—	—	—
Summe	14	1	3	—	—
<b>Klasse 5 u. 6. Knaben im Alter von 9—10 Jahren. Kopfzahl: 40</b>					
1. Untersuchung	19	2	3	—	2
2. "	4	—	—	—	—
3. "	1	—	—	—	—
Summe	24	2	3	—	2
<b>Klasse 5 u. 6. Mädchen im Alter von 9—10 Jahren. Kopfzahl: 39</b>					
1. Untersuchung	12	1	3	—	1
2. "	2	—	—	—	—
3. "	—	1	1	—	—
Summe	14	2	4	—	1
<b>Klasse 7 u. 8. Knaben im Alter von 7—8 Jahren. Kopfzahl: 33</b>					
1. Untersuchung	15	1	1	—	—
2. "	1	—	—	—	—
3. "	—	—	1	—	—
Summe	16	1	2	—	—
<b>Klasse 7 u. 8. Mädchen im Alter von 7—8 Jahren. Kopfzahl: 36</b>					
1. Untersuchung	10	—	1	—	—
2. "	1	—	—	—	—
3. "	—	—	1	—	—
Summe	11	7	2	—	—
Summe der Knaben: 146	67	7	11	—	3
Summe der Mädchen: 154	53	4	13	1	2
Gesamtsumme: 300	120	11	24	1	5
	(40%)	(3,7%)	(8%)	(0,3%)	(1,7%)

lösung. Es wurden mit dieser Methode noch zweimal *Trichocephalus* und mehrfach *Oxyuren* nachgewiesen. Eine wesentliche Aenderung der ohne Anreicherung erhobenen Befunde wurde aber nicht erreicht, so daß das einfache mikroskopische Präparat für Untersuchungen zur Feststellung von Verwurmung als ausreichend angesehen werden kann, wie dies auch Cohnreich angibt (4).

Die Kenntnis der Eingeweidewürmer ist uralte, schon die Keilschrift der alten Aegypter kündigt ihr Dasein. Sie sind über die ganze Erde verbreitet und werden besonders bei Kindern gefunden. Es sind unzählige Mittel gegen diese Plage angegeben und auch angewendet worden, nach Volk und Gegend verschieden, von Zauberformeln, Amuletten und äußeren Mitteln an, die durch die Bauchdecken wirken sollten, über die abenteuerlichsten und unappetitlichsten inneren Mittel bis herauf zu solchen, die noch die heutige Medizin als wirksam anerkennt. Natürlich sind viele Krankheiten, die mit Würmern nichts zu tun hatten, diesen Schmarotzern zugeschrieben, und zwar sowohl von Aerzten als auch von Laien. Die Würmer „beschäftigen wegen ihrer geheimnisvollen Wirksamkeit die Einbildungskraft der Bevölkerung auf das lebhafteste und geben nicht selten zu abergläubischen Vorstellungen und falschen Krankheitsbeziehungen Anlaß“ [Grotjahn (5)]. Nun liegen aber neuerdings eine Reihe von Beobachtungen über Schädigungen durch Würmer vor, die eine ernste Aufmerksamkeit verdienen. Von den Spulwürmern wissen wir, daß sie rein mechanische Schädigungen hervorrufen. Sie können durch Zusammenknäueln einen Ileus bedingen, teils mechanisch, teils durch Auslösung einer spastischen Kontraktur. W. Hoffmann (6) hat solche Fälle zusammengestellt und 56 Fälle von Obturationsileus durch Askariden, 11 Fälle von spastischem Ileus, 17 Fälle von Darminvagination und 6 Fälle von Volvulus in der Literatur gefunden, denen er selbst 7 neue Fälle in der Form des Obturationsileus zufügt, so daß deren Zahl auf 63 erhöht ist. Dabei ist bemerkenswert, daß  $\frac{3}{4}$  der Fälle das jugendliche Alter betreffen; am meisten befallen war das Alter zwischen 2 und 9 Jahren. Girgensohn (7) berichtet über 6 Fälle von Askaridiasis, die wegen Erscheinungen des Ileus operiert werden mußten. Rost (8) hat experimentell den Einfluß der Stoffwechselprodukte und von aus Spulwürmern gewonnenen Extrakten auf die Bewegung des Katzendarmes studiert, da die Theorien sowohl über den Obturationsileus als über den spastischen Ileus die möglichen chemischen Reizerscheinungen durch Stoffe, die aus den Würmern stammten, nicht berücksichtigten. Er fand, daß die Stoffwechselprodukte stets nur eine Herabsetzung des Darmtonus im Sinne einer Adrenalinwirkung gaben, während Extrakte aus dem Darm und den Genitalien den Tonus des Katzendarmes erhöhten, also einen Darmspasmus bedingten. Der Hautschlauch der Würmer gab eine Tonusherabsetzung, die Leibeshöhlenflüssigkeit, die sonst sehr stark reizende Eigenschaften für Schleimhäute hat, beeinflusste die Darmbewegungen überhaupt nicht. Es ist nach dem Ausfall dieser Versuche anzunehmen, daß der spastische Ileus, von dem Rost über 4 operierte Fälle berichtet, Folge der Einwirkung solcher chemischer Stoffe ist, die im Darm oder Genitale der Würmer enthalten sind. Es erklärt sich hieraus die relative Seltenheit solcher spastischen Zustände im Vergleich zur Häufigkeit der Askariden. Die tonusherabsetzende Wirkung der Stoffwechselprodukte und des Hautschlauches hat wahrscheinlich eine Bedeutung für das

Zustandekommen der Askaridenknäuel, die dann mechanisch den Darm verstopfen. Ohne die Annahme einer Funktionsstörung des Darmes ist eine solche Anhäufung von Würmern unwahrscheinlich. Nach Rost ist die Mortalität wegen Askaridenileus nicht zu unterschätzen. Müssig (9) hat sich unter Beschreibung von 3 Fällen, von denen 1 tödlich verlief, ebenfalls mit der Askaridentoxikose beschäftigt. Es handelt sich nach ihm bei der Askaridentoxikose nicht um ein einzelnes Gift, sondern um zahlreiche pharmakologisch wirksame Substanzen, die je nach besonderen, im Einzelfall schwer übersehbaren Umständen sehr verschiedenartige Symptome auslösen können. Weiter liefert Weber (10) einen Beitrag zur Askaridenintoxikation. 2 Kinder erkrankten unter dem Bilde der Appendizitis bzw. Peritonitis und starben. Im ersten Fall handelte es sich um eine innerhalb 24 Std. tödlich verlaufene schwerste Darmintoxikation, bei der sicher mehrere Faktoren eine Rolle gespielt haben: Giftwirkung der Askariden an sich, Steigerung der Toxinmengen durch Zerfallsprodukte der geschädigten oder zum Absterben gebrachten Spulwürmer als Folge eines verabreichten Wurmmittels, beschleunigte Darmresorption durch eine die Peristaltik hemmende Opiumgabe. Im 2. Falle bestand ebenfalls eine, wenn auch schleichend verlaufende Askaridengiftwirkung. Nach Weber ist die Gefährlichkeit der Askariden, allein durch ihre toxische Seite, nicht zu unterschätzen, obwohl in der großen Mehrzahl der Fälle selbst erstaunliche Mengen ohne erhebliche Schädigungen und Störungen getragen werden. Durch den den Würmern eigentümlichen Wandertrieb oder durch Würgbewegungen gelangen sie in den Magen, Oesophagus und Rachen und können zu einem plötzlichen Erstickungstode führen durch Hineingelangen in Larynx, Trachea und Bronchien. Vom Nasenrachenraum aus können sie infolge ihrer Neigung, sich in enge Kanäle hineinzuzwängen, in die Stirnhöhle, die Tuba Eustachii oder den Ductus nasolacrimalis gelangen. Im Darm keilen sie sich aus eben dieser Vorliebe für enge Räume in den Wurmfortsatz ein, Henry (11) hat 2 tödlich verlaufene Fälle von Appendizitis bei Kindern, durch Askariden hervorgerufen, beschrieben. Gelangen die Würmer in die Gallengänge, so verursachen sie Ikterus, Leberschwellung und Leberabszesse. Wie Hörhammer (12) berichtet, sind hierbei meist Erwachsene befallen (bei 10 operierten Fällen nur 1 Kind, die übrigen Erkrankten im 3. Dezennium oder darüber). Pribram (13) hat einen Leberabszeß bei einem 34jähr. Pat. und eitriges Cholecystitis und je 1 *Ascaris* im Ductus cysticus, hepaticus und choledochus bei einem 32jähr. Pat. gefunden. Landgraf (14) sah in der Gallenblase 3 lebende Würmer und 2 Spulwürmer, die bleistiftdicke Gänge zwischen Leber und Peritonealüberzug hervorgerufen hatten und mit dem Kopf in die Bauchhöhle ragten. Während in diesem Falle eine Einwanderung der Würmer in die Gallenwege anzunehmen ist, hat Endre Nakai (15) einen Fall von Leberabszeß bei einem 7jähr. Kinde beobachtet, bei dem ihm die Einwanderung auf diesem Wege ausgeschlossen erscheint und die Würmer in Eier- oder Embryoform auf dem Lymph- oder Blutwege in die Leber gelangt sein müssen. Er sah in einer Abszeßhöhle in der Leber 5 Askariden und fand mikroskopisch eine Anzahl reifer Eier. Die Abszeßkapsel zeigte ausgesprochene hyaline Degeneration. Beim Eindringen in die Gallenblase können die Spulwürmer außer eitrigem Cholecystitis auch Gallensteinbildung hervorrufen, indem der abgestorbene Wurm oder seine Eier den Kern der Steine bilden [De-



gorge (16), Hörhammer (12)]. Bei gewöhnlichem Aufenthalt im Darm kommen gastrointestinale Störungen vor, Appetitlosigkeit, Heißhunger, Speichelfluß, Erbrechen, Koliken, Leibschmerzen und Druckempfindlichkeit des Leibes, die namentlich bei Kindern zu allgemeiner Schwäche und Anämie führen können. Bei Beherbergung zahlreicher Parasiten finden sich verstärkte Darmstörungen, Meteorismus, diarrhoische, selbst blutige Stühle. Auch mancherlei nervöse Affektionen sind beobachtet, Pupillenstarre, Mydriasis, Trismus, Krämpfe und Meningismus, Máreo (17) hat dies Krankheitsbild, bei welchem alle Symptome der Meningitis bei Kindern bestehen, das aber durch die Stoffwechselprodukte der Askariden hervorgerufen ist, als Helminthiasis meningitiformis bezeichnet. Die schweren nervösen Erscheinungen infolge von Askaridiasis als rein reflektorischen Akt anzusehen, erscheint Müssig (9) als eine nicht genügende und befriedigende Erklärung. „Wohl kann durch mechanische Einwirkung auf sensible Bahnen das zentrale und periphere Nervensystem in hohen Reizzustand versetzt sein, letzten Endes sind für die Nervenschädigungen resorbierte giftige Stoffe der Methan-Reihe verantwortlich zu machen.“ Weiter sind Jucken in der Nase, Hautjucken, Brennen in den Augen, Urticaria beobachtet. Im Körper der Askariden sind toxische und reizende Substanzen vorhanden, die an diesen Zuständen schuld sind. Personen, die mit diesen Parasiten arbeiten, erleiden häufig eine Conjunctivitis, manchmal zugleich athmatische Anfälle und Uebelkeit. Die Askaridenflüssigkeit enthält auch Blutkörperchen schädigende Stoffe, es findet sich nach Injektion mit solcher Flüssigkeit in der Milz eine Anhäufung blutkörperchenhaltiger Zellen als Ausdruck einer Erythrozytolyse [Askanazy (18)]. Als eigentliche Blutsauger kommen Askariden wohl weniger in Betracht, obwohl Galli-Valerio (19) bei Würmern starke Blaufärbung von Benzidinpapier nebst Kristallen von Hämochromogen fand, nachdem schon Dobernecker (20) spektroskopisch den typischen Streifen von Blutfarbstoff nachgewiesen hatte, und daher der Ansicht ist, daß *Ascaris lumbricoides* ein Blutsauger sei. Läsionen können die Askariden wohl nur in geringem Umfange setzen, obwohl ein oberflächliches Benagen der Darmwand nicht ausgeschlossen ist. Cohnreich (4) hat bei Vorhandensein von Askariden mehr oder minder schwere, ja zum Teil bedrohliche manifeste Darmblutungen gefunden.

In den von mir untersuchten Fällen mit *Ascaris*-Infektion wurden 18 Kinder als kräftig, 9 als schwächlich bezeichnet, bei 11 geschwollene Drüsen, bei 14 Skrofulose, bei 21 Blutarmut angegeben, die übrigen Kinder wurden als mittelkräftig hingestellt. Inwieweit sich hier ein Einfluß der Würmer geltend macht, oder die vorausgegangene und zum Teil jetzt noch bestehende Unterernährung die Schuld trägt, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden, 5 von den als kräftig bezeichneten Kindern gehörten jedenfalls besonders gutsituierten Eltern an. v. Gottberg (2) fand unter den 125 infizierten Kindern in Bonn keines mit wesentlichen, auf Würmer zurückzuführenden Störungen.

Die Peitschenwürmer führen schon erheblichere Verletzungen herbei, sie graben sich nämlich ganz oder teilweise in die Darmwand ein. Im Epithel ihres Darmes ist regelmäßig reichliches, Eisenreaktion gebendes Pigment zu finden, selten sind Blutkörperchen selbst in ihrem Darm beobachtet [Hart (21)]. Die Würmer nähren sich, wie die Ankylostomen, durch Blut oder Hämoglobin, wahrscheinlich ist, daß sie hämolytisch wirken. Es ist daher verständlich, daß bei einer

größeren Menge dieser Würmer hochgradige Anämie auftreten kann [Askanazy 18]. Die Angaben von Wolf und Dau (22), daß sie bei *Trichocephalus*-Trägern in 92,3 Proz. okkulte und mehrmals auch manifeste Darmblutungen gefunden hätten, bestätigte Moog (23) nur teilweise, später (24) hat er diesen Befund nicht mehr erheben können. Die Peitschenwürmer können ebenfalls zu nervösen Störungen, auch zerebraler Art (Meningismus) Veranlassung geben. Im allgemeinen bleibt aber, wie Fülleborn (25) meint, eine „mäßige *Trichocephalus*-Infektion nach wie vor eine recht harmlose Sache“. Auch Haughout und Horrilleno (26) halten den Peitschenwurm nicht für einen besonders schädlichen Parasiten, dagegen die so häufige Infektion mit *Trichocephalus* und *Ascaris*, wobei der ganze Darmtraktus litte, für Kinder offenbar entschieden schädlich. Nach meinem Material wurde nur je einmal Blutarmut und Skrofulose bei Vorliegen einer alleinigen *Trichocephalus*-Infektion angegeben. In den 5 Fällen, in denen gleichzeitig *Ascaris*- und *Trichocephalus*-Infektion vorlag, wurde bei einem 10jähr. Jungen und 13jähr. Mädchen Blutarmut, bei einem 9jähr. Jungen und einem besonders kleinen 9jähr. Mädchen Skrofulose, bei einem 10jähr. Jungen Nackendrüsen angegeben. Nach den zuletzt genannten Autoren ist die hohe Sterblichkeit unter den jungen Filipino-Kindern, sei es direkt oder indirekt, durch die Darmparasiten stark beeinflußt. Ähnliches fanden bei Soldaten, die mit *Ankylostomum* infiziert waren, Kofoid und Tucker (27), nämlich eine erhöhte Morbidität besonders für Tonsillitis, Laryngitis, Bronchitis, Pneumonie und Masern auch eine höhere Mortalität wieder besonders für Pneumonie und Masern, deren Ursache sie in einer Einwirkung von Toxinen der Würmer auf das Zentralnervensystem suchen. Es wäre dankenswert, wenn den Beziehungen der Masernerkrankungen und Todesfällen zu vorhandenen Eingeweidewürmern auch in Deutschland Beachtung geschenkt würde.

Den Oxyuren werden im allgemeinen keine ernstlichen Schädigungen für den sie beherbergenden Wirt nachgesagt. „Durch Wanderungen, die sie aktiv, ähnlich wie die Askariden, auch in die Bauchhöhle und die inneren Organe vornehmen, können die Oxyuren unvorhergesehene Zwischenfälle veranlassen. Höchst lästig sind sie jedenfalls durch ihren Aufenthalt am After und in dessen Nähe, wo sie zu dauerndem Kratzen Veranlassung geben“ [Neumann-Mayer (28)]. Umstritten ist noch die Frage, welche Rolle die Oxyuren bei der Entstehung der Blinddarmentzündung spielen. Während Rheindorf (29) diesen Würmern eine große Bedeutung beilegt, lehnen Aschoff (30), Becker (31), Stämmler (32) eine solche ab. Einen vermittelnden Standpunkt nimmt Reinhardt (33) ein, und Neumann-Mayer (28) halten eine durch Oxyuren hervorgerufene Appendizitis für viele Fälle wahrscheinlich mit Recht für möglich.

Die Bandwürmer, mit Ausnahme des nur in bestimmten Gegenden vorkommenden *Bothriocephalus*, machen bei Erwachsenen meist nur unbedeutende Beschwerden, bei Kindern dagegen rufen sie gelegentlich nervöse Erregtheit hervor. Nach v. Drigalski (36) setzen die Bandwürmer die Leistungsfähigkeit der Kinder erheblich herab und sind zuweilen die Ursache krampfartiger Zufälle bei anämischen Kindern. Wichtig ist auch, daran zu denken, daß die Eier der *Taenia solium*, in den Magen des Menschen gebracht, zu Erkrankung an Cysticerken führen, daher Kinder, die einen solchen Bandwurm be-

herbergen, eine Gefahr für ihre Umgebung sind, da Sauberkeit bei kleinen Kindern durchzuführen bekanntlich sehr schwer ist. Berndt (34) wünscht daher, Parasitenträger (er denkt in erster Linie an Tánien und Ascariden) wie Bazillenträger zu behandeln, d. h. sie so lange in ärztlicher Behandlung und unter ärztlicher Kontrolle zu belassen, bis sicher festgestellt ist, daß ihre Entleerungen frei von Helmintheneiern sind.

Nun kommt aber noch ein weiteres Moment bei der Verwurmung hinzu, dem in Deutschland scheinbar noch keine weitere Beachtung geschenkt ist, das der Beeinflussung der geistigen Entwicklung der Kinder durch Eingeweidewürmer. Auch in größeren oder in kleineren Schriften über Schulhygiene [Burgerstein und Netolitzky (35), Gastpar (37) u. a.] konnte über diese Frage nichts gefunden werden. Die Autoren beschränken sich, soweit sie Würmer überhaupt erwähnen, darauf, den Juckreiz durch die Oxyuren mit der Masturbation in Beziehung zu setzen, nur v. Drigalski (36) verlangt, daß der Hygieniker sowohl zum Nutzen der Schüler selbst wie zum Schutz ihrer Nachbarn und Angehörigen auf eine Helminthiasis fahnden sollte, da diese in außerordentlich zahlreichen Fällen derartig auf die Kinder einwirke, daß Blutarmut, nervöse Störungen (nervöse Reizbarkeit, unruhiger Schlaf, unter Umständen auch vorzeitige geschlechtliche Reizung) festgestellt werden könnten. Amerikanische Aerzte [Kofoid und Tucker (27)] haben Beobachtungen über die geistige Entwicklung von mit *Ankylostomum* infizierten Soldaten angestellt. Sie zogen Weiße und Farbige, Gebildete und Ungebildete, Infizierte und Nichtinfizierte aus denselben Gegenden in ihre Beobachtung ein. Infizierte zeigten sich geistig zurückgeblieben, neigten zur Pflichtvergessenheit, waren moralisch nicht auf der Höhe und weniger fähig zu fortgesetzter längerer oder schwerer Arbeit. Natürlich dürfen diese bei *Ankylostomum*-Infektionen gefundenen Beziehungen nicht ohne weiteres verallgemeinernd auf Wurminfektionen überhaupt bezogen werden. Haughout und Horrilleno (26) z. B. fanden keine Anhaltspunkte dafür, daß die geistige Entwicklung der Kinder durch Darmparasiten geschädigt würde. Aber diese Forscher hatten ihre Untersuchungen an farbigen Kindern (Filipinos) angestellt. Nun haben Kofoid und Tucker (27) schon gefunden, daß farbige Gebildete verhältnismäßig viel weniger geistig zurückgeblieben waren als weiße Gebildete und erklären diesen Unterschied durch eine relative Rassenimmunität der Farbigen gegen *Ankylostomum*-Infektionen. Es lassen sich also die von Haughout und Horrilleno bei farbigen Kindern gemachten Erfahrungen nicht ohne weiteres auf deutsche Schul Kinder anwenden. Bei den von mir untersuchten Kindern habe ich versucht, dadurch einen Beitrag zu dieser Frage zu liefern, daß ich mir von den Klassenlehrern Angaben über allgemeine Leistungsfähigkeit in der Schule, Aufmerksamkeit und sonstige, ihnen aufgefallene Eigenheiten der Schüler machen ließ. Es ergab sich, daß 5 Kinder als träge, 11 als unaufmerksam und 9 als geistig schwach bezeichnet wurden. Bei einem mit *Ascaris* infizierten Kinde wurde häufig auftretendes großes Angstgefühl, bei einem 2. Erbrechen und Kopfschmerzen angegeben. Von den trägen Kindern waren 3 mit *Ascaris*, 1 mit Oxyuren, 1 mit *Ascaris* und Oxyuren infiziert, bei den unaufmerksamen fanden sich 7mal *Ascaris*, 2mal Oxyuren und 2mal *Ascaris* und Oxyuren, und bei den geistig schwachen 6mal *Ascaris*, 2mal Oxyuren und 1mal *Ascaris* und

*Trichocephalus*. Es bedarf natürlich größerer und genauerer Untersuchungen zur Entscheidung, ob ein wirklicher Einfluß der Verwurmung auf die geistige Entwicklung der Kinder vorliegt, an dieser Stelle soll nur eine Anregung zu derartigen Untersuchungen gegeben werden.

Auf die Feststellung der Verwurmung hin wurde durch den (neben-dienstlich angestellten) Schularzt den Kindern eine Behandlung an-empfohlen. Gleichzeitig sollte dadurch weiteres statistisches Material gewonnen werden, daß in eine Übersicht Name, Alter, Behandlung (Ja oder Nein, Grund eventueller Verweigerung), Art der Behandlung, Zahl und Art der abgegangenen Würmer, Kostenhöhe und Übernahme (Privat, Kassen usw.) verzeichnet werden sollte. Leider war diese Hoffnung vergeblich, es ließ sich nur ein sehr lückenhaftes Material gewinnen. Von den 156 infizierten Kindern wurden 54 durch Krankenkassen, 2 Kinder privat behandelt, 2 hatten eigene Wurmmittel genommen. In dem größten Teil der übrigen Fälle war die Behandlung mehr oder weniger absichtlich vergessen, sonst waren die Eltern dagegen gewesen und nur in 3 Fällen angeblich die Kosten zu hoch. Also nicht einmal die Hälfte der Kinder sind zur Behandlung gekommen! Immerhin ist eine große Menge Würmer, besonders Askariden, ans Tageslicht befördert, in einzelnen Fällen 12 Stück und mehr. Es scheint auch hierbei das Gute gewissen Bevölkerungsschichten nur mit einem sanften Zwang beigebracht werden zu können. Trotzdem sollten die Schulärzte auf dem Lande die Frage der Verwurmung der Schulkinder nicht aus dem Auge lassen und energisch an deren Bekämpfung herangehen. Die Kinder sind die Hauptbeherberger der Würmer, durch sie werden wieder indirekt die Gemüse infiziert, die von der Stadtbevölkerung verzehrt werden und wodurch die jetzt so allgemein gewordene Verwurmung verursacht wird. Wenn aber zur Eindämmung der Wurmkrankheiten eine Behandlung der Kinder gefordert wird, muß auch noch eine weitere Forderung erhoben werden, die der Desinfektion der Abortgruben in den Schulen und möglichst auch in den Häusern besonders infizierter Kinder durch Kalkmilch. Nicht alle Kinder werden bei der Untersuchung erfaßt und bei den behandelten Kindern nicht gleich alle Würmer abgetötet. Deshalb erscheint es durchaus notwendig, an der Stelle einzuwirken, an die zunächst die Wurmeier gebracht werden. Natürlich können auf dem Lande auch dadurch noch Infektionen gesetzt werden, daß die Stühle nicht in die Abortgruben, sondern auf freies Feld entleert werden. Eine Abhängigkeit der Verwurmung von den Klosettverhältnissen hat Stiles (38) gefunden, der ein besonders häufiges Vorkommen von Würmern bei solchen Personen feststellte, die kein Wasserklosett hatten. Hiergegen kann eben nur eine Behandlung der Infizierten selbst nützen.

Die Beziehungen der Verwurmung zur Wasserversorgung hat Heller Beachtung geschenkt und in verschiedenen Dissertationen (Gribbohm [39], Sievers [40], Schönfeld [41], Lienau [42]), die an Leichenmaterial in Kiel gewonnenen Befunde von Würmern in den Jahren 1872 bis 1895 zusammenstellen lassen. Es zeigte sich, daß mit der zunehmenden Verbesserung der Wasserversorgung in Kiel zunächst eine langsame Abnahme der Wirte von Eingeweidewürmern eintrat. 1884—86 blieb sich der Prozentsatz ziemlich gleich, stieg dann von 1887—90 an, als bei zunehmendem Wachstum der Stadt ein noch besonders verunreinigtes Trinkwasser mitverwendet wurde, und fiel erheblich von 1891 an, seitdem die Wasserversorgung durch die

städtische Wasserleitung verbessert und auch der quantitative Wasserverbrauch gestiegen war, so daß einem Prozentsatz von *Ascaris*- bzw. *Trichocephalus*-Wirten von 27,78 Proz. im Jahre 1889 ein solcher von 5,42 Proz. im Jahre 1895 gegenübertrat. Es ergibt sich aus diesen Feststellungen, daß das Trinkwasser mit großer Wahrscheinlichkeit eine Rolle bei der Verwurmung spielt. Neuerdings haben sich französische Autoren mit den Wechselbeziehungen zwischen der Güte der Wasserversorgung und dem Grade der Verwurmung befaßt. Nach den Angaben von Soulié und Derrieu (43) aus Algier soll die Häufigkeit von *Ascaris*, *Trichocephalus* und *Oxyuris* einen sicheren Anhalt für die Güte des Trinkwassers und damit für den Grad der Typhusgefahr abgeben. Leger (44) konnte diese Angaben nicht bestätigen; er fand in Cayenne bei 92 Kindern zwischen 1—12 Jahren 70 Proz. als Darmparasitenträger (51 Proz. *Ascaris*, 30 Proz. *Trichocephalus*, 16 Proz. *Necator am.*, 6,5 Proz. *Entamoeba hist.*, 3,25 Proz. Flagellaten, 1 Proz. *Oxyuris*) und dabei war das Trinkwasser völlig einwandfrei. In der Gemeinde S. könnte ja auch aus der vorgegangenen Typhusepidemie und der jetzt gefundenen starken Verwurmung Ähnliches geschlossen werden, 5 Wasserproben sind aber mikroskopisch untersucht und in keiner dieser Proben (davon 1 aus einem Bache) wurden Wurmeier festgestellt. Zugegeben werden muß, daß die Wasserversorgung der Gemeinde S. nicht ganz tadellos war, da in verschiedenen Proben *Bacterium coli* nachgewiesen werden konnte.

Das „soziale Moment“ darf heute in keiner derartigen Zusammenstellung fehlen, es wurde deshalb auch darauf geachtet, ob Kinder besonders gut situierter Eltern sich frei von einer Wurminfektion zeigen würden. Bei 9 Familien wurde seitens der Gemeinde die soziale Lage als besonders gut bezeichnet, aber sämtliche untersuchten Kinder dieser Familien erwiesen sich infiziert, genau so wie die Kinder von 26 Familien, deren soziale Lage als besonders schlecht bezeichnet wurde. Strümpell (45) gibt an, daß am häufigsten die Spulwürmer bei den Kindern und Erwachsenen aus den niedersten Volksschichten zu finden seien. Von vornherein wäre dies ja auch zu erwarten, da Kinder besser situierter Eltern im allgemeinen mehr zur Sauberkeit angehalten werden und die Gelegenheit zum Waschen der Hände und die Mittel dazu reichlicher vorhanden sind, als bei den Kindern der niederen Schichten. Im vorliegenden Falle muß aber berücksichtigt werden, daß unter den ländlichen Verhältnissen sich solche Unterschiede zu sehr verwischen und daß die Infektionsmöglichkeit durch Beschmutzen der Hände mit feuchter, die reifen Eier enthaltender Erde für beide Arten der Kinder gleich groß ist. Die Lehrer, die sich jetzt in relativ guter sozialer Lage befinden, waren frei von den Wurmeiern. Noch mehr müssen sich die Unterschiede bei den einzelnen Gesellschaftsschichten und bei Kindern und Erwachsenen verwischen, wenn man die Wurminfektionen durch unsaubere Nahrungsmittel bedingt ansieht. Ragner (40) hält die durch die Verhältnisse ja leider oft bedingte, unsachgemäße, unsorgfältige Behandlung der Nahrungsmittel, deren Lagerung in schmutzigen Lagerorten und deren Verteilung durch ungeeignete, jeder Hygiene fernstehende Personen für die Ursachen der starken Verwurmung. Müßig (9) nimmt eine gemeinsame Infektionsquelle an, die er in Lebensmittelgeschäften sucht, da nach seiner Erfahrung „nicht allein gewisse Stände und Altersklassen zur Beherber-

gung der Askariden neigen, sondern ohne Unterschied Kinder und Erwachsene, Leute aus den höchsten und niedersten Schichten in Stadt und Land damit behaftet sind“. Landgraf (14) sieht die außerordentliche Zunahme von Spulwürmern im menschlichen Körper als durch die Kriegsernährung (vorwiegend Vegetabilien) verursacht an. Daß auf Gemüse Askarideneier vorkommen, zeigt eine Beobachtung von Neumann (47), der solche Eier im Hause eines mit zahlreichen Askariden infizierten Kindes ebenso reichlich im Grubenhalt wie auf Gemüse (Kohl, Rüben) im Garten nachwies. Ob Fliegen eine große Rolle hierbei spielen, ist nach v. Gottberg (2) nicht ganz sicher, er fand im Darm von Fliegen, die er mit eierhaltigem Stuhl fütterte, keine Eier. Eher ist an Schnecken zu denken, die auf ihrem Körper, wenn sie auf eierhaltigem Kot gegessen hatten, Wurmeier hatten und diese nun auf Salat, Erdbeeren usw. verbreiten können (Galli-Valerio). Und daß auf dem Lande, wo die Stühle häufig wahllos in Garten und Feld entleert werden und der Inhalt der Abortgruben, besonders jetzt beim Fehlen und der Teuerung der künstlichen Düngemittel, ausgiebig zur Düngung herangezogen wird, Gemüse reichlich infiziert werden können, liegt auf der Hand. Das einfache Waschen des Gemüses genügt nicht, um die Eier zu entfernen, da diese bekanntlich sehr energisch an der Unterlage haften, und z. B. bei der Zubereitung des Salates werden sie auch nicht abgetötet, da verdünnte Essigsäure gar keinen Einfluß auf die Askarideneier hat. Unter Berücksichtigung aller dieser Verhältnisse ist es natürlich, daß unter den heutigen Lebensbedingungen in Deutschland ein deutlicher Einfluß der sozialen Lage bei der Verwurmung nicht hervortreten kann.

Wie soll nun festgestellt werden, ob bei Kindern eine Verwurmung vorliegt? Die Kinder achten nicht auf den Abgang von Würmern, die Eltern nur in den wenigsten Fällen, bei der Art der Aborte (Abortgruben) ist dies auch nicht ohne weiteres möglich. Die Kinder, wenn nicht besondere Symptome vorliegen, die auf Würmer hindeuten, zum Arzt zu schicken, wird auch unterbleiben. Das Vorhandensein von Darmschmarotzern muß aber einwandfrei festgestellt werden. Eine Therapie gegen Würmer einzuleiten, lediglich, weil Kinder über Beschwerden klagen (Leibschmerzen, schlechtes Aussehen u. a.), die vielleicht bei dem Fehlen eines objektiven Befundes auf die Anwesenheit von Würmern zurückgeführt werden könnten, ist unzulässig, wie dies auch Brüning (48) betont. Wer soll nun die Stuhluntersuchungen vornehmen? In Städten, in denen hauptamtlich Schulärzte vorhanden sind, könnten von diesen die Untersuchungen ausgeführt werden. Gastpar (37) gibt in dem Schema über den Untersuchungsbefund der Schulkinder („ärztlicher Befund“) eine Spalte für „Ungeziefer“ und eine andere „Innerer Befund inklusive Urin“. Ueber die Urinuntersuchung gibt er an, „der Urin wird der Kochprobe unterzogen, positive Fälle nach Esbach quantitativ weiter untersucht und zentrifugiert. Die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes schließt die Untersuchung ab. In positiven Fällen wurde regelmäßig der Urin verschiedener Tageszeiten untersucht“. Wenn solche eingehenden Urinuntersuchungen möglich sind<sup>1)</sup>, müssen sich auch Stuhluntersuchungen ermöglichen lassen. Anders gestaltet sich die Lage auf dem Lande. Der Schularzt in kleineren Gemeinden ist als solcher nur nebedienstlich tätig, ihm wird die Allgemeinpraxis zu solchen Untersuchungen

1) In Preußen durch Min.-Erlaß vom 11. Mai 1920 empfohlen.

keine Zeit lassen. Und gerade für dörfliche Gemeinden scheint mir eine Kontrolle der Schulkinder auf Verwurmung besonders wichtig. Die nächste bakteriologische Untersuchungsanstalt könnte zu den Untersuchungen herangezogen werden. Zu bedenken ist aber, daß es vorläufig in Deutschland nur eine beschränkte Anzahl solcher Anstalten gibt, die noch dazu nach Aufnahme der Wassermannschen Reaktion und der erheblichen Zunahme dieser Untersuchungsmethode besonders nach dem Kriege mit Arbeiten überlastet sind, Arbeiten, die auch schneller erledigt werden müssen und hinter die von den Anstalten mit Recht solche Stuhluntersuchungen zurückgesetzt werden würden. In Thüringen (49) sind nach amtlicher Berechnung 1922 voraussichtlich 23 550 schulpflichtige Kinder vorhanden. Wenn auch in den nächsten Jahren ein beträchtliches Absinken dieser Zahl zu erwarten ist (1925 z. B. auf 14 880), so ist doch wieder mit einer baldigen Zunahme zu rechnen (1926 voraussichtlich auf 25 340). Rechnet man im Durchschnitt 20 000 Kinder, so ergeben sich 60 000 Untersuchungen bei 3maliger Untersuchung der Stühle. Diese Arbeit können die 3 vorhandenen bakteriologischen Untersuchungsanstalten selbst unter Ueberschreitung des 8-stünd. Arbeitstages nicht leisten. Die Arbeit würde auch dann für die Anstalten noch zu groß sein, wenn zunächst nur 1mal Stichproben einzelner Klassen verschiedener Schulen gemacht würden, um eine Uebersicht über die Verwurmung der Kinder in einzelnen Gegenden Thüringens zu gewinnen. Es müßte sonst schon das Einsenden von einer zentralen Stelle aus organisiert und so eingerichtet werden, daß der einzelnen Anstalt immer nur eine, neben den laufenden Aufgaben zu bewältigende Zahl von Stuhlproben zur Untersuchung zuginge. Da die beiden ersten Wege nicht recht gangbar zu sein scheinen, bleibt ein 3., die Schule selbst nimmt solche Untersuchungen vor. Zunächst klingt dieser Gedanke, eine ärztliche Aufgabe Laien zu überlassen, etwas abenteuerlich; bei genauerer Prüfung ist er es aber nicht. Es gelingt, zur Trichinenschau Personen heranzubilden, die Teile des Schlachtviehs auf das Vorhandensein von Trichinen und Finnen prüfen. Eine solche Prüfung muß mit dem Mikroskop vorgenommen werden. Da auf diesen Personen eine große Verantwortlichkeit liegt, müssen sie sich auch einer staatlichen Prüfung unterziehen. Solche Vorbereitungen sind hier aber nicht nötig. Hier gilt es nur, die doch naturwissenschaftlich vorgebildeten Lehrer durch kurze Unterweisung dahin zu bringen, die wenigen Eier von im menschlichen Darmkanal schmarotzenden Würmern als solche zu erkennen und die einzelnen Arten voneinander zu unterscheiden.

**Zeit:** Dem Lehrer wird vielfach — ob mit Recht oder Unrecht, soll hier unerörtert bleiben — seine lange Ferienzeit mißgönnt. In dieser Zeit könnte er solche Untersuchungen vornehmen und damit den Beweis erbringen, die Ferienzeit nicht ganz unbenutzt vorbeigehen zu lassen. Er kann sich die Kinder dann zur Ablieferung der Stuhlproben beliebig bestellen.

**Der nötige Apparat:** Ein einfaches Mikroskop (Vergrößerung 1:80 genügt schon) wird die Schule haben, wenn nicht, läßt es sich beschaffen und wird sicher als Zuwachs zur Ausrüstung der Schule mit Lehrmitteln begrüßt werden, da es auch sonst zu Demonstrationszwecken benutzt werden kann. Objektträger, die nach Reinigung wieder gebraucht werden können, Deckgläschen, Topf zum Auskochen, Stuhlgefäße. Die auch sonst bei der Schule angestellte Reinmachefrau könnte

die Reinigung der Gläser und Gefäße gegen eine besondere Vergütung übernehmen. Eine Ausschaltung des Schularztes ist hierbei natürlich nicht beabsichtigt. Der Schularzt könnte vor Beginn der Untersuchungen einen kurzen belehrenden Vortrag halten, an dem zweckmäßig auch die Eltern teilnehmen könnten, er hätte dabei gute Gelegenheit, auch auf die sonst als Schmutzkrankheiten wichtigen Erkrankungen (Typhus, Ruhr) einzugehen. Den Kindern müßten die Eier und auch die Würmer gezeigt werden. An diesen mehr handgreiflichen Objekten würde ihnen das Verständnis für die Wichtigkeit des sorgfältigen Umgehens mit den Darmentleerungen und die Notwendigkeit, sich die Hände mehr als bisher zu waschen, eher aufgehen, als wenn ihnen im Mikroskop gefärbte Typhusbazillen oder gar nur schreckhaft vergrößerte Abbildungen solcher Bazillen gezeigt würden. Wie der Arzt sein Augenmerk auch mit auf die Art des Unterrichts (z. B. geistige Uebermüdung der Kinder) richten muß, so soll der Lehrer mit für die Gesundheit der ihm anvertrauten Kinder besorgt sein. Durch solche Untersuchung könnte ein Lehrer zuweilen zu der Ueberzeugung gelangen, daß ein träger, unaufmerksamer Schüler nicht der Prügel, sondern einer Behandlung gegen Würmer bedarf. Der Lehrer hält den Schularzt über die Untersuchungen auf dem Laufenden, dieser überzeugt sich gelegentlich, nicht in Form einer Kontrolle, sondern interessiert und evtl. beratend und in Zweifelsfällen aufklärend. Der Lehrer darf nicht das Gefühl bekommen, eine vom Arzt abgelehnte schmutzige Arbeit für diesen verrichten zu sollen. Es gilt, in gemeinsamer Arbeit von Schularzt und Lehrer etwas Gutes für unseren größten Schatz, unsere Kinder, zu tun; wer daran mitarbeitet, arbeitet mit an der Zukunft unseres Volkes.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. H. 2. — 2) v. Gottberg, Arch. f. Kinderheilk. Bd. 69. 1921. S. 161. — 3) Fülleborn, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 26. — 4) Cohnreich, München. med. Wochenschr. 1917. Nr. 39. — 5) Grotjahn, Soziale Pathologie. Berlin 1915. — 6) Hoffmann, Monatschrift f. Kinderheilk. Bd. 15. 1919. Nr. 4. — 7) Girgensohn, ref. München. med. Wochenschr. 1922. Nr. 22. — 8) Rost, München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 39. — 9) Müssig, Ebenda. 1921. Nr. 43. — 10) Weber, Med. Klin. 1922. Nr. 20. — 11) Henry, zit. nach Neumann-Mayer, Nr. 28. — 12) Hörhammer, München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 12. — 13) Přibram, Dtsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 24. — 14) Landgraf, München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 32. — 15) Endre Makai, Dtsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 169. H. 5-6. — 16) Degorge, ref. Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. 24. 1920. H. 12. — 17) Máreo, zit. bei v. Gottberg. Nr. 2. — 18) Askanazy, in Aschoff, Path. Anat. 3. Aufl. 1913. — 19) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. H. 7. — 20) Dobernecker, [Inaug.-Diss.] Bern 1912. — 21) Hart, Med. Klin. 1919. Nr. 20. — 22) Wolf u. Dau, nicht erschienen, zit. nach Moog, 23. — 23) Moog, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 8. — 24) Ders. u. Wörner, Ebenda. 1920. Nr. 5. — 25) Fülleborn, Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. 24. 1920. H. 12. — 26) Haughout u. Horileno, ref. Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. 24. 1920. H. 12. — 27) Kofoid u. Tucker, The Americ. Journ. of Hyg. 1921. Vol. 1. Nr. 1. — 28) Neuman-Mayer, Atlas u. Lehrb. wicht. tier. Paras. und ihrer Ueberträger. München 1914. — 29) Rheindorf, Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 34. 1921. H. 4. — 30) Aschoff, Berl. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 44. — 31) Becker, Zieglers Beitr. Bd. 68. — 32) Stämmli. Centralbl. f. Path. Bd. 31. 1921. Nr. 15. — 33) Reinhardt, Berlin. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 20. — 34) Berndt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 7. — 35) Burgerstein u. Netolitzky, Handb. d. Schulhygiene. 2. Aufl. 1902, u. Weyls Hdb. d. Hyg. Abt. I. Bd. 6. 1912. — 36) v. Drigalski, in Selter, Hdb. d. dtsch. Schulhyg. 1914. — 37) Gastpar, in Gottstein-Tugendreich, Sozialärztl. Prak-



tikum. 1920. — 38) Stiles, zit. bei v. Gottberg. 2. — 39) Gribbohm, [Diss.] Kiel 1877. — 40) Sievers, [Diss.] Kiel 1887. — 41) Schönfeld, [Diss.] Kiel 1894. — 42) Liman, [Diss.] Kiel 1896. — 43) Soulié u. Derrien, ref. Arch. f. Schiffsa. Tropen-Hyg. Bd. 26. 1922. H. 1. — 44) Leger, ref. ebenda. — 45) Strümpell, Lehrb. d. spez. Path. u. Ther. Leipzig 1900. — 46) Rahner, Berlin. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 8. — 47) Neumann, zit. bei v. Gottberg. 2. — 48) Brüning. Med. Klin. 1919. Nr. 11. — 49) Amtsbl. d. Thür. Min. f. Volksbild. Jahrg. 1, 1922. Nr. 3.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Balantidium coli hominis (Malmsten) und die bei dieser Art beobachteten Knospungsvorgänge<sup>1</sup>.

Von Dr. med. Paul Bode (Riga).

Mit 8 Abbildungen im Text.

Das Studium des Balantidium coli des Menschen stellt ein Grenzgebiet zwischen Zoologie und klinischer Medizin dar. Im Darne des Menschen entfaltet das Balantidium coli fast regelmäßig pathogene Eigenschaften und löst ausgesprochene Krankheitserscheinungen aus<sup>2</sup>); daher ist es verständlich, warum die meisten Arbeiten über das Balantidium coli hominis von Medizinern und nicht von Zoologen verfaßt sind. Selbst der Entdecker des Menschen-Balantidiums war ein Mediziner, Malmsten (Stockholm), der freilich in weiser Ueberlegung die morphologische Beschreibung und Abbildung des neu-entdeckten Infusors dem Zoologen Lovén überließ (1856/57). Diesem Umstande verdanken wir den Besitz einer klassischen Beschreibung und mustergültiger Bilder des Tieres. Die Zoologen wandten sich mehr dem von Leuckart entdeckten Balantidium des Schweines zu und verschiedenen in Amphibien parasitierenden Balantidienarten, während die Erforschung des Menschen-Balantidiums Arbeitsgebiet des Mediziners blieb. Daher kommt es, daß zwar die Balantidienenteritis in pathologisch-anatomischer, diagnostischer und therapeutischer Hinsicht gut studiert ist, daß aber andererseits unsere biologische Kenntnis des Balantidium hominis äußerst dürftig erscheint.

Ganz bewußt führe ich die Unterscheidung zwischen dem Balantidium coli hominis und suis durch. Nachdem Leuckart (1863) eine Balantidienart im Dickdarm des Schweines entdeckt hatte, proklamierte er sofort die Identität dieses Schweineparasiten mit dem von Malmsten beschriebenen Darminfusorium des Menschen — ob ganz mit Recht, steht dahin. Diese Ansicht Leuckarts hat, wohl dank der Autorität dieses hervorragenden Parasitologen, sehr schnell die Anerkennung von zoologischer und medizinischer Seite gefunden, trotzdem sie, wie mir scheint, allenfalls als Hypothese, keineswegs aber als bewiesene Tatsache gelten darf. In neuerer Zeit ist denn auch diese Meinung Leuckarts nicht unwidersprochen geblieben. Für die

1) Vortrag, gehalten im Naturforscherverein zu Riga am 27. Febr. 1922.

2) Das Verdienst, die Balantidiencolitis als eine pathologisch-anatomisch und klinisch wohlcharakterisierte Krankheit dargestellt zu haben, gebührt dem Dorpater Kliniker Dehio.

Identität spricht eine weitgehende morphologische Uebereinstimmung beider Arten, die von Stein bestätigt worden ist, ferner die Erfahrung, daß ein Teil der infizierten Personen beruflich mit Schweinen in Berührung kommt; dagegen spricht einmal das Versagen aller Infektionsversuche von Schwein zu Mensch und umgekehrt, ferner die Tatsache, daß ein Teil der mit Balantidien behafteten Menschen mit Bestimmtheit angibt, sich nie mit Schweinen befaßt zu haben. Die Untersuchungen von Shegalow zeigen, daß sogar engste Berührung mit balantidieninfizierten Schweinen, selbst bei denkbarster Unsauberkeit, nicht zur Infektion des Menschen zu führen braucht. Dieser Autor fand nämlich unter 54 Arbeitern des Petersburger Schlachthauses, welche dauernd mit dem Reinigen der Schweinedärme beschäftigt waren (Abschaben der Darmschleimhaut mit Messern), keinen einzigen Balantidienträger, wohl aber, bezeichnenderweise, 3 mit *Taenia solium* behaftete Personen; dabei waren von den Schweinen der Stadt Petersburg 40 Proz. mit Balantidien infiziert, während von den von auswärts in das Petersburger Schlachthaus eingelieferten Schweinen 10—20 Proz. an Balantidieninfektion litten. Diese Beobachtung gibt zu denken. Auch Jollos ist der Ansicht, daß die von Leuckart und von Stein behauptete Identität beider Balantidienarten zu Zweifeln berechtige, „zumal da weder sichere experimentelle Beweise, noch eine genauere vergleichend-zytologische Untersuchung aus neuerer Zeit vorliegen“.

Was die Morphologie der Tiere anlangt, so muß ich sagen, daß Leuckarts Abbildung des Schweine-Balantidiums, welche gewöhnlich in den Lehrbüchern reproduziert wird, sehr bedeutend vom Aussehen des *Balantidium coli* Malmsten abweicht, namentlich ist die Verjüngung resp. Zuspitzung des Hinterendes beim Menschenbalantidium kaum in gleicher Weise anzutreffen. Die Menschenbalantidien haben das Aussehen, wie sie Lovén in der Publikation von Malmsten abgebildet hat; Lovén betont gerade die Zuspitzung des Vorderendes. Dieser Unterschied ist nicht unwichtig, da trotz der Metabolie dieser Infusorien der Körper der Balantidien sehr formbeständig ist, worauf Leuckart selbst hingewiesen hat. Stieda (1866) macht darauf aufmerksam, daß der Mund der Balantidien in Uebereinstimmung mit den Angaben Malmstens seitlich liegt, während Leuckart einen median gelegenen Mund angebe.

Noch ein Umstand, der zu denken gibt und den Leuckart selbst als „auffallend“ erwähnt, ist das geographisch ziemlich beschränkte Vorkommen der menschlichen Balantidiosis. Wenn man von den Tropen absieht und nur Europa ins Auge faßt, kommt die erwähnte Krankheit, wenn auch durchaus nicht ausschließlich, so doch vorwiegend, in den baltischen Provinzen des früheren russischen Reiches (jetzt Estland und Lettland), in Finnland, Schweden, Ostpreußen und an der deutschen Ostseeküste vor, also mit einem Wort: in den Küstenländern der Ostsee. Das Ausbreitungsgebiet des Menschen-Balantidiums deckt sich zum Teil mit dem des *Bothriocephalus latus*, und das gleichzeitige Vorkommen beider Parasiten bei derselben Person ist daher nichts Seltenes, wie die Fälle von Dehio und Woit (Dorpat). Sievers (Finnland), Collmann (Königsberg i. Pr.) u. a. zeigen. Collmann, der unter 5 Fällen von Balantidiosis 2mal Vergesellschaftung mit dem *Bothriocephalus latus* feststellte, gibt an, daß die „Symbiose der Balantidien mit *Bothriocephalus*“ auffallend häufig ist. Woit verzeichnet unter 12 in Dorpat beobachteten Fällen

von Balantidiosis 5mal die gleichzeitige Anwesenheit von *Bothriocephalus latus*. Merkwürdigerweise ist eine Vergesellschaftung von *Balantidium coli* mit *Taenia solium*, die eher zu erwarten wäre, bisher nirgends betont worden.

Soviel mir bekannt, zeichnen sich die Küstenländer der Ostsee keineswegs durch eine besonders intensive Schweinezucht aus. Leuckart schreibt zu dieser Frage folgendes: „Der Grund dieses räumlich beschränkten Vorkommens kann somit nur in lokalen Verhältnissen gesucht werden. Es werden gewisse Lebensgewohnheiten sein, die dabei maßgebend sind, jedoch ohne nähere Kenntnis der Einrichtungen kaum im einzelnen nachzuweisen sein dürften. Nur so viel erscheint außer Zweifel, daß es sich dabei vorzugsweise und zunächst um Beziehungen handelt, die zwischen dem Menschen (resp. seinen Bedürfnissen an Speise und Trank) und dem an den betreffenden Lokalitäten vermutlich in den Häusern gemästeten Schweine obwalten.“

Was die ehemals russischen Ostseeprovinzen (jetzt Estland und Lettland) betrifft, kann ich mit Sicherheit behaupten, daß eine Mästung der Schweine in den Wohnhäusern nicht geübt wird: die Schweine werden zwecks Mästung innerhalb des Stalles in engeren Verschlügen untergebracht. Für die kulturell noch höher stehenden Länder Finnland und Schweden möchte ich erst recht das Vorkommen der Schweinemästung im Hause bezweifeln, das gleiche gilt wohl für Ostpreußen. Im Inneren des eigentlichen Rußland kommt es freilich vor, daß Mensch und Schwein unter einem Dach leben, aber gerade in jenen Gegenden scheint die Balantidiosis beim Menschen kaum vorzukommen.

Wir sehen also, daß die Identität des *Balantidium* von Schwein und Mensch keineswegs erwiesen ist, da zwischen beiden Arten morphologische Unterschiede vermerkt worden sind, und da ferner die Uebertragung von Schwein zu Mensch weder unter natürlichen Verhältnissen, noch im Experiment beobachtet werden konnte. Von den in der Literatur niedergelegten Fällen von Balantidiocolitis gibt ein Teil in der Anamnese positive Hinweise auf Beziehungen der erkrankten Person zum Schweine (Beschäftigung in der Schlächtereier, Därmereinigen usw.), das muß immerhin zugegeben werden. Dagegen gibt es auch nicht wenig Fälle, die eine ganz negative Anamnese in dieser Hinsicht darbieten, was mir Prof. Dehio (Dorpat) aus seiner großen Erfahrung heraus persönlich bestätigt hat.

Zu alledem kommt noch ein Unterschied biologischer Natur, welcher die Art der Fortpflanzung betrifft. Für das *Balantidium* des Schweines hat Leuckart die Querteilung als die typische und allein in Betracht kommende Fortpflanzungsart festgestellt, wobei er den Teilungsvorgang in allen seinen Phasen sehr genau beschreibt. Die Querteilung ist ja die für die Ciliaten charakteristische Vermehrungsart. Andererseits ergeben die Arbeiten der Kliniker, daß das *Balantidium* des Menschen sich unzweifelhaft durch Knospung (Sprossung) vermehrt, wobei freilich die Möglichkeit auch anderer Vermehrungsarten (Querteilung) zunächst nicht abgeleugnet zu werden braucht.

Den ersten Hinweis auf eine solche Knospung finden wir bei Ekecrantz (1869), dessen Arbeit einen Fall von Balantidiocolitis bei einem 57jährigen Manne betrifft. Da mir diese Arbeit im Original leider nicht zugänglich gewesen ist, führe ich die hier in Betracht

kommende Stelle aus dem Referat von Cohnheim an: „Während der Exazerbation des Darmkatarrhs, welche von einer bedeutenden Vermehrung der Infusorien begleitet war, beobachtete Ekecrantz öfters am hinteren Leibesende eine mehr oder weniger bedeutende Ausbuchtung des Körperparenchyms ohne Wimperbekleidung, welche allmählich  $\frac{1}{3}$  der Größe des Tieres erreichte, sich abschnürte und schließlich vollständig abtrennte. Der innere Bau der abgelösten Masse zeigte nicht geringe Uebereinstimmung mit dem entwickelten Tier, war aber ohne Spur von Bewegung.“ Diese Beobachtung von Ekecrantz hält Leuckart für einen Irrtum und weist sie mit folgenden Worten ab: „Schon der Umstand muß hier zur Vorsicht mahnen, daß die Knospung nur in wenigen Infusoriengruppen vorkommt und bei den Verwandten unseres *Balantidium* bis jetzt noch niemals beobachtet ist. Ein gleiches gilt von der Annahme, daß es das hintere Leibesende sei, welches knospe; eine terminale Knospung ist nach unseren bisherigen Erfahrungen bei den Infusorien in hohem Grade unwahrscheinlich.“ Und doch ist außer von Ekecrantz auch von anderen klinischen Beobachtern am *Balantidium hominis* gerade die Knospung am hinteren Leibesende des Tieres wahrgenommen worden.

Die erste genauere Beschreibung und Abbildung eines Knospungsvorganges gab Ortmann (1891) aus der Medizinischen Klinik in Kiel. Ortmann beschreibt den Vorgang folgendermaßen: „Die äußere gleichmäßige Schicht des *Balantidium* ging zumeist in der Nähe des Afters unter leichter Abschnürung auf ein gleichmäßig abgerundetes junges Individuum über. Die Größe betrug  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$  des Muttertieres. Es ist gleichmäßig mit Wimpern bedeckt, die in steter Bewegung sind, ist ohne Mund und Afteröffnung. Seine Bewegungen sind die des Muttertieres, da es noch fest mit ihm verbunden ist. Das Innere ist mit kleinen Nahrungsstückchen gefüllt, der Kern nicht sichtbar.“ Ortmann konnte in seinem Falle „Kopulation“ und Teilung nicht beobachten.

Die nächste Beobachtung stammt von Roos (1893) aus derselben Klinik: „Teilung oder Kopulation konnte auch dieses Mal nicht beobachtet werden. Häufig wurden aber Sproßformen in verschiedenen Stadien gesehen, und zwar fand die Sprossung immer am hinteren Teil in der Nähe des Afters statt. Einmal besonders fiel es auf, daß die auf einen Stuhl mit besonders reichlichen Sproßformen folgende Entleerung sehr verschieden große Individuen enthielt, von denen sich die extremsten Größen, etwa wie 1:5 verhielten. Der ganze Sprossungsprozeß konnte aber an demselben Präparat nie bis zu Ende beobachtet werden.“

Shegalow, der sowohl Schweine- wie Menschenbalantidien untersuchte, hat sowohl Teilung als auch Knospung gesehen; aus seinen Ausführungen geht aber nicht mit genügender Klarheit hervor, auf welche Spezies (*Balantidium suis* oder *hominis*?) sich die Beobachtung der Knospung resp. Teilung bezieht.

Vor 2 Jahren konnte ich nun den Sprossungsvorgang bei einem Menschen-Balantidium bis zu Ende beobachten, freilich bis zu einem sehr merkwürdigen und zunächst nicht ganz befriedigenden Ende. Die Balantidien stammten von einem 4-jährigen Knaben, der mit schleimig-blutigen Stühlen und allen klinischen Anzeichen einer Ruhr in die Dysentericabteilung des James Armitstead-Kinderhospitals zu Riga aufgenommen wurde. Dem Laboratorium des Hospitals, das damals unter

den Nachwirkungen der überstandenen Bolschewikeninvasion litt, fehlten die notwendigen Nährböden, um die Ruhrdiagnose bakteriologisch zu erhärten. Nach wenigen Wochen erfolgte die Genesung des Kranken, und der kleine Patient entleerte schließlich geformte Stühle mit geringen Schleimbeimengungen, wie man das bei Ruhrrekonvaleszenten häufig beobachtet. In diesen schleimigen Partien des Stuhles wurden gelegentlich einer mikroskopischen Untersuchung von Dr. Alexander Ucke — zurzeit Professor der pathologischen Anatomie an der Universität Dorpat — typische Balantidien in reichlicher Anzahl festgestellt. Eine Therapie wurde nicht eingeleitet, da das Kind keinerlei Beschwerden hatte. Ueber die Herkunft der Balantidien war anamnestisch nichts Brauchbares herauszubekommen.

Durch Zufließenlassen heißer physiologischer Kochsalzlösung zum Präparat gelang es mir, die Balantidien einige Stunden lang lebend und

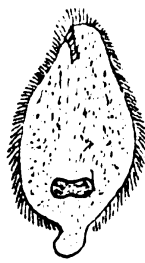


Fig. 1.

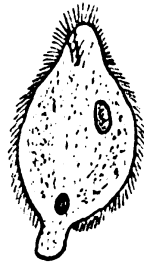


Fig. 2.

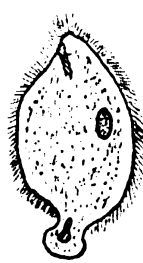


Fig. 3.

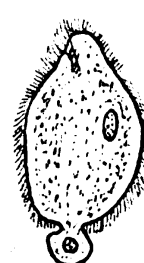


Fig. 4.

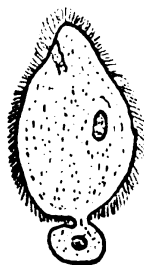


Fig. 5.

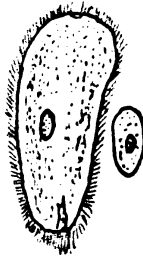


Fig. 6.

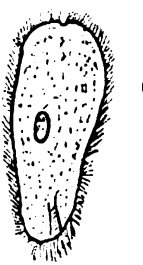


Fig. 7.

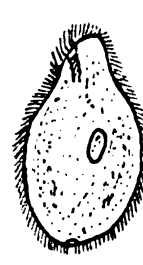


Fig. 8.

#### Terminale Knospung bei *Balantidium coli* hominis.

bewegungsfähig zu erhalten. Ich konnte die Balantidien im Verlaufe einiger Wochen immer wieder im Stuhle nachweisen und beobachten, bis eines Tages der Schleim aus dem Stuhle verschwand und damit auch die Balantidien fortblieben. Die von Ucke und von mir beobachteten Balantidien stimmten in ihrem Aussehen völlig mit den Malmsten-Lovén'schen Abbildungen überein.

Unter den zahlreichen im Präparat umherschwimmenden Infusorien fiel mir eines Tages ein Exemplar auf, das an seinem Hinterende eine rundliche Ausstülpung zeigte; zugleich bemerkte ich, daß der Kern (Macronucleus) dem Hinterende des Tieres nahegerückt erschien und sich einzuschnüren begann. Das Balantidium fuhr im Kot fest und blieb still liegen, wobei aber die Wimpern weiter strudelten. Die weiteren Etappen des Knospungsvorganges sind aus den beigegeführten Zeichnungen ersichtlich. Man sieht, daß der Kern des Muttertieres sich geteilt hat, daß von den beiden neugebildeten Kernen der eine

an die frühere Stelle im Leibe des Muttertieres zurückkehrt, während der andere in den Leib der Tochterzelle überwandert. Der Abschnürungsvorgang der Tochterzelle schreitet weiter vor, bis zwischen Mutter und Tochter eine ganz schmale Protoplasmabrücke übrig bleibt. Nun machte das Muttertier plötzlich eine scharfe Wendung nach links um  $180^{\circ}$ , wobei die letzte Verbindungsbrücke zwischen beiden Zellen durchriß. Die Tochterzelle blieb bewegungslos liegen, während das Muttertier in lebhafter Bewegung davonschwamm. Dieser Sprossungsvorgang dauerte ca. 25 Min. Vakuolen habe ich weder bei dem Mutter- noch bei dem Tochtertier gesehen, doch hat schon Lovén darauf hingewiesen, daß diese bei einigen Exemplaren vermißt werden; dagegen waren die Kerne bei beiden Zellen gut sichtbar.

Die Tochterzelle hatte von Beginn an keine Wimpern angesetzt, was mir sofort auffiel. Der Vorgang, den ich beobachtet habe, entspricht ziemlich genau dem von Ekecrantz beschriebenen Prozeß. Daß wir es hier mit einem echten terminalen (= endständigen) Knospungsvorgang zu tun haben, unterliegt keinem Zweifel, befremdlich erscheint aber die Wimperlosigkeit und Unbeweglichkeit der Tochterzelle.

Hier sind zunächst zwei Deutungen möglich: I. Deutung: Die Bewegungs- und Wimperlosigkeit der Tochterzelle ist eine pathologische Erscheinung, welche sich durch die ungünstigen Lebensbedingungen unter dem Mikroskop erklären läßt; die Tochterzelle ist als abgestorben zu betrachten, der ganze von mir beobachtete Sprossungsvorgang stellt gewissermaßen eine „Totgeburt“ dar. Demnach würde der normale Knospungsvorgang des *Balantidium* im menschlichen Darms sich derart vollziehen, daß die Tochterzelle von vorneherein Wimpern ansetzt und nach der Trennung vom Muttertier sich selbständig fortbewegt. Zu meiner Zeichnung hätte man sich dann nur die Bewimperung der Tochterzelle hinzuzudenken, dann erhielte man das Bild eines normalen Sprossungsprozesses. Die Anfangsstadien einer solchen Knospung haben ja Ortman und Roos beobachtet, und ersterer hat sie sogar abgebildet. — II. Deutung: Die wimperlose Tochterzelle ist zwar unbeweglich, aber nicht tot, sondern stellt eine Dauerform dar. Der von mir gesehene Sprossungsvorgang könnte dann als Anpassung an ungünstige Lebensverhältnisse außerhalb des Wirtsdarmes (Kälte, Belichtung, drohende Austrocknung) aufgefaßt werden, als eine Modifikation der normalen Knospung in dem Sinne, daß anstelle einer beweglichen, bewimperten Tochterzelle eine zwar unbewegliche und wimperlose, dafür aber resistenzere Dauerform (Zyste) gebildet wird.

Die erste Deutung erscheint mir zunächst wahrscheinlicher, doch wollte ich auch die zweite Möglichkeit nicht unberücksichtigt lassen, da die Wimperlosigkeit und Unbeweglichkeit — streng genommen — noch kein Beweis für den Tod der Tochterzelle sind; außerdem haben die sog. Todesformen des *Balantidium coli* ein anderes Aussehen.

Es mag sein, daß der Zoologe von Fach sich nicht leicht entschließen wird, die für ein Wimperinfusorium immerhin ungewöhnliche terminale Knospung des *Balantidium hominis* als bewiesen anzuerkennen, aber man kann dem von mir beobachteten Vorgang nur sehr gezwungen eine andere Deutung geben, ebensowenig wie man über die zweifellos gewissenhaften Angaben von Ekecrantz, Ortman und Roos ohne weiteres hinweggehen kann. Sollte es sich in der Folge erweisen, daß das Schweine-*Balantidium* sich nur durch Quer-

teilung fortpflanzt, das Menschen-Balantidium dagegen nur durch Knospung sich vermehrt, so wäre damit die Lehre von der Identität beider Arten endgültig untergraben.

An dieser Stelle möchte ich noch kurz auf die Fortpflanzungsverhältnisse des Menschen-Balantidiums eingehen, wie sie Solowjew<sup>1)</sup> bei einem tödlich verlaufenen Falle von Balantidienenteritis beobachtete. Solowjews Beobachtungen wurden sowohl an lebenden als auch an fixierten und gefärbten Balantidien in Gewebsschnitten (Dickdarmwand mit eingedrungenen Parasiten) gemacht. An lebenden Parasiten beobachtete Solowjew keine Teilungsformen, dagegen schreibt er aber folgendes: „An der Stelle der Afteröffnung ist zuweilen eine kugelförmige Hervorwölbung wahrzunehmen, welche aus einem durchsichtigen oder körnigen Inhalte besteht.“ Solowjew spricht sich nicht darüber aus, wofür er diese Vorwölbung hält. Ich glaube, daß dieses Gebilde sehr wohl eine hervorknospende Tochterzelle gewesen sein kann. In den Gewebsschnitten, welche die eingedrungenen Parasiten enthielten, konnte Solowjew besonders die Kernteilungsverhältnisse am Balantidium hominis studieren: danach vollzieht sich die Teilung des Kernes am ehesten nach dem Modus der direkten Teilung; eine beschränkte Anzahl von Parasiten trug 2 Kerne, die überwiegende Mehrzahl aber zeigte einen sich teilenden oder fast geteilten Kern. Die Annahme von Solowjew, daß der abgeteilte Kern den Körper des Muttertieres nackt verläßt und sich erst allmählich mit einer Protoplasmaschicht bekleidet, halte ich für einen Irrtum, der durch das Studium an Gewebsschnitten leicht entstehen kann. Auch die Annahme, daß die jüngsten Balantidien wimperlos seien, ist mit Vorsicht aufzunehmen.

Was die Befruchtung beim Balantidium des Menschen anlangt, so besteht diese in einer Konjugation<sup>2)</sup>, einer zeitweiligen Verbindung zweier Individuen am oralen Ende. Dieser Vorgang ist unter anderem von Voit beobachtet worden. Beim Schweine-Balantidium verläuft die Konjugation in der gleichen Weise. Beide Arten besitzen die Fähigkeit, sich zu enzystieren.

Da ich kein Zoologe bin, mußte ich auf den Versuch verzichten, eine Klärung der das Menschen-Balantidium betreffenden biologischen Fragen herbeizuführen; ich hielt es aber für richtig, mit der Veröffentlichung des von mir beobachteten Knospungsvorganges nicht zurückzuhalten. Das eingehende Studium der mir zugänglichen Literatur zeigte mir, daß die Biologie des Balantidium coli in mancher Hinsicht noch wenig erforscht ist, und gab mir die Veranlassung, die ganze Frage von der Identität des Balantidium von Mensch und Schwein aufzurollen.

Der Inhalt meiner Arbeit fasse ich in folgenden Thesen zusammen:

1. die Identität des Balantidium von Mensch und Schwein ist nicht bewiesen, 2. bei dem Balantidium coli hominis kommt Knospung als Fortpflanzungsvorgang zur Beobachtung: die Knospung erfolgt am

1) Die Arbeit von Solowjew mit ihren wundervoll gelungenen Mikrophotogrammen gehört zu den wertvollsten Beiträgen der Balantidienforschung; besonders wichtig ist der von Solowjew gelieferte Nachweis des aktiven Vordringens der Balantidien in das Gewebe der Darmwand, wodurch die pathogene Bedeutung dieser Infusorien erwiesen wird.

2) In der älteren Literatur, auch bei Leuckart, als „Kopulation“ bezeichnet.

hinteren Leibesende des Tieres; 3. eine endgültige Lösung aller das Balantidium des Menschen betreffenden biologischen Fragen kann nur durch inniges Zusammenarbeiten von Zoologe und Mediziner erfolgen.

Am Schlusse meiner Arbeit erlaube ich mir, Herrn Privatdozenten Dr. Matthes (Zoologisches Institut der Univ. Breslau), Herrn Dr. Praetorius-Riga und Herrn Dr. Quarnström-Helsingfors meinen Dank für die lebenswürdige Hilfe bei der Beschaffung der Literatur auszudrücken. Herrn Prof. Dr. Ucke-Dorpat bin ich für die Unterstützung bei der mikroskopischen Untersuchung der Balantidien gleichfalls zu großem Danke verpflichtet.

#### Literatur.

1) Collmann, 5 Fälle von *Bal. coli* im Darne des Menschen. [Inaug.-Diss.] Königsberg 1900. — 2) Dehio, St. Petersburger med. Wochenschr. 1898. Nr. 36. — 3) Dera., Russ. Arch. f. Path. Bd. 6. 1898 [russisch]. — 4) Ekecrantz, Ref. von Cohnheim in Virchow-Hirschs Jahresber. 1869. I. S. 202. — 5) Jollos, Handb. d. pathogen. Mikroorganism. von Kolle u. Wassermann. 1913. — 6) Leuckart, Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. 1879–1886. — 7) Malmsten, Virch. Arch. Bd. 12. 1857. — 8) Ortman, Berlin. klin. Wochenschr. 1891. Nr. 33. — 9) Roos, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 51. 1894. — 10) Shegalow, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 49. 1899. — 11) Sievers, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 30. 1896. H. 1 u. 2. — 12) Solowjew, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. S. 821 u. 849. — 13) Stieda, Virch. Arch. Bd. 36. 1866.

Es sind nur diejenigen Arbeiten angeführt, auf welche im Text Bezug genommen wird. Ein sehr vollständiges Literaturverzeichnis findet sich bei Solowjew.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Vertilgung der Nisse mittels Antiforminlösung.

[Aus dem Institut für allgem. Pathologie und Therapie der ungar. kgl. Franz-Josef-Universität (Direktor: Dr. v. Lóte, o. ö. Prof.)]

Von Dr. A. v. Jeney, Assistent an obigem Institut.

Nach den epidemiologischen Erfahrungen des Krieges ist es heute überflüssig, über die Wichtigkeit der Läusevertilgung viele Worte zu verlieren. Vollständig ist die Entlausung nur dann, wenn mit den Schmarotzern auch ihre Eier entfernt sind. Die an Kleiderstücken haftenden Läuse werden durch trockene Hitze nicht schwer getötet, die noch am Körper gebliebenen erwachsenen Tiere können auch auf verschiedene Weise leicht entfernt werden; um so schwieriger aber gestaltet sich unsere Aufgabe, wenn es sich darum handelt, die besonders bei Frauen — oft in unglaublichen Mengen — an Haupt- und Schamhaaren haftenden Nisse mitzuentfernen.

Als einwandfreie Methode gilt das Kurzscheren und Rasieren der Kopf- und Körperhaare. Das Scheren allein genügt nicht, weil an den stehengebliebenen Haarstümpfen noch zahlreiche Eier zurückbleiben. Diese Methode zeitigte trotz der ihr eigenen Schwierigkeiten immerhin zufriedenstellende Resultate. Wird sie aber nicht sehr vorsichtig durchgeführt, so bietet sie gewisse Möglichkeiten einer Verbreitung der Infektion. Nach dem Scheren der Haare bleiben stets, besonders an den Schamhaaren, einige Tiere zurück, welche sich an der Haut festhalten. Bei dem nachfolgenden Rasieren werden diese Tiere auch zu oft entzwei geschnitten und ihr eventuell infizierter Körperinhalt ergießt sich dann frei auf die Haut. Das Rasieren kann, da es sich ja doch meist um Massenabfertigung handelt, unmöglich so vorsichtig geschehen, daß auch nur leichteste Schädigungen der Haut umgangen werden können. Es ist nun verständlich, daß durch häufiges Kratzen zu leicht die verletzten Stellen der Haut mit dem infektiösen Inhalt des zerschnittenen Läusekörpers infiziert werden. Aus neueren



Untersuchungen geht hervor, daß der Biß einer infizierten Laus erst nach einer gewissen Zeit infektiös wird; die Körpersäfte der Laus können aber auch schon während dieser Zeit infizieren. Einige Forscher [Nicolle, Charles, Blaizot, Conseil (1), Prüssian (2), Goldberg (3), Töpfer (4)] nehmen sogar an, daß auch für gewöhnlich die Infektion nicht auf dem Wege des Läusebisses zustandekomme, sondern dadurch, daß beim Kratzen Läusekörper zerdrückt und ihr infektiöser Körperinhalt in Kratzwunden inokuliert werde. Auch Einreiben in den Konjunktivalsack beim Augenabwischen soll vorkommen. Diese Möglichkeiten sind bei Affen experimentell nachgewiesen.

Ohne an die erwähnten möglichen Folgen zu denken, bieten sich in der Praxis ganz andere Schwierigkeiten. Bei Männern verursachen die wachsenden Schamhaare eine oft recht unangenehme Empfindung, doch ist sie meist zu ertragen. Bei Frauen hingegen stoßen wir schon, was das Scheren, geschweige denn das Rasieren der Kopfhare anbetrifft, fast immer auf unüberwindlichen Widerstand. Aus diesen und ähnlichen Gründen bemüht man sich seit langer Zeit, irgendein Mittel zu finden, dessen Wirkung auch die Nissen vernichtet, und es gibt denn auch zahlreiche Verfahren, denen eine derartige Wirkung zugesprochen wird (Sublimatessig, Sabadillesig, Holzessig, 3—5-proz. Kresolseifenlösung u. a.). Von allen diesen Mitteln habe ich aber bisher keine einwandfreie und ganz verläßliche Wirkung gesehen. Die Trichloräthylenmethode von Ragg (6) und das Lausol (Süßmann, 7) hatte ich nicht Gelegenheit nachzuprüfen.

Bei meinen Untersuchungen hatte ich die Absicht, ein Mittel zu finden, welches die Chitinkapsel der Nisse zu lösen imstande ist, wenigstens so weit, daß die an dem Haare anliegende Scheide der Kapsel aufgelockert wird, so daß die Niß dann mechanisch entfernt werden kann. Als chitinlösendes Mittel hat sich das Antiformin (Mischung von NaOH und Natriumhypochlorid) als sehr wirksam erwiesen. Es ist in 8—10-proz. Lösung imstande, die Kapsel der Niß — nach mikroskopischer Kontrolle — in 5—10—15 Min. vollständig zu lösen, so daß der Inhalt der Niß in kurzer Zeit zum Vorschein kommt. Werden die am Haare haftende Nisse mit Antiformin behandelt, so können sie nach Ablauf der erwähnten Zeit mittels Kamm oder Bürste leicht entfernt werden.

Soll z. B. das Kopfhaar von Nissen befreit werden, so wendet man folgendes Verfahren an: Nach vorhergegangenen gründlichen Waschen des Kopfes mit Seife, Einflechten des Haares in fingerdicke Zöpfchen; hierauf werden auf die mit Nissen bedeckten Stellen kleine, in 8—10-proz. Antiformin getauchte Kompressen (oder Gazestückchen u. dgl.) gelegt, dann die Zöpfchen mit Antiforminlösung angefeuchtet und dann der ganze Kopf auf  $\frac{1}{2}$ —1 Std. mit einem Tuch ganz verbunden. Nach Entfernung des Tuches werden die Nisse mit einem dichten Kamm und einer harten Bürste sorgfältig entfernt. Wird diese Prozedur wiederholt, so ist auch in ganz vernachlässigten Fällen sicherer Erfolg zu erwarten.

An der Kopfhaut war auch bei wiederholter Anwendung von Antiformin niemals eine entzündliche Reaktion zu sehen. Das Antiformin ist ein verhältnismäßig billiges Mittel. (Herrn Dr. L. Heiner, Assistent der Dermatologischen Klinik, bin ich für die Nachprüfung der Wirksamkeit dieser Methode zu besonderem Danke verpflichtet.)

#### Literatur.

- 1) Nicolle, Charles, Blaizot et Conseil, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 27. 1913. p. 204. — 2) Prüssian, Münch. med. W. 1916. S. 1633. — 3) Goldberg, Wien. klin. W. 1917. S. 1135. — 4) Töpfer, Münch. med. W. 1916. S. 1571. — 5) Lange, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920. S. 554. — 6) Ragg, Der Militärarzt. 1915. S. 172. — 7) Süßmann, Münch. med. W. 1917. S. 204. — 8) Hase, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 319.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die bakterizide bzw. wachstumshemmende Wirkung des Yatrens.

[Aus der Tierseuchenstelle der Thüringischen Landesanstalt für Viehver-  
sicherung (Leiter: Prof. Dr. med. vet. W. Pfeiler). Veterinäranstalt Jena  
(Direktor: Geh. Regierungsrat Prof. Dr. med. vet. K. Hobstetter).]

Von Tierarzt Alfred Breitenstein.

### Literatur.

Das Yatren gelangte unter dieser Bezeichnung vor etwa 10 Jahren zum ersten Male zur Anwendung. Es wurde von Abel (1) in die Praxis eingeführt und anfangs zu rein gynäkologischen Zwecken gebraucht. Weitergehende Untersuchungen über die bakterizide Wirkung des Präparates lagen noch nicht vor, wenigstens finden sich in der älteren Literatur darüber keine Angaben. Abel (1) erwähnt nur, daß es in 6-proz. Lösung eine ausgesprochene bakterizide Kraft besitzt, die in 10- und 20-proz. Konzentrationen noch mehr und schneller in Erscheinung tritt. Aus der Eigenschaft, daß es von der Stelle seiner Applikation aus unzersetzt resorbiert wird, folgert er, daß es eine lokale bakterizide und gleichzeitig eine Tiefenwirkung ausüben müsse. Nach seinen Erfahrungen hat sich das Präparat in dieser Beziehung in praxi auch vollkommen bewährt.

Abel (1) benutzte das Präparat bei katarrhalischen Erkrankungen der Geschlechtsorgane in Form der 10- und 20-proz. Yatregaze anstelle der bis dahin üblichen Ausspülungen. Am schnellsten und günstigsten wurde dabei nach seinen Ausführungen der einfache Vaginalkatarrh beeinflußt. Aber auch bei hartnäckigen gonorrhöischen Erkrankungen hat sich das Mittel bewährt.

In weiteren, wie es scheint, seinerzeit unausgeführt gebliebenen Versuchen wollte er die Frage prüfen, ob nicht durch gleichzeitige interne Darreichung des Mittels, 3mal täglich 0,5 g., die Heilung der Gonorrhöe beschleunigt werden könnte. Nach Abel mußte dies theoretisch der Fall sein, da das Präparat unzersetzt durch die Nieren ausgeschieden wird und daher imstande sein mußte, desintizierend auf Nieren, Blase und Urethra zu wirken.

Angaben, die diese Auffassungen belegen, finden sich aber in der älteren Literatur nicht.

Auch bei Abortblutungen verwendete Abel die Yatregaze zur Tamponade und sah in ihr einen vollkommenen Ersatz für die Jodoformgaze. Auf Grund der Tiefenwirkung des Präparates kam er dazu, das Mittel auch in Form von Tampons bei entzündlichen Adnexerkrankungen zu gebrauchen. Ferner hatte er Gelegenheit zu sehen, daß schlecht aussehende Wunden mit schmierigen Belägen sich unter dem Einfluß des Yatrenpuders schnell reinigten und heilten. Nachdem das Mittel sich so bei ihm in einer großen Anzahl von Fällen gut, ja zum Teil sogar mit überraschender Wirkung bewährt hatte, glaubte er, seine Anwendung und Nachprüfung empfehlen zu können.

Blum (2) konnte die Ergebnisse Abels bestätigen. Nach seinen Ausführungen sind es die Desinfektionskraft, noch mehr die austrocknende Wirkung des Yatrens im Verein mit seiner absoluten Reizlosigkeit, die das Präparat in hervorragendem Maße für die Trockenbehandlung bei katarrhalischen Erkrankungen geeignet machen. Er sah in allen Fällen, in denen er es anwandte, nicht die geringste Reizerscheinung. Aus diesem Grunde schien es ihm für die Behandlung pathologischer Zustände der weiblichen Genitalien besonders wertvoll. Er verwendete 10-proz. Yatrenpulver (mit Talkum) und ließ es mittels Pulverbläser in die Scheide einblasen. Von prompter Wirkung war die Behandlung bei Erosionen der Portio und der Scheide. Geschwüre, die durch Prolaps oder Pessare entstanden waren, heilten überraschend schnell.

Bei akuter Gonorrhöe sah Blum in verhältnismäßig kurzer Zeit eine außerordentlich günstige Wirkung.

Gute Dienste leistete ihm das Yatren durch seine blutstillende Wirkung und seine desodorisierenden Eigenschaften auch bei inoperablem Gebärmutterkrebs nach Entfernung der erkrankten Gewebepartien, soweit sie erreichbar waren.

Reines Yatren brachte eiterige Prozesse auffallend rasch zur Einschmelzung. Besonders bemerkenswert erschien die rasche Beseitigung abgestorbener Gewebsteile, z. B. bei Karbunkeln. Das Gewebe wurde schnell abgestoßen, und es erschien bald eine frisch granulierende Wundfläche, so daß auch hier die Heilung in kurzer Zeit vor sich ging.

Nachdem einmal durch diese Erfolge die Aufmerksamkeit auf das Präparat gelenkt war, blieb der Gebrauch desselben nicht auf das eine Gebiet beschränkt. Es wurde unter den verschiedensten Gesichtspunkten einer Prüfung unterzogen. Dabei ergaben sich neue und besondere Eigenschaften des Yatrens, auf die ich später näher eingehen werde. Zuvor sei erst das Wichtigste über die Natur des Präparates gesagt.

Das Yatren (Hersteller zur Zeit der Anfertigung dieser Arbeit das Westlaboratorium Hamburg, jetzt die Behringwerke Marburg a. d. L.) ist ein organisches Jodpräparat, das Yatrensäure enthält. Es kann nach Pfeiler (17, 18) als eine in Wasser lösliche Jodoformkomponente aufgefaßt werden. Es ist ein leichtes, lockeres, gelbliches Pulver, das neuerdings in Kristallform geliefert wird. Es schmeckt eigentümlich, leicht astringierend, bittersalzig mit süßlichem Nachgeschmack. Beim Erwärmen macht sich ein deutlicher Chinolingeruch bemerkbar, der auch dem trockenen Präparat in leichtem Maße anhaftet. Zur Erreichung des Neutralpunktes ist ihm Natrium bicarbonicum zugesetzt. Die Säurewirkung wird dadurch beseitigt, die Löslichkeit soll gefördert werden. Aus diesem Zustande erklärt sich die CO<sub>2</sub>-Entwicklung bei der Erwärmung des Präparates zum Zwecke der Lösung. In stärkeren Konzentrationen löst sich das Yatren in Wasser nicht vollständig (z. B. bei 5 Proz.), es entsteht eine grob gekörnte, trübe Aufschwemmung, die erst beim Erwärmen unter Aufbrausen vollständig gelöst wird. Die Lösung hält sich beim Erkalten bis auf etwa 10° C klar und kristallisiert dann einen Teil des Yatrens wieder aus. Ueber 6 Proz. Yatren ist nur in der Wärme in Lösung zu halten. — Nach Dietrich (7) ist die Löslichkeit in Serum (Pferdeserum) etwas geringer als 5 Proz., eine Gerinnung des Serums durch Yatren tritt nicht ein. — Gewöhnlich fällt das Präparat bei hohen Konzentrationen in der Injektionspritze etwas aus. Je stärker die Konzentration, um so mehr macht sich dies bemerkbar, besonders bei 10-proz. und noch höheren Lösungen.

Die Farbe der Lösungen ist je nach Konzentration gelblich bis weinrot. Bei Berührung mit Eisen entsteht eine schmutzig grünschwarze Verfärbung, die auf der Bildung von Schwefeleisen beruhen dürfte. Deshalb ist es angezeigt, zu Injektionen nur Glas- oder stark vernickelte Spitzen zu verwenden. Im übrigen wird durch diese chemische Umsetzung des Präparates dessen Wirksamkeit nicht beeinflusst.

Nach Sonntag (10) ist das Yatren praktisch unzersetzlich, da Jod erst bei einer Temperatur von 223° frei wird. Auch im Körper wird letzteres nicht abgespalten, es geht keine Verbindung mit dem Körperweiß ein und erscheint unzerstört im Harn, in welchem es daher bei Darreichung einer größeren Menge für kurze Zeit nachweisbar ist. Jod ist dagegen im Harn nicht nachzuweisen. Es soll innerlich verabreicht, als Komplexkörper wirken, auch werden nach Aufnahme des Yatrens keine Vergiftungserscheinungen wie Jodismus beobachtet, selbst bei innerlich verabreichten hohen Gaben nicht.

Wärme und Kälte, sowie langes Liegen haben keinen Einfluß auf die Wirkung des Präparates.

Auch nach Untersuchungen von Dietrich (7) kann das Yatren als fast ungiftig bezeichnet werden. Per os wirken 2–3 g, in einer Dosis genommen, als leichtes Abführmittel; 0,5–1 g-Gaben werden meist vertragen, ohne irgendwelche Störungen der Verdauungstätigkeit zu verursachen. Weiße Mäuse von 12–15 g Gewicht vertragen 0,5 ccm einer 5-proz. Lösung bei wiederholter Einverleibung durch Schlundsonde ohne Reaktion.

Subkutan wurden 5 ccm und mehr einer 5-proz. Lösung von Kaninchen, 2,0 ccm 5-proz. Lösung von Meerschweinchen, 0,5 ccm einer 2,5-proz. Lösung von weißen Mäusen vertragen. Dosen von 0,5 ccm einer 5-proz. Lösung wirkten bei weißen Mäusen von 15 g Gewicht meist tödlich. Intraperitoneal verursachten 1,0 ccm 5-proz. Yatren bei Meerschweinchen und 0,1 ccm 2-proz. Lösung bei Mäusen keine Schädigung. Intravenös wurden von Mäusen von 15 g 0,3 ccm 1-proz. Lösung und von ca. 2 kg schweren Kaninchen 5,0 ccm 5-proz. Lösung gut vertragen.

Das Yatren verteilt sich bei subkutaner Verabfolgung schnell im Gewebe und konnte bei Mäusen 15 Min. nach der Injektion im Bindegewebe entfernt liegender Körperstellen und in den Nieren nachgewiesen werden. Die yahrenhaltigen Gewebe färben sich mit verdünntem Ligu. ferri sesquichlorati grünschwarz. Im Harn erscheint das Yatren, wie schon erwähnt, ebenfalls nach kurzer Zeit. Lindig (11) stellte fest, daß nach intravenöser Injektion von 20 ccm einer 10-proz. Yatrenlösung nur 11 Min.

vergingen, bis die charakteristische Grünfärbung in der vorgeschalteten Eisenchloridlösung auftrat.

Nach Versuchen von Pfeiler (16, 17) an großen Haustieren wurden auch nach sehr großen Gaben keine Vergiftungserscheinungen beobachtet. Pferde haben intravenös oft an aufeinanderfolgenden Tagen bis zu 20—25 g täglich erhalten, gesunde Rinder bis zu 10 g täglich. Doch dürften auch größere Gaben von Rindern noch gut vertragen werden. Eine kumulative Wirkung trat praktisch so gut wie nie, oder erst bei maximalen, dauernd wiederholten Gaben ein. Bei diesen Versuchen gelangten frühere Herstellungsnummern des Yatrens zur Anwendung. Ob die gleichen Gaben des Präparates, so wie es heute hergestellt wird, ebenso unschädlich sind, soll dahingestellt bleiben.

Yatren soll die Normalkörperzellen nicht schädigen. Es verursacht nach Dietrich (7) keine Hämolyse der roten Blutkörperchen und schädigt auch nicht die phagozytäre Kraft der Leukozyten. Im Reagenzglas zerstört es dagegen Erythrozyten (Pfeiler-Aehle) (17). Auch die Bildung von agglutinierenden Antikörpern scheint durch das Yatren nicht gestört zu werden. Die Schutzstoffe des Rotlaufserums werden nicht beeinflusst (Pfeiler).

Von Dietrich (7) wurde neuerdings in Reagenzglasversuchen die bakterizide und wachstumshemmende Wirkung des Yatrens nachgewiesen. Mit Rücksicht auf das vorliegende Thema sollen seine Versuche zur Feststellung der antibakteriellen Wirkung des Yatrens in eingehender Weise wiedergegeben werden:

Fallende Mengen Yatren wurden in der für das Wachstum der zu untersuchenden Keime jeweils günstigen Nährflüssigkeit gelöst, um die Bakterien möglichst wenig durch unkontrollierbare Einwirkungen zu schädigen. Zu je 10 ccm yatrenhaltiger Nährlösung (Bouillon, Aszitesbouillon, Serum usw.) wurde ein Tropfen einer 100fach verdünnten 24-stünd Kultur in entsprechender Nährflüssigkeit zugesetzt, und nach 3 bzw. 24 Std. im 37° Brutschrank aus jedem Röhrchen 0,2 ccm zur Sterilitätsprüfung auf den für den betreffenden Keim günstigen festen und flüssigen Nährboden überimpft. Die Ablesung dieser Teströhrchen erfolgte stets nach 3mal 24 Stunden. Erforderlichenfalls wurde hiernach das Wachstum in den flüssigen Nährböden noch durch Uebertragung auf Schrägagarröhrchen kontrolliert. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist aus nachfolgender Tabelle ersichtlich.

Keimart und Kulturflüssigkeit	Yatrengehalt:									
	2,5 %		2 %		1 %		0,5 %		0,25 %	
	3 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>
Diphtheriebazillen in Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Shigabazillen in Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
Typhusbazillen in Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Typhusbazillen in Galle	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Staphylococcus aur. in Bouillon	—	—	+	—	+	—	+	—	+	+
Streptokokken (path.) in Aszitesbouillon	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+
„ „ „ inakt. Pferdeserum	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
„ „ „ inakt. Pferdeserum	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
Pneumokokken in Aszitesbouillon	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—
„ „ „ inakt. Pferdeserum	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—
Gonokokken in Aszitesbouillon	0,01 Proz. Yatren in 2 Std.									

Zeichenerklärung: + = Wachstum in einem Teströhrchen, also keine Abtötung durch Yatrenwirkung; — = kein Wachstum in den Teströhrchen, also Abtötung durch Yatren.

Die wachstumshemmende Wirkung wurde nicht geprüft, liegt jedoch nach Dietrich bei Bouillonkulturen ungefähr bei der 50- bis 100fachen Verdünnung der in obiger Darstellung noch als wirksam (—) bezeichneten Konzentrationen. Das Präparat wird, wie Dietrich weiter festgestellt hat, durch wiederholtes Kochen in seiner Wirksamkeit nicht beeinträchtigt.

Bei diesen Eigenschaften des Yatrens ist es erklärlich, daß seine Anwendung in der Human- und Veterinärmedizin auf den verschiedensten Gebieten teilweise sehr gute Erfolge gezeitigt hat. Denn noch viele andere Autoren außer Abel (1) und Blum (2) berichten über günstige praktische Resultate, die sie mit Yatren unter anderen Gesichtspunkten erzielten.

So gebrauchte Bischoff (3) das Mittel zur Bekämpfung der Dauerausscheider von Diphtheriebazillen. Er blies es antitoxinbehandelten Patienten täglich auf die Rachenorgane. Von keinem der Patienten wurde dabei über eine belästigende Reizwirkung oder über unangenehmen Geschmack geklagt. Beim Vorhandensein von sehr ausgedehnten Membranen hatte er den Eindruck, daß sich bei Behandlung mit Yatren die Membranen schneller abtießen, als wenn die Patienten nur mit Antitoxin behandelt wurden. Ferner schien es ihm die Dauerausscheidung von Diphtheriebazillen abzukürzen; er empfiehlt, das Yatren auch für den Kampf gegen Typhusbazillen-Dauerausscheider nutzbar zu machen.

Auch Freund (4) glaubt auf Grund zahlreicher Fälle, daß dem Yatren eine Heilwirkung bei der Diphtherie zukommt, und zwar insofern, als es infolge seiner Tiefenwirkung die Bazillen am Ort ihrer Ansiedlung, auch in den tiefen Nischen und Buchten der Mandeln, vernichtet und so die Quellen weiterer Toxinbildung verschließt.

Aehnlich äußert sich Kausch (5). Das Yatren ist nach ihm ein wertvolles Unterstützungsmittel bei der Behandlung der Diphtherie. Es sei am besten geeignet, um Diphtheriebazillenträger keimfrei zu machen. Außerdem hält er es für ein Prophylaktikum bei Diphtherie, indem es das Aufkommen der in den Rachen und seine Umgebung gelangenden Keime überhaupt verhindert.

Martini (6) berichtet über einen schweren Fall von Diphtherie, bei dem er trotz großer Dosen Serum erst Heilung erzielte, nachdem er zwecks Beseitigung der Diphtheriebazillen Yatren in Rachen und Nasenlöcher eingeblasen hatte. Bereits 9 Tage nach dieser Lokalbehandlung erreichte er Keimfreiheit.

Mühlens und Menk (12) bedienten sich des Yatrens durch Verabreichung innerlicher Gaben bei der Amöbenruhr und hatten gute Resultate zu verzeichnen. Selbst bei alten, verschleppten und aussichtslosen Fällen konnte vorläufige Heilung festgestellt werden.

Die wertvollen Eigenschaften des Yatrens, besonders seine Unschädlichkeit für die Körperzellen und seine Ungiftigkeit, führten Lindig (11) dazu, an die weitere klinische Durchprüfung des Präparates heranzugehen. Es waren zunächst die gonorrhöischen Affektionen, die in ausgedehntem Maße der Yatrenbehandlung unterzogen wurden. Für die Urethra gelangten Stäbchen, für den Cervixkanal Stäbchen und Puder zur Anwendung. Sowohl bei akuten als auch bei chronischen Fällen waren die Erfolge gute, doch liegt ein abschließendes Urteil für diesen Teil der Arbeiten noch nicht vor.

Bei einigen mit Yatren behandelten Fisteln (auch tuberkulösen) blieb der Erfolg aus. Dagegen konnte er bei der Nabelbehandlung mit 10-proz. Yatrenpulver beobachten, daß die granulierende Nabelwunde sich schnell und reizlos nach Abfall des Nabels epithelialisierte. Dabei weist Lindig auf die Notwendigkeit hin, den Granulationsprozeß zu beeinflussen und zu verkürzen, da die Entstehung von Nabelinfektionen vornehmlich in die Granulations- und nicht in die Mumifikationsperiode fällt.

Nast (8) verwandte das Präparat mit gutem Erfolge bei der Therapie des Ulcus molle; er gab hierbei der Injektion von 5-proz. Lösungen den Vorzug. Durchgebrochene Bubonen und Ulcera mollia behandelte er häufig mit reinem Yatrenpulver und 5—10-proz. Lösungen. Diese Kombination brachte in raschster Weise die Reinigung und Granulation des Geschwürgrundes bei zerfallenden Bubonen zustande.

Ausgedehnte Anwendung hat das Yatren in der Wundbehandlung gefunden, besonders in Form der 10-proz. Yatregaze als Ersatz für die in mancher Beziehung nicht genügende Jodoformgaze. Auch in stärksten Lösungen, ferner als reines Pulver wurde es auf Wunden gebracht. Scheidtmann (9) hält nach seinen therapeutischen Versuchen die Yatregaze für das zurzeit beste Antiseptikum anstatt der Jodoformgaze. Schädigende Störungen wurden bei Anwendung der Gaze nie gesehen, sie wurde von allen Patienten gut vertragen. Die Gaze wurde bei eitrigen und infizierten Wunden aller Art gebraucht, besonders in der Mastdarmchirurgie, wenn übelriechende, nekrotisierende Gewebepartien zu tamponieren waren, bei Wundhöhlen, Abszessen usw. In allen Fällen trat schnelle Austrocknung der sezernierenden, eitrigen Wunden ein, ferner ein rasches Abstoßen der nekrotischen Gewebsteile, eine frühzeitige Bildung guter, frischer Granulationen, und besonders bei stark jauchigen und stinkenden Abszessen ein schnelles Schwinden des fötiden Geruches.

Nach Sonntag (4) erwies sich die Yatregaze bei Verletzungs- und Operationswunden in der Unfallpraxis als sehr brauchbar. Ungiftigkeit, Aufsaugfähigkeit und blutstillende Wirkung zeigten sich als Vorzüge der Yatregaze. Das gute Aussehen der mit Yatren behandelten Wunden, die ohne stärkere Absonderung und unter schöner Granulationsbildung rasch heilten, fiel Sonntag auf. Auch eröffnete Eiterherde wurden durch Tamponade mit Yatregaze erfolgreich behandelt, weiter verschiedene Abszesse, Phlegmonen, Panaritien, Sennenscheidenphlegmonen, Mastitis, Furunkel,

Karbunkel usw. Ferner wurde das Präparat mit Vorteil als Gaze, Puder, Salbe und Paste bei Ulzerationen jeglicher Art verwandt.

Die günstige Wirkung des Yatrens beruht nach Sonntag (10) teils auf Keimwidrigkeit, teils vor allem auf Gewebsanregung durch Hyperämisierung u. dgl. Letztere Auffassung erscheint ihm für die ganze Frage der sog. chemischen Antiseptis von einschneidender, bisher noch nicht genügend gewürdigter Bedeutung und geeignet. Die Wirkung mancher sog. chemischer Antiseptika, und zwar des Yatrens sowohl wie auch des Jodoforms und seiner Ersatzpräparate, in ein besonderes Licht zu rücken.

Zimmer (14) verwandte das Yatren bei der Behandlung von Gelenkerkrankungen und bei Prozessen, bei denen entsprechend der parenteralen Proteinkörpertherapie eine Protoplasmaktivierung im Sinne Weichardts und ein Schwellenreiz im Sinne von Zimmer (14) (Reizheilwirkung nach Pfeiler) selbst ausgeübt werden soll. Er hatte bei den verschiedensten Applikationsformen, wie subkutan, intravenös, intramuskulär und oral gute Erfolge ohne starke Nebenerscheinungen. Als besonders geeignet hat sich hierbei die Kombination mit Kasein erwiesen, und zwar bei akuten Krankheiten als Yatren-Kasein stark, bei chronischen als Yatren-Kasein schwach, um auf diese Weise starke bzw. schwache Reize zu erzielen. Infolge seiner bakteriziden Eigenschaften besitzt es konservierende Fähigkeiten und gibt so im Gegensatz zu anderen Präparaten eine Gewähr für absolute Sterilität des Kaseins.

Wie von Dietrich (7) dargetan wurde, wirkt das Yatren auch in eiweißhaltigen Flüssigkeiten stark bakterizid. Diese Eigenschaft benutzte Hinz (13) dazu, das Präparat versuchsweise zur Konservierung von Serum zu verwenden. Trotz vorschriftswidriger Behandlung des Serums entsprach es noch nach 3 Monaten, makroskopisch wenigstens, nicht nur den allgemein an Heilsera zu stellenden Ansprüchen, sondern auch den an ein brauchbares Antiserum zu stellenden Forderungen insofern, als es vollständig klar geblieben war, keine Opaleszenz zeigte und sich steril erwies.

Von Pfeiler (17) über Wochen fortgesetzte Versuche an Serumproben, die mit Yatren versetzt offen bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank aufbewahrt wurden, ergaben Keimfreiheit bzw. keinen nennenswerten Bakteriengehalt.

Ferner stellte Pfeiler (17) Versuche mit Yatren bei den verschiedensten Krankheitsprozessen an. Auf die hervorragenden, für die Chirurgie bedeutsamen Eigenschaften wurde er erstmalig anlässlich der Behandlung eines über dem linken Hüftböcker eines Pferdes gelegenen eitrig-jauchigen Abszesses aufmerksam, der bei der üblichen antiseptischen Behandlung keine Tendenz zur Heilung zeigte, aber nach 2maliger Berieselung mit 10-proz. Yatrenlösung sich sofort reinigte, trocknete und gute Granulation zeigte.

Das Mittel ist dann in 5-proz. Lösung zur Behandlung einer schweren katarrhalischen Erkrankung der Scheide bei einer beschläusechekranken Stute herangezogen worden. Auch hier setzte nach 2maliger Spülung das Aufhören des katarrhalischen Prozesses ein.

Auf Grund dieser Beobachtungen und der in der Humanmedizin gemachten Erfahrungen empfiehlt Pfeiler (17), das Yatren überhaupt in der Tierheilkunde für die Behandlung von Schleimhauterkrankungen der Geburtswege heranzuziehen. In erster Linie gilt dies für die Beschläuseche, das ansteckende Verfohlen und Verkälben und ähnliche Infektionskrankheiten, bei denen trotz eingeleiteter Allgemeinbehandlung, z. B. mit Impfstoffen oder chemotherapeutischen Präparaten, noch mehr oder weniger schwere katarrhalische Prozesse an der Schleimhaut, der Gebärmutter, der Scheide usw. fortbestehen und möglicherweise Veranlassung zu Rezidiven geben. Deshalb ist hier eine Lokalbehandlung ein besonderes Erfordernis für die Niederkämpfung des Leidens und für eine völlige Gesundung.

Beachtlich dürfte nach Pfeiler (17) auch die subkutane bzw. intramuskuläre oder auch intravenöse Anwendung von Yatren sein, um in therapeutischem Sinne lokale Schwellenreizwirkungen auf die entzündeten Herde (Schleimhautpartien, Ovarien usw.) auszuüben und auf diese Weise der indirekten, sekundären Ursache der Sterilität vorzubeugen.

Die Anwendung des Präparates in intravenöser Form bei septischen Prozessen (z. B. septischem Abort, Nachkrankheiten im Anschluß an die Geburt) ist gleichfalls ins Auge zu fassen und von Pfeiler (17) z. B. bei Milzbrand, Rotlauf in die Wege geleitet worden. Auch wäre hier eventuell an die gleichzeitige Stimulierung des Organismus durch Gaben von Serum oder Vakzine zu denken, um so an die Schwelle der Höchstleistung der Abwehrvorgänge zu kommen.

Ferner dürfte das Yatren bei der Behandlung des ansteckenden Scheidenkatarrhs (Bepuderung unter Benutzung des Scheidenspanners) — nicht zur Bekämpfung der Sterilität im Sinne des infektiösen Abortus, sondern unter rein symptomatisch-therapeutischen Gesichtspunkten betrachtet — infolge seiner Reizlosigkeit geeignet sein, an

die Stelle von Behandlungsmitteln zu treten, die die Tiere oft gequält haben. Von Pfeiler-Eichler nach dieser Seite durchgeführte Versuche haben zur Heilung des Scheidenkatarrhs in einer Zeit von durchschnittlich 5 Tagen geführt.

Yatrenbepuderungen oder -spülungen der Rute männlicher Zuchttiere nach der Kohabitation dürften zur Prophylaxe infektiöser Erkrankungen wirkungsvoll sein.

Endlich wäre das Präparat noch per os bei der Bekämpfung derjenigen Krankheiten zu verwenden, deren Uebertragung entweder vom Maul aus erfolgt oder bei denen der Darmkanal in erster Linie ergriffen ist (Schweinepest, Ferkeltyphus). Hierher gehören auch die ruhrartigen Jungtierkrankheiten, bei denen eine Darmdesinfektion mit Methylenblau (z. B. bei Ferkeln) in Aufnahme gekommen ist. Da der Ansteckungsstoff des ansteckenden Verkaltens und Verfohlens gleichfalls in vielen Fällen per os aufgenommen wird, würde auch an eine Prophylaxe dieser Krankheiten durch Verabfolgung des Präparates per os zur Darmdesinfektion noch gesunder Muttertiere zu denken sein.

Gemeinsam mit Pohle unternahm Pfeiler (16) weiter Behandlungsversuche mit Yatren bei der Lymphangitis epizootica, wozu ihm 3 Pferde zur Verfügung standen. Er kommt nach diesen Versuchen, bei denen teils sehr hohe, teils niedrige Yatrengaben zur Anwendung gelangten, zu dem Ergebnis, daß möglicherweise im Yatren eine die Lymphangitiserreger namentlich bei leichten Infektionen beeinflussende Komponente vorhanden ist. Die Beantwortung der Frage, ob bei weiterer Durcharbeitung das Präparat zu einem Heil- oder Schutzpräparat ausgestaltet werden kann, müsse weiteren Versuchen vorbehalten bleiben.

Weiter behandelte Franz (Auma) auf Veranlassung von Pfeiler einen Fall von Lymphangitis epizootica vermittelt Yatreneinspritzungen in subkutaner Form. Er gab je 100 ccm 5-proz. Lösung in Abständen von 4 Tagen. Bereits nach der ersten Injektion zeigte sich ein Anschwellen einzelner Knoten und Lymphstränge, das nach der zweiten noch deutlicher zu bemerken war. Nach 2 weiteren Einspritzungen heilten sämtliche Prozesse ab. Um die Rückbildung zu beschleunigen, wurde neben der Einspritzung die tägliche Bepinselung mit der gleichen Yatrenlösung vorgenommen.

Eine spezifische Wirkung des Yatrens sahen Pfeiler und Oberländer (18) bei der Behandlung der Aktinomykose des Rindes. An Hand zahlreicher Versuche wiesen sie nach, daß selbst umfangreiche Geschwülste sich in verhältnismäßig kurzer Zeit bis auf eine geringe Hautverdickung zurückbildeten. Bei intravenöser bzw. subkutaner Anwendung waren zuweilen schon in einem Zeitraume von kaum mehr als 14 Tagen vollkommene Heilungen zu verzeichnen. Es entstand zuerst eine eitrige Einschmelzung dieser Geschwülste, die von selbst nach außen durchbrachen, wenn keine Eröffnung stattfand, und dann unter Abstoßung der Kapseln abheilten. Auch bei einem Kehlkopfaktinomykom trat eine rasche und auffällige Besserung und schließlich Heilung ein. Eine Beeinflussung des Milchtrages, wie sie bei der bisherigen Behandlung der Aktinomykose mit Jod angeblich gelegentlich beobachtet wurde, trat nicht ein. Pfeiler hält die Wirkung des Yatrens bei der Aktinomykose in erster Linie für eine spezifische, zu der die unspezifische Reizwirkung komme, die die Resorption der Gewebszellen und den Abbau der Geschwulst bedinge.

Ferner berichten Krüger und Pfeiler (21, 22) über eine Anzahl von an Hunden, Pferden und Schweinen in der Absicht durchgeführten Versuchen, das Prinzip der Protoplasmaaktivierung bzw. Schwellenreizwirkung für die Therapie von Haut- und Haarkrankheiten nutzbar zu machen. Sie bedienten sich für diese Zwecke des Yatrens.

Die bei diesen Versuchen ermittelten Gesichtspunkte haben nicht nur beachtliche, sondern geradezu überraschende Ergebnisse in vielen Fällen gezeitigt. Sie haben ergeben, daß auch in hartnäckigen Fällen, die oft wochenlang anderer Behandlung getrotzt hatten, in kurzer Zeit Heilungen zu erzielen waren. Schuppige, krustöse, juckende Ekzeme, Alopezien, Trichophyton-Infektionen, Dermatitis und andere ähnliche Leiden haben sich als beeinflussbar erwiesen. Besonders auffällig ist in allen Fällen gewesen, in wie kurzer Zeit nach Aufnahme der neuen Behandlung wieder eine vollständige Behaarung der erkrankten Stellen aufgetreten ist. Oft waren in 14 Tagen die Haare schon wieder nachgewachsen.

Es kann nach Pfeiler (21) nach den an verschiedenen Stellen gemachten Erfahrungen keinem Zweifel mehr unterliegen, daß hier ein neuer Weg für die Dermatotherapie gefunden worden ist, dessen praktische Auswirkung in der Menschen- und Tierheilkunde zu um so größeren Hoffnungen berechtigt, als bekanntlich die Behandlung dieser Leiden auf andere Weise oft langwierig ist.

Da die Wirkung des Präparates auf die meisten tierpathogenen Mikroorganismen noch nicht — abgesehen von Pfeilers ausgedehnten Tb-Versuchen (mündliche Mitteilungen) — studiert ist, wurde mir

von Herrn Prof. Pfeiler mit Rücksicht auf die große klinische Bedeutung des Yatrens die Aufgabe gestellt, seine bakterizide bzw. wachstumshemmende Wirkung insonderheit auf die tierpathogenen Erreger in Reagenzglase einer Prüfung zu unterziehen. Auch einige menschenpathogene Bakterien wurden aus besonderen Gründen zu Vergleichszwecken in diese Prüfung einbezogen.

### Eigene Versuche.

#### Methodik.

Für die Prüfung der bakteriziden Wirkung eines Desinfektionsmittels sind verschiedene Methoden anwendbar. Man kann es entweder auf in Flüssigkeiten suspendierte Bakterien oder auf Bakterien, die an Drahtstücken, Glasgranaten oder Seidenfäden angetrocknet sind, einwirken lassen. Jede Methode hat ihre Vorteile und ihre Nachteile.

Ich entschied mich bei meinen Versuchen für die letztere Methode und benutzte als Haftobjekte für die zu verwendenden Bakterienarten Seidenfäden von etwa 2 cm Länge, Stärke 3, die im Trockenschrank bei 160° sterilisiert worden waren. Um diese Fäden mit den Bakterien gut imprägnieren zu können, legte ich mir Bouillonkulturen an, die nach 1—2 Tagen gut bewachsen waren, oder ich verwandte ebenso alte Schrägagarkulturen, von denen mit steriler Bouillon möglichst gleichmäßig, aber hoch konzentrierte Aufschwemmungen hergestellt wurden. Diese die Bakterien enthaltenden Flüssigkeiten bezeichne ich im folgenden kurz als Testflüssigkeit. Mit der Testflüssigkeit wurden die Fäden mehrere Std. bei Zimmertemperatur durchtränkt. Hierauf wurden sie einzeln nebeneinander in sterile Petrischalen gelegt und zur Trocknung etwa 12 Std. lang im Brutofen von 37° belassen. Die angegebene Zeit genügte hierzu. Das Trocknen geschah deswegen, weil die Testflüssigkeit in trockene Fäden schneller und tiefer eindringt als in feuchte. Aus demselben Grunde wird auch die Desinfektionsflüssigkeit rascher bis in das Innerste des Fadens aufgesogen und tritt deshalb wirksamer direkt an die Mikroorganismen heran.

Die getrockneten Fäden wurden dann mit den Desinfektionsflüssigkeiten verschiedener Konzentration übergossen. In diesen blieben sie je nach der beabsichtigten Wirkung verschieden lange, aber innerhalb genau abgemessener Zeiten liegen.

Nach Ablauf der beabsichtigten Einwirkungszeiten wurden die Fäden in Röhrchen, die die für die betreffende Bakterienart jeweils günstigste Nährlösung (meist Bouillon verschiedener Reaktion) enthielten, übertragen. Die Röhrchen kamen in den Brutofen von 37° und wurden 7 Tage lang auf etwaiges Wachstum beobachtet. Die Bouillon mußte steril bleiben, wenn die Konzentration des Yatrens und die Dauer der Einwirkung genügt hatten, die Bakterien abzutöten. Zeigte sich Trübung der Bouillon (Wachstum) in den Röhrchen, so stellte ich durch mikroskopische und kulturelle Prüfung, eventuell auf farbigen Nährböden, die Identität und Reinheit der betreffenden Bakterienart fest. Im allgemeinen ließ ich das Desinfizierens so lange auf die Bakterien einwirken, bis eine endgültige Abtötung derselben vermutet werden konnte. Die ersten Fäden nahm ich nach 1 Min. aus dem Desinfizierens und setzte dies in kurzen Intervallen fort. Auf diese Weise wurde die Abtötungszeit annähernd genau festgelegt.



An der Grenze der Abtötungszeit, also da, wo sich makroskopisch kein Wachstum der Erreger mehr zeigte, legte ich ebenfalls Kulturen, eventuell auf farbigen Nährböden, an, um sicher zu gehen, ob auch wirklich Keimabtötung stattgefunden hatte.

Um zu beweisen, daß die Bakterien von vornherein entwicklungs-fähig waren, wurden bei jedem Versuch zwei Fäden, die, ohne der Einwirkung des Yatrens ausgesetzt gewesen zu sein, sogleich in sterile Bouillon gebracht wurden, für Kontrolluntersuchungen benutzt.

Bei den Versuchen verwandte ich 5-, 3-, 1-,  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. Yatrenlösung, bei Streptokokken auch noch  $\frac{1}{10}$ -,  $\frac{1}{50}$ - und  $\frac{1}{100}$ -proz. Konzentrationen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden tabellarisch festgelegt<sup>1)</sup>.

Zu meinen Versuchen benutzte ich Reinkulturen von folgenden Stämmen, die mir teils von der Veterinäranstalt Jena zur Verfügung gestellt wurden, teils der früheren Bakteriensammlung der tierhygienischen Abteilung des jetzt polnischen Kaiser-Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg (ehemaliger Leiter: Prof. Dr. Pfeiler) entstammten, teils von dem Herrn Direktor des Hygienischen Instituts der Universität Jena, Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Abel, denen ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank hierfür ausspreche, überlassen worden waren. Die Streptokokken züchtete ich selbst aus eitrigen Thrombophlebitismassen eines Pferdes.

#### a) Streptokokken.

Einem Pferde mit einer eitrigen Thrombophlebitis in der Jugularis wurde etwas Eiter entnommen. Im mikroskopischen Ausstrich ließen sich zahlreiche Streptokokken erkennen, die Ketten bis zu etwa 8 Gliedern bildeten und grampositiv waren.

Durch Ausstrich auf Agarplatten erhielt ich isolierte Kolonien, die zunächst auf Agarschrägröhrchen weitergezüchtet wurden. Aus letzteren beimpfte ich Bouillon, die nach 24-stünd. Aufenthalt im Brutofen gut bewachsen war und als Testflüssigkeit diente.

Die Pathogenitätsprüfung ergab, daß eine mit  $\frac{1}{4}$  ccm Bouillonkultur subkutan geimpfte Maus nach 3 Tagen verendete. In ihren Organen wurden Streptokokken nachgewiesen.

Die Einwirkung des Yatrens auf die Streptokokken wurde zunächst in 5-, 3-, 1-,  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. Konzentration geprüft. Da das Resultat der Prüfung, wie aus nachfolgender Tabelle ersichtlich ist, günstig ausfiel, wurde die Prüfung auch auf die  $\frac{1}{10}$ -,  $\frac{1}{50}$ - und  $\frac{1}{100}$ -proz. Konzentration ausgedehnt.

1) In den Tabellen bedeutet: ++ starkes Wachstum, + gehemmtes Wachstum, — kein Wachstum.

## Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	+	—	—	—	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	—	—	—	—	—	—	
1/4 " "	++	++	++	—	—	—	—	—	—	
1/10 " "	++	++	++	++	++	+	—	—	—	
1/50 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1/100 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	

Aus den Versuchen ergibt sich eine starke Einwirkung des Yatrens auf Streptokokken. Sie waren durch die 5- und 3-proz. Konzentration in 10 Min. abgetötet, durch die 1-, 1/2- und 1/4-proz. geschah dies nach 1/2 Std. Selbst ganz niedrige Lösungen von 1/10, 1/50 und 1/100 Proz. führten die Abtötung verhältnismäßig rasch herbei, und zwar in 6 bzw. 12 Std. Wachstumshemmung war selbst bei Einwirkung von nur 3-proz. Lösung in 1 Min. festzustellen; 1-proz. Lösungen ließen diese Hemmung nach 10 Min. erkennen.

Diese Ergebnisse lassen eine große Wirksamkeit des Yatrens auf die durch Streptokokken hervorgerufenen Wundinfektionskrankheiten vermuten. Deshalb erscheint, wie Pfeiler (17) dies bereits getan hat, die Anwendung des Yatrens bei Streptokokkensepsis, Phlegmonen, Abszessen und Puerperalinfectionen indiziert. Auch sind hierdurch gewisse Aussichten für eine Drusebehandlung gegeben.

## b) Staphylokokken.

Benutzt wurde ein Laboratoriumsstamm des *Staphylococcus pyogenes aureus* aus dem Hygienischen Institut Jena.

Zuerst prüfte ich seine Pathogenität. Zu diesem Zwecke erhielt ein Meerschweinchen 1 cm einer 24-stünd. Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen trat Abszeßbildung in etwa Halbwalnußgröße ein. Darin ließen sich durch mikroskopischen Ausstrich zahlreiche Staphylokokken nachweisen.

Als Testflüssigkeit diente 24-stünd., gut gewachsene Bouillonkultur. Im übrigen gestaltete sich der Versuch so, wie in der Methodik angegeben ist.

## Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	++	++	++	++	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	++	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	

Wie aus der Tabelle ersichtlich, brauchen selbst die höheren Konzentrationen von 5 und 3 Proz. eine Zeit von 1 und 2 Std. zur Ab-

tötung der Staphylokokken. Auch eine Wachstumshemmung war hier nicht zu erkennen. Bei 1-proz. Lösung tritt die Abtötung nach 6 Std., bei  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. nach 12 Std. ein.

### c) Rinderabortusbazillus.

Von einem der Stämme mit der Bezeichnung B 8, die in der Veterinäranstalt Jena u. a. zur Herstellung eines Abortusimpfstoffes dienen, legte ich eine frische Kultur auf Traubenzucker-Glyzerinagar an. Diese wurde nach 2-tägigem Wachstum für die Testversuche verwandt.

Die Seidenfäden kamen nach der Einwirkung des Yatrens in Traubenzucker-Glyzerinbouillon.

#### Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	+	—	—	—	—	—	—	
$\frac{1}{2}$ " "	++	++	++	+	+	—	—	—	—	
$\frac{1}{4}$ " "	++	++	++	++	++	+	+	—	—	

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Rinderabortusbazillus durch die 5- und 3-proz. Yatrenlösung in starkem Maße beeinflusst wird. Er wird bereits in 1 bzw. 5 Min. durch die 5 bzw. 3-proz. Lösung vollkommen abgetötet. Bei 3 Proz. und einer Einwirkungs-dauer von 1 Min. wird Wachstumshemmung beobachtet. Bei den niedrigeren Konzentrationen ist eine bedeutend längere Zeit zur Abtötung notwendig. Die 1-proz. Lösung braucht  $\frac{1}{2}$  Std., die  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. 2 bzw. 12 Std. zur Abtötung. 1-,  $\frac{1}{2}$ -,  $\frac{1}{4}$ -proz. Lösungen wirken bei 10 Min.,  $\frac{1}{2}$  bzw. 2 Std. wachstumshemmend.

Da auch hohe Konzentrationen des Yatrens gut vom Körper vertragen werden, so dürften die obigen Resultate eine wesentliche Stütze für Pfeilers vorn erwähnte Auffassung bieten, wonach beim seuchenhaften Verkalben eine lokale, eventuell auch eine parenterale Behandlung neben der Behandlung mit Impfstoffen von allergrößter Bedeutung für die Niederkämpfung des Leidens ist.

### d) Rotlauf.

Für den Rotlaufversuch benutzte ich eine Kultur aus der Veterinäranstalt, die zur Immunisierung der Serumpferde diente und die Bezeichnung PIK. Pr. II. hat (Pferdeimmunisierungskultur).

#### Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	$\frac{1}{3}$ Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	++	++	+	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	+	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	+	—	—	—	—	
$\frac{1}{2}$ " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
$\frac{1}{4}$ " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	

Die Kultur war stark virulent für weiße Mäuse.

Als Testflüssigkeit diente 48-stünd. Bouillonkultur.

Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß die 5- und 3-proz. Yatrenlösung die Rotlaufbazillen in  $\frac{1}{2}$  Std. abtöten, die 1-proz. in 2 Std., die  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. Konzentration brauchen dazu 6 bzw. 12 Std. Wachstumshemmungen treten bei 5- und 3-proz. Lösungen schon nach 10 Min. auf, bei 1-proz. nach 1 Std.

### e) Proteus.

Der Proteusstamm war in der Veterinäranstalt aus zur bakteriologischen Untersuchung eingesandten Organen eines Fohlens des Hauptgestütes B. gewonnen worden. Er hat die Bezeichnung 1476/21. Als Testflüssigkeit diente 24-stünd. Schrägagarkulturabschwemmung.

#### Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	++	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	—	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	—	—	—	—	
$\frac{1}{2}$ " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
$\frac{1}{4}$ " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	

Der Proteus zeigt in seinem Verhalten gegenüber dem Yatren ein ähnliches Bild wie der Rinderabortusbazillus, nämlich: sehr starke Beeinflussung durch die 5- und 3-proz. Lösung, geringe durch die niedrigeren Konzentrationen.

Die Abtötungszeiten sind folgende:

5-proz. Lösung	tötet ab nach	5 Min.
3- " "	" " "	10 "
1- " "	" " "	2 Std.
$\frac{1}{2}$ - " "	" " "	6 "
$\frac{1}{4}$ - " "	" " "	6 "

### f) Milzbrand (Sporen).

Die Kultur entstammte der Bakteriensammlung des früheren Tierhygienischen Instituts zu Bromberg. Sie war aus einem Schafe isoliert, das an Milzbrand verendet war.

Die Kultur war noch stark virulent. Eine mit  $\frac{1}{2}$  Oese subkutan infizierte Maus starb nach 8 Std. an Milzbrand.

Für den Versuch dienten gut versportete Bouillonkulturen.

Die Resistenz der Milzbrandsporen gegen gespannten Wasserdampf war etwas stärker, als sie sonst zu sein pflegt. Erst in 15 Min. waren die Sporen abgetötet.

## Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.	Kontrollen	
5 % Lös.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	++	++
3 " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—		
1 " "	++	++	++	++	++	++	+	+	+	—		
$\frac{1}{2}$ " "	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+		
$\frac{1}{4}$ " "	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+		

Die Prüfung des Milzbrandregers ergab, daß eine Abtötung der Sporen durch die 5-, 3- und 1-proz. Konzentration erst in 48 Std. erreicht wurde, bei der  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. genügte diese Zeit nicht.

Aber ein anderes Moment fiel sehr auf, nämlich die starke Wachstumshemmung durch die 5- und 3-proz. Lösung. Sie wurde auch bei den schwächeren Konzentrationen nach längerer Einwirkungsdauer beobachtet. Makroskopisch konnte die Abtötungsgrenze aus diesem Grunde nicht bestimmt werden, da die Kulturen verhältnismäßig lange geringes Wachstum zeigten. Deswegen legte ich z. T. aus der ganzen Versuchsreihe mit der 5- und 3-proz. Lösung Ausstriche auf Agarplatten an. Dabei zeigte sich, daß die Zahl der hier gewachsenen Kolonien im Durchschnitt nur 3—5 betrug, während sie bei Ausstrichen aus der 1-,  $\frac{1}{2}$ - und  $\frac{1}{4}$ -proz. Lösung erheblich größer war. Der Gedanke einer therapeutischen Auswertung dieser Feststellungen ist naheliegend und hat seine Aufnahme in Versuchen der Veterinäranstalt bereits gefunden.

Bischoff (3) erreichte bei seinen Versuchen eine Abtötung der Milzbrandsporen schon bei einer Einwirkung von  $2\frac{3}{4}$  Std. Allerdings betrug deren Resistenz gegen Wasserdampf von  $100^{\circ}$  C nur 1 bis  $1\frac{1}{2}$  Min. gegenüber 15 Min. bei dem von mir benutzten Stamm. In diesem verschiedenen Verhalten gegenüber gespanntem Wasserdampf dürfte ein Grund für den verschiedenen Ausfall der Versuche zu suchen sein.

## g) Rauschbrand.

Der für die Versuche benutzte Rauschbrandstamm der Veterinäranstalt mit der Bezeichnung 16 bildete keine Verbände und schwärzte Gehirnbrei nicht.

Er war stark virulent. 0,02 ccm einer 24-stünd. Leberbouillonkultur töteten ein damit subkutan geimpftes Meerschweinchen nach 12 Std.

## Dauer der Einwirkung.

Yatren in	1 Min.	5 Min.	10 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.	Kontrollen	
5 % Lös.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	++	++
3 " "	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—		
1 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—		
$\frac{1}{2}$ " "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—		
$\frac{1}{4}$ " "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+		

Für den Versuch legte ich ebenfalls eine Leberbouillonkultur an, die nach 48 Stunden gut bewachsen war und dann als Testflüssigkeit diente. Die damit durchtränkten Fäden wurden nach der Einwirkung des Yatrens in Leberbouillon übertragen.

Der Rauschbrandversuch brachte ähnliche Verhältnisse in bezug auf die Einwirkung des Yatrens wie der Milzbrand.

Es trat auch hier bei den 5- und 3-proz. Konzentrationen des Yatrens eine starke Hemmung des Wachstums ein. Während bei den schwächeren Konzentrationen als 5 und 3 Proz. neben starker Gasentwicklung ein dicker Bodensatz zu sehen war, war in den letzteren nur geringe Gasbildung vorhanden. Die Wachstumshemmung blieb bis zum Ende der Beobachtungszeit bestehen.

Die Abtötung der Rauschbrandsporen wurde etwas früher erreicht als beim Milzbrand. Sie trat durch die 5- und 3-proz. Lösung nach 24 Std. ein, durch die 1- und  $\frac{1}{2}$ -proz. nach 48 Std., bei  $\frac{1}{4}$ -proz. Lösung genügte diese Zeit nicht. Hier war nur eine Entwicklungshemmung festzustellen.

### Typhus-Coli-Gruppe.

Aus der Typhus-Coli-Gruppe habe ich folgende Vertreter geprüft:

- 1) Ferkelruhr-Coli, Veterinäranstalt, Bezeichnung 922, gezüchtet aus einem zur bakteriologischen Untersuchung eingesandten, verendeten Schwein.
- 2) Gl. 3. kl. (Bezeichnung Samuel I; gezüchtet aus dem Institutspferd Samuel des früheren Tierhygienischen Instituts zu Bromberg).

Pfeiler (23) wählte diese Stammesbezeichnung für Bazillen vom biochemischen Verhalten des *Bact. coli commune*, die er in den Lungen eines zur Sektion eingelieferten rotzverdächtigen Pferdes fand. Sie gehören zur Coli-Typhus-Gruppe und haben die Eigentümlichkeit, von dem Serum rotzkranker Pferde hoch agglutiniert zu werden. Extrakte, die aus ihnen hergestellt sind, bewirken mit einem Teil der Sera rotziger Pferde Ablenkung. Umgekehrt erlangt das Serum von Pferden, die mit diesen Bakterien vorbehandelt wurden, die Fähigkeit, Rotzbazillen zu agglutinieren bzw. im Ablenkungsversuch mit Extrakten aus Rotzbazillen positive Reaktionen zu erreichen. Ein mit diesen Bazillen identischer Stamm ist auch von Leichtentritt aus Veränderungen eines Menschen gezüchtet worden, der ebenfalls unter rotzverdächtigen Erscheinungen erkrankt war.

- |   |                               |
|---|-------------------------------|
| 4) <i>Bac. enteritidis</i> Gärtner  | } Hygienisches Institut Jena. |
| 3) Paratyphus B,  |                               |
| 5) Stutenabortus (Veterinäranstalt, Bezeichnung: Hannover 140 [vor Jahresfrist aus dem Hygienischen Institut Hannover bezogen]).                        |                               |
| 6) <i>Suipestifer</i> (Kunzendorf).   |                               |
| 7) Hühnertyphus (Bezeichnung: Schirpitz. (Die 3 letztgenannten Kulturen stammten aus der Sammlung des früheren Tierhygienischen Instituts zu Bromberg.) |                               |
| 8) Ferkeltyphus.  |                               |
| 9) <i>Bact. dysenteriae</i> Shiga-Kruse   | } Hygienisches Institut Jena. |
| 10) Typhus  |                               |

Bouillonabschwemmungen von 24-stünd. Schrägagarkulturen der angeführten Stämme dienten als Testflüssigkeit. Vorher waren ihre morphologischen Eigenschaften und ihr kulturelles Verhalten, letzteres besonders gegenüber der Conradi-Drigalski-Platte und auf der sog. bunten Reihe geprüft worden.

**h) Ferkelruhr (Coli).**

**Dauer der Einwirkung.**

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5 % Lös.	++	++	++	++	++	+	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	+	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	—	

**i) Gl. 3. kl.**

**Dauer der Einwirkung.**

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5 % Lös.	++	++	++	++	++	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	+	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	—	

**k) Paratyphus B.**

**Dauer der Einwirkung.**

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5 % Lös.	++	++	++	++	++	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	++	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	

**l) Bac. enteritidis Gärtner.**

**Dauer der Einwirkung.**

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5 % Lös.	++	++	++	++	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	++	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	

**m) Stutenabortus.**  
Dauer der Einwirkung.

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	++	++	++	++	—	—	—	+	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	++	—	

**n) Bac. sulpestifer (Kunzendorf).**  
Dauer der Einwirkung.

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrolle
5% Lös.	++	++	++	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	++	++	++	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	++	++	—	—	

**o) Hühnertyphus.**  
Dauer der Einwirkung.

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrolle
5% Lös.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	+	+	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	+	+	+	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	++	+	—	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	+	—	—	—	

**p) Ferkeltyphus.**  
Dauer der Einwirkung.

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrolle
5% Lös.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	+	+	—	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	+	+	—	—	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	+	+	—	—	—	

**q) Bact. dysenteriae Shiga-Kruse.**  
Dauer der Einwirkung.

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	+	+	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	+	+	—	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	+	+	—	—	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	+	+	—	—	—	



**r) Typhus.**  
**Dauer der Einwirkung.**

Yatren in:	1 Min.	5 Min.	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrollen
5% Lös.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++
3 " "	++	+	—	—	—	—	—	—	—	
1 " "	++	++	++	+	—	—	—	—	—	
1/2 " "	++	++	++	++	+	—	—	—	—	
1/4 " "	++	++	++	++	++	+	—	—	—	

Wegen ihrer systematischen Zugehörigkeit zu einer großen Bakteriengruppe bringe ich die Ergebnisse der Einwirkung des Yatrens auf die in den letzten Versuchen benutzten Bakterien zusammenfassend in folgender Uebersichtstabelle:

**Uebersichtstabelle.**

Stamm:	5%	3%	1%	1/2%	1/4%	
Coli	6 Std.	6 Std.	12 Std.	12 Std.	24 Std.	Abtötungszeit
Gl. 3. kl.	2 "	6 "	12 "	24 "	24 "	"
Paratyphus B	2 "	2 "	6 "	24 "	über 24 "	"
Gärtner-B.	1 "	2 "	12 "	24 "	" 24 "	"
Stuten-Abortus	1 "	1 "	6 "	12 "	24 "	"
Bac. suipestifer	1/2 "	1 "	12 "	12 "	12 "	"
Hühnertyphus	1/2 "	1/2 "	6 "	6 "	6 "	"
Bact. dysenteriae Sh.-Krusse	1 Min.	1/2 "	2 "	2 "	6 "	"
Ferkeltyphus	5 "	10 Min.	2 "	2 "	6 "	"
Typhus	5 "	10 "	1 "	2 "	6 "	"

Aus der Uebersichtstabelle ergibt sich folgendes:

Der Coli-Bazillus und der mit ihm biochemisch übereinstimmende Stamm Gl. 3 klein werden durch das Yatren nur in ganz geringem Maße beeinflusst, da selbst die starken Konzentrationen 6 Std. zur Abtötung der Stämme brauchen.

Die Mehrzahl der übrigen Vertreter läßt sich nach den Versuchsergebnissen in 2 Gruppen zusammenfassen, und zwar in eine, die der Einwirkung des Yatrens eine starke Resistenz entgegensetzt, — hierher gehören der Paratyphus B, der Gärtner-, der Stutenabortusbazillus — und in eine Gruppe, die weniger resistent ist — dazu gehören der Ferkeltyphus, das Bact. dysenteriae Shiga-Krusse, der Typhus —. Die in den Desinfektionsversuchen feststellbare Zusammengehörigkeit der einzelnen Typen geht daraus hervor, daß bei der 1. Gruppe die Abtötung durch die 5- und 3-proz. Konzentration nach 1 bzw. 2 Std., in den niedrigen Konzentrationen erst nach 24 Std. bzw. gar nicht erfolgt.

Die Vertreter der weniger resistenten Gruppe dagegen sind alle nach 6 Std., auch durch die 1/4-proz. Lösung abgetötet, in der 5- und 3-proz. geschieht dies bereits nach 5 und 10 Min., beim Bact. dysenteriae Shiga-Krusse nach 1 Min. und 1/2 Std.

Auch bei den 1- und 1/2-proz. Lösungen tritt diese Zusammengehörigkeit hervor.

Der Suipestifer und der Hühnertyphusbazillus bilden, unter dem Gesichtspunkt unserer Fragestellung, gewissermaßen einen Uebergang zwischen diesen beiden Gruppen. Die Zeitdauer bis zu ihrer Vernichtung beträgt bei der 5-proz. Lösung  $\frac{1}{2}$  Std. und übersteigt bei  $\frac{1}{4}$  Proz. nicht 12 bzw. 6 Std.

Es trat also bei den für die Versuche gewählten Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe nicht die erwartete Gleichmäßigkeit in der Resistenz gegenüber dem Yatren zutage, sondern gewisse deutliche Unterschiede.

Ein Kontrollversuch mit anderen homologen Stämmen, allerdings nur bei der 3- und 1-proz. Konzentration wiederholt, hatte die gleichen Ergebnisse wie der Hauptversuch. Auch bei diesem Versuch handelte es sich um Laboratoriumsstämme. Ob sich frisch gezüchtete, virulente Stämme auch so verhalten, muß der Prüfung an weiteren Stämmen überlassen werden.

#### Zusammenfassung.

Aus den Ergebnissen meiner Versuche im Reagenzglas geht hervor, daß im Vergleich mit anderen Präparaten eine allgemeine, stärker desinfizierende Wirkung des Yatrens nicht festzustellen ist. Seine bakterizide Kraft ist nicht gleichmäßig; sie erstreckt sich in brauchbarem Maße nur auf einzelne Mikroorganismen, bei denen teilweise eine starke Einwirkung festzustellen ist, so daß man deswegen hier beinahe an eine Art spezifischer Wirkung denken könnte.

Dies tritt besonders deutlich hervor bei den Versuchen mit Streptokokken, bei denen selbst in ganz schwachen Konzentrationen wie  $\frac{1}{100}$  Proz. eine Abtötung erreicht wurde, ferner beim Rinderabortusbazillus. Auch konnte bei diesen teilweise eine starke Wachstumshemmung festgestellt werden.

Befriedigen könnten auch die Ergebnisse in bezug auf Wachstumshemmung beim Milzbrand und Rauschbrand. Wenn auch hier eine Abtötung erst nach 24 Std. und später eintrat, bzw. gar nicht in der gebrauchten Zeit erreicht wurde, so machte sich doch eine so starke Wachstumshemmung bemerkbar, daß makroskopisch nicht entschieden werden konnte, ob eine Abtötung eingetreten war. Dies dürfte immerhin beachtlich sein bei einem Präparat, das die Gewebe so wenig reizt und vom Körper selbst in verhältnismäßig großen Gaben vertragen wird.

Gering ist die Einwirkung gegenüber den Staphylokokken und im allgemeinen auch gegenüber der Typhus-Coli-Gruppe. In dieser Gruppe machen allerdings der Typhus, Ferkeltyphus und das Bact. dysenteriae Shiga-Kruse eine Ausnahme; bei diesen ist, wie aus den Tabellen hervorgeht, die Einwirkung nicht zu verkennen.

Das Präparat genügt also sowohl hinsichtlich Konzentration als

auch Zeit in vielen Fällen nicht den Anforderungen, die an ein Desinfizens von gleichmäßiger Wirkung auf die verschiedensten Bakterienarten gestellt werden. Wenn es sich trotzdem bei der Anwendung in der klinischen Medizin so ausgezeichnet bewährt hat, während die Desinfektionsprüfung im Reagenzglase, verglichen mit anderen Präparaten, kein besonders günstiges Ergebnis zeitigte, so dürfte dies wohl z. T. auf nicht spezifische Reizvorgänge, die im Organismus ausgelöst werden, zurückzuführen sein, z. T. aber auf seine spezifisch eingestellten Eigenschaften (Wirkung auf Streptokokken!).

Bei der Wundbehandlung kommt nach den Ausführungen von Finger (15) auch nicht in erster Linie die desinfizierende Kraft des betreffenden Mittels in Frage, sondern hauptsächlich die Fähigkeit, das erkrankte Gewebe zu Abwehrmaßnahmen anzuregen. Auf die Auslösung eines Schwellenreizes im Sinne Zimmers oder der Reizheilwirkung nach Pfeiler bzw. einer Protoplasmaaktivierung im Sinne Weichardts dürfte auch die gute Wirkung des Yatrens bei krankhaften Prozessen lokaler und allgemeiner Natur zurückzuführen sein, ferner die Erfolge, die bei der spezifisch-nichtspezifischen (Vakkatrene nach Pfeiler) Therapie erzielt worden sind.

#### Literatur.

- 1) Abel, Zur Trockenbehandlung des Vaginal- und Uteruskatarrhs mittels Yatren. (Berl. klin. Wochenschr. 1912. Nr. 53.) — 2) Blum, Yatrenpuderbehandlung in der Gynäkologie. (Dtsch. med. Wochenschr. 1913. Nr. 30.) — 3) Bischoff, Bekämpfung der Dauerausscheidung von Bazillen mittels Yatren. (Ebenda. 1913. Nr. 30.) — 4) Freund, Erfahrungen mit Yatren puriss. zur Unterstützung der Diphtheriebehandlung. (Ebenda. 1913. Nr. 40.) — 5) Kausch, Ueber die Behandlung der Diphtherie mit intravenöser Seruminjektion und Yatren. (Ebenda. 1913. Nr. 48.) — 6) Martini, Ueber die Notwendigkeit gemeinverständlicher Belehrung bei Diphtheriegefahr. (Ebenda. 1913. Nr. 34.) — 7) Dietrich, Yatren, ein ungiftiges Tiefenantiseptikum. (Ebenda. 1920. Nr. 39.) — 8) Nast, Eine neue Bubontherapie bei Ulcus molle. (Ebenda. 1920. Nr. 23.) — 9) Scheidtmann, Yatren gaze in der Wundbehandlung. (Ebenda. 1920. Nr. 27.) — 10) Sonntag, Erfahrungen mit Yatren in der kleinen Chirurgie. (Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 19.) — 11) Lindig, Die klinische Bewertung einer Jodbenzolsulfonsäure vom geburtshilflichen Standpunkt aus. (Med. Klin. 1921. Nr. 13.) — 12) Mühlens, P., und Menk, W., Ueber Behandlungsversuche der chronischen Amöbenruhr mit Yatren. (Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 26.) — 13) Hinz, Ein ungiftiges Konservierungsmittel für Sera? (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1921. Nr. 13.) — 14) Zimmer, Schwellenreiztherapie. (Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 18; Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 20.) — 15) Finger, Erfahrungen in der antiseptischen Wundbehandlung infizierter Wunden. (Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 29.) — 16) Pfeiler und Pohle, Chemotherapeutische Versuche mit Yatren bei Lymphangitis epizootica. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921. Nr. 40.) — 17) Pfeiler, Lokale Yatrenbehandlung der Sexualorgane, insbesondere bei ansteckendem Verfohlen und Verkälben. (Tierärztl. Rundsch. 1921. Nr. 47.) — 18) Pfeiler und Oberländer, Yatren als spezifisches Mittel zur Behandlung der Aktinomykose. (Mittel. d. Tierseuchenst. d. Thür. Landesanst. f. Viehver. Jena. 1921. Nr. 11/12.) — 19) Pfeiler,

Heilung der Aktinomykose durch Yatren. (Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 48.) — 20) Pfeiler, Die Heilung der Aktinomykose mittels Yatren. (Tierärztl. Rundsch. 1921. Nr. 45.) — 21) Pfeiler, Kasuistische Notizen über Behandlung von Haut- und Haarleiden mittels Yatren. (Mitteil. d. Tierseuchenst. d. Thür. Landesanst. f. Viehverv. Jena. Jahrg. 2. 1922. Nr. 2.) — 22) Krüger und Pfeiler, Protoplasmaaktivierung bzw. Schwellenreiztherapie zur Behandlung von Haut- und Haarleiden. (Dermatolog. Wochenschr. Bd. 74. 1922. Nr. 5.) — 23) Pfeiler, Beitrag zur Differenzierung der Rotzkrankheit in pathologisch-anatomischer, ätiologischer und serologischer Beziehung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. p. 168—171.) — 24) Bongert, Bakteriologische Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der experimental-ätiologischen Forschung, der Immunitätslehre und der Schutzimpfungen. 5. Aufl. Berlin (Schwetz) 1919. — 25) Pfeiler, Tierpathogene Erreger der Paratyphusgruppe. (Lehrb. d. Mikrobiol. herausg. v. E. Friedberger und R. Pfeiffer. Jena [G. Fischer] 1919. Bd. 2. [Spez. Teil]. p. 915—930.)

---

### Inhalt.

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>Bode, Paul</b>, Ueber das <i>Balantidium coli hominis</i> (Malmsten) und die bei dieser Art beobachteten Knospungsvorgänge. Mit 8 Abbildungen im Text, S. 285.</p> <p><b>Breitenstein, Alfred</b>, Untersuchungen über die bakterizide bzw. wachstumshemmende Wirkung des Yatrens, S. 294.</p> <p><b>Hage, Soll</b> und kann eine Verwurmung von Schulkindern bekämpft werden? Ausgeführt an einem Beispiel aus Thüringen, S. 272.</p> <p><b>v. Jeney, A.</b>, Ueber die Vertilgung der Nisse mittels Antiforminlösung, S. 292.</p> <p><b>Manteufel, P.</b>, Untersuchungen zu der Frage, ob die pathogenen Spirochäten sauerstoffbedürftige oder sauerstoffscheue Mikroorganismen sind, S. 266.</p> | <p><b>Nakumara, O.</b>, Versuche über das Verhalten hämolytischer Streptokokken im Mäusekörper, S. 228.</p> <p><b>Sachs-Mücke</b>, Die Gonokokkenkultur durch Zellaufschlüsselung, S. 260.</p> <p><b>Sikora, H.</b>, Beitrag zur Kenntnis der <i>Rickettsia prowazeki</i>. Vorläufige Mitteilung, S. 271.</p> <p><b>Silber, L.</b>, Ueber das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion, S. 250.</p> <p><b>Toyoda, Hideo</b>, u. <b>Yung-nen Yang</b>, Die Beziehung des bakterizidiefesten Tuberkelbazillus zur Tuberkuloseimmunität. Mit 1 Tafel, S. 225.</p> <p>— u. <b>Tsuru, Kunitake</b>, Beziehung des bakterizidiefesten Rotzbazillus zur Rotzimmunität. Mit 1 Tafel, S. 264.</p> |
|--|--|

# Inhaltsverzeichnis.

## I. Verzeichnis der in Band 89 enthaltenen Arbeiten.

Die mit \* bezeichneten Seitenzahlen beziehen sich auf den Bericht über die 9. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie“, der als Beiheft zu Band 89 (Heft 1/3) gedruckt wurde.

- |   |  |
|---|--|
| <b>Amster</b> , Ein neues Züchtungsverfahren. 166*  | <b>Chao Shi-Tsing s. Braun, H.</b>   |
| <b>Bach, F. W., u. Klefer, K. H.</b> , Untersuchungen über Blastocystis. 72   | <b>Christensen, E.</b> , Bemerkungen zu dem Zeißlerschen binokularen Plattenkulturmikroskop. 112                               |
| <b>Beger, H.</b> , Zur Frage der Konservierung präzipitierender Antisera. 210   | <b>Dold, H.</b> , Demonstration von „Trocken-Tropfen“-Bildern. 235*  |
| <b>Bender, W., u. Prausnitz, C.</b> , Ueber die Beziehungen zwischen Temperatur und Komplementwirkung. I. Mitteilung. 219*  | —, Ueber den Wert kurvenmäßiger Ablesung der Luesreaktion. 208*  |
| <b>Bering, Hans</b> , Ueber die Meinickesche Trübungsreaktion (M. T. R.) bei Lues. 213  | <b>Dresel, E. G., u. Keller, W.</b> , Bakterientötende Kräfte im Serum von Gesunden und Kranken. 240*                          |
| <b>Bieber, W.</b> , Neue Versuche über Diphtherie-Schutzimpfung mit einem modifizierten Behringschen TA. 143*   | <b>Engering, Paul</b> , Zur bakteriologischen Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen. 120 |
| <b>Blumenthal, Georg</b> , Universalpipette für serologische Arbeiten (speziell für Wassermann-Untersuchungen mit $\frac{1}{4}$ -Dosen). Erwiderung auf die Bemerkungen von Priv.-Doz. Dr. F. W. Bach. 222                                    | <b>Engering s. Jacobitz, E.</b>  |
| <b>Bode, Paul</b> , Ueber das Balantidium coli hominis (Malmsten) und die bei dieser Art beobachteten Knospungsvorgänge. 285  | <b>Forrai, Elemér</b> , Balantidien-Colitis. 186   |
| <b>Braun, H., u. Chao Shi-Tsing</b> , Ueber das Blutgift der Proteus-Bazillen. Zugleich ein Beitrag zur Genese der Bakterienblutgifte. 139  | <b>Fraenkel, Eugen</b> , Ueber eine einfache Sporenfärbungsmethode. 106  |
| <b>Breitenstein, Alfred</b> , Untersuchungen über die bakterizide bzw. wachstumshemmende Wirkung des Yatrens. 294   | <b>Fränkel, M. s. Lange, L.</b>  |
| <b>Bresslau</b> , Die Ausscheidung entgiftender Schutzstoffe bei Ciliaten. 87*  | <b>Giemsa, G.</b> , Das Wesen der Giemsa-Färbung. 99   |
| <b>Bukofzer, Adolf</b> , Versuche zur Feststellung des Gehaltes an ablenkenden Substanzen in verschiedenen gegen die Erreger der hämorrhagischen Septikämie gerichteten Immunsereen, mit besonderer Berücksichtigung der Geflügelcholera. 161 | <b>Gildemelster, E.</b> , Weitere Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen. 181*   |
|   | <b>Gins, H. A.</b> , Neuere Ergebnisse der experimentellen Maul- und Klauenseucheforschung. 159*                               |
|   | <b>Gózonl, Ludwig, u. Kramer, Eugen</b> , Reduktionsversuche mit Bakterien. 193  |
|   | <b>Hage, Soll</b> und kann eine Verwurmung von Schulkindern bekämpft werden? Ausgeführt an einem Beispiel aus Thüringen. 272   |
|   | <b>Haller</b> , Die chemischen Grundlagen der Desinfektionswirkung. 2*   |
|   | <b>van Heelsbergen, T.</b> , Kuhpocken beim Menschen durch das Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa equi. (Der Zu-        |

- sammenhang zwischen der Stomatitis pustulosa contagiosa equi, den spontanen Kuhpocken, den Geflügelpocken und der Vakzine.) 173
- Herzberg**, Bakteriologische und physiologisch-chemische Untersuchungen mit o-oxy-jod-sulfon-benzolpyridin (Yatren). Ein Beitrag zur Reizkörpertherapie. 238\*
- Hesselbach, Kurt**, Die trypanozide Wirkung von Bayer 205 auf Trypanosoma equiperdum. 48
- Heuer s. Lange, L.**
- Hilgers**, Ernährungszustand und Komplementgehalt beim Meerschweinchen. 217\*
- Jacobitz, E., u. Engerling**, Die Kodama-sche Syphilisreaktion. 116
- v. Jeney, A.**, Ueber die Verteilung der Nisse mittels Antiforminlösung. 292
- Kiefer, K. H. s. Bach, F. W.**
- Kimmelstiel, P.**, Ueber eine biologische Eigenschaft eines Wurzelbazillus. 113
- Keller, W. s. Dresel, E. G.**
- Koch, Jos.**, Die Tätigkeit und die Bedeutung der Kapillarendothelien bei der hämatogenen Allgemeininfektion. 243\*
- Kolle u. Schloßberger**, Chemotherapeutische Versuche bei Tuberkulose, sowie über Experimente mit Abortivbehandlung der Kaninchensyphilis. 108\*
- Knorr, Maximilian**, Ueber die fusospirilläre Symbiose, die Gattung Fusobacterium (K. B. Lehmann) und Spirillum putigenum. (Zugleich ein Beitrag zur Bakteriologie der Mundhöhle.) II. Mitteilung. Die Gattung Fusobacterium. 4
- Kramár, Eugen s. Gózony, Ludwig.**
- Kuhn**, Weitere Ergebnisse der Erforschung der A-Formen bei Bakterien. 199\*
- Lange**, Demonstration eines Blutnährbodens. 154\*
- **u. Fränkel, M.**, Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Tuberkelbazillen. 150\*
- **u. Heuer**, Einfluß des Verdünnungsmediums auf Antikörperreaktionen. 224\*
- Leon, N.**, Ein neuer Fall von Taenia cylindrica. 191
- Levinthal, W.**, Morphologie der hämoglobinophilen Bazillen und die Influenzafrage. 132\*
- Mandelbaum**, Ein neuer Nährboden zur Diphtheriediagnose bzw. zur Differenzierung der echten Diphtheriebazillen. Farbstoffbildende Abkömmlinge der Diphtheriebazillen. 148\*
- Manninger, R.**, Zur Aetiologie des Ferkeltyphusbazillus. 23
- Manteufel, P.**, Ueber Anaerobenzüchtung. 248\*
- , Untersuchungen zu der Frage, ob die pathogenen Spirochäten sauerstoffbedürftige oder sauerstoffscheue Mikroorganismen sind. 266
- Mießner**, Rauschbrand und Pararauschbrand. 123\*
- Morgenroth**, Zur Kenntnis der Arzneifestigkeit. 110\*
- Nakumara, O.**, Versuche über das Verhalten hämolytischer Streptokokken im Mäusekörper. 228
- Neufeld**, Desinfektionspraxis. 28\*
- Nöller**, Die Bekämpfung der hygienisch wichtigen tierischen Schädlinge. 37\*
- Oehler, Rud.**, Dictyostelium mucoroides (Brefeld). 155\*
- Olitzki**, Die Unterscheidung des Bacillus breslaviensis vom Paratyphusbazillus. 156\*
- Poppe, K.**, Die Bedeutung der Konglutinations- und KH-Reaktion für die Serumdiagnose des Rotzes. Mit 1 Kurve im Text. 29
- Prausnitz, C. s. Bender, W.**
- **Der Bacillus mucosus anaërobus.** 126\*
- , Untersuchungen über den d'Herelleschen Bakteriophagen. (Erste Mitteilung: Die Natur des Bakteriophagen.) 187\*
- Raebiger, H.**, Ueber die rationelle Rattenvertilgung vom hygienischen und ökonomischen Standpunkt. 156\*
- Reichenbach**, Die theoretischen Grundlagen der Desinfektion. 15\*
- Ruge, Heinrich**, Vergleichende Untersuchungen über die Methoden der serologischen Luesdiagnostik. 127
- Sachs-Mücke**, Die Gonokokkenkultur durch Zellaufschliebung. 260
- Schittenhelm, A.**, Ueber Theorie und Praxis der Proteinkörperwirkung. 90\*
- Schlossberger s. Kolle.**
- Schnabel**, Ueberempfindlichkeitsversuche an Bakterien. 111\*
- Schneider, Martin**, Infektionen der Harnwege durch Staphyloc. albus. 22
- Schnürer**, Ueber Veränderungen säurefester Bakterien in Kulturen auf Saponin-haltigen Nährböden. 150\*
- Schumacher, J.**, Demonstration zum chemischen Aufbau der Hefezelle. 206\*
- , Die Prozesse der Zellfärbung. 206\*
- Seiffert, W.**, Ein Beitrag zur Variation der Bakterien und zum d'Herelleschen Phänomen. 195\*
- **s. Uhlenhuth.**
- Seitz**, Die Differenzierung der Streptokokken der Mundhöhle. 135\*
- Selter, H.**, Ueber Tuberkulose-Schutzimpfung. 149\*
- Sikora, H.**, Beitrag zur Kenntnis der Rickettsia prowazeki. Vorläufige Mitteilung. 271
- Silber, L.**, Ueber das Wesen der Weill-Felixschen Reaktion. 250
- Süpfle**, Ueber das sogen. Arndt-Schulz-sche biologische Grundgesetz. 112\*
- Toyoda, Hideo, u. Tsuru Kunitake**, Beziehung des bakterizidiefesten Rotzbazillus zur Rotzimmunität. 264
- **u. Yung-nen Yang**, Die Beziehung des bakterizidiefesten Tuberkelbazillus zur Tuberkuloseimmunität. 225\*
- Trautwein, C. s. Waldmann, O.**

- Tsuru Kunitake s. Toyoda Hidezo.**  
**Uhlenhuth u. Seiffert, Zur Chemotherapie der Kaninchensyphilis mit organischen Antimonpräparaten.** 177\*  
**Unna, P. G., Zwei Bemerkungen zum Aufsatz „Giemsa: Das Wesen der Giemsa-Färbung“.** 223  
**Waldmann, O., u. Trautwein, C., Ueber Infektion und Immunität bei Maul- und Klauenseuche.** 162\*  
**Weißberg, Die infektiöse Lymphocystis-krankheit der Fische in ihrer Bedeutung für die Auffassung von Zelleinschlüssen bei den sog. Chlamydozoonkrankheiten.** 169\*  
**Wiegert, E., Ueber die Verwendung von Pilzextrakt an Stelle von Fleischextrakt bzw. Fleischwasser zur Herstellung von Bakteriennährböden.** 109  
**Wolff, G., Weitere Untersuchungen über die Verbreitung der durch Fleckfieber-serum agglutinablen Proteus (X)-Stämme. (Zur Klärung der Weil-Felixschen Reaktion.)** 225\*  
**Yung-nen Yang, s. Toyoda, Hidezo.**  
**Zdansky, Erich, Untersuchungen über den Stoffwechsel der Bakterien. I. Die Bedeutung freier Aminosäuren, demonstriert an der Indolreaktion.** 1  
**Zehetmayr, Haus, Ueber die Wirksamkeit des normalen Rinderserums bei der Milzbrandinfektion.** 153  
**Zeißler, Die Diagnostik der anaëroben Sporenbildner.** 117\*  
**Zorn, Werner, Ein Kunstgriff bei der Kerzenfiltration kleiner Flüssigkeitsmengen.** 111  
**Zuelzer, Margarete, Freilebende Wasser-spirochäten als Krankheitserreger.** 171\*

## II. Sachverzeichnis.

- A-Formen bei Bakterien. 199\*  
 Anaërobenzüchtung. 248  
 Anaërobier, Sporenbildner, Diagnostik. 117\*  
 Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.  
 Antiformin zur Vertilgung von Läuseisäe. 292  
 Antikörperreaktionen, Einfluß des Verdünnungsmediums. 224\*  
 Antimonpräparate bei Kaninchensyphilis. 177\*  
 Antisera, präzipitierende, Konservierung. 210  
 Arndt-Schulzsches biologisches Grundgesetz. 112\*  
 Arzneifestigkeit. 110\*  
 Bacillus breslaviensis. 156\*  
 Bakterien, A-Formen. 199\*  
 —, Reduktionsversuche. 193  
 —, Stoffwechsel. 1  
 —, Ueberempfindlichkeitsversuche. 111\*  
 Bakteriophage. 189\*  
 Bakterizidie. 240\*  
 Balantidien-Colitis. 186  
 Balantidium coli hominis. 285  
 Bayer 205, Wirkung auf Tryp. equiperdum. 48  
 Behringsches TA, modifiziertes, bei Diphtherie. 143\*  
 Blastocystis. 72  
 Blutgift der Proteusbazillen. 139  
 Chlamydozoonkrankheiten. 169\*  
 Ciliaten, Ausscheidung entgiftender Schutzstoffe. 87\*  
 Colitis durch Balantidien. 186  
 Desinfektion. 2\*, 15\*, 28\*  
 Dictyostelium mucoroides. 155\*  
 Diphtherie, Diagnose. 148\*  
 —, Schutzimpfung. 143\*  
 Diphtheriebazillen, Differenzierung. 120, 148\*  
 —, farbstoffbildende. 148\*  
 Endothelien der Kapillaren. 243\*  
 Ernährungszustand und Komplementgehalt. 217\*  
 Färbungsmethode für Sporen. 99  
 Ferkelparatyphus, Aetiologie. 23  
 Filtration durch Kerzen. 111  
 Fleckfieber, Verbreitung der Proteus-X-Stämme. 225\*  
 —, Weil-Felix-Reaktion. 250  
 Fusobakterium. 4  
 Geflügelcholera; Immuserum. 161  
 Geflügelpocken. 173  
 Giemsa-Färbung. 99, 223  
 Gonokokkenkultur. 260  
 Hämoglobinophile Bazillen, Morphologie. 132\*  
 Hämorrhagische Septikämie, Immuserum. 161  
 Harnwege, Infektion durch Staphylococcus albus. 22  
 Hefezelle, chemischer Aufbau. 206\*  
 d'Herellsches Phänomen. 181\*, 187\*, 195\*  
 Indolreaktion. 1  
 Influenza. 132\*  
 Kaninchensyphilis, Abortivbehandlung. 108\*

Kaninchensyphilis, Antimonpräparate.	177*	Säurefeste Bakterien auf saponinhaltigen Nährböden.	150*
Kapillarendothelien.	243*	Saponinhaltige Nährböden, Verhalten säurefester Bakterien.	150*
Kerzenfiltration, Kunstgriff.	111	Schädlingsbekämpfung.	37*
KH-Reaktion bei Rotz.	29	Serumdiagnose des Rotzes.	29
Kodamasche Syphilisreaktion.	116	Spirillum sputigenum.	4
Komplementgehalt und Ernährungszustand.	217*	Spirochäten, pathogene, Kultur.	266
Komplementwirkung, Temperatur.	219*	—, Wasser-, als Krankheitsüberträger.	171
Konglutinations-Reaktion bei Rotz.	29	Sporenfärbung.	106
Konservierung präzipitierender Antisera.	210	Staphylococcus albus, Infektion der Harnwege.	22
Kuhpocken beim Menschen.	173	Stoffwechsel der Bakterien.	1
Läuse, Vertilgung der Nisse.	292	Stomatitis pustulosa contagiosa equi.	173
Lymphocystiskrankheit der Fische, infektiöse.	169*	Streptokokken, Differenzierung.	135*
Maul- und Klauenseuche, experimentelle.	159*	—, hämolytische, im Mäusekörper.	228
— — —. Infektion und Immunität.	162*	Suipestifer-Bazillen, Erreger des Ferkeltypus.	23
Meinickesche Trübungsreaktion bei Syphilis.	213	Symbiose, fusospirilläre.	4
Mikroskop, Plattenkultur-, nach Zeissler.	112	Syphilis-Diagnostik, serologische.	127
Milzbrand, Wirkung normalen Rinderserums.	153	—, Kaninchen-, Abortivbehandlung.	108*
Mundhöhle, Bakteriologie.	4	—, Antimonpräparate.	177*
Nährböden für Bakterien, Verwendung von Pilzextrakt.	109	— Reaktion, kurvenmäßige Ablesung.	208*
Nährböden für Diphtheriediagnose.	148*	— —, nach Kodama.	116
Oligodynamische Metallwirkung.	112	— —, nach Meinicke.	213
Pararanschbrand.	123*	Taenia cylindrica.	191
Paratyphusbazillus.	156*	Trocken-Tropfen-Bilder.	235*
Pilzextrakt für Nährböden.	109	Trypanosoma equiperdum, Wirkung von Bayer 205.	48
Pipette, Universal-, für Wassermann-Reaktion.	222	Tuberkelbazillus, bakterizidiefester.	225
Plattenkulturmikroskop, binokulares, nach Zeissler.	112	—, Einwirkung von Röntgenstrahlen.	150*
Pocken.	173	Tuberkulose, chemotherapeutische Versuche.	108*
Proteinkörpertherapie, Theorie und Praxis.	90*	—, Immunität.	225*
Proteusbazillen, Blutgift.	139	—, Schutzimpfung.	148*
Proteus-X-Stämme.	225*	Ueberempfindlichkeitsversuche an Bakterien.	111*
Protozoen, Züchtungsverfahren.	166*	Universalpipette für Wassermann-Untersuchungen.	222
Rattenvertilgung.	156*	Vakzine.	173
Rauschbrand.	123*	Variation bei Bakterien.	195*
Reduktionsversuche mit Bakterien.	193	Wasserspirochäten als Krankheitserreger.	171*
Rickettsia Prowazeki.	271	Weil-Felix-Reaktion.	250
Rinderserum, normales, Wirkung bei Milzbrandinfektion.	153	Wurmkrankheit bei Kindern.	272
Röntgenstrahlen, Einwirkung auf Tuberkelbazillen.	150*	Wurzelbazillus, biologische Eigenschaft.	113
Rotz, Serumdiagnose.	29	X-Proteus-Stämme.	225*
Rotzbazillus, bakterizidiefester.	264	Yatren, bakteriologische und physiol.-chem. Untersuchungen.	238*
Rotzimmunität.	264	—, bakterizide Wirkung.	294
		Zeisslers binokulares Plattenkulturmikroskop.	112
		Zellfärbung.	206*



## III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaerobenzüchtung.	131	Rotzbazillus, bakterizidiefester (Taf.)	266
Antiformin, Eisenbäume.	68*	Sporenfärbung.	107, 108
Bac. mucosus anaërobicus.	127*—129*	Syphilisreaktion, kurvenmäßige Ablesung.	209*, 210*, 212*, 213*
Balantidien-Colitis.	189	Taenia cylindrica.	192
Balantidium coli hominis.	289	Trocken-Tropfen-Bilder.	236*, 237*
Blastocystis (Taf.)	98	Trypanosoma equiperdum, Wirkung von Bayer 205.	59 u. (Taf.) 70
Chloramin, Eisenbäume.	68*	Tuberkelbazillus, bakterizidiefester (Taf.)	228
Fusobacterium.	7	Wurzelbazillus.	114
Fusospirilläre Symbiose (Taf.)	22		
Kerzenfiltration.	111		
Kuhpocken beim Menschen (Taf.)	185		









DATE DUE SLIP  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA MEDICAL SCHOOL LIBRARY  
THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE  
STAMPED BELOW

OCT 15 1926  
NOV 8 1927

1m-7,'25

v. 89 Zentralblatt f. bakteri-  
1922-ologie (Originale 1 abt)  
1923

17139

Digitized by

Google

Library of the  
University of California Medical School  
and Hospitals

Original from

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1m-9, '25

