[Aus der königl. tierärztlichen Hochschule (Prof. B. Bang)
und dem königl. Frederiks-Hospital, Abt. A. (Prof. Gram) in Kopenhagen.]

Experimentelle Leukämie bei Hühnern. II.

Von

Dr. V. Ellermann,
Privatdozent.

und

O. Bang,
Tierarzt, Assistent.

Eine vorläufige Mitteilung über gelungene Übertragung der Hühnerleukämie haben wir im „Centralblatt für Bakteriologie“ I, Anfang 1908, gegeben. Bald darauf haben wir eine ausführlichere Mitteilung in derselben Zeitschrift veröffentlicht, worin die Klinik, die pathologische Anatomie und die Pathogenese besprochen wurden¹. Wir haben ferner von den ersten Filtratversuchen berichtet. Weitere Angaben hierüber hat der eine von uns (Ellermann) bei der Versammlung der deutschen pathologischen Gesellschaft in Kiel, April 1908, gemacht.

Beim Weiterarbeiten über die Leukämiefrage war unsere erste Aufgabe, die Krankheit so lange wie möglich fortzupflanzen, um die Klinik und die pathologische Anatomie auf breiterer Basis beurteilen zu können. Die klinische Untersuchung wurde wie früher ausgeführt. Hämoglobinemenge wurde mittels Sahlis Apparat bestimmt. Bei gesunden Tieren war die Zahl gewöhnlich 50 bis 65; bisweilen wurden höhere Zahlen: 65 bis 75, bisweilen niedrigere: 40 bis 50 gefunden; kleinere Zahlen als 40 sind in der Regel pathologisch (65 entsprach 13 Prozent Hb. bei Fleischl-Miescher). Gewöhnlich haben wir eine Differentialzählung der Leukozyten vorgenommen, indem wir nur zwei Arten: polynukleäre und mono-

¹ In dänischer Sprache in: *Oversigt over det kgl. danske Videnskabernes Selskabs Forhandlinger*. 1908. Nr. 2.

nukleäre unterschieden. Es wurden immer 300 Zellen gezählt. Im Anfang unserer Studien war es natürlich von größter Wichtigkeit, die absolute Leukozytenzahl bei jedem Tiere zu bestimmen, um die Natur der Erkrankung mit Sicherheit beweisen zu können. Dieses haben wir nun später wegen der großen Zahl der Tiere nicht durchführen können, oft haben wir aber die relative Zahl $\frac{L}{E}$ angegeben, woraus bei Berücksichtigung der Hämoglobinzahl eine ungefähre Schätzung der Leukozytenzahl zu erzielen ist. Die Krankheit ist ja gewöhnlich an der qualitativen Blutveränderung leicht kenntlich; entscheidend ist jedenfalls die anatomische Untersuchung.

Zur Fixierung der Organe haben wir ausschließlich Formalin angewendet, und zwar 1 Teil konzentrierte Lösung auf 9 Teile Wasser. Sublimat und Alkohol bieten keine besonderen Vorteile dar. Die Stücke wurden in Paraffin eingebettet; Schnittdicke 5 μ . An dickeren Schnitten ist die Struktur nicht deutlich zu sehen. Färbung teils mit Hämatoxylin-Eosin, teils nach Leishman.¹

Unser Hauptziel war natürlich, die Ätiologie der Krankheit zu erforschen. Man könnte sich hier a priori mindestens drei Möglichkeiten denken, nämlich: 1. Intoxikation, 2. Infektion, 3. Geschwulstbildung. Von diesen war die erste, die Intoxikation, gleich zu verwerfen, da es nicht anzunehmen war, daß ein anorganischer Giftstoff sich durch eine Reihe von Tieren überführen lasse. Wir erwähnten im ersten Teil unserer Arbeit einige Filtratversuche, welche die Geschwulsttheorie unwahrscheinlich machten. Diese Versuche, die zur Annahme eines belebten Virus führen mußten, haben wir nun fortgesetzt und ferner Versuche über die Haltbarkeit des Impfmateri als, Empfänglichkeit der Tiere u. a. angestellt.

Wir wollen diese einleitenden Bemerkungen nicht abschließen, ohne einige Schwierigkeiten kurz zu erwähnen, welche bewirkt haben, daß die Zahl der Versuche kleiner ist, als ursprünglich geplant worden war. Der wesentlichste Grund dazu ist, daß nur ein Teil der geimpften Tiere von der Krankheit befallen wurde. Anfangs haben wir geglaubt, wir könnten mit einem hohen Anschlagsprozent rechnen, später hat es sich aber gezeigt, daß wir in Versuchsreihen mit 5 Tieren nicht immer positives Resultat hatten, selbst bei Anwendung sicher virulenten Materials. Infolgedessen mußte eine größere Anzahl von Tieren geimpft werden, um das Absterben des Virus zu verhindern. Da der Krankheitsverlauf ferner oft langwierig ist, versteht man leicht, daß die vorhandenen Käfige schnell angefüllt

¹ Die Farbflüssigkeit wurde von dem trockenen Farbstoff dargestellt, 0.15 bis 100.0 ^{grm} Methylalkohol. Verdünnung mit destilliertem Wasser 1 + 2. Färbung 15 bis 20 Minuten. Schnelle Entwässerung mittels Aceton. Einbettung in Zedernöl.

wurden, und daß weitere Versuche nicht immer gemacht werden konnten. Aus dem niedrigen Anschlagsprozent entstanden auch Schwierigkeiten betreffend die Beurteilung der negativen Versuche, was wir später genauer erörtern werden. Die Ausbeute der Versuche war also spärlich, und die Anschläge trafen oft mit großen Zwischenräumen ein. Hieraus folgte nun weiter, daß die Ausnutzung des Materials oft mangelhaft wurde, indem wir bald sehr lange auf einen Anschlag warten mußten, bald eine Überfülle von Material auf einmal bekamen.

Wie gesagt, war es unmöglich, bei allen unseren Versuchstieren systematische Blutuntersuchungen vorzunehmen. Diejenigen Tiere, welche blaß aussahen, wurden natürlich untersucht, und hierdurch haben wir auch manchmal die Angegriffenen herausgefunden. Oft täuschte uns jedoch das Aussehen, indem einerseits Tiere mit blassem Kamm normale Hämoglobinzahl haben konnten, andererseits die leukämischen Tiere zuweilen ganz unvermutet starben, ohne irgendwelche Krankheitszeichen dargeboten zu haben.

In Tabelle I haben wir in Form eines Stammbaums die Nummern sämtlicher geimpfter Tiere aufgeführt. Um die Verteilung der Anschläge deutlich zu machen, haben wir die erkrankten Tiere mittels fatter Typen bezeichnet. In der Tabelle sind aufgeführt nicht bloß die einfachen Übertragungsversuche, sondern auch andere Versuche, die positives Resultat gegeben haben. Man könnte vielleicht meinen, daß die Ausbeute geringer bei Anwendung filtrierten Materials u. dgl. als bei der „normalen“ Einimpfung sein würde. Dies scheint jedoch nicht der Fall zu sein. Eher ist es die Empfänglichkeit der gesunden Tiere, die variiert.

Tabelle I.

Stamm A (Hauptstamm).

	Je I					Je II				
I.	233	264	269	289	300					
II.	103	105	130	144	161	162	165	176	185	
III.	113	117	139	163	171	173	227	236	240	241
IV.	77	78	79	80	81	82	83	84	85	203
V.	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64
VI.	37	38	40	42	50					

Tabelle II.

Generation	Geimpft	Anschlag	Ausbeute
I.	5	2	40 Prozent
II.	9	7	78 „
III.	16	9	56 „
IV.	14	2	14 „
V.	21	5	24 „
VI.	10	4	40 „
Summa	75	29	

Bei Verimpfung auf 75 Tiere haben wir also bei 29 (= 39 Prozent) die Krankheit hervorgerufen. Unter diesen 29 hatten 14 mehr weniger leukämisches Blut. In den übrigen 15 Fällen bestand entweder Anämie allein oder in Verbindung mit ganz leichten Leukozytenveränderungen. Ein Teil der aleukämischen Fälle ist an der Krankheit gestorben. Die letzte Blutuntersuchung wurde vorgenommen unmittelbar vor dem Tode bei Nr. 185, 2 Tage vor dem Tode bei Nr. 130, 3 Tage vorher bei Nr. 56, 8 Tage vorher bei Nr. 42 und 144. In diesen Fällen hat also die leukämische Blutveränderung gefehlt. Andere der aleukämischen Fälle (Nr. 139, 232, 257) wurden rücksichtlich der Versuche getötet, und es wäre ja in diesen Fällen möglich, daß die leukämische Blutveränderung eingetreten wäre, hätten wir die Tiere länger leben lassen. Endlich fehlen bei einigen Tieren Blutuntersuchungen aus der letzten Lebenszeit, weil die Krankheit in diesen Fällen nicht erkannt wurde (Nr. 162, 70, 68, 51, 38).¹

In 2 Fällen wurde eine Heilung beobachtet, und zwar bei dem früher besprochenen Nr. 300, wo sie spontan, und bei Nr. 66, wo sie möglicherweise ein Resultat der Behandlung war. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß unter den negativen Fällen in Wirklichkeit die ganz leichten Formen zu finden sind, Fälle, die gar keine klinische Symptome geben und glatt heilen.

¹ Da man nicht immer eine Blutuntersuchung von dem lebenden Tier besitzt, ist es von Bedeutung, auch bei der anatomischen Untersuchung die leukämische Blutbeschaffenheit erkennen zu können. Wir meinen eine Methode gefunden zu haben, die es erlaubt, diese Untersuchung ohne allzu große Ungenauigkeit vorzunehmen. Das Herz wird in situ unterbunden und, ohne zerschnitten zu werden, fixiert. Schnitte aus verschiedenen Stellen der Kammern und Vorhöfe werden untersucht. Man sieht auf diese Weise einen markanten Unterschied zwischen normalem und leukämischem Blut. Auch die Hyperleukozytose bei Tuberkulose wird leicht erkannt.

Einfache Übertragungsversuche.

Die 2 ersten experimentellen Generationen sind im ersten Teil der Arbeit ausführlich besprochen worden. Wir wollen hier die vier folgenden Generationen beschreiben.

Dritte Generation.

Reihe I.

Nr. 113.

30. IX. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 144. 14. X. 07 Hb. 50.

21. XI. 07 Hb. 45.

28. XI. 07 Hb. 35. Zunahme der Mono. + Myelozyten.

5. XII. 07 Hb. 35.

" "

21. XII. 07 Hb. 28.

" "

9. I. 08 Hb. 15. Ausgesprochene Leukämie.

15. I. 08 Hb. 25. Leukämie. Erythrozyten normal, + Myelozyten, + Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{11}. \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 5 Prozent,} \\ \text{Mono: 95 „ „} \end{cases}$$

16. I. 08. Getötet ($3\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber groß. Gewicht 68 ^{grm}. Farbe graurot. An der Schnittfläche teils rote, teils weiße Punkte. Mikroskopie ergibt sehr ausgesprochene Veränderungen. Kapillaren von mononukleären Leukozyten stark angefüllt. Mitosen vorhanden. Erythrozyten spärlich. Periportale Zellinfiltrate ein wenig vergrößert. Milz ein wenig vergrößert. Gewicht 4.5 ^{grm}. Knochenmark graurot. Zwischen Knochengewebe und Mark sieht man an mehreren Stellen Blutungen. Mikroskopie: In den Kapillaren fast nur Leukozyten.¹ Viele Mitosen. Stellenweise größere Anhäufungen von Erythrozyten. In den Balken sind die granulierten Zellen vermindert.

Es handelt sich hier um einen typischen Fall von Leukämie, der nach keiner Richtung von den früher beschriebenen verschieden ist.

Nr. 117.

30. IX. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 144. 2. X. 07. Hb. 55.

Blutpräparat normal. 24. X. 07. Hb. 60. 4. XI. 07. Hb. 60. Blutpräparat

normal. 31. XI. 07. Hb. 55. 5. XII. 07. Hb. 55. 20. X. 08. Getötet (12 Monate nach der Impfung).

Sektion: Organe normal. Keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 163.

30. IX. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 144. 2. X. 07. Hb. 60.

Blutpräparat normal. 24. X. 07. Hb. 50. 7. XI. 07. Hb. 50. 21. XI. 07.

Hb. 50. 5. XII. 07. Hb. 42. Blutpräparat normal. 6. XII. 07. Gestorben

(2 $\frac{1}{4}$ Monat nach der Impfung).

¹ Wenn schlechtweg von „Leukozyten“ gesprochen wird, meinen wir hier wie im folgenden immer große mononukleäre Leukozyten.

Sektion: Das Huhn ist nicht abgemagert. In der Bauchwand einige große Löcher (Ratten!). Die Därme fehlen. Leber etwas vergrößert, von brauner Farbe. Gewicht 51 g^{mm}. Mikroskopie: Kapillaren stark blutgefüllt, enthalten aber nur Erythrozyten. Milz ebenfalls ein wenig vergrößert. Knochenmark nicht blaß, etwas bräunlich oder gelblich (Fettmark!). Mikroskopie ergibt normale Verhältnisse. Nieren etwas blaß und gefleckt, mikroskopisch wird nichts abnormes gefunden.

Da weder klinisch noch anatomisch sichere Zeichen einer Leukämie nachgewiesen wurden, haben wir diesen Fall als negativ betrachtet. Wir möchten glauben, daß die Leberveränderung bloß als einfache Stauung zu erklären ist.

Nr. 171.

30. IX. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 144. 2. X. 07. Hb. 50. Blutpräparat normal. 24. X. 07. Hb. 40. 31. X. 07. Hb. 50. 7. XI. 07. Hb. 50. 13. XI. 07. Hb. 40. 21. XI. 07. Hb. 25. Blutpräparat: Deutliche Leukämie. Vorherrschend große mononukleäre. Viele Myelozyten, oft mit groben Granula. Erythrozyten nicht degeneriert. Vereinzelt eine Erythrozytenmitose.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{14} \quad \text{Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 3 Prozent,} \\ \text{Mono: 97 } „ \end{cases}$$

26. XI. 07. Gestorben (2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber wenig vergrößert, Farbe normal. Mikroskopie: die Kapillaren sind erweitert, enthalten zahlreiche Leukozyten. In den größeren Gefäßen ebenfalls zahlreiche Leukozyten. Milz kaum vergrößert. Knochenmark von blauroter Farbe, etwas blasser als normal, fester Konsistenz. Mikroskopie ergibt das typische Bild. Mononukleäre Leukozyten sind fast allein in den Bluträumen vorhanden. In den Balken sieht man weniger granulierten Zellen als normal, aber immerhin ziemlich viele.

Es handelt sich um eine gut ausgebildete Leukämie.

Nr. 173.

30. IX. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 144. 2. X. 07. Hb. 65. Blutpräparat normal. 24. X. 07. Hb. 60. 7. XI. 07. Hb. 65. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 55. 5. XII. 07. Hb. 50. 21. XII. 07. Hb. 55. 10. VII. 08. Getötet (9 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine Anzeichen einer Leukämie. Organe normal.

Reihe II.

Nr. 227.

3. XI. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 161. 5. XI. 07. Hb. 45. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 40. 5. XII. 07. Hb. 40. 21. XII. 07. Hb. 40. 2. I. 08. Hb. 45. 23. I. 08. Hb. 50. 10. VII. 08. Getötet (8 Monate nach der Impfung).

Sektion: Organe normal. Keine Leukämie.

Nr. 236.

3. XI. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 161. 5. XI. 07. Hb. 45. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 40. 5. XII. 07. Hb. 35. Blutpräparat

normal. 21. XII. 07. Hb. 45. 9. I. 08. Hb. 40. 15. I. 08. Hb. 5. Blutpräparat: Leichte Leukämie. Vereinzelt Myelozyten. Keine Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{13}. \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 10 Prozent,} \\ \text{Mono: 90 } „ \end{cases}$$

16. I. 08. Gestorben ($2\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber etwas vergrößert, nicht sehr blaß. Gewicht 55 grm. Mikroskopie: Kapillaren mit Leukozyten stark angefüllt. Hier und da Mitosen. Keine Infiltrate. In den kleinen Venen fast nur Leukozyten. In den größeren Gefäßen ebenfalls sehr viele Leukozyten. Milz sehr groß, Gewicht 8 grm. Mikroskopisch sieht man zahlreiche große Leukozyten. Zahlreiche Mitosen. Knochenmark etwas blaß, gelatinös. Kapillaren mit mononukleären Leukozyten angefüllt. Sehr viele Mitosen. Stellenweise Gefäße mit Erythrozyten allein. Die granulierten Zellen der Balken sind sehr wechselnd an Menge. Nieren: Mikroskopisch sieht man an einzelnen Stellen Anhäufung von Leukozyten in den Gefäßen. Größere Gefäße sehr leukozytenreich.

Der Fall ist in jeder Beziehung typisch.

Nr. 240.

3. XI. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 161. 5. XI. 07. Hb. 40. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 40. 12. XII. 07. Hb. 40. Blutpräparat normal. 27. XII. 07. Hb. 40. 2. I. 08. Hb. 30. Blutpräparat: keine sichere Veränderung. 9. I. 08. Hb. 10. Deutliche Leukämie, + Myelozyten, + Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{6}. \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 8 Prozent} \\ \text{Mono: 92 } „ \end{cases}$$

12. I. 08. Gestorben ($2\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Das Tier abgemagert. Organe blaß. Leber vergrößert, Gewicht 42 grm. An der Schnittfläche weiße Punkte und Striche. Kapillaren erweitert und leukozytengefüllt. In den größeren Gefäßen überwiegen die Leukozyten. Milz vergrößert. Gewicht 5.5 grm. Nieren: Mikroskopie ergibt: Kapillaren leer. Keine Infiltrate. Lunge: Kapillaren stark mit Leukozyten angefüllt. Knochenmark graurot, blaß. In den Gefäßen sieht man mikroskopisch nur Leukozyten. Viele Mitosen. An einzelnen Stellen große Haufen von Erythrozyten. Balken oft atrophisch. Granulierte Zellen stark an Zahl vermindert.

Der Fall ist typisch.

Nr. 241.

3. XI. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 161. 5. XI. 07. Hb. 40. Blutpräparat normal. 28. XI. 07. Hb. 40. 12. XII. 07. Hb. 42. 2. I. 08. Hb. 42. 15. I. 08. Hb. 40. 18. VII. 08. Tot gefunden (8 Monate nach der Impfung).

Es zeigt sich, daß das Tier von den anderen Hühnern getötet ist. Keine Leukämie.

Nr. 244.

3. XI. 07. Intravenös und subkutan Emulsion 161. 5. XI. 07. Hb. 40. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 42. 5. XII. 07. Hb. 42. 12. XII. 07.

Hb. 33. Blutpräparat normal. 21. XII. 07. Hb. 15. Zunahme der großen Mono. + Mitosen. 23. XII. 07. Deutliche Leukämie + Myelozyten + Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{5}. \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 4 Prozent,} \\ \text{Mono: 96} \end{cases}$$

Getötet (50 Tage nach der Impfung).

Sektion: Leber etwas vergrößert. Gewicht 65 g^{rm}. Farbe fast normal. Kapillaren mit Leukozyten gefüllt, nur wenige Erythrozyten. Viele Mitosen. In den größeren Gefäßen vorwiegend Leukozyten. Milz groß, Gewicht 10 g^{rm}. Knochenmark graurot. In den Kapillaren fast nur Leukozyten. Zahlreiche Mitosen. Die Balken enthalten hauptsächlich kleine dunkle Zellen, nur wenige granulいたe. Nieren: Mikroskopisch nichts Abnormes, Kapillaren leer.

Es handelt sich um einen typischen Fall von Leukämie.

Vierte Generation.

Reihe I.

Nr. 85.

16. I. 08. Intravenös Emulsion 113 + 236. 23. I. 08. Hb. 55. 3. VII. 08. Hb. 40. Intravenös Emulsion 56. 21. VIII. 08. Hb. 38. Starke polynukleäre Leukozytose. 27. VIII. 08. Hb. 45. Starke polynukleäre Leukozytose. 19. X. 08. Gestorben (3 1/2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Organe tuberkulös. Keine Leukämie.

Nr. 84.

16. I. 08. Intravenös Emulsion 113 + 236. 23. I. 08. Hb. 65. 3. VII. 08. Hb. 40. Intravenös Emulsion 56. 21. VIII. 08. Hb. 50. 27. VIII. 08. Hb. 50. 7. XI. 08. Getötet (4 Monate nach der 2. Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Nr. 83.

16. I. 08. Intravenös Emulsion 113 + 236. 23. I. 08. Hb. 55. 3. VII. 08. Hb. 40. Intravenös Emulsion 56. 21. VIII. 08. Hb. 45. Ausgesprochene polynukleäre Leukozytose. 11. IX. 08. Hb. 45. Ausgesprochene polynukleäre Leukozytose. Getötet (2 1/4 Monat nach der 2. Impfung).

Sektion: Organe stark tuberkulös. Keine leukämischen Veränderungen. Mikroskopie des Herzblutes in Schnitten zeigt das Vorhandensein zahlreicher Leukozyten, von denen ungefähr 3/4 polynukleär, stäbchenhaltig sind.

Nr. 82.

16. I. 08. Intravenös Emulsion 113 + 236. 23. I. 08. Hb. 45. 22. VII. 08. Getötet (6 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Reihe II.

Nr. 203.

23. XII. 07. Hb. 55. Intravenös 2 ccm Blut Nr. 244. 1. IV. 08. Hb. 42. 21. V. 08. Hb. 35. Erythrozyten zuweilen polychrom. Zunahme der mononukleären Leukozyten? Keine Myelozyten. Keine Mitosen. 3. VII. 08. Getötet (7 1/2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Organe normal. Keine leukämischen Veränderungen.

Diesen Fall haben wir unter die negativen gerechnet, weil die Sektion keinen Anhaltspunkt für die Annahme einer Leukämie gab, und weil die klinische Untersuchung ein zweifelhaftes Resultat darbot. Trotzdem ist es möglich, daß es eine ganz leichte Leukämie mit spontaner Heilung gewesen ist.

Nr. 232.

23. XII. 07. Hb. 65. Intravenös 2^{cem} Blut Nr. 244. 13. II. 08. Hb. 27. Zunahme der großen Mono. Sparsame Myelozyten. 20. II. 08. Hb. 20. Blutpräparat wie am 13. II. 21. II. 08. Hb. 25. Polychrome Degeneration der Erythrozyten, Leukozytenveränderung wenig ausgesprochen.

Getötet (2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber ein wenig blaß, etwas vergrößert. Gewicht 35^{gmm}. Milz ebenfalls vergrößert. Gewicht 4.6^{gmm}. Knochenmark fest, von grauroter Farbe. Mikroskopische Untersuchung fehlt, weil das Material leider verloren gegangen ist.

Es handelt sich hier um einen aleukämischen Fall. Die Diagnose „Leukämie“ wurde teils durch den grob anatomischen Befund, teils durch den Impfversuch, welcher positives Resultat ergab, bestätigt.

Nr. 254.

23. XII. 07. Hb. 35. Intravenös 2^{cem} Blut Nr. 244. 15. I. 08. Gestorben (23 Tage nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie. Die Todesursache ist ein Spindelzellensarkom.

Nr. 282.

23. XII. 07. Hb. 70. Intravenös 2^{cem} Blut Nr. 244. 3. VII. 08. Hb. 65. Zweite Einimpfung (6 $\frac{1}{3}$ Monat nach der ersten Impfung).

Nr. 285.

23. XII. 07. Hb. 70. Intravenös 2^{cem} Blut Nr. 244. 5. II. 08. Gestorben (1 $\frac{1}{2}$ Monat nach der Impfung).

Sektion: Organe blaß. Es hat eine Blutung aus dem Kamm stattgefunden. Leber ikterisch. Gallenblase stark erweitert, 3^{cm} lang. Keine leukämischen Veränderungen.

Die fünf Tiere dieser Reihe wurden alle mit Blut geimpft, und hat sich somit das Blut als virulent erwiesen, indem ein Tier leukämisch wurde, und ein anderes eine zweifelhafte Blutveränderung zeigte. Das Blut wurde mittels einer Spritze der Armvene eines leukämischen Tiers entnommen und sofort vor der Gerinnung den gesunden Tieren eingespritzt. Die Anwendung von Blut hat ja den Vorteil, daß man das kranke Tier nicht zu opfern braucht. Bei eventuellen Versuchen mit menschlicher Leukämie wäre diese Methode sehr praktisch, um reichliches frisches Impfmateriel zu bekommen. Wir hatten mehrere Versuche geplant, um zu erläutern, ob defibriniertes Blut bzw. Serum sich anwenden ließe. Die Versuche scheiterten jedoch wegen zufälliger Unglücksfälle. Es wäre

auch sehr wünschenswert zu wissen, ob die Virulenz an die Blutkörperchen oder an das Plasma gebunden ist. Derartige Versuche könnten sehr leicht vorgenommen werden, falls die Gerinnung mittels oxalsauren Natrons oder dergleichen verhindert würde.

Fünfte Generation.

Nr. 60.

31. III. 08. Hb. 55. Intravenös 4^{cem} Emulsion 77, 3.IX. 08. Hb. 65. Blutpräparat normal. 19. IX. 08. Hb. 55. 11. I. 09. Getötet (9 Monate nach der Impfung).

Sektion: Gut genährtes Tier. Keine Leukämie.

Nr. 61.

31. III. 08. Hb. 55. Intravenös 4^{cem} Emulsion 77. 18.IV. 08. Hb. 48. 7.V. 08. Hb. 20. Zunahme der gr. Mono. Sparsame Myelozyten. 12.V. 08. Hb. 15. Leichte Leukämie. 5 bis 10 Leukozyten pro Gesichtsfeld. Viele Myelozyten. Vereinzelte Mitosen. Ausgebreitete polychrome Degeneration der Erythrozyten.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{13} \text{ Differentialzählung: } \left\{ \begin{array}{l} \text{Poly: 6 Prozent,} \\ \text{Mono: 94} \quad \text{,,} \end{array} \right.$$

Injektion von Arsenophenylglycin ctg 10.

18. V. 08. Hb. 10. Blutpräparat unverändert.

Zweite Injektion von Arsenophenylglycin ctg 10.

19. V. 08. Gestorben (1³/₄ Monat nach der Impfung).

Sektion: Leber vergrößert, blaß. Gewicht 61^{gmm}. Mikroskopie: Kapillaren etwas erweitert, nur sparsame Zellen enthaltend, vorwiegend Leukozyten. In den größeren Gefäßen ebenfalls vorwiegend Leukozyten. Das Bild ist überhaupt nicht sehr deutlich, stellenweise jedoch von gewöhnlichem leukämischen Aussehen. Milz natürlicher Größe, Gewicht 3·2^{gmm}. Knochenmark blaß, etwas weich. In den Balken sind die granulierten Zellen sparsam. In den Gefäßen sind stellenweise nur Erythrozyten zu sehen, gewöhnlich ist der Inhalt jedoch abnorm, besteht teils aus Leukozyten, teils aus kleineren dunklen Zellen (Erythroblasten?).

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß dieser Fall als Leukämie aufgefaßt werden muß. Das etwas atypische mikroskopische Bild hängt möglicherweise mit der Arsenbehandlung zusammen. Das Arsenpräparat wurde uns von Herrn Geheimrat Ehrlich zwecks therapeutischer Versuche überlassen. Es hatte sich als wirksam bei den Trypanosomeninfektionen, dagegen als unwirksam bei den experimentellen Tumoren erwiesen. Im vorliegenden Fall trat eine Verschlechterung nach der ersten Einspritzung ein, und das Tier verendete bald nach der zweiten. Da die angewandte Dosis (0·07^{gmm} pro Kilo) ziemlich groß ist, ist es sehr wahrscheinlich, daß das Präparat eine ungünstige Einwirkung gehabt hat. Wir waren auch bei diesem Versuch etwas bedenklich, weil das Tier so

krank war. Andererseits gab es keine Wahl, da wir nur über zwei Tiere verfügten, obwohl wir absichtlich eine Reihe von 10 Tieren geimpft hatten, um therapeutische Versuche anstellen zu können.

Betreffs des anderen arsenbehandelten Tieres (Nr. 66) siehe später!

Nr. 62.

31. III. 08. Hb. 60. Intravenös Emulsion 77. 8. VIII. 08. 2. Impfung Emulsion 51. 1. IX. 08. Hb. 60. Blutpräparat normal. 11. I. 09. Getötet (5 Monate nach der 2. Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Nr. 63.

31. III. 08. Hb. 55. Intravenös Emulsion 77. 1. IV. 08. 30 ^{ccm} Blut entleert. 4. IV. 08. Hb. 45. 11. IV. 08. Hb. 60. 22. VII. 08. Hb. 65. 30. X. 08. Hb. 65. Blutpräparat normal. 13. XI. 08. Gestorben (7½ Monate nach der Impfung).

Sektion: Starke Rachitis. Keine Leukämie.

Nr. 64.

31. III. 08. Hb. 50. Intravenös Emulsion 77. 4. IV. 08. Hb. 45. 11. IV. 08. Hb. 50. 10. I. 09. Gestorben (9 Monate nach der Impfung).

Sektion: Starke Rachitis. Keine Leukämie.

Nr. 65.

31. III. 08. Hb. 55. Intravenös Emulsion 77. 8. VIII. 08. Gesund. Zweite Einimpfung (Verlauf siehe später).

Nr. 66.

31. III. 08. Hb. 60. Entleerung von 25 ^{ccm} Blut. Intravenös Em. 77. 1. IV. 08. Hb. 50. 4. IV. 08. Hb. 55. 11. IV. 08. Hb. 35. Blutpräparat normal. 18. IV. 08. Hb. 25. Poly. sparsam. 7. V. 08. Hb. 20. Leichte Zunahme der gr. Mono. + Myelozyten. 12. V. 08. Hb. 30. Etwas polychrome Degeneration. Leukozytenveränderung nicht deutlich. Injektion von Arsenophenylglycin 10·5 ctg. 18. V. 08. Hb. 60. 21. VIII. 08. Hb. 65. Blutpräparat normal. 14. XII. 08. Gestorben.

Sektion: Keine Leukämie. Etwas Rachitis.

Das Tier hat ja unzweifelhaft eine Leukämie gehabt. Es wurden eine fortschreitende Anämie sowie deutliche Leukozytenveränderungen nachgewiesen. Es ist ebenfalls sicher, daß eine Heilung eingetreten ist, und es fragt sich, ob dieselbe der Behandlung zugeschrieben werden muß. In dem Momente, da das Mittel gegeben wurde, war schon eine leichte Besserung des Zustandes bemerkbar. Es läßt sich also nicht mit Sicherheit behaupten, daß die Arsenbehandlung auch wirklich die Ursache der Heilung gewesen ist. Die Heilung wäre vielleicht in diesem Falle ebenso wie in dem früher mitgeteilten (Nr. 300) von selbst eingetreten. Wie dem nun auch sei, die eingetretene Heilung bleibt jedenfalls als bedeutsame Tatsache bestehen. Es ist erlaubt zu glauben, daß eine frühzeitig eingeleitete Behandlung erfolgreich sein kann. In den Fällen, die an der

Grenze zwischen Heilung und Verschlechterung stehen, muß man annehmen, daß eine passende Behandlung das Plus sein kann, welches den Organismus über den toten Punkt hinausbringt.

Nr. 67.

31. III. 08. Hb. 55. Intravenös Emulsion 77. 8. VIII. 08. Gesund. Zweite Einspritzung ($4\frac{1}{4}$ Monate nach der 1. Impfung).

Nr. 68.

31. III. 08. Hb. 60. Intravenös Emulsion 77. 20. VII. 08. Gestorben ($3\frac{1}{4}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: In der Brustmuskulatur eine Blutung. Keine Mikroben. Leber: Normale Größe und Farbe. Kapillaren etwas erweitert, gewöhnlich leer oder wenige Erythrozyten enthaltend. In den größeren Gefäßen hauptsächlich Erythrozyten. Zahlreiche große periportale Zelleninfiltrate. Ungefähr die Hälfte dieser Zellen sind granuliert. Milz von normalem Aussehen. Knochenmark makroskopisch fast normal. Mikroskopisch ist das Bild etwas zweifelhaft. Im ganzen zahlreiche Erythrozyten, andererseits sind auch völlig leukämische Stellen zu finden. In den Balken sind die granulierten Zellen sparsam.

Da die klinische Untersuchung fehlt, und da der Fall anatomisch atypisch ist, bleibt die Deutung unsicher. Die leichte Knochenmarksveränderung, sowie das Vorhandensein von Leberinfiltraten sind für uns ausschlaggebend gewesen, um den Fall als Leukämie zu betrachten.

Nr. 69.

31. III. 08. Hb. 60. Intravenös Emulsion 77. 8. VIII. 08. Gesund. Zweite Impfung ($4\frac{3}{4}$ Monate nach der ersten).

Sechste Generation.

Reihe I.

Nr. 37.

3. VII. 08. Hb. 65. Intravenös Emulsion 56. 27. VIII. 08. Hb. 40. Polychrome Degeneration der Erythrozyten. Keine polynukleären. 19. IX. 08. Hb. 15. Deutliche Leukämie. Stark ausgesprochene polychrome Degeneration, weshalb eine Zählung nicht möglich erscheint. Viele Mitosen. Spärliche Myelozyten. Huhn dem Geheimrat Ehrlich übersandt.

Derselbe berichtet über den späteren Verlauf folgendes:

Das Huhn hat lange gelebt, bot die ganze Zeit die typische leukämische Blutbeschaffenheit dar. Schließlich war es auch sehr anämisch.

17. XI. 08. Gestorben ($4\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Nr. 38.

3. VII. 08. Hb. 50. Intravenös Emulsion 56. 13. VII. 08. Gestorben (10 Tage nach der Impfung).

Sektion: Leber von normaler Größe, sehr gelb mit feinen Blutungen an der Oberfläche. Mikroskopie ergibt: die Zellen vakuolisiert. Kapillaren leer, keine Infiltrate. Milz klein, von natürlichem Aussehen. Knochen-

mark sehr blaß. In den Gefäßen fast allein mononukleäre Leukozyten. Oft Mitosen. Erythrozyten spärlich. Die Balken enthalten nur ungranulierte Zellen.

Die anatomischen Veränderungen sind in diesem Falle nur schwach ausgebildet; was vermutlich mit dem frühzeitigen Tode zusammenhängt. Da die Knochenmarksveränderung der gewöhnlichen leukämischen gleicht, haben wir den Fall als positiven Anschlag gerechnet.

Nr. 40.

3. VII. 08. Hb. 65. Intravenös Emulsion 56. 27. VIII. 08. Hb. 75. Blutpräparat normal. 11. I. 09. Getötet (6 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Nr. 42.

3. VII. 08. Hb. 65. Intravenös Emulsion 56. 22. VII. 08. Hb. 18. Polychrome Degeneration der Erythrozyten. Mononukleäre Leukozyten vermehrt. In jedem Gesichtsfelde 5 bis 6 Leukozyten. Keine Mitosen. Spärliche Myelozyten.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{19} \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 9 Prozent,} \\ \text{Mono: 91 „} \end{cases}$$

Leukozyten: 65 000.

Erythrozyten: 1 235 000.

28. VII. 1908. Hb. 30. Myelozyten zahlreicher. Vereinzelt Mitosen.

3. VIII. 08. Hb. 38. Blutpräparat fast normal. Spärliche Myelozyten.

11. VIII. 08. Gestorben (39 Tage nach der Impfung).

Sektion: Leber sehr groß. Gewicht 126 g^{rm}. Farbe stark rot, mit weißen Pünktchen und Flecken. An der Vorderseite eine Fibrinhaut. Mikroskopie: Kapillaren stark erweitert, enthalten stellenweise nur Erythrozyten, stellenweise nur mononukleäre Leukozyten. In den größeren Gefäßen fast nur Erythrozyten. Die periportalen Zellmassen sind vergrößert, enthalten viele granulierte Zellen. Milz vergrößert, Gewicht 6.2 g^{rm}. Knochenmark teils fest, teils halbflüssig. Farbe blasser als normal. Mikroskopisch sieht man in den Gefäßen wesentlich Leukozyten. Oft Mitosen. An einigen Stellen große Erythrozytenmassen. Granulierte Zellen in den Balken nur spärlich vorhanden. Schnitte des Herzblutes zeigen fast ausschließlich Erythrozyten.

Wir begegnen in diesem Falle dem eigentümlich wechselnden Verlauf, den wir schon früher in mehreren Fällen kennen gelernt. 19 Tage nach der Impfung ist das Bild schon gut ausgesprochen, jetzt tritt aber eine Besserung ein: die Hämoglobinmenge steigt wieder an, und das Blutpräparat wird normal. Die Besserung ist keine bleibende. Es tritt vielmehr eine Verschlechterung ein, die den Tod herbeiführt. Der anatomische Befund ist im ganzen typisch. Die histologische Untersuchung des Herzblutes zeigt, daß eine leukämische Blutbeschaffenheit nicht vorlag.

Nr. 50.

3. VII. 08. Hb. 65. Intravenös Emulsion 56. 27. VIII. 08. Hb. 70. Blutpräparat normal. 11. I. 09. Getötet (6 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Reihe B.

Nr. 49.

19. V. 08. Intravenös Emulsion 139 + 61. 15. I. 09. Getötet (8 Mon. nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Nr. 51.

19. V. 08. Hb. 45. Intravenös Emulsion 139 + 61. 1. VIII. 08. Huhn von natürlichem Aussehen. 8. VIII. 08. Gestorben ($2\frac{2}{3}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber groß, Gewicht 120 g^{rm}. Farbe rötlich. An der Vorderseite eine Fibrinhaut. Mikroskopie: Kapillaren von mononukleären Leukozyten angefüllt. Erythrozyten spärlich. In den größeren Gefäßen gleich viele Leuko- und Erythrozyten. Milz enorm, Gewicht 19 g^{rm}! Knochenmark graurot. Kapillaren mit Leukozyten angefüllt. Balken atrophisch, enthalten nur wenige granulierten Zellen. Schnitte des Herzblutes zeigen gleich viele Leuko- und Erythrozyten.

Der Fall ist typisch. Die Anschwellung der Leber und der Milz erreicht in diesem Falle einen sehr bedeutenden Grad.

Nr. 52.

19. V. 08. Hb. 60. Intravenös Emulsion 139 + 61. 15. I. 09. Getötet (8 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine Leukämie.

Nr. 53.

19. V. 08. Hb. 50. Intravenös Emulsion 139 + 61. 9. VI. 08. Gestorben (21 Tage nach der Impfung).

Sektion: Enorme Blutung in der Bauchhöhle, von einer Eilösung herührend. Keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 54.

19. V. 08. Hb. 50. Intravenös Emulsion 139 + 61. 15. I. 09. Getötet (8 Monate nach der Impfung).

Sektion: Verkalkte tuberkulöse Knoten der Leber. Keine Leukämie.

(Sämtliche Tiere der VII. experimentellen Generation gingen an Rachitis zugrunde. Eins bot vorübergehend Zeichen einer leichten Anämie dar, bei der Sektion wurde aber keine Leukämie gefunden.)

Blickt man auf die hier mitgeteilte Reihe von Leukämiefällen zurück, so ist es ersichtlich, daß das Krankheitsbild im ganzen dem früher geschilderten gleicht.

Die Inkubationszeit betrug regelmäßig 1 bis 2 Monate. Die Tiere starben in der Regel 8 bis 14 Tage nach dem Ausbruch der Krankheit, in einigen Fällen blieben sie jedoch ein paar Monate am Leben. Die Dauer der Krankheit kann nicht in allen Fällen bestimmt werden, weil die Tiere öfters versuchs halber getötet wurden.

Das Blutbild bietet alle Übergänge von der ausgesprochenen leukämischen Blutbeschaffenheit bis zur einfachen Anämie dar. Reine Anämien sind entschiedene Ausnahmen; in den meisten Fällen bestehen Leukozytenveränderungen. Eigentümlich ist die mehrmals gemachte Beobachtung, daß das Blutbild nach einer Periode von deutlicher Leukämie wieder normal werden kann. In solchen Fällen steigt die Hämoglobinzahl bis zu fast normaler Höhe. Trotzdem schreitet die Krankheit weiter fort, und die Sektion zeigt die gewöhnlichen leukämischen Organveränderungen.

Die wichtigste Veränderung im Blutbild ist das Überwiegen der mononukleären Zellen. Unter normalen Verhältnissen machen die polynukleären Leukozyten etwa 40 Proz., die mononukleären etwa 60 Proz. aus. Bei der Leukämie sind nur 2 bis 10 Proz. polynukleäre vorhanden. Diese Abnahme ist nicht nur relativ, sondern auch absolut. In den Fällen, wo wir vollständige Zählungen besitzen, läßt sich feststellen, daß anstatt 12000 nur etwa 6000 polynukleäre pro Kubikmillimeter vorhanden sind. Da die normale Anzahl wohl etwas schwankt, handelt es sich also nur um eine mäßige Abnahme. Die Zunahme der mononukleären ist wohl immer sowohl relativ wie absolut. Die Hauptmasse dieser mononukleären Leukozyten bilden Zellen die den entsprechenden Formen des normalen Blutes ähneln, nicht selten sind sie jedoch an Größe und Färbung verschieden. In den Fällen mit stark ausgebildeter Blutveränderung begegnet man öfters Zellen mit kräftig blaufärbtem Protoplasma, die den Türckschen Reizungsformen gleichen. In solchen Fällen sind die Leukozytenkerne häufig eingebuchtet oder gelappt. Derartige Zellen sind ja streng genommen nicht mononukleär, aus praktischen Gründen haben wir sie trotzdem dieser Gruppe zugerechnet, weil sie entschieden zu den polynukleären nicht gehören. Außer diesen etwas abnormen Formen begegnet man in den meisten Fällen den eigentlich pathologischen Formen: den Myelozyten. Wir sind immer mehr zu der Überzeugung gelangt, daß diese Zellen für die Leukämie charakteristisch sind. Nicht bloß sind sie konstant, sondern ihr Auftreten im Blutbild ohne irgend eine andere Veränderung deutet schon für sich allein darauf, daß das betreffende Tier die Krankheit in sich trägt. Das Auftreten von Mitosen ist ebenfalls eine pathologische Erscheinung. Sie kommt fast immer bei Leukämie vor. Im Gegensatz hierzu haben wir sie bei der polynukleären Hyperleukozytose bei Tuberkulose stets vermißt. Die polychrome Degeneration der Erythrozyten ist eine Veränderung, die ebenso konstant ist wie die Leukozytenveränderungen, und die im hohen Grade dem Blutbild ihr eigentümliches Gepräge verleiht. Gleichzeitig mit der Blaufärbung des Protoplasma ist in der Regel eine Vergrößerung des Kernes vorhanden. In Fällen starker Anämie sieht das Protoplasma wie vakuolisiert aus. In

seltenen Fällen tritt die polychrome Degeneration ohne Abnahme der Hämoglobinmenge auf. Mitunter fehlt sie bei ganz leukämischem Blut.

Was den Sektionsbefund betrifft, so gleichen die meisten Fälle so ziemlich einander. Die Markveränderung ist wohl die konstanteste Erscheinung, in seltenen Fällen sogar die einzigste. Gewöhnlich besteht jedoch Anschwellung der Leber und der Milz. Die Leber kann sehr groß werden, bis 120 cm^3 ; die Farbe ist blasser als normal, etwas rötlich. An der Schnittfläche bemerkt man feinste weiße Striche und Punkte (Gefäße). Eigentliche Infiltrate sind bei der experimentellen Krankheit selten, werden nur bei sehr chronischem Verlauf gesehen. Sehr häufig ist die Leber von einer feinen Fibrinhaut bedeckt; eine analoge Perisplenitis haben wir nicht beobachtet. Die Milz kann eine bedeutende Größe — bis 20 cm^3 — erreichen. In gewissen Fällen ist die Leber sehr groß, während die Milz normal ist. In anderen Fällen ist es gerade umgekehrt.

In der Pathogenese wollen wir insbesondere die Lokalisation und Bedeutung der Leukozytenbildung hervorheben. Wie wir früher betont, handelt es sich bei der experimentellen Leukämie um einen intravaskulären Prozeß. Die großen mononukleären Leukozyten, die die Krankheit charakterisieren, werden in den Kapillaren der Leber, der Milz und des Knochenmarkes gebildet, in geringerer Menge auch im Blute in den übrigen Teilen des Gefäßsystems. Die neugebildeten Leukozyten verteilen sich nun nicht im Blutstrom, sondern bleiben in den Kapillaren der erwähnten Organe liegen, wodurch die eigentümlichen leukämischen Veränderungen zustande kommen. Bekanntlich ist es immer eine schwierige Sache, biologische Prozesse allein durch Mikroskopie der fixierten Organe beurteilen zu wollen. Die Erscheinung, daß z. B. die Leberkapillaren von Leukozytenmassen stark gefüllt sind, kann natürlich auf verschiedene Weise gedeutet werden. Eins muß jedoch als sicher betrachtet werden, nämlich, daß die Leberkapillaren viel leukozytenreicheres Blut als das periphere Gefäßsystem enthalten. Die Möglichkeit, daß es sich um eine zufällige postmortale ungleichmäßige Verteilung der Blutkörperchen handeln sollte, kann ohne weiteres abgewiesen werden. Es kommen wesentlich folgende zwei Möglichkeiten in Betracht: 1. Man könnte sich vorstellen, daß die Leukozyten an anderen Stellen, z. B. im Knochenmark, gebildet wurden und mit dem Blutstrom der Leber zugeführt wurden. Aus irgendeinem Grunde blieben sie nun in den Leberkapillaren liegen, während Plasma und Erythrozyten ungestört passieren könnten. Die Leukozyten in den Leberkapillaren würden in diesem Falle durch und durch eingeführtes Material sein. 2. Es könnte sein, daß die im Blute vorhandenen Leukozyten nicht einfach von der Leber abfiltriert

wurden, sondern daß sie hier einen besonders günstigen Boden für ihre Ernährung und Vermehrung fanden. Die Ablagerung von Leukozyten würde bei dieser Annahme eine geringere Rolle spielen, die Vermehrung dagegen die Hauptrolle. — Bei der Beurteilung der Frage muß man bedenken, daß die Leukozyten sicher eine zusammenhängende, ziemlich feste Masse bilden. Durch diese ganze Masse hindurch findet man nun zahlreiche Mitosen zerstreut, woraus zu schließen ist, daß eine außerordentlich starke Leukozytenproduktion stattfindet. Eine „metastatische“ Ablagerung kann also nur im Anfang angenommen werden. Die Anhäufung von Leukozyten in der Leber ist ein Phänomen, das mit der Markveränderung ganz analog ist.

Was sind es nun für Ursachen, welche bewirken, daß in dem einen Falle die Leber angegriffen ist, in dem anderen dagegen die Milz, und im dritten vielleicht allein das Knochenmark? Am nächsten liegt es wohl anzunehmen, daß es dieselben sind, die die leukämischen Veränderungen überhaupt hervorrufen, also wahrscheinlich die spezifischen Krankheitserreger, welche ebenso wie andere Krankheitserreger sich bald in dem einen, bald in dem anderen Organ ansiedeln können. In den befallenen Organen müßte dann eine Produktion von Stoffen stattfinden, welche stark anziehend und reizend auf die Leukozyten wirkten.

Mit dieser Frage der Lokalisation der Krankheit nahe verwandt ist die andere Frage: Warum ist das Blut in dem einen Falle leukämisch, in dem anderen dagegen nicht? Wie früher erwähnt, sind wir hier geneigt anzunehmen, daß die leukämische Blutbeschaffenheit durch Vermehrung der im Blute kreisenden Leukozyten zustande kommt, ohne daß wir leugnen wollen, daß eine Abschwemmung von den großen Depots auch vorkommen kann. Warum aber diese Vermehrung (bzw. Verschleppung) in dem einen Falle zustande kommt, im anderen aber nicht, das ist ja nicht leicht zu erklären. Man könnte versucht sein, sich die Sache auf analoge Weise wie bei den Organen vorzustellen; wir wissen aber vorläufig gar zu wenig, um wirklich begründete Hypothesen aufzustellen.

Es gibt eine Knochenmarkveränderung, die wir früher nur andeutungsweise berührt haben, die aber eine etwas genauere Besprechung verdient. Wir meinen das Verschwinden der granulierten Knochenmarkszellen und die mehr weniger hochgradige Atrophie der Knochenmarksbalken. Während unter normalen Verhältnissen die granulierten Zellen den Hauptbestandteil der Knochenmarksbalken bilden (Fig. 1), nehmen sie bei der Leukämie stark an Zahl ab, und man sieht sie zerstreut zwischen ungranulierten Zellen liegen. In stark ausgesprochenen Fällen fehlen granuliert Zellen überhaupt ganz, die Balken werden schmal und können schließlich vollständig verschwinden. Es hinterbleibt dann

ein Gewebe, das aus einer wuchernden Leukozytenmasse, von dünnen Balkenresten durchzogen, besteht (Fig. 2). Das Bild erinnert etwas an hochgradige Stauung der Leber, und es handelt sich wohl auch in beiden Fällen um eine Atrophie als Folge des Druckes seitens der stark erweiterten Kapillaren. Eine Druckatrophie wird ja beim Knochenmark besonders begünstigt dadurch, daß das Mark von einer festen Knochen-
schale umgeben wird, und somit keine Möglichkeit für eine Ausdehnung besteht. Derselbe pathologische Prozeß bewirkt also beim Knochenmark

Fig. 1. Normales Knochenmark.

Die Balken enthalten zahlreiche granulierte Zellen. In den Blutgefäßen nur Erythrozyten.

eine Atrophie, bei den anderen Organen (Leber, Milz) dagegen eine Vergrößerung des Volums.

Zwischen den polynukleären Leukozyten des Blutes und den granulierten Knochenmarkzellen besteht eine große Ähnlichkeit. Da außerdem Übergangsbilder nicht selten angetroffen werden, finden wir die Annahme gerechtfertigt, daß die Knochenmarkzellen die Stammformen der polynukleären Leukozyten sind. Da nun bei der Leukämie eine Abnahme sowohl der granulierten Knochenmarkzellen wie der polynukleären Leuko-

zyten gefunden wird, ist es ein naheliegender Gedanke, diese beiden Erscheinungen zueinander in Beziehung zu setzen. Man könnte sich also den Vorgang auf folgende Weise denken: Infolge der Infektion kommt es zu einer bedeutenden Vermehrung und Anhäufung von großen mononukleären Leukozyten in den Knochenmarksgefäßen. Die Kapillaren werden von den wuchernden Leukozytenmassen stark ausgedehnt und üben folglich auf die Balken einen abnormen Druck aus. Auf Grund des Druckes und der als Folge der Kreislaufstörungen auftretenden mangelhaften Er-

Fig. 2. Leukämisches Knochenmark.
Hochgradige Atrophie der Balken. In den Blutgefäßen fast nur große mononukleäre Leukozyten.

nährung nimmt die Anzahl der granulierten Zellen ab, und schließlich können die Balken ganz atrophisch werden. Da die Bildung der Erythrozyten gleichzeitig leiden muß, will es verständlich erscheinen, daß der eigentümliche leukämische Prozeß (die Wucherung und Anhäufung von mononukleären Leukozyten in den Kapillaren) eine Abnahme sowohl der Erythrozyten wie der polynukleären Leukozyten im Blute bewirken kann. Andererseits muß man bedenken, daß das neugebildete myeloide Gewebe in der Leber vielleicht eine Rolle als vikariierendes Markgewebe spielt,

wodurch ein völliges Verschwinden der Polynukleären bei totaler Markatrophie verhindert wird. In künftigen Fällen wäre es zu untersuchen, ob Leberinfiltrate hauptsächlich in den Fällen mit starker Markatrophie auftreten. Die Grundlage dieser Auffassung ist die anatomische Untersuchung. Man darf jedoch nicht übersehen, daß chemische Vorgänge (Bildung von Lysinen usw.) verschiedentlich das Resultat beeinflussen könnten.

Außer dem Hauptstamm (Stamm A) haben wir zwei andere Stämme gehabt. Der eine, Stamm B, ist schon früher beschrieben worden (Tra I, Ps I). Den anderen (Stamm C), der ebenfalls von einer Pseudoleukämie seinen Ursprung nimmt, wollen wir hier kurz beschreiben, da er in mehreren Beziehungen Interesse darbietet.

Leukämienstamm C.

Die Übertragung gelang in zwei Generationen, darauf wurde der Versuch nicht weitergeführt. Die Impfresultate sind aus der beigegebenen Tabelle ersichtlich.

Tabelle III.

	Geimpft	Erkrankt
1. Generation	2	2
2. Generation	4	2

Huhn Tra IV.

Am 14. X. 07 von Tranekjær Versuchsstation abgesandt. Das Tier ist 14 Tage krank gewesen.

17. X. 07 Sektion: In der Peritonealhöhle eine reichliche Menge getrübtter Flüssigkeit. Leber sehr groß. Rechter Lappen mißt 10 cm an Länge, linker Lappen 9 cm. Oberfläche sehr bunt mit geblichen Flecken auf rotem Boden. Vereinzelt auch größere Flecke von mehr durchschimmerndem Aussehen. Mikroskopie ergibt ein Gewebe, das wesentlich aus großen mononukleären Leukozyten besteht. Hier und da erblickt man schmale Leberzellenbalken, im ganzen wenig hervortretend, oft schwer zu erkennen. Ferner sieht man zerstreut liegende Kapillaren, die nur Erythrozyten enthalten. Die Kapillaren sind an mehreren Stellen zu Teleangiektasien erweitert, welche ebenfalls Erythrozyten enthalten. Die Leukozytenmassen dagegen liegen immer extravaskulär. Milz von normaler Größe und Aussehen. Knochenmark von normaler Farbe. Die Kapillaren enthalten fast nur Erythrozyten. In den Balken nur granulierte Zellen. Am Mesenterium sitzen zahllose, hanfsamengroße Knötchen. Mikroskopisch zeigen sie sich als von großen mononukleären Leukozyten bestehend. An einzelnen Stellen wurden kleine, runde, tuberkelähnliche Knötchen, von einer Binde-

gewebetskapsel umgeben, gesehen. Sie bestehen aus einer strukturlosen Masse, um welche herum ein Kreis von dichtgelagerten Riesenzellen liegt. Diese Riesenzellen enthalten zahlreiche kleine, runde, dunkle Kerne, die durch das ganze Protoplasma verteilt liegen. An mehreren Stellen sieht man in den peritonealen Knötchen Gefäße, welche ebenso wie die Lebergefäße bloß Erythrozyten enthalten.

Obwohl eine Blutuntersuchung im Leben fehlt, halten wir uns doch für berechtigt, den Fall als Pseudoleukämie zu betrachten. Die Gefäße der Leber, des Knochenmarks und der peritonealen Knötchen enthielten nur Erythrozyten. Außerdem besteht, was die Leber betrifft, eine außerordentliche Ähnlichkeit im histologischen Bau mit dem Pseudoleukämiefall Ste II (siehe 1. Teil). In diesem Falle waren die Leberzellenbalken ebenfalls durch mächtige Leukozytenmassen voneinander getrennt. Regelmäßig verteilt lagen Kapillaren, die nur Erythrozyten enthielten. Das Blut war nicht leukämisch, vielmehr waren die polynukleären vorherrschend (70 Prozent) und das Verhältnis $\frac{L}{E} = \frac{1}{180}$. Da der histologische Bau im vorliegenden Fall also mit demjenigen eines sicheren Falles von Pseudoleukämie stimmt, ist es auch aus diesem Grunde natürlich, den vorliegenden Fall als Pseudoleukämie aufzufassen.

Eigentümlich für diesen Fall sind die mesenterialen Knoten, die wohl als leukämische Infiltrate aufzufassen sind. Bei den experimentellen Fällen sind wir etwas Ähnlichem niemals begegnet, auch nicht bei peritonealer Impfung. Wir haben einen makroskopisch ähnlichen Fall untersucht (spontane Krankheit); aber hier erwiesen sich die Knoten als kleine Tumoren von adeno-karzinomatösem Bau, und in den Organen waren leukämische Veränderungen nirgends vorhanden.

Eine fernere Komplikation sind die kleinen tuberkelähnlichen Knoten, die in den Leukozyteninfiltraten zerstreut liegen. Eine wirkliche Tuberkulose liegt wahrscheinlich nicht vor, in dem Fall wären die geimpften Tiere sicher tuberkulös geworden. Vielleicht handelt es sich um kleine Nekrosen, die im Begriff sind, mittels Riesenzellen resorbiert zu werden. Umgekehrt ist es denkbar, daß die Nekrosen primär aus anderen Ursachen entstanden sind, und daß die Leukozytenablagerung erst sekundär im Laufe der Leukämie hinzugekommen ist.

Erste Generation.

Nr. 99.

17. X. 07. Intravenös Emulsion Tra IV. 5. XII. 07 Hb. 40.

21. XII. 07. Hb. 8. Zunahme der Mono- + Myelozyten.

27. XII. 07. Hb. 5. Erythrozyten spärlich. Leukozyten vermehrt.
Spärliche Mitosen + Myelozyten.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{16}. \text{ Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 34 Prozent,} \\ \text{Mono: 66 } \end{cases}$$

Getötet ($2\frac{1}{3}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber nur wenig vergrößert. Gewicht 35 g^{rm}. Farbe gelblich. Mikroskopisch ist das Bild leukämisch. In den Kapillaren liegen vorwiegend Leukozyten, die jedoch nur schmale Reihen bilden. Spärliche Mitosen. In den größeren Gefäßen ebenfalls vorwiegend Leukozyten. Die periportalen Zellanhäufungen vielleicht ein wenig dicker als normal. Milz klein. Gewicht 1.5 g^{rm}. Knochenmark halbflüssig, rötlich. Gefäße enthalten Leukozyten. Balken teilweise atrophisch, teilweise von normalem Aussehen. An der Vorderfläche der rechten Niere sieht man entsprechend dem schmalen mittleren Teil einen nußgroßen Tumor von weißer Farbe. Mikroskopisch erweist sich das Nierengewebe als normal, gegen die Geschwulst ist die Grenze scharf. Die Geschwulst hat einen sehr wechselnden Bau, indem einige Partien rein adenomatös sind mit einschichtigem Zylinderepithel; an anderen Stellen sieht man trabekuläre Zysten, und endlich sind Stellen von ganz sarkomatösem Aussehen vorhanden. Das Gewebe besteht hier wesentlich aus großen rundlichen Zellen mit ganz sparsamem Stroma.

Der Befund ist in diesem Fall genau derselbe wie beim Hauptstamm. Nur die Nierengeschwulst verdient eine genauere Besprechung. Bei der Sektion haben wir geglaubt, daß es sich um einen leukämischen Tumor handelte. Die mikroskopische Untersuchung ergab nun etwas ganz anderes, und wir gingen deshalb zu der Anschauung über, daß ein ganz zufälliges Zusammentreffen von Tumor und Leukämie vorliege. Diese Anschauung wurde dadurch bestärkt, daß das andere geimpfte Tier dieselbe Kombination von Leukämie mit Nierentumor aufwies. Es handelt sich wahrscheinlich bei diesen beiden Tieren um eine familiäre oder endemische Tumorbildung, die schon vor der Leukämie bestanden hat.

Nr. 100.

17. X. 07. Intravenös Emulsion Tra IV. 5. XII. 07. Hb. 20. Leichte Leukämie. 12. XII. 07. Hb. 16. Blutpräparat zeigt nur wenige Zellen. Erythrozyten spärlich, oft polychrom. Vereinzelte Myelozyten.

$$\text{Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 3 Prozent,} \\ \text{Mono: 97 } \end{cases}$$

19. XII. 07. Gestorben (2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber von einer gelben, klaren Fibrinhaut bedeckt, welche am hinteren Rande eine dicke, bernsteinähnliche Masse bildet. Die Leber selbst ist vergrößert, stark rot. Gewicht 64 g^{rm}. An der Oberfläche sieht man kleine Erhabenheiten; auf der Schnittfläche sind keine begrenzten Tumoren zu sehen, dagegen aber die unscharfen, verzweigten, leukämischen Streifen. Mikroskopisch findet man in den Kapillaren vorwiegend Leukozyten, an einigen Stellen jedoch auch reichliche Erythrozyten. In den größeren Gefäßen zahlreiche Leukozyten. Milz ein wenig vergrößert, Gewicht 3 g^{rm}. Knochenmark graurot. Mikroskopie ergibt das typische Bild. Von dem Vorderende der rechten Niere geht ein nußgroßer Tumor aus, welcher sich

bei der mikroskopischen Untersuchung als ganz ähnlich dem bei Nr. 99 gefundenen erweist. Nebennieren von ganz natürlichem Aussehen.

Es handelt sich um eine ganz typische Leukämie.

Zweite Generation.

Nr. 97.

19. XII. 07. Hb. 65. Intravenös Emulsion 100. 2. IV. 08. Hb. 15. Blutpräparat zeigt eine leichte Leukämie. Etwas polychrome Degeneration der Erythrozyten. Polynukleäre nicht vermindert. Mitosen spärlich. Keine Myelozyten.

Differentialzählung: { Poly: 44 Prozent,
Mono: 56 „ .

3. IV. 08. Gestorben ($3\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: In der Bauchhöhle reichlich seröse Flüssigkeit. Leber von einer Fibrinhaut überzogen. Gewicht der Leber 46 grm. Mikroskopie zeigt Leukozytenanhäufung in den Kapillaren. Sehr wenige Erythrozyten. In den größeren Gefäßen ein ähnlicher Inhalt. Milz vergrößert. Gewicht 5 grm. Knochenmark blaß. In den Gefäßen überwiegen die Leukozyten, doch sind auch viele Erythrozyten vorhanden. In den Balken zahlreiche granulierten Zellen.

Der Fall ist im ganzen recht typisch. Nur ist auffallend, daß keine Abnahme der Polynukleären im Blute vorliegt. Dies hängt vielleicht mit der weniger ausgebildeten Knochenmarksveränderung zusammen.

Nr. 98.

19. XII. 07. Hb. 50. Intravenös Emulsion 100. 15. I. 08. Hb. 45. Blutpräparat normal. 27. V. 08. Gestorben ($5\frac{1}{4}$ Monate nach der Impfung). Sektion: Keine Leukämie oder Anämie. Todesursache nicht nachweisbar.

Nr. 210.

19. XII. 07. Hb. 65. Intravenös Emulsion 100. 11. I. 09. Getötet (13 Monate nach der Impfung).

Sektion: Keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 291.

19. XII. 07. Hb. 55. Intravenös Emulsion 100. 14. I. 08. Gestorben (26 Tage nach der Impfung).

Sektion: Organe nicht anämisch. Leber groß. Gewicht 42 grm. (NB. Zwerghahn!) Sie ist von einer Fibrinhaut bedeckt. An der Oberfläche zahlreiche weiße Striche und Punkte. Mikroskopisch sind die Kapillaren mit Leukozyten stark gefüllt. In den größeren Gefäßen fast nur Leukozyten. Keine Infiltrate. Milz etwas vergrößert. Gewicht 2.5 grm. Knochenmark graurot. Mikroskopie ergibt die Kapillaren voll Leukozyten. In den Balken viele kleine dunklere Zellen.

Der anatomische Befund ist wohl ausgebildet, weshalb der Fall als Leukämie angesehen werden muß.

Wenn man diesen kleinen experimentellen Stamm betrachtet, so ist besonders hervorzuheben, daß er ebenso wie Stamm B seinen Ursprung von einem Pseudo-Leukämiefall nimmt. Die Krankheit bei den geimpften Tieren verläuft nun genau wie beim Hauptstamm und gibt durchweg dasselbe Bild, sowohl klinisch wie anatomisch. Während das Resultat beim Stamm B vielleicht weniger deutlich war, läßt sich in diesem Fall wohl nicht bezweifeln, daß wir durch Impfung mit pseudoleukämischem Material eine echte Leukämie hervorgerufen haben (Nr. 100 und 97), indem sowohl Blutbeschaffenheit wie Organveränderungen typisch waren. Wenn man ferner bedenkt, daß die experimentelle Krankheit bald leukämisch bald aleukämisch verläuft, so wird man immer mehr zu der Annahme gedrängt, daß Leukämie und Pseudoleukämie bei Hühnern ätiologisch identisch sind.

Was die peritonealen Knötchen betrifft („Sarcomatosis peritonei“), so sind wir nicht imstande, viel hierüber zu sagen. Es scheint, daß dieselben zuweilen leukämische Produkte sind, in anderen Fällen aber handelt es sich um echte Geschwülste. Die Nierengeschwülste, die in der ersten experimentellen Generation auftraten, mußten als zufälliger Nebebefund aufgefaßt werden und hatten mit der Leukämie nichts zu tun. In der zweiten Generation wurden weder Peritonealknötchen noch andere Tumoren gefunden; vielmehr waren die Fälle von ganz gewöhnlichem Typus.

Verschiedene Versuche.

In diesem Abschnitt wollen wir über die Versuche berichten, die anderen Zwecken dienten als dem einfachen, die Krankheit von Tier zu Tier zu übertragen.¹ Die Beurteilung dieser Versuche bietet gewöhnlich keine Schwierigkeiten, insofern sie positives Resultat haben. Ganz anders liegt die Sache, wenn ein Versuch negatives Resultat liefert. Da nur etwa 40 Prozent der geimpften Tiere die Krankheit bekommen, kann es vorkommen, daß zufällig kein einziges Tier krank wird, obwohl das Impfmateriel vollkommen virulent war. Es leuchtet ein, daß man in solchen Fällen einfach durch Einimpfen auf eine größere Anzahl von Tieren positives Resultat erhalten würde.

Es ist also notwendig zu wissen, wie viel Tiere geimpft werden müssen, um sichere Schlüsse aus den negativen Versuchen ziehen zu können. Um dies zu erläutern, haben wir das ganze Material der Tabelle I (Hauptstamm) in Gruppen von beziehungsweise 5, 8, 10 und 12 Tieren eingeteilt und nun die Verteilung der Anschläge in diesen verschiedenen Fällen untersucht.

¹ Es wurde besonderes Gewicht darauf gelegt, die Tiere gut isoliert zu halten.

Tabelle IV.

Anzahl der Leukämiefälle bei 5 Tieren pro Gruppe	Anzahl der Leukämiefälle bei 8 Tieren pro Gruppe	Anzahl der Leukämiefälle bei 10 Tieren pro Gruppe	Anzahl der Leukämiefälle bei 12 Tieren pro Gruppe
2	5	7	8
5	5	5	6
3	4	6	5
2	5	1	2
3	0	2	4
3	2	4	4
1	2	4	Mittel: 4.8
0	2	Mittel: 4.1	$\mu = 2.0$
1	4	$\mu = 2.2$	
1	Mittel: 3.2		
1	$\mu = 1.8$		
3			
0			
3			
1			
Mittel: 1.9			
$\mu = 1.4$			

Man ersieht, daß die Zahlen in der ersten Kolonne ziemlich unregelmäßig sind. Es sind zwei ganz negative Versuche und fünf mit nur einem Anschlag. Bei Anwendung von fünf Tieren pro Versuch wird es also nicht selten vorkommen, daß virulentes Impfmateriale negatives Resultat ergibt.

Je nachdem die Anzahl der angewandten Tiere pro Versuch steigt, werden die Zahlen regelmäßiger, und die Aussicht zu positivem Resultat wird größer. Bestimmt man für jede Reihe die Mittelzahl und den mittleren Fehler, kann man mittels des exponentiellen Fehlergesetzes berechnen, in wie vielen Fällen man ein positives Resultat erwarten kann. (Der Einfachheit wegen werden Zahlen kleiner als 1 gleich 0 gesetzt.)

Bei Anwendung von 8 Tieren pro Versuch war das Anschlagsmittel = 3.2, der mittlere Fehler = 1.8. Mittels der Gleichung:

$$3.2 \div x \cdot 1.8 = 1$$

kann man finden, welches Multiplum von μ dem niedrigsten Anschlagswert (nämlich 1) entspricht. Man findet: $x = 1.22$, und weiß nun, daß nach dem Fehlergesetze 78 Prozent der Resultate innerhalb der Grenze 1.22μ fallen werden. Von den 22 außerhalb dieser Grenze fallenden wird die Hälfte oberhalb der Mittelzahl fallen, also positiv sein. Die

andere Hälfte wird dagegen = 0. Die Anzahl der positiven Versuche wird demnach $78 + \frac{22}{2} = 89$ Prozent betragen.

Auf ähnliche Weise haben wir die anderen Reihen berechnet, und zwar mit folgendem Resultat:

Tabelle V.

	Mittelzahl	Mittlere Fehler	Positives Resultat	
			berechnet	gefunden
5 Tiere pro Versuch	1.9	1.4	74 Prozent	87 Prozent
8 „ „ „	3.2	1.8	89 „	89 „
10 „ „ „	4.1	2.2	92 „	100 „
12 „ „ „	4.8	2.0	97 „	100 „

Man sieht, daß die berechneten Werte so ziemlich den gefundenen entsprechen. Die letzteren sind im ganzen etwas höher, was teilweise zufällig sein mag, teilweise damit zusammenhängen kann, daß auf Anschläge < 1 keine Rücksicht genommen wurde. Voraussetzung für die Gültigkeit der Zahlen ist, daß Virulenz und Empfänglichkeit nicht allzu sehr schwanken. Eine gewisse Veränderlichkeit muß man annehmen. Deutete doch die Ausbeute in der zweiten experimentellen Generation auf eine starke Virulenz, indem das Anschlagsprozent hoch und die Inkubationszeit kurz war. Als Hauptresultat der obenstehenden Berechnungen gelangen wir zu dem Schlusse, daß negative Versuche mit 5 Tieren nur einen begrenzten Wert besitzen; daß aber das Resultat als fast vollkommen sicher zu betrachten ist, falls 12 Tiere pro Versuch verwendet werden.

Filtratversuche.

A. Filtration durch Filtrierpapier.

29. VIII. 07. Emulsion 233 wurde kurz zentrifugiert und darauf durch zwei Schichten gewöhnliches Filtrierpapier filtriert. Das Filtrat war klar; eine mikroskopische Untersuchung wurde nicht vorgenommen.

Nr. 185.

29. VIII. 07. Intravenös 3 ccm Filtrat 233.

4. IX. 07. Hb. 45. Blutpräparat normal.

21. IX. 07. Hb. 55. „ „

4. X. 07. Hb. 55. „ „

21. X. 07. Hb. 35. Leichte Zunahme der Leukozyten?

24. X. 07. Hb. 35. + Myelozyten + Mitosen. Sonst normal. Verhältnisse.

31. X. 07. Hb. 25. „ „

6. XI. 07. Hb. 5. Erythrozyten etwas spärlich, oft polychrom. Leukozyten etwas vermehrt. Keine Mitosen. Wenige Myelozyten.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{5} \quad \text{Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 9 Prozent,} \\ \text{Mono: 91 } \quad \text{,, } \end{cases}$$

Das Tier sterbend, getötet ($2\frac{1}{4}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Huhn mager, blaß. Leber von normalem Aussehen. Gewicht 25^g_{mm}. Mikroskopisch sieht man jedoch schmale Leukozytenreihen in den Kapillaren. Milz von normaler Größe. Gewicht 1·5^g_{mm}. Knochenmark graurot. In den Kapillaren fast nur Leukozyten. In den Balken zerstreute granulierte Zellen.

Nr. 176 und 165.

Am 29. VIII. 07 intravenös geimpft (Filtrat 233). Bei Untersuchungen am 4. IX., 21. IX., 20. X., 21. XI. wurden normale Hämoglobinwerte gefunden. Am 16. I. 08 ($4\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung) zweite Impfung.

Der Versuch mit diesen drei Tieren hat also einen Anschlag (Nr. 185) gegeben. Es handelt sich hier um eine orientierende Probe, die als Einleitung zu den wirklichen Filtratversuchen dienen sollte. Wir konnten nicht sicher sein, daß das Filtrat zellfrei war, aber andererseits würde ein positives Resultat schon ein Unterschied von den Geschwulstversuchen bedeuten. Bei diesen ist bekanntlich schon eine einfache Filtration durch Papier genügend, um das Impfmateriel unwirksam zu machen. Der Versuch deutete also darauf, daß die Übertragung der Krankheit nicht von der Anwesenheit von Zellen bedingt war, und forderte stark zu Versuchen mit Filterkerzen auf. Wir haben natürlich mit weitporigen Kerzen angefangen.

B. Filtration durch Infusorienerde.

1. Versuch.

Angewandt wurde Leber-Milz-Markemulsion Nr. 161, welche 15 Min. mittels einer großen elektrischen Zentrifuge (2000 Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert wurde. Die Flüssigkeit war danach etwas milchig; mikroskopisch enthielt sie zahlreiche Körnchen, aber keine Zellen. Darauf wurde sie mit Hilfe der Saugpumpe durch eine sogenannte „Liliputkerze“ aus Infusorienerde filtriert. Das Filtrat war ganz klar, leicht rötlich gefärbt. Zellen ließen sich nach der Zentrifugierung darin nicht nachweisen. Das Filtrat wurde nun fünf Tieren intravenös eingespritzt.

Nr. 251.

3. XI. 07. Intravenös 5^{cem} Filtrat 161. 5. XI. 07. Hb. 55. Blutpräparat normal. 30. XII. 07. Hb. 55. 16. I. 08. Hb. 23. Leukämie. Viele Myelozyten. Keine Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{8} \quad \text{Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 7 Prozent,} \\ \text{Mono: 93 } \quad \text{,, } \end{cases}$$

20. I. 08. Gestorben ($2\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Gut genährtes Huhn. In der Bauchhöhle eine dünne seröse Flüssigkeit. Leber groß, blaß, rötlich gefärbt, von einer Fibrinhaut bedeckt. Gewicht 85 g^{rm}. Mikroskopie zeigt die Kapillaren überall von Leukozyten angefüllt. In den größeren Gefäßen vorherrschend Leukozyten. Milz sehr groß. Gewicht 10 g^{rm}. Knochenmark graurot, fester Konsistenz. Die Gefäße voll großer mononukleärer Leukozyten. Oft Mitosen. Erythrozyten spärlich. In den Balken ist das Bild verschieden. Bald sind viele granulierten Zellen vorhanden, bald überwiegen kleine dunkle Zellen.

Der Fall ist sowohl klinisch wie anatomisch eine wohlausgebildete Leukämie.

Nr. 257.

3. XI. 07. Intravenös 8 ccm Filtrat 161. 5. XI. 07. Hb. 50. Blutpräparat normal. 30. XII. 07. Hb. 52. 23. I. 08. Hb. 65. 27. I. 08. Hb. 40. Anfangende Leukämie? 12. II. 08. Hb. 30. Polychrome Degeneration der Erythrozyten. Sonst nichts. 19. II. 08. Hb. 50. 13. III. 08. Leichte Zunahme der mononukleären. + Myelozyten. 23. III. 08. Getötet (4³/₄ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber von normalem Aussehen und Größe. Gewicht 30 g^{rm}. Mikroskopie: Kapillaren nicht erweitert, enthalten wenige Erythrozyten, keine Leukozyten. Keine Infiltrate. Milz klein. Gewicht 1.5 g^{rm}. Mikroskopie ergibt ganz normalen Bau. Knochenmark graurot. In den Gefäßen sieht man mikroskopisch wesentlich Leukozyten, jedoch sind Stellen mit reichlicher Erythrozytenbeimischung vorhanden.

Es handelt sich hier um einen Fall mit der eigentümlichen Schwankung im Krankheitsbild, welche in den leichteren Fällen oft gesehen wird. Anatomisch wird nur die typische Knochenmarksveränderung gefunden, die anderen Organe sind normal.

Nr. 259.

3. XI. 07. Intravenös 10 ccm Filtrat 161. 5. XI. 07. Hb. 45. Blutpräparat normal. 30. XII. 07. Hb. 35. Ein wenig polychrome Degeneration. 9. I. 08. Hb. 23. Deutliche Leukämie. + Myelozyten + Mitosen.

$$\frac{L}{E} = \frac{1}{6} \quad \text{Differentialzählung: } \begin{cases} \text{Poly: 5 Prozent,} \\ \text{Mono: 95 „} \end{cases}$$

22. III. 08. Gestorben (4²/₃ Monate nach der Impfung).

Sektion: Huhn mager. Leber groß. Gewicht 83 g^{rm}. Farbe rötlichgrau. Kapillaren enthalten hauptsächlich mononukleäre Leukozyten, dasselbe gilt für die größeren Gefäße. Milz groß, Gewicht 7 g^{rm}. Knochenmark blaß. Mikroskopie: In den Gefäßen wesentlich mononukleäre Leukozyten, nur wenig Erythrozyten. Viele Mitosen. An einigen Stellen sieht man in den Gefäßen viele kleine dunklere Zellen (Erythroblasten?).

Der Fall ist in jeder Beziehung typisch.

Nr. 253 und 256.

Am 3. XI. 07 intravenös geimpft (Filtrat 161). Am 5. XI. u. 30. XII. 07 wurden normale Hämoglobinzahlen gefunden. Am 24. III. 08 ($4\frac{3}{4}$ Monate nach der Impfung) wurden die Tiere getötet.

Sektion: Keine leukämischen Veränderungen.

In diesem Versuche haben wir also bei 3 der geimpften 5 Tiere die Krankheit hervorgerufen. Wir müssen folgern, daß die Zellen ohne Bedeutung sind bei der Übertragung der Krankheit. Das hohe Anschlagsprozent, sowie der schnelle und typische Verlauf deuten darauf, daß das Filtrat ebenso wirksam wie die ursprüngliche Emulsion gewesen ist. Das Resultat wurde durch die folgenden Versuche bestätigt.

2. Versuch.

Es wurde angewandt Leber-Milz-Markemulsion Nr. 113 + 236. Die Organemulsion wurde zuerst durch Gaze filtriert und darauf 6 Minuten mit der großen Zentrifuge (2000 Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert. Die opalisierende Flüssigkeit wurde nun durch eine ähnliche Kerze wie im vorigen Versuch filtriert. Das Filtrat war ganz klar und zeigte sich bei mikroskopischer Untersuchung als ganz zellfrei. Es wurde fünf jungen Hühnern intravenös eingespritzt.

Nr. 77.

17. I. 08. Intravenös 5 ^{ccm} Filtrat 113 + 236.

23. I. 08. Hb. 55. Blutpräparat normal.

23. III. 08. Hb. 20. Leichte Leukämie + Myelozyten + Mitosen.

31. III. 08. Hb. 10. " " " "

Differentialzählung: { Poly: 12 Prozent,
Mono: 88 " .

Getötet ($2\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber vergrößert, blaß. Gewicht 62 ^{gmm}. Kapillaren mit mononukleären Leukozyten gefüllt. Viele Mitosen. In den größeren Gefäßen wesentlich Leukozyten. Keine Infiltrate. Milz groß, Gewicht 10 ^{gmm}. Knochenmark graurot. Mikroskopisch ist das Bild leukämisch.

Es handelt sich hier um einen ganz typischen Leukämiefall.

Nr. 78, 79, 80, 81.

Am 16. I. 08 intravenös geimpft (Filtrat 113 + 236). Am 23. I. 08 normale Hämoglobinzahlen. Am 8. VIII. 08 ($6\frac{3}{4}$ Monate nach der ersten Impfung) neue Impfung.

Das Resultat dieses Versuches ist also, daß von fünf geimpften Tieren eins leukämisch geworden ist (Nr. 77). Da die Inkubationszeit und der Verlauf in diesem Falle ganz „normal“ sind, kann man ebenso wie im vorigen Versuche den Schluß ziehen, daß die Filtration der Virulenz des Materials nicht geschädigt hat.

C. Filtration durch Berkefeldkerzen.

Für den Versuch wurde eine Emulsion aus Leber, Milz und Knochenmark Nr. 232 mit einer reichlichen Menge 0.9 prozentiger NaCl-Lösung hergestellt (15:350). Diese Emulsion wurde 10 Minuten stark zentrifugiert (4000 Umdrehungen pro Minute). Die opalisierende Flüssigkeit wurde vorsichtig abpipettiert und darauf durch ein Berkefeldfilter mittels der Saugpumpe filtriert. Das Filtrat war ganz klar, wurde 6 Hühnern intravenös eingespritzt.

Nr. 70.

20. II. 08. Hb. 60. Intravenös 10 ccm Filtrat 232. 2. IV. 08. Hb. 25. Beginnende Leukämie. Polynukleäre fehlen fast vollständig. Myelozyten und Mitosen vorhanden. 9. IV. 08. Hb. 35. 18. IV. 08. Hb. 50. Blutpräparat: im wesentlichen normal. 7. V. 08. Hb. 30. Blutpräparat: nichts Abnormes. 14. VII. 08. Entschieden krank, jedoch nicht blaß. 20. VIII. 08. Gestorben (6 Monate nach der Impfung).

Sektion: Leber außerordentlich groß, Gewicht 110 g^{rm}. Farbe rötlich. Mikroskopie zeigt die Kapillaren stark erweitert und mit Leukozyten angefüllt. Mitosen recht häufig. Nur wenige Erythrozyten. In den größeren Gefäßen sind gleich viele Leuko- und Erythrozyten. Ferner begegnet man zahlreichen, ziemlich großen periportal Infiltraten. In diesen Infiltraten sind zweierlei Zellformen, nämlich erstens die gewöhnlichen granulierten Zellen, zweitens kleine Zellen mit runden dunklen Kernen und ungefärbtem Protoplasma. Diese letzteren sind in größerer Menge als die granulierten Zellen vorhanden. Jede dieser beiden Zellarten liegt für sich isoliert, ohne sich mit der anderen zu mengen. Milz enorm. Gewicht 17 g^{rm}! Mikroskopie ergibt viele große mononukleäre Leukozyten, die sich von den dunklen Stromazellen stark abheben. Knochenmark blaß, weich. Mikroskopisch sieht man die Balken schmal, atrophisch mit kleinen dunklen Zellen, während die granulierten Zellen fast ganz fehlen. Gefäße stark erweitert, enthalten fast nur Leukozyten. Nieren groß. Rechte Niere wiegt 15 g^{rm}. Farbe blaßrot. Schnittfläche ohne Zeichnung. Mikroskopisch sieht man die Kanälchen durch Leukozytenmassen voneinander getrennt. Es zeigt sich, daß die Leukozyten sämtlich innerhalb der stark erweiterten Kapillaren liegen. Erythrozyten sind in geringer Menge den Leukozyten beigemischt. Leukozytenmitosen sind spärlich vorhanden. In den größeren Gefäßen fast nur Leukozyten. Von dem Ovarium geht eine hühnereigroße, feste, etwas unebene Geschwulst aus, welche bei der Mikroskopie sich als faszikuläres Spindelzellensarkom erweist. Die Spindelzellen sind ziemlich kurz. Das Stroma sehr wenig entwickelt. Schnitte vom Herzblut zeigen vorwiegend Erythrozyten. An einigen Stellen sieht man jedoch Klumpen von Leukozyten, die sämtlich mononukleär sind.

Dieser Fall bietet ja in mehreren Beziehungen Interesse. Die leukämische Blutveränderung war zu einer gewissen Zeit ziemlich wohl ausgebildet. Später verschwand sie vollständig, und wir kamen immer mehr zu der Überzeugung, daß das Tier genesen war. Das ist auch der

Grund, daß wir im späteren Verlaufe keine Blutuntersuchungen vornahmen. Aus der Untersuchung des Herzblutes in Schnitten geht hervor, daß vor dem Tode nur eine geringe Zunahme der Leukozyten vorlag. Eigentümlich ist der bei einer experimentellen Leukämie sehr langwierige Verlauf, indem 6 Monate von der Impfung bis zum Tode vergehen. Man könnte geneigt sein, diesen chronischen Verlauf damit in Verbindung zu setzen, daß das Impfmateriel stark zentrifugiert und durch ein dichtes Filter filtriert worden war. Es wäre ja denkbar, daß eine Verminderung der Menge des eingepfchten Virus die Verhältnisse denjenigen bei der spontanen Krankheit, bei der ja nur kleine Mengen eingepfcht werden, nähern würde. Gegen diese Deutung spricht allerdings, daß die Inkubationszeit normal war, nämlich $1\frac{1}{2}$ Monat betrug. Ob das eine oder das andere nun die Ursache des chronischen Verlaufes ist, so haben die anatomischen Veränderungen jedenfalls einen hohen Grad erreicht, und wir finden hier Prozesse, denen wir sonst nur in den spontanen Fällen begegnen. Nicht bloß ist die gewöhnliche Anschwellung der Leber und Milz besonders stark entwickelt, sondern etwas Neues ist hinzugekommen: die Vergrößerung der Nieren. Dieselbe erwies sich mikroskopisch als von einer intravaskulären Leukozytenanhäufung herrührend. Das Bild glich bei flüchtiger Betrachtung demjenigen, das bei gewissen spontanen Fällen, z. B. Tra IV, gesehen wird. In jenem Falle lagen jedoch die Leukozyten interstitiell. Eine andere Veränderung, der wir ebenfalls zum ersten Male bei der experimentellen Krankheit begegnen, sind die periportalcn Infiltrate der Leber. Wir haben also seinerzeit Recht gehabt, als wir die Vermutung aussprachen, die Leberinfiltrate seien eine Späterscheinung, die gewöhnlich wegen des schnellen Verlaufes nicht zur Entwicklung kam. Endlich wollen wir die sehr ausgesprochene Atrophie der Knochenmarksbalken hervorheben.

Nr. 71, 72, 73, 74, 76.

Am 20. II. 08 intravenös geimpft (Filtrat 232). Die Tiere wurden öfter untersucht und durchweg normale Hämoglobinzahlen gefunden. Nur bei Nr. 74 waren die Zahlen auffallend hoch (80—90). Nr. 71 ist am 2. I. 08, Nr. 73 am 9. XII. 08, Nr. 74 am 28. VIII. 08 gestorben. Nr. 72 und Nr. 76 wurden am 11. I. 09 getötet.

Die Sektion ergab bei diesen Tieren Rachitis, aber keine leukämischen Veränderungen.

Als Hauptresultat dieser Versuche mit Kerzenfiltraten kann festgestellt werden, daß zellfreie Filtrate imstande sind, die Krankheit hervorzurufen. Es ist hiermit ein durchgreifender Unterschied von den echten Geschwülsten nachgewiesen worden, welche nur mittels

zellhaltigen Impfmaterials übertragbar sind. Die Bantische Auffassung der Leukämie als sarkomatöse Degeneration der blutbildenden Organe muß folglich verworfen werden. Die Leukämie muß eine Infektionskrankheit sein.

Es erhebt sich jetzt die weit schwierigere Frage von der Natur der krankheitserregenden Mikroben. Die Filtrationsversuche ebenso wie die übrigen Untersuchungen geben hierüber nur wenige Aufschlüsse. Wir finden es wenig wahrscheinlich, daß es sich um Bakterien handeln sollte. Es ist uns ebensowenig wie früheren Untersuchern gelungen, solche nachzuweisen, weder bei direkter Mikroskopie noch durch Kultur. Die von verschiedenen Untersuchern (Loewit, Pappenheim) gefundenen Gebilde haben wir auch gesehen, halten aber deren Parasitennatur für unbewiesen. Wir haben auch nach Spirochäten gefahndet, aber keine gefunden, weder in den Blutpräparaten, noch in Ausstrichen von den Organen.

Die Größe der unbekannten Erreger läßt sich innerhalb gewisser Grenzen durch Filtrationsversuche beurteilen. Die Versuche mit Kerzen aus Infusorienerde, welche zur Entscheidung der Frage über die Bedeutung der Zellen sehr brauchbar sind, geben über die Größe des Virus wenig Bescheid, indem die Poren so weit sind, daß Kokken passieren können. Die Berkefeldfilter sind dichter, lassen jedoch kleine Bakterienformen passieren. Versuche mit Chamberlandkerzen haben wir vorläufig nicht gemacht.

Filtratversuche müssen ja immer mit Vorsicht beurteilt werden, indem nicht bloß die Porenweite, sondern auch die Dicke des Filters, die Anzahl der Keime und der Albumingehalt der Flüssigkeit für das Resultat bestimmend sind. Filtrierbarkeit beweist zwar das Vorhandensein von kleinen Formen, sagt aber nichts gegen die Existenz größerer Formen, die vom Filter zurückgehalten werden. Es gibt eine Reihe von Krankheiten (Maul- und Klauenseuche, Peripneumonie, Gelbfieber u. a.), deren Erreger nicht mikroskopisch oder kulturell nachweisbar sind, und die imstande sind, Berkefeldfilter zu passieren. Die Untersuchungen haben dasselbe für die Leukämie dargetan. Dieselbe ist deshalb vorläufig unter die Krankheiten mit filtrierbarem Virus einzureihen.

Über die Größe der Erreger läßt sich also sehr wenig aussagen, man kann nicht einmal wissen, ob sie „ultravisibel“ sind oder nicht.

Zentrifugierungsversuche.

Durch hinlänglich kräftiges Zentrifugieren können Bakterien bekanntlich abzentrifugiert werden. Handelt es sich um Körper, die noch kleiner als Bakterien sind, würden die Schwierigkeiten wachsen, indem diese

kleinsten Körper eine relativ große Oberfläche haben, wodurch eine große Reibung gegen die Flüssigkeitsteilchen bedingt wird. Es wird ein Punkt kommen, wo die Körperchen so klein sind, daß sie sich überhaupt nicht abzentrifugieren lassen. Es wäre also denkbar, daß man die größere oder geringere Schwierigkeit beim Zentrifugieren als Maßstab für die Größe der unsichtbaren Mikroben benutzen könnte. Wir haben diese Frage leider nur sehr unvollständig untersucht.

Für den Versuch wandten wir die Emulsion 97, deren Virulenz durch Kontrollversuche nicht geprüft worden ist, an. Die Emulsion wurde zuerst 2 Minuten zentrifugiert, darauf durch eine Berkefeldkerze filtriert. Das klare Filtrat wurde nun sehr kräftig zweimal 2 Stunden zentrifugiert (4000 Umdrehungen pro Minute). Die Temperatur der Flüssigkeit stieg während der Zentrifugierung bis 28°. Die Impfflüssigkeit wurde vorsichtig mittels Spritze von den obersten Flüssigkeitsschichten genommen und sechs gesunden Hühnern am 4. IV. 08 intravenös eingespritzt. Die Tiere wurden mehrmals untersucht, wiesen stets normale Hämoglobinwerte auf. Am 12. X. 08 (6 Monate nach der Impfung) wurden sie getötet. Die Tiere waren alle normal, bei keinem wurden leukämische Veränderungen gefunden. Der Versuch war also negativ, erlaubt jedoch wegen der kleinen Anzahl der Versuchstiere keine sicheren Schlüsse.

Aufbewahrung des Impfmateri als bei verschiedenen Temperaturen.

Außer den eigentlichen Versuchen haben wir auch gelegentlich mehr zufällige Beobachtungen über die Haltbarkeit gemacht. So haben wir öfters gesehen, daß eine Aufbewahrung im Eisschrank während 24 Stunden dem Materiale (Organe, Emulsionen, Filtrate) nichts geschadet hat. In einem Falle (Tra IV) vergingen mehr als 2 Tage vom Tode des Tieres bis zur Einimpfung.

Aufbewahrung bei 37° in 42 Stunden.

Für den Versuch wurden Leberstücke, $2 \times 1 \times 0.5$ cm groß, von Nr. 144 verwendet. Dieselben waren im Thermostaten steril aufgehoben worden. Das Gewebe erwies sich als mürbe, ließ sich sehr leicht im Mörser zerreiben. Die Emulsion wurde am 2. X. 07 fünf Hühnern intravenös eingespritzt. Vier dieser Tiere: Nr. 180, 183, 191, 199 boten keinerlei Krankheitserscheinungen dar. Bei einer Reihe von Untersuchungen waren Hämoglobinzahl und Blutbild normal. Sie wurden am 10. VII. 08 (9 Monate nach der Impfung) getötet. Die Sektion ergab normale Verhältnisse, keine leukämischen Veränderungen. Beim fünften, Nr. 179, wurde folgendes gefunden:

2. X. 07. Hb. 55. Intravenös geimpft. 17. X. 07. Hb. 45. Blutpräparat normal. 7. XI. 07. Hb. 20. Polynukleären spärlich. Kleine Lymphozyten etwas vermehrt. Keine Mitosen. Keine Myelozyten. 13. XI. 07. Hb. 50. Blutpräparat normal. 21. XI. 07. Hb. 55. 12. XII. 07. Hb. 50. 12. V. 08. Ganz gesund. Getötet (7 Monate nach der Impfung).

Sektion: Organe normal, ohne leukämische Veränderungen,

Das Tier hat also eine vorübergehende Anämie gehabt. Da aber keine der typischen leukämischen Blutveränderungen nachgewiesen wurde, haben wir den Fall nicht als Leukämie aufgefaßt. Der Versuch ist folglich negativ.

Aufbewahrung 7 Tage bei 8° C.

Es wurden die Organe von Nr. 244 angewandt, welche während einer Woche im Eisschrank aufgehoben wurden. Die Emulsion wurde am 30. XII. 07 fünf Hühnern: Nr. 86, 87, 88, 89, 90 eingespritzt. Die Tiere blieben gesund, sie wurden am 14. VIII. 08 (7½ Monat nach der Impfung) getötet. Bei der Sektion wurden bei 3 Tieren geringfügige tuberkulöse Veränderungen nachgewiesen, leukämische Veränderungen waren nicht vorhanden.

Aufbewahrung während 6 Tage bei 2° C.

Der Versuch wurde wie der vorige ausgeführt. Es wurden die Organe von Nr. 56 verwendet. Am 26. IX. 08 intravenöse Einspritzung auf fünf Tiere: Nr. 16, 17, 18, 19, 20. Die Tiere haben keine Krankheitszeichen dargeboten, wurden am 12. V. 09 getötet. Sektion: Keine leukämischen Veränderungen.

Das Resultat dieser Aufbewahrungsversuche ist also ein negatives gewesen, was uns etwas überrascht hat. Der 1. Versuch (42 Stunden bei 37°) bedarf aus verschiedenen Gründen einer Wiederholung. Ähnliche Versuche mit Geschwülsten geben gewöhnlich negatives Resultat, indem die Geschwulstzellen durch die Autolyse abgetötet werden. Auch bei sicheren Infektionskrankheiten, wie z. B. der Trypanosomiasis, kann das Resultat aber negativ werden, indem die Parasiten durch die autolytischen Prozesse in den Organen geschädigt oder getötet werden.

Sonderbarer sieht es aus, daß die Aufbewahrung in der Kälte nicht gelungen ist, weil die Virulenz sonst sowohl bei Geschwülsten wie bei Infektionskrankheiten erhalten bleibt.

Eigentliche Versuche über den Einfluß der Temperatur (Maximum, Minimum, Abschwächung usw.) haben wir nicht angestellt.

Verschiedene Einimpfungsmethoden.

Bei den ersten Übertragungsversuchen haben wir oft gleichzeitig intravenöse, intraperitoneale und subkutane Einimpfung gemacht, da man nicht von vornherein wissen konnte, welche Applikationsweise die wirksamste war. Da es sich herausstellte, daß die intravenöse Methode brauchbar war, haben wir seitdem dieselbe als Normalmethode benützt. Hier wollen wir nun einige Versuche mit den anderen Methoden mitteilen.

Intraperitoneale Impfung:

Zur Verwendung kam die Emulsion 77, nachdem sie 24 Stunden bei etwa 8° aufgehoben worden war. Fünf Hühner wurden geimpft.

Nr. 56.

1. IV. 08. Hb. 50. Einimpfung. 30. VI. Hb. 40. Polychrome Degeneration. Vereinzelt Myelozyten. 3. VII. 08. Gestorben (3 Monate nach der Impfung).

Sektion: In der Peritonealhöhle 10^{ccm} gelblicher, leicht trüber Flüssigkeit. Keine Knötchenbildung. Leber groß, 63^{gmm}. Farbe rötlich. In den großen Hepaticaästchen sitzen Thromben. Mikroskopie: Kapillaren erweitert, stark mit Leuko- und Erythrozyten gefüllt. Bald überwiegen die ersteren, bald die letzteren. In den größeren Gefäßen sind die Leukozyten vorherrschend. Milz klein, Gewicht 1.5^{gmm}. Knochenmark blaß, gelatinös. In den Kapillaren viele Leukozyten, weniger Erythrozyten. In den Balken sind die granulierten Zellen etwas spärlich vorhanden.

Nr. 55 und 59

wurden am 15. I. 09 (9 Monate nach der Impfung) getötet.

Sektion ergab keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 57.

Am 8. XII. 08 gestorben (8 Monate nach der Impfung).

Sektion: Rachitis. Keine Leukämie.

Nr. 58.

Am 25. IX. 08 gestorben (6 Monate nach der Impfung).

Sektion: Starke Rachitis. Keine leukämischen Veränderungen.

Intraperitoneale Impfung hat also positives Resultat gegeben, indem von 5 geimpften Tieren eins leukämisch wurde (Nr. 56). Man könnte vielleicht einwenden, daß die Anschwellung der Leber eine Folge der Thrombose sein könnte, und daß der Fall also etwas zweifelhaft wäre. Hiergegen muß aber gesagt werden, daß die Leukämienatur des Falles unwiderlegbar durch den erfolgreichen Impfversuch (60 Prozent Anschlag) bewiesen wird. Es muß besonders hervorgehoben werden, daß am Peritoneum keine leukämischen Knötchen vorhanden waren, was auch gegen die Geschwulsttheorie spricht. Handelte es sich bei der Leukämie um eine Geschwulstbildung, so würde man doch vor allen Dingen an der Impfstelle ein Weiterwuchern der transplantierten Zellen erwarten.

Subkutane Impfung:

1. Versuch.

23. XII. 07. 5 gesunde Hühner (Nr. 91, 92, 93, 94, 95) bekamen Emulsion 244 subkutan eingespritzt (Virulenz geprüft), jedes 10 ^{cem}. Die Tiere blieben gesund, zeigten stets normale Hämoglobinwerte. 3 1/4 Monate nach der Impfung war nichts Krankhaftes zu entdecken. Sie bekamen nun die zweite Impfung (intravenös).

2. Versuch.

11. XII. 08. Subkutane Einimpfung von Emulsion 81 (Virulenz unbekannt) auf 4 gesunde Hühner: Nr. 11, 12, 13, 14.

Nr. 12 am 25. I. 09 gestorben (1 1/2 Monat nach der Impfung).

Nr. 13 am 11. II. 09 gestorben (2 Monate nach der Impfung).

Nr. 14 am 28. I. 09 gestorben (1 1/2 Monat nach der Impfung).

Die 3 Tiere boten alle Rachitis, aber keine leukämischen Veränderungen dar. Nr. 11 lebt noch, ohne Krankheitszeichen darzubieten.

3. Versuch.

Es handelt sich nur um ein einzelnes Tier, Nr. 139.

30. IX. 07. Subkutan 10 ^{cem} Emulsion 144. 14. X. 07. Hb. 60. Blutpräparat normal. 7. XI. 07. Hb. 50. 5. XII. 07. Hb. 60. 7. II. 08. Einimpfung von Sarkomgewebe. 1. IV. 08. Hb. 20. Polychrome Degeneration der Erythrozyten. 9. IV. 08. Hb. 10. Beginnende Leukämie? 18. IV. 08. Hb. 15. Geringe Vermehrung der Mononukleären. 19. V. 08. Hb. 15. Geringe Vermehrung der Mononukleären. Getötet (8 1/2 Monate nach der Impfung).

Sektion: Gut genährtes Tier. Leber stark gelb. Mikroskopie: Kapillaren leer. In den größeren Gefäßen hauptsächlich Erythrozyten. Milz blaß, vergrößert. Gewicht 5 ^{gram}. Knochenmark graurot. Mikroskopisches Bild nicht leicht zu deuten. Es besteht eine Sklerose des Gewebes. An vielen Stellen ist das Bild jedoch wie bei der Leukämie mit leukozytengefüllten Kapillaren, Mitosen, Abnahme der granulierten Zellen der Balken.

Subkutane Einimpfung hat also negatives Resultat gegeben, indem unter 10 geimpften Tieren kein einziges leukämisch wurde. Auf den Fall Nr. 139 wollen wir nicht viel Gewicht legen, da dieser Fall sehr atypisch ist und ferner eine Möglichkeit für Ansteckung vorliegt.

Der Vollständigkeit halber wollen wir noch erwähnen, daß wir einen kleinen Versuch gemacht haben, die Krankheit durch Ansteckung zu übertragen. Es handelt sich nur um 3 Tiere, die sich 6 Monate unter den leukämischen aufhielten. Von diesen wurde jedoch keins von der Krankheit angegriffen. Die Leukämie ist jedenfalls sehr wenig ansteckend, da an derselben Stelle gewöhnlich nur einige wenige Tiere erkranken.

Wiederholte Impfungen.

Bei diesen Versuchen handelt es sich nur um intravenöse Impfungen. Zweck der Versuche war, teils die Nuller-Tiere auszunutzen, teils über eventuelle Schwankungen der Empfänglichkeit Auskunft zu bekommen.

Nr. 65.

31. III. 08. 1. Impfung. (Emulsion 77). 8. VIII. 08. 2. Impfung (Em. 51). 3. IX. 08. Hb. 72. Polychrome Degeneration der Erythrozyten + Mitosen. 11. IX. 08. Hb. 70. Blutbild unverändert. 18. IX. 08. Hb. 30. Leichte Leukämie. Zahlreiche Mitosen. Spärliche Myelozyten, zuweilen mit Riesengranula.

Differentialzählung: { Poly: 15 Prozent,
Mono: 85 „ .

20. IX. 08. Gestorben ($1\frac{1}{2}$ Monat nach der Impfung).

Sektion: Leber groß, blaß. Gewicht 92 ^{grm}. Mikroskopie: Kapillaren mit Leukozyten gefüllt, in den größeren Gefäßen wesentlich Leukozyten. Keine Infiltrate. Milz groß. Gewicht 7 ^{grm}. Knochenmark graurot, weich. Mikroskopisch sieht man die Balken atrophisch mit nur wenigen granulierten Zellen. In den Kapillaren wesentlich Leukozyten. Nieren etwas weißlich, mikroskopisch nichts Abnormes.

Es handelt sich hier um eine typische Leukämie, die mit der gewöhnlichen Inkubationszeit nach der 2. Impfung auftritt. Man muß deshalb annehmen, daß es die 2. Impfung ist, die wirksam gewesen. Bemerkenswert ist, daß die Anämie nicht wie gewöhnlich als Frühsymptom auftritt.

Nr. 81.

16. I. 08. 1. Impfung (Filtrat 113 + 236). 8. VIII. 08. 2. Impfung (Emulsion 51). 3. IX. 08. Hb. 90. Blutpräparat normal. 19. IX. 08. Hb. 80. Polychrome Degeneration. Sonst nichts. 26. IX. 08. Hb. 85. Blutpräparat normal. 11. XII. 08. Gestorben (4 Monate nach der 2. Impfung).

Sektion: Leber von einer Fibrinhaut umgeben. Sie ist groß, von ziemlich normaler Farbe. Gewicht 76 ^{grm}. Mikroskopie: Kapillaren leukozytengefüllt. In den größeren Gefäßen fast nur Erythrozyten. Leichte Vergrößerung des periportal Gewebes. Milz groß. Gewicht 7.5 ^{grm}. Knochenmark ziemlich rot, aber sehr weich, fast flüssig. Mikroskopisch sieht man die Kapillaren vorwiegend Leukozyten enthaltend. Balken schmal, granuliert Zellen etwas spärlich.

Der Fall ist ja in anatomischer Beziehung ganz typisch. Ebenso wie bei Nr. 65 ist die Krankheit im Anschluß an die 2. Impfung entstanden. Die Krankheit beginnt hier ebenfalls ohne Anämie, die Hämoglobinzahl ist sogar höher als normal.

Nr. 282.

23. XII. 07. Hb. 70. 1. Impfung (Blut 244). 3. VII. 08. Hb. 65. 2. Impfung. (Emulsion 56). 21. VIII. 08. Hb. 50. Blutpräparat: Spärliche Myelozyten. 27. VIII. 08. Hb. 50. Myelozyten vermehrt. 3. IX. 08. Hb. 40.

Beginnende Leukämie + Mitosen. 4. IX. 08. Dem Hrn. Prof. M. Jacoby in Berlin übersandt. Derselbe teilt folgendes mit:

2. X. 08. Hb. 30 { Leukozyten: 75 000,
Erythrozyten: 1 541 000.

3. XI. 08. Hb. 30 { Leukozyten: 162 000,
Erythrozyten: 1 250 000.

1. XII. 08. Leukozyten: 127 000.

19. XII. 08. Getötet ($5\frac{1}{2}$ Monat nach der 2. Impfung).

Sektion: Leber vielleicht etwas vergrößert. Mikroskopisch zahlreiche leukämische Herde. Milz vergrößert, blaß. Knochenmark ganz hell. Mikroskopisch sieht man viele große mononukleäre Leukozyten, während Erythrozyten und granulierten Zellen an Zahl vermindert sind.

Die Leukämie hat sich nach der 2. Impfung entwickelt. Auch in diesem Fall ist es auffallend, wie lange es dauert, ehe die Anämie auftritt. Im Anfang waren die Myelozyten fast das einzig Pathologische im Blutbild.

Nr. 83, 84, 85.

Am 16. I. 08. 1. Impfung (Emulsion 113 + 236). $5\frac{1}{2}$ Monate später, am 3. VII. 08. 2. Impfung (Emulsion 56). Nr. 83 wurde am 11. IX. 08 getötet. Nr. 84 ist am 7. XI. 08, Nr. 85 am 19. X. 08 gestorben. Bei diesen Tieren wurde bei mehreren Untersuchungen polynukleäre Hyperleukozytose, aber keine Abnahme des Hämoglobins gefunden. Die Sektion ergab bei allen drei Tieren Tuberkulose, dagegen keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 62, 67, 69.

Am 31. III. 08. 1. Impfung (Emulsion 77). $4\frac{1}{4}$ Monate später, am 8. VIII. 08. 2. Impfung (Emulsion 51). Nr. 62 und 67 wurden am 11. I. 09, Nr. 69 am 27. XII. 08 getötet. Die Sektion ergab keine leukämischen Veränderungen.

Nr. 78.

Am 16. I. 08. 1. Impfung (Filtrat 113 + 236). $6\frac{3}{4}$ Monate später, am 8. VIII. 08. 2. Impfung (Emulsion 51). Am 27. X. 08 gestorben.

Sektion: Keine leukämischen Veränderungen.

Blicken wir auf diese Versuche zurück, so ist das Resultat, daß wir bei 12 „Nuller-Tieren“ 3 mal bei der 2. Impfung Anschlag bekommen haben. Dies bedeutet, daß die Unempfänglichkeit gewisser Tiere keine absolute, sondern nur eine zeitliche ist. Man könnte vielleicht gegen solche Versuche den Einwand machen, daß es schwer zu sagen ist, welche der beiden Impfungen in Wirklichkeit die Krankheit hervorgerufen hat, weil die Leukämie zuweilen einen etwas chronischen Verlauf nimmt. Die Sache liegt aber so, daß eine lange Zeit nach der 1. Impfung verstrichen war, während welcher die Tiere ganz gesund waren und keinerlei Krankheitszeichen darboten (bzw. $4\frac{1}{4}$, $6\frac{3}{4}$ und

7 Monate). Die Leukämie tritt nun mit der gewöhnlichen Inkubationszeit ($1\frac{1}{2}$ bis 2 Monate) nach der 2. Impfung auf. Diese muß es also sein, die die Krankheit bewirkt hat. In allen drei Fällen beginnt die Krankheit eigentümlicherweise ohne Anämie.

Schließlich wollen wir einen Versuch kurz erwähnen, wo die erste Impfung subkutan, die zweite dagegen intravenös war. Es wurden 5 Hühner geimpft (Nr. 91, 92, 93, 94, 95). Nach der zweiten Impfung entstand bei einem Leukämie. Da die subkutane Impfung wahrscheinlich als unwirksam zu betrachten ist, muß die zweite (intravenöse) Impfung hier als gleichwertig den gewöhnlichen ersten Impfungen gesetzt werden.

Verschiedene kleinere Versuche.

Verstärkung der Virulenz.

Die Versuche mit Leukämie sind im ganzen langwierig und erfordern viel Platz, weil man mit zahlreichen Tieren arbeiten muß. Wir haben deshalb reichlich Gelegenheit gehabt, den Mangel eines maximal virulenten Stammes zu empfinden, und zwar eines solchen, der sowohl reichliche Ausbeute wie schnellen Verlauf leisten könnte. Es wäre nun denkbar, daß man dieselben Vorteile durch passende Auswahl der Tiere oder durch irgendeine geeignete Vorbehandlung erzielen könnte. Es hatte z. B. den Anschein, als wäre in der zweiten experimentellen Generation des Hauptstammes eine starke Empfänglichkeit vorhanden. In diesem Versuche wurden nun junge Hühner verwendet, und wir haben deshalb später versucht, ob solche immer empfänglicher als erwachsene sein sollten. Das Resultat war völlig negativ (7. Generation). Wir haben dann versucht, die Entwicklung der Krankheit durch Unterernährung der Tiere zu beschleunigen. Das Resultat war negativ, indem keins der 3 Tiere (Nr. 83, 84, 85) leukämisch wurde. Endlich haben wir Blutentleerungen versucht. Es handelt sich um 2 Tiere der 5. Generation: Nr. 63 und 66. Bei Nr. 63 war überhaupt keine Wirkung zu spüren. Das Tier blieb gesund. Bei Nr. 66 kam die Krankheit schon am 11. Tag zum Vorschein, hatte übrigens keinen sehr bösartigen Charakter. Das Tier genas vollständig im Anschluß an die Arsenbehandlung, die gleichzeitig mit einer spontanen Besserung eingeleitet wurde. Falls überhaupt eine Wirkung der Blutentziehung zu verzeichnen ist, so kann sie nur in einer Abkürzung der Inkubationszeit bestehen; sie hat aber nicht vermocht, jedes geimpfte Tier empfänglich zu machen.

Versuche mit Viskosesäckchen.

Hierzu wurden 5 Hühner: Nr. 263, 273, 283, 284, 290 verwandt. Durch einen kleinen Bauchschnitt hindurch wurde ein sterilisiertes Säckchen,

das mit Emulsion 161 gefüllt war, in die Peritonealhöhle eingelegt. Die Tiere wurden mehrmals untersucht, boten keine Krankheitszeichen dar. Sie wurden bzw. 8 und 11 Monate nach der Impfung getötet. Die Sektion ergab ganz normale Organe, keine leukämischen Veränderungen. Keine Flüssigkeit in der Bauchhöhle, keine Knötchenbildung. Die Viskosesäckchen erwiesen sich schwer auffindbar und im Bindegewebe eingelagert. Zweck des Versuches war zu untersuchen, ob es möglich wäre, die Tiere auf diese Weise zu infizieren, oder ob vielleicht eine Intoxikation zustande käme. Es war dann unsere Absicht, die Säckchen nach einer passenden Zeit herauszunehmen, wenn die Zellen abgestorben waren, und die Flüssigkeit auf neue Tiere einzupflegen. Dieser Teil des Versuches verlor nach dem positiven Ausfalle der Filtratversuche sein Interesse und wurde deshalb nicht ausgeführt.

Einimpfung auf andere Spezies.

1. 6 Perlhühnern wurden am 3. XI. 07 mit Emulsion 161 intravenös geimpft; zum zweiten Male am 16. I. 08 mit Emulsion 113 + 236. Sie wurden 8 Monate nach der zweiten Impfung getötet. Die Sektion ergab normale Organe, keine leukämischen Veränderungen.

2. Eine Truthenne wurde mit Emulsion 77 intravenös geimpft. Sie wurde 5 Monate später getötet. Die Sektion ergab normale Organe.

3. 6 Tauben wurden am 23. XII. 07 mit Emulsion 244 intravenös geimpft. Die eine starb am 6. III. 08 an einer akuten Krankheit, die anderen wurden am 10. IX. 08 getötet. Leukämische Veränderungen wurden nicht gefunden.

4. 2 Kaninchen wurden intravenös mit Emulsion PsA geimpft. Sie blieben gesund.

Diese Versuche sind sämtlich negativ. Die Zahlen sind jedoch nicht groß genug, um ganz sichere Schlüsse zu erlauben. Eine ganz geringe Empfänglichkeit läßt sich nicht ausschließen.

Tabelle VI.
Zahlenresultate sämtlicher Versuche.

		Geimpft	Erkrankt
Einimpfung von Organemulsion .	intravenös . . .	61	26
	intraperitoneal . . .	5	1
	subkutan . . .	10	0
Filtration durch	Papier	3	1
	Infusorienerde . . .	10	4
	Berkefeld	6	1
Zentrifugierung während 4 Stunden		6	0
Aufbewahrung	42 Stunden bei 37° . . .	5	0
	7 Tage bei 8°	5	0
	6 Tage bei 0°	5	0

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

	Geimpft	Erkrankt
Wiederholte intravenöse Impfungen	12	3
Einimpfung auf andere Spezies		
{ Perlhuhn	6	0
{ Taube	6	0
{ Truthenne	1	0
{ Kaninchen	2	0

Résumé.

Die spontane Krankheit.

I. Bei Hühnern tritt epidemisch oder endemisch eine Krankheit auf, die der Leukämie der Säugetiere ganz entspricht, indem leukämisches Blut, Anschwellung der Milz und Leber, sowie Knochenmarksveränderungen gefunden werden.

II. Das Blutbild ist gekennzeichnet durch 1. Vermehrung der mononukleären Leukozyten, 2. Auftreten von Myelozyten und Mitosen, 3. Polychrome Degeneration der Erythrozyten.

III. Die mikroskopische Untersuchung der Organe ergibt: 1. Vermehrung und Anhäufung von großen mononukleären Leukozyten in den Kapillaren der Leber, der Milz und des Knochenmarks, 2. Atrophie des Knochenmarksgewebes, 3. Hypertrophie des periportal, myeloiden Gewebes in der Leber.

IV. Außer der eigentlichen Leukämie begegnet man oft Fällen von „Pseudoleukämie“. Bei diesen ist das Blut nicht leukämisch; die anatomischen Veränderungen sind übrigens dieselben wie bei der Leukämie. Wir haben in einigen Fällen eine außerordentlich starke interstitielle Leukozytenanhäufung in der Leber nachweisen können. Das Material ist jedoch zu klein, um entscheiden zu können, ob dies etwa eine konstante Erscheinung sein sollte.

V. Sowohl die Leukämie wie die „Pseudoleukämie“ lassen sich auf gesunde Hühner übertragen. In beiden Fällen erhält man genau dieselbe experimentelle Krankheit. Die Krankheiten müssen folglich als ätiologisch identisch angesehen werden. Es wäre wünschenswert, eine gemeinsame Benennung zu haben, wozu vielleicht das von uns vorgeschlagene Wort: „Leukosis“ geeignet wäre.

VI. Von der eigentlichen Leukämie gänzlich verschieden ist die Hyperleukozytose, die z. B. bei Tuberkulose der Hühner regelmäßig vorkommt. Das Blutbild zeichnet sich durch die außerordentliche Vermehrung der polynukleären Leukozyten aus.

Die experimentelle Krankheit.

I. Die Krankheit wird bei intravenöser Einspritzung einer Emulsion der leukämischen Organe hervorgerufen. Die Inkubationszeit beträgt 1 bis 2 Monate. Die kranken Tiere sterben oft schnell, 8 bis 14 Tage nach dem Ausbruch der Krankheit; zuweilen bleiben sie jedoch länger, 1 bis 3 Monate, am Leben. Die experimentelle Krankheit bietet dasselbe Blutbild und denselben anatomischen Befund wie die spontane Krankheit dar. Ungefähr die Hälfte der Fälle sind leukämisch, die übrigen aleukämisch.

II. Die Hühner sind nicht alle für die Krankheit empfänglich. Gewöhnlich erkranken nur etwa 40 Prozent der geimpften Tiere. Es handelt sich nicht um eine dauernde Immunität bei den nicht ergriffenen, vielmehr erkranken einige derselben bei wiederholter Impfung.

III. Es ist nicht ohne Bedeutung, wie die Einimpfung geschieht. In der Regel haben wir intravenöse Impfung angewandt. Intraperitoneale Einimpfung hat ebenfalls Anschlag gegeben, dagegen will es scheinen, daß subkutane Impfung nicht imstande ist, die Krankheit hervorzurufen.

IV. Der Stamm A hat sich in 6 Generationen übertragen lassen. Der Stamm B ist in eine Generation, Stamm C in zwei Generationen übertragen worden.

V. Da die zellfreien Filtrate imstande sind, die Krankheit hervorzurufen, kann dieselbe als Sarkomatose nicht betrachtet werden, sondern es muß sich um eine Infektion handeln. Mikroben haben wir nicht nachweisen können. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß es sich um sehr kleine, vielleicht „ultravisible“ Mikroorganismen handelt.

VI. Das Virus findet sich in all den angegriffenen Organen, indem wir sowohl mit Knochenmark, wie mit Leber, Milz und Blut positives Resultat erzielt haben.

VII. Die Haltbarkeit des Materials scheint eine ziemlich begrenzte zu sein. Die Virulenz ist in den Versuchen nach einigen Tagen verloren gegangen.

VIII. Einimpfung auf andere Spezies: Perlhuhn, Taube, Truthenne, Kaninchen hat keinen Anschlag gegeben.