[Aus der Univ.-Augenklinik zu Greifswald. (Direktor: Prof. Dr. P. Römer.)]

Experimentelle Untersuchungen über die Pneumokokken abtötende Wirkung des Optochinins.

Von

Prof. Dr. H. Gebb.

Nachdem Morgenroth und seine Mitarbeiter auf die Pneumokokken abtötende Wirkung des Äthylhydrocrupeins, jetzt Optochinin genannt, mehrfach hingewiesen hatten, wurden praktische Versuche mit diesem Mittel in augenärztlichen Kreisen zum ersten Male von A. Leber¹⁾ angestellt. In letzter Zeit ist dann das Optochinin in ausgedehnterem Masse von Goldschmidt²⁾ und Schur³⁾ klinisch erprobt worden. Letztere Autoren bedienten sich hierbei im wesentlichen der 1%igen Optochininlösung und erklärten diese Konzentration auch für hinreichend zur Abtötung der Pneumokokken im Bindehautsack und beim Ulcus serpens.

Experimentell haben sich die letzt genannten Autoren mit dem Optochinin nicht beschäftigt, obwohl sich das Optochinin nach Angabe einiger Forscher im Tierversuch (Meerschweinchen und Maus) zwar als ein sehr gutes, die Pneumokokken abtötendes Mittel erwiesen hat, bei der menschlichen Pneumokokkeninfektion, der Pneumonie, dagegen vielfach versagte.

Nachstehende Versuche wurden in erster Linie in der Absicht ausgeführt, im Reagenzglas und im Tierversuch die Pneumokokken abtötende Wirkung des Optochinins kennen zu lernen; sodann kam es mir darauf an, zu erfahren, wie weit sich das Optochinin von andern speziell gegen die Pneumokokken empfohlenen Desinfizienzien unterscheidet.

¹⁾ A. Leber, Ophth. Ges. zu Heidelberg. 1913.

²⁾ Goldschmidt, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1913.

³⁾ Schur, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1913.

I. Die Pneumokokken abtötende Wirkung des Optochinins¹⁾ im Reagenzglas.

Um zunächst einmal orientierend die Wirkung des Optochinins auf die Pneumokokken kennen zu lernen, wurde nachstehender Versuch ausgeführt. Gleiche Teile der 24stündigen Pneumokokkenbouillon und der Optichininlösung wurden im Reagenzglas gemischt und nach verschieden langer Zeit wurde davon in Serumbouillon überimpft.

1. Versuch (Orientierungsversuch).

	nach 1'	5'	10'	20'
$\frac{1}{100}/o$	+	+	+	+
$\frac{1}{50}/o$	+	+	0	0
$\frac{1}{30}/o$	0	0	0	0
$\frac{1}{10}/o$	0	0	0	0
$\frac{1}{2}/o$	0	0	0	0

Es ergibt sich aus diesem Versuch 1, dass das Optochinin in bestimmten Konzentrationen und nach bestimmter Zeit das Wachstum der Pneumokokken im Reagenzglas aufhebt.

Im Anschluss an diesen Versuch galt es zunächst, die hemmende Wirkung des Mittels auf die Pneumokokken (Versuch 2 und 3) und dann seine abtötende Wirkung auf die fraglichen Erreger zu prüfen (Tropföseversuch 4, 5 und 6).

Auf die Einzelheiten der verschiedenen Versuchsanordnungen gehe ich hier nicht ein, verweise vielmehr die Leser auf die Arbeit von Römer, Gebb und Löhlein in v. Graefe's Arch. f. Ophth. Bd. LXXXVII, 1, 1914, wo die Ausführung derartiger Versuche im einzelnen mitgeteilt ist.

2. und 3. Versuch (Prüfung der hemmenden Wirkung).

Optochininlösung	Resultat vom Versuch 2	Resultat vom Versuch 3
$\frac{1}{100}/o$	+	+
$\frac{1}{50}/o$	+	+
$\frac{1}{30}/o$	+	+
$\frac{1}{10}/o$	0	+
$\frac{1}{2}/o$	0	0
$\frac{1}{2}/o$	0	0
$\frac{1}{2}/o$	0	0
$\frac{2}{0}/o$	0	0
Kontrolle	+	+

¹⁾ Die Optochininlösungen wurden alle acht Tage frisch hergestellt und in dunklen Gefäßen im Eisschrank aufbewahrt. Den vereinigten Chininfabriken Zimmer & Co., Frankfurt a. Main, danke ich für die Überlassung der nötigen Versuchsquanten.

Bringt man im sogenannten Hemmungsversuch zu 9,5 ccm Serumbouillon $\frac{1}{2}$ ccm der Optochininlösung und impft dann eine Öse der Pneumokokkenkultur hinein, so wird durch die $\frac{1}{10}$ - und $\frac{1}{2}$ %ige Lösung des Mittels das Auskeimen der Pneumokokken verhindert. Diese Differenz in Versuch 2 und 3 liegt wohl im wesentlichen an der verschiedenen Virulenz des Pneumokokkenstammes. Zwischen beiden Versuchen liegt ein Zeitraum von $2\frac{1}{2}$ Wochen.

4., 5. und 6. Versuch (Prüfung der abtötenden Wirkung, sogenannter Tropföseversuch).

4. Versuch.

Lösung	1'	5'	10'
$\frac{1}{10}$ %	+	+	+
$\frac{1}{2}$ %	+	+	+
1 %	+	0	0
2 %	0	0	0
Kontrolle	+	+	+

5. Versuch.

Lösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
$\frac{1}{10}$ %	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{2}$ %	+	+	+	+	+	+
1 %	+	0	0	0	0	0
2 %	0	0	0	0	0	0
3 %	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

6. Versuch.

Lösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
$\frac{1}{10}$ %	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{2}$ %	+	+	+	+	+	+
1 %	+	+	0	0	0	0
2 %	0	0	0	0	0	0
3 %	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

Impft man zu drei bis vier Tropfen Serumbouillon eine Öse Pneumokokkenkultur und bringt dann zu diesem Gemisch einen Tropfen Optochininlösung, so werden durch die 2 %ige Lösung die Pneumokokken schon innerhalb einer Minute sicher abgetötet, denn die Impfung in Serumbouillon führt zu keinem Wachstum. Bei der 1 %igen Lösung beobachten wir dieselbe Erscheinung, allerdings erfolgt hier eine sichere Abtötung erst nach fünf Minuten. In den drei Versuchen trübte sich bei der 1 %igen Lösung die Bouillon jedesmal nach einer Minute, einmal auch nach fünf Minuten (Versuch 6).

Von diesen drei letzten Versuchen wurde wöchentlich je einer an- gestellt, so dass drei frisch hergestellte Lösungen zur Verwendung kamen und zur Beurteilung der Wirkung der Optochininlösung dienten. Wir können also sagen, das Optochinin in 2%iger Konzentration tötet im Reagenzglas die Pneumokokken sofort ab, während die 1% Kon- zentration hierzu mindestens ein bis fünf Minuten gebraucht.

Es erhob sich nun noch die Frage, wie weit ändern sich diese Resultate durch mehrere Tropfen des Optochinins bei sonst gleicher Versuchsanordnung (Versuch 7, 8 und 9).

7. Versuch.

$\frac{1}{2}\%$ ige Opto- chininlösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	+	+	+	+	+	+
2 „	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+

8. Versuch.

1%ige Opto- chininlösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	+	0	0	0	0	0
2 „	0	0	0	0	0	0
3 „	0	0	0	0	0	0

9. Versuch.

2%ige Opto- chininlösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	0	0	0	0	0	0
2 „	0	0	0	0	0	0
3 „	0	0	0	0	0	0

Diese Versuche bestätigen zunächst die vorhergehenden Versuchs- resultate, d. h. die 2%ige Optochininlösung vernichtete in kürzester Zeit die Pneumokokken. Wir finden auch das Resultat des vorher- gehenden Versuchs darin bestätigt, dass ein Tropfen der 1%igen Lö- sung nach fünf Minuten das Wachstum der Pneumokokken aufhebt. Zwei Tropfen dieser Konzentration genügen, um schon nach einer Minute die Pneumokokken zu zerstören, und durch drei Tropfen der 1%igen Optochininlösung bleibt die Bouillon auch klar, wenn das Optochinin noch nicht eine Minute mit den Pneumokokken in Be- rührung war. Die $\frac{1}{2}\%$ ige Konzentration des Optochinins versagt im Reagenzglas vollkommen, denn selbst drei Tropfen dieser Lösung ver- mögen das Wachstum der Pneumokokken nicht einmal nach 60 Mi- nuten zu verhindern.

II. Die Wirkung des Optochinins auf andere Bakterien des Auges.

Nachstehende Versuche dienten zur Klärung der Frage, in wie weit das als spezifisch gegen Pneumokokken empfohlene Optochinin auch andere Krankheitserreger des menschlichen Auges beeinflusst. Zu diesen Versuchen wurden die am meisten in Frage kommenden Bakterienarten: der Staphylococcus, der Morax-Axenfeldsche Diplobacillus und der Xerosebacillus verwandt. Auf die Untersuchung der hemmenden Wirkung des Optochinins gegenüber den genannten Bakterienarten wurde hierbei verzichtet und nur die abtötende Wirkung im sogenannten Tropföversuch studiert.

10. Versuch. Abtötende Wirkung des Optochinins auf Xerosebacillen.

Optochininlösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
$\frac{1}{10}\%$	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{2}\%$	+	+	+	+	+	+
1%	+	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+	+
3%	+	+	+	+	+	+
5%	+	+	+	+	+	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

11. Versuch. Abtötende Wirkung des Optochinins auf Staphylokokken.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
$\frac{1}{10}\%$	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{2}\%$	+	+	+	+	+	+
1%	+	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+	+
3%	+	+	+	+	0	0
5%	+	+	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

12. Versuch. Abtötende Wirkung des Optochinins auf Diplobacillen.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
$\frac{1}{10}\%$	+	+	+	+	+	+
$\frac{1}{2}\%$	+	+	+	+	+	0
1%	+	+	+	+	0	0
2%	+	0	0	0	0	0
3%	0	0	0	0	0	0
5%	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

Als Resultat entnehmen wir diesen Protokollen, dass das Optochinin nicht einmal in der 5% igen Lösung das Wachstum der Xerosebacillen aufhebt. Auch gegenüber den Staphylokokken besitzt es keine nennenswerte abtötende Kraft. Dagegen finden wir, dass das Optochinin die Diplobacillen in ihrem Wachstum mehr schädigt wie die eben genannten Bakterien, dass aber anderseits die Wirkung des

genannten Mittels auf die Diplobacillen nicht den Grad erreicht wie wir ihn gegenüber den Pneumokokken in Versuch 4, 5 und 6 feststellen konnten. Wir können daher sagen, dass das Optochinin unter den am menschlichen Auge am häufigsten vorkommenden Bakterienarten gegenüber dem Pneumokokkus die am stärksten abtötende Kraft entwickelt.

III. Vergleichende Versuche über die Pneumokokken abtötende Wirkung des Optochinins und anderer versuchter und empfohlener Mittel.

Römer, Gebb und Löhlein haben in ihrer oben erwähnten Arbeit festgestellt, dass eine Anzahl basischer und saurer Farbstoffe die Pneumokokken abtötet. Eine Mischung der sauren Farbstoffe Rose bengale 4,0, Azoflavin 0,5 und Viktoriagelb 0,5 auf 100 Wasser tötete die genannten Bakterien schon nach kürzester Zeit ab, wie ein Versuch dieser Autoren zeigt, schon nach 10 Sekunden.

Aus den folgenden vergleichenden Versuchen zwischen der Antipneumokokken-Farbstoffmischung und dem Optochinin hinsichtlich ihrer abtötenden Wirkung ergibt sich, dass das Optochinin etwa die

13. Versuch. Prüfung der Farbstoffmischung und des Optochinins hinsichtlich ihrer abtötenden Wirkung gegenüber den Pneumokokken.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
Farbstoff- mischung }	+	0	0	0	0	0
Optochinin }	+	+	0	0	0	0

gleiche baktericide Kraft gegenüber Pneumokokken besitzt wie die von Römer, Gebb und Löhlein angegebene Antipneumokokken-Farbstoffmischung. Nun sind aber letztere Autoren durch ihre klinischen Versuche, die sie bei der Pneumokokkenconjunctivitis und dem Ulcus serpens anstellten, zu nicht befriedigenden Resultaten gekommen, so dass sie trotz der vorzüglichen Wirkung des Farbgemisches in vitro das Mittel bei den genannten Erkrankungen des Auges nicht weiter empfehlen.

In letzter Zeit wird von Elschnig und seiner Schule das Hydrargyrum oxycyanatum zur Beseitigung der Kettenkokken vor der Staroperation besonders empfohlen. Es ergab sich daher von selbst, auch dieses Desinfiziens einer vergleichenden Untersuchung mit dem Optochinin gegenüber den Pneumokokken zu unterziehen. Elschnig empfiehlt, das Mittel in der Lösung 1:5000 anzuwenden. Was zu-

nächst die hemmende Wirkung des Hydr. oxyc. betrifft, so lehrt uns Versuch 14, dass die Konzentration 1:5000 das Wachstum der Pneumokokken nicht hemmt, dass vielmehr erst die Konzentration 1:3000 hierzu genügt. Eine Abtötung der Bakterien besitzt aber auch diese Konzentration nicht, hierzu ist mindestens eine etwa doppelt

14. Versuch. Hemmende Wirkung des Hydr. oxycyanat. auf die Pneumokokken.

Lösung	Resultat
1:10000	+
1:5000	+
1:3000	0
1:1000	0
1:500	0
Kontrolle	+

15. Versuch. Abtötende Wirkung des Hydr. oxyc. auf Pneumokokken.

Lösung	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1:5000	+	+	+	+	+	+
1:3000	+	+	+	+	+	0
1:1000	+	+	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+

so starke Lösung notwendig, wie der Tropföseversuch 15 zeigt, wonach ein Tropfen der Hydrarg. oxycyanat-Lösung 1:5000 eine Öse Pneumokokken überhaupt nicht vernichtet. Erst durch drei Tropfen der Konzentration 1:5000 wird nach 10 Minuten Kontakt das Wachstum der genannten Bakterien aufgehoben. Genau denselben Befund erhalten wir durch zwei Tropfen der Lösung 1:3000 und durch einen Tropfen der Lösung 1:1000. Die Verdünnung 1:500 genügt erst, um durch einen Tropfen eine Öse Pneumokokken sofort zu vernichten. Siehe die Versuche 16, 17, 18 und 19.

Wie wirken mehrere Tropfen des Hydr. oxyc. auf Pneumokokken?

16. Versuch. Lösung 1:5000.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	+	+	+	+	+	+
2 „	+	+	+	+	0	0
3 „	+	+	0	0	0	0

17. Versuch. Lösung 1:3000.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	+	+	+	+	+	0
2 „	+	+	0	0	0	0
3 „	+	0	0	0	0	0

18. Versuch. Lösung 1 : 1000.

	1'	5'	10'	20'	30'	60'
1 Tropfen	+	+	0	0	0	0
2 "	0	0	0	0	0	0
3 "	0	0	0	0	0	0

19. Versuch. Lösung 1 : 500.

	0	0	0	0	0	0
1 Tropfen	0	0	0	0	0	0
2 "	0	0	0	0	0	0
3 "	0	0	0	0	0	0

IV. Tierversuche mit Optochinin und Hydrarg. oxycyanat.

Reagenzglasversuche, die über die baktericide Wirkung der verschiedensten Substanzen Aufschluss geben sollen, liefern natürlich nur relative Werte und dürfen niemals als Massstab für den Erfolg in vivo gelten. Wertvollere Aufschlüsse in dieser Beziehung geben uns dagegen die Tierversuche. Aus diesem Grunde habe ich auch das Tierexperiment zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit des Optochinins und des Hydrarg. oxycyanat. gegenüber den Pneumokokken herangezogen und bin auf Grund dieser Versuche zu dem Resultat gekommen, dass drei Tropfen der 1%igen Optochininlösung genügen, um den mit einer Öse Pneumokokken infizierten Bindehautsack des Kaninchens davon zu befreien. Mit einem und zwei Tropfen war dieser Erfolg nicht zu erzielen. (Versuch 20.)

20. Versuch. Die baktericide Wirkung der 1%igen Optochininlösung geprüft am Kaninchenauge.

	1 Tropfen	2 Tropfen	3 Tropfen	4 Tropfen	Kontrolle
nach 5 Min.	+	+	?	0	+
	(ungefähr 20 Pk.-Kol.) ¹⁾	(ungefähr 10 Pk.-Kol.)	(zahlreiche Kol. von feinsten Stäbchen u. mehrere Staphyl.-Kol.)	(3 Staphyl.- Kol.)	(zahlreiche Pk.-Kol.)
nach 10 Min.	+	+	0	0	+
	(zahlreiche Pk.-Kol.)	(5 Pk.-Kol. u. 6 Staphyl. Kol.)	(einzelne Staphyl.-Kol.)	(2 Staphyl.- Kol.)	(zahlreiche Pk.-Kol.)
nach 20 Min.	+	+	0	0	+
	(ungef. 20 Pk.- Kol. und 2 Staphyl.- Kol.)	(3 Pk.-Kol.)	(1 Staphyl.- Alb.)	(2 Staphyl.- Alb.)	(zahlreiche Pk.-Kol., einzelne Staphyl.-Kol.)

Bei der gleichen Versuchsanordnung für das Hydr. oxycyanat., bei der ich nur die in der menschlichen Therapie in Frage kommen-

¹⁾ Auf Schrägserum.

den Konzentrationen des Mittels 1:5000, 1:3000 und 1:1000 prüfte, stellte ich fest, dass drei Tropfen dieser Lösungen nicht genügen, um die Pneumokokken im tierischen Bindehautsack zu vernichten, selbst nicht nach 20 Minuten. (Versuch 21.)

Daraus ergibt sich, dass das von Elschnig und seiner Schule empfohlene Hydr. oxycyanat. in der Konzentration 1:5000 sowohl entwicklungshemmend (Reagenzglasversuch), als auch baktericid in chemotherapeutischem Sinne gegen die Pneumokokken weniger wirksam ist als das Optochinin (Reagenzglas und Tierversuch). Das Optochinin in der 1%igen Lösung besitzt sowohl im Reagenzglas als auch im Tierversuch eine ausgesprochene baktericide Eigenschaft für Pneumokokken.

21. Versuch. Die baktericide Wirkung des Hydr. oxycyanat. geprüft am Kaninchenauge.

	1:1000 3 Tropfen	1:3000 3 Tropfen	1:5000 3 Tropfen	Kontrolle, sterile Kochsalzlösung, 3 Tropfen
nach 5 Min.	+	+	+	+
	(vereinzelte Pk.-Kol.)	(ungefähr 10 Pk.-Kol.)	(einzelne Pk.-Kol.)	(zahlreiche Pk.- Kol.)
nach 10 Min.	+	+	+	+
		(überall einzelne Pneumokokken-Kolonien)		
nach 20 Min.	+	+	+	+
		(überall einzelne Pneumokokken-Kolonien)		

V. Über Löslichkeit und Eiweissausfällung des Optochinins, sowie seine Verträglichkeit am Auge.

Das Optochininum hydrochloricum löst sich in den Verdünnungen $\frac{1}{10}$ % bis zu 5% vollständig in destilliertem Wasser und bildet auch nach längerer Zeit — in meinen Versuchen bis zu acht Tagen — bei Aufbewahrung im Eisschrank keine Niederschläge. Die Lösung bleibt klar.

Bringt man von den verschiedenen Konzentrationen des Optochinins 1 ccm mit 1 ccm Serumbouillon im Reagensglas zusammen, so kommt es bei der 3%igen und 5%igen Lösung zu einer dichten, klumpigen Eiweissausfällung. Bei der 1%igen Lösung ist diese Ausfällung merklich geringer, aber noch sehr deutlich. Auch bei der $\frac{1}{2}$ %igen Optochininlösung kann man diese Erscheinung noch beobachten, dagegen sieht man bei der $\frac{1}{10}$ %igen Lösung bei der genannten Versuchsanordnung makroskopisch nichts mehr von Eiweissausscheidungen im Reagenzglas.

Am Kaninchenauge ruft die 2%ige Optochininlösung einen vorübergehenden Lidschluss hervor, und kann man danach eine geringe Hyperämie der Schleimhaut konstatieren. Zu Veränderungen am Hornhautepithel oder zu bleibenden Störungen am Auge führt die Instillation der 2%igen Optochininlösung nicht. Die 1%ige Lösung führt beim Kaninchen nur zu schnell vorübergehendem Lidschluss ohne merkliche Hyperämie der Bindehaut.

Beim Menschen bedingt die 1%ige Optochininlösung sehr heftiges Brennen (Eigenversuche), das sich nach einiger Zeit (bis zu 20 Minuten) allmählich verliert. Die conjunctivale Hyperämie verliert sich nach ungefähr einer Stunde. Bleibende Schädigungen habe ich durch die 1%ige Optochininlösung nicht beobachtet.