V. Aus der Universitätsfrauenklinik in Leipzig. Ueber ein bacterienfeindliches Verhalten der Scheidensecrete Nichtschwangerer.

Von Dr. K. Menge, Assistenten der Klinik.

(Fortsetzung aus No. 46.)

Ich habe nun zunächst das Studium der gewöhnlichen Bacterienflora der Scheide nichtgeschwängerter Frauen verlassen, um ausschliesslich durch die oben schon erwähnten Uebertragungsversuche von pyogenen Mikroccoen in das Scheidensecret eine Auskunft über die Selbstreinigungstendenz der Scheide gerade diesen Infectionserregern gegenüber zu bekommen. Zu diesen Uebertragungsversuchen wurden von den oben erwähnten 50 Laparotomirten 35 Frauen zu im ganzen 80 einzelnen, durchgeführten Versuchen benutzt. Ich übertrug, um das Scheidensecret zunächst in seiner Concentration und in seinen Reactionsverhältnissen möglichst wenig zu ändern, die Bacterien ohne Nährboden in die Scheide, indem ich dieselben mit einem sterilen Glasstabe von der Oberfläche einer Plattencultur abstreifte, sie in die Scheidenwände einrieb und mit dem Glasstabe in der ganzen Scheide vertheilte. In der ersten Zeit übertrug ich eine Mikrobenart, welche facultativ aërob dieselben Wachstumsbedingungen ausserhalb des Körpers stellt wie der *Staphylococcus pyogenes aureus* und der *Streptococcus pyogenes*, für den Menschen jedoch nur in extrem seltenen Fällen sich als pathogen erwiesen hat, den *Bacillus pyocyaneus*, der deshalb ganz besonders bequem erschien, weil er durch die Production seines Farbstoffes auf der Platte sofort in die Augen fällt. Als ich sah, dass die grössten Massen eingetragener *Pyocyaneusbacillen* in jedem Falle nach längerer oder kürzerer Zeit wieder aus der Scheide verschwanden, ging ich zu Versuchen mit dem *Staphylococcus pyogenes aureus* und mit dem *Streptococcus pyogenes* über. Im ganzen habe ich auf diese Weise 23mal den *Bacillus pyocyaneus*, 30mal den *Staphylococcus pyogenes aureus* und 27mal den *Streptococcus pyogenes* in die Scheide eingetragen. Ein Versuch wurde auch noch mit den Sporen eines *Kartoffelbacillus* ausgeführt, die alle Keime an Resistenz überboten, die uns sonst zu Gebote standen. Die *Staphylococci* hatte ich frisch aus einer acut vereiterten Brustdrüse rein gewonnen, die *Streptococci* stammten aus den Lochien von Wöchnerinnen mit Puerperalfieber und aus dem eitrigen Exsudat einer an acuter Peritonitis verstorbenen Patientin, aus deren Bauchhöhleninhalt ich unmittelbar post mortem Culturen anlegte. Der Virulenzgrad der verwendeten Bacterien und ihre Lebensfrische liessen also kaum etwas zu wünschen übrig. Dasselbe kann ich von dem *Bacillus pyocyaneus* sagen, den ich aus grünem Eiter selbst frisch cultivirte.

Die Uebertragung dieser Bacterien wurde nun selbstverständlich in alle Scheiden ohne Auswahl, ohne Rücksicht auf die Secretreaction vorgenommen, und das Resultat lautet, dass nicht ein Fall zu verzeichnen ist, in dem nicht die Scheide sich in kürzerer oder längerer Zeit von den eingetragenen Bacterienmassen wieder befreit hätte. Das ausgesprochene alkalische Secret tödtete genau mit derselben Sicherheit die drei Mikrobenarten, wie das amphotere und wie das saure. Die Zeit, welche für die Selbstreinigung des Scheidengrundes nothwendig war, schwankte zwischen $2\frac{1}{2}$ und 70 Stunden, wenn ich von einem Falle absehe, bei dem in Folge einer kleinen Verletzung der Scheidenschleimhaut eine acute Vaginitis im Anschluss an die *Staphylococci*übertragung aufgetreten war, die noch nicht völlig abgeheilt war, als ich die Frau aus der Anstalt entlassen musste. 14 Tage nach ihrer Entlassung stellte sie sich mir mit *staphylococcen*freier Scheide wieder vor.

Am Introitus vaginae können sich nach meinen Beobachtungen die Bacterien viel länger halten als im Scheidengrund. Im allgemeinen ist die Zeitdifferenz jedoch keine grosse. Dass Doederlein bei seinem Experimente noch einige Tage nach der Uebertragung aus der Scheide fortgesetzt vereinzelt *Staphylococci*colonieen auf der Platte wachsen sah, möchte ich darauf zurückführen, dass die *Staphylococci* am Introitus noch nicht abgetödtet waren und dass sie bei der Entnahme mit dem Speculum erst vom Introitus in die Scheide mit hinaufgeschleppt wurden.

Der *Bacillus pyocyaneus* wurde im Scheidengrund durchschnittlich in 21 Stunden, der *Staphylococcus pyogenes aureus* durchschnittlich in 26 Stunden, der *Streptococcus pyogenes* durchschnittlich in 22 Stunden abgetödtet. Ganz besonders hervorzuheben ist, dass die alkalischen Secrete zur Selbstreinigung von den drei Mikrobenarten im allgemeinen nicht längere Zeit gebrauchten, wie die sauren. In den von mir angestellten 27 Versuchen mit *Streptococci*übertragung gelang es sogar den alkalisch reagirenden Secreten, die Reinigung in durchschnittlich 18 Stunden durchzuführen, während die Gesamtdurchschnittsdauer für die Abtödtung

der Streptococcen im Scheidensecret 22 Stunden d. h. 4 Stunden mehr betrug.

Aus diesen Versuchsergebnissen wird nun Jeder zunächst den Schluss ziehen, dass die Scheide der Nichtgeschwängerten ganz generell, auch wenn sie ein alkalisch reagirendes Secret birgt, eine beträchtliche antinykotische Wirkung gegen Bacterien entfaltet, welche aerob nur auf alkalischen Nährböden zu wachsen imstande sind. Ich komme hier zu demselben Schlusse, den ich schon aus den Plattenbefunden vor den Uebertragungsversuchen gezogen hatte.

Und doch musste mir der eine Fall, in welchem Streptococcen in dem Scheidengrunde als dauernde Bewohner gefunden wurden, sagen, dass unter bestimmten Bedingungen dennoch die Aufzucht von pyogenen Keimen in der Scheide der Nichtschwangeren möglich sei. Um diese Bedingungen kennen zu lernen, versuchte ich zunächst festzustellen, welche Factoren im Scheidensecret überhaupt die bacterienfeindliche Wirkung gegen die pyogenen Infectionserreger ausmachen. Hierzu war es nöthig, den Vorgang der Selbstreinigung in seinen einzelnen Phasen zu verfolgen.

In jedem Falle wurden unmittelbar vor und nach der Uebertragung der Bacterien in die Scheide Secretmassen mit dem Scheidenlöffel entnommen, mikroskopische Präparate angefertigt, mit einer sich annähernd gleichbleibenden Menge des Secretes Agarplatten beschickt und festgestellt, welche Art von Mikroben und in welcher Menge dieselben auskeimten. Während die vor der Uebertragung gegossenen Scheidengrundplatten meist steril blieben, wuchsen auf den sofort nach der Uebertragung angefertigten Grundplatten stets zahllose Colonien der eingetragenen Bacterienspecies. In bestimmten Zeitabschnitten, die ich verschiedenen lang gestaltete, wurden dann sowohl vom Scheideneingang als auch vom Scheidengrund Secretmassen entnommen, jedesmal je zwei Agarplatten mit einer gleichen Menge dieses Secretes beschickt, ausserdem Objectträgerpräparate angefertigt und in jedem Falle der Entnahme auch die Reaction der Secrete geprüft.

Von den verschiedenen Platten konnte man nun ablesen, dass die Vernichtung der eingeführten Bacterien gewöhnlich sofort beginnt und gleichmässig fortschreitet, bis alle Aussenkeime zugrunde gegangen sind und bis man schliesslich wieder sterile Scheidengrundplatten vor sich hat, während die Introitusplatten entweder noch längere Zeit einzelne Colonien der eingeführten Bacterienspecies zwischen anderen vor der Uebertragung schon ausgekeimt gewesen Colonien oder auch nur die letzteren aufweisen.

Die Reaction der Secrete blieb im allgemeinen bei diesen Untersuchungen ziemlich constant. Nur in wenigen Fällen kam ein Wechsel der Secretreaction vor, und zwar wurde aus einem schwach alkalischen Secret wohl einmal ein schwach saures und umgekehrt.

In mehreren Fällen, besonders in solchen, welche schon vor der Uebertragung ein ziemlich leukocytenreiches Secret gezeigt hatten, schien nach der Bacterienübertragung die Secretmenge sich etwas zu vermehren.

Die zu gleicher Zeit angefertigten mikroskopischen Präparate boten ein sehr abwechslungsreiches Bild dar. Entweder sah man nach der Uebertragung der Bacterien in das Secret die Aenderung des Bildes darauf beschränkt, dass die eingeführten Keime in mehr oder minder grosser Zahl sichtbar wurden und allmählich wieder verschwanden, oder es nahmen zugleich im Anfange der Beobachtung die ursprünglichen bacteriellen Scheidenbewohner an Zahl ab, um mit dem Verschwinden der eingetragenen Bacterienmassen wieder sich zu mehren. Oder es trat ausser dieser Veränderung der bacteriellen Verhältnisse im Bilde auch eine sehr augenfällige Aenderung in den zelligen Bestandtheilen der Secrete auf. So sah ich in einer grösseren Anzahl von Fällen eine sehr beträchtliche Vermehrung der Leukocyten auftreten. Auch Secrete, die vor der Uebertragung Leukocyten kaum gezeigt hatten, liessen eine starke Leukocytose einige Zeit nach der Uebertragung erkennen. Mit dem Verschwinden der eingetragenen Keime aus den Präparaten machte auch die Leukocytose den ursprünglichen Secretverhältnissen wieder Platz.

In der Zahl der Epithelien sah man dagegen nur kleine, unregelmässige Schwankungen.

Es liegt nahe, daran zu denken, dass man es hier mit einer chemotaktischen Wirkung der Bacterien zu thun habe, die nach Buchner so zu erklären sein würde, dass die eingeführten Bacterien, in ihrer Vitalität durch irgend ein Agens geschädigt, beginnen Proteinsubstanzen auszusecheiden, welche die Leukocyten herbeilocken. Mit der Leukocytose ging häufiger Hand in Hand eine deutliche Phagocytose, die in einzelnen Fällen so verlief, dass man ausschliesslich die eingetragenen Bacterien in den Leib der Leukocyten aufgenommen sah, während in anderen Fällen ausserdem oder auch ausschliesslich Bacterien in dem Leib der Zellen lagen, die schon vor der Uebertragung im Scheidensecrete extra-

cellulär gefunden worden waren. Im ersteren Falle hat man daran zu denken, dass ausschliesslich die eingeführten Bacterien, zur Ausscheidung von Proteinen veranlasst, die Chemotaxis und die Phagocytose bewirkten, im zweiten Falle daran, dass die durch die eingeführten Bacterien und deren Stoffwechselproducte geschädigten ursprünglichen Scheidenbewohner denselben Vorgang veranlassten.

Die ganze Frage der Phagocytose und ihre Bedeutung für die Immunitätslehre ist bekanntlich noch heiss umstritten, und es ist nicht meine Absicht, die Leukocyten als keimtödtenden Factor des Scheidensecretes in den Vordergrund zu stellen.

Ich wollte nur die diesbezüglichen Beobachtungen, die sich mir im Scheidensecrete darbieten, nicht ganz unerwähnt lassen, da sie zuweilen in sehr prägnanter Weise sich zeigten. Ob die Phagocytose überhaupt eine active Rolle bei der bactericiden Thätigkeit des Scheidensecretes spielt, müssen ausgedehntere Gefrierversuche lehren, bei denen die Leukocyten gelähmt, die übrigen bacterienfeindlichen Factoren des Scheidensecretes aber nicht zerstört werden. Sicher können nicht in allen Fällen die Phagocyten als Hilfstuppen in dem Kampf der Scheide gegen die pyogenen Mikroccoen in Frage kommen, da viele Secrete während des ganzen Versuches Leukocyten überhaupt nicht enthielten und weil derartige leukocytenfreie oder -arme Scheidensecrete auch ausserhalb des Körpers, unter Bedingungen, welche ein Eingreifen der Zellen ausschliessen, die Abtödtung der eingetragenen Bacterien in derselben Zeit bewirkten, wie in der Scheide selbst.

Allen obligat aeroben Bacterien ist der ständige Aufenthalt im Scheidengrund nach Versuchen von Kroenig und Doederlein unmöglich. Durch den Sauerstoffmangel in der Scheide ist demnach schon dafür gesorgt, dass nur obligat anaerobe und facultativ aerobe Mikroben in ihrem Secrete vegetiren können. Zu den letzteren gehören fast alle pathogenen Bacterien, auch die von mir zu den Versuchen verwendeten. Es kann also nicht in dem Sauerstoffmangel der Scheide die Selbstreinigung des Scheidensecretes direkt begründet sein.

Es scheint jedoch das gleichmässige, allmähliche Verschwinden der eingetragenen Bacterien auf ein anderes, chemisch wirkendes Agens hinzudeuten, und da kommt zunächst in Frage die Säure des Secretes, der Doederlein allein die keimtödtende Kraft vindicirt.

Es ist ein grosses Verdienst Doederlein's, zuerst die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung des Chemismus des Scheidensecretes für das Freisein desselben von pyogenen Mikroccoen hingelenkt zu haben. Doch hat er, wie ich weiterhin zeigen werde, die Säurewirkung bedeutend überschätzt. Aus meinen mitgetheilten Versuchen, die zum Theil in Scheiden mit alkalischem Secrete angestellt sind, geht schon allein hervor, dass nicht die Säure ausschliesslich die Selbstreinigung der Scheide besorgen kann.

Doederlein hat festgestellt, dass in dem sogenannten normalen Scheidensecret der Schwangeren Milchsäure enthalten ist, die er als ausschliesslich durch die von ihm beschriebenen Scheidenbacillen erzeugt ansieht. Obwohl nichts sicheres darüber bekannt ist, dass auch in dem sogenannten pathologischen, schwach sauren Scheidensecrete der Schwangeren und in dem sauer reagirenden Scheidensecrete nicht geschwängelter Personen, in denen die Doederlein'schen Scheidenbacillen fehlen, gerade Milchsäure vorkommt, habe ich doch vorläufig bei den folgenden Versuchen an dieser Säureart festgehalten.

Desinfectionsversuche mit Milchsäure, in destillirtem Wasser gelöst, ergaben, dass 2 %ige Lösungen in etwa 3 Stunden, 1 %ige Lösungen in etwa 6 Stunden Staphylococcen zu vernichten vermögen. Da bekanntlich destillirtes Wasser schon allein ungünstig auf Bacterien einwirkt und da im Scheidensecrete die Milchsäure nicht in Wasser allein, sondern in einer eiweiss- und salzhaltigen Flüssigkeit gelöst ist, änderte ich die Desinfectionsversuche dahin, dass ich mir 1 %ige und $\frac{1}{2}$ %ige Milchsäurelösungen herstellte, welche entweder Pepton und Kochsalz oder neutralisirte Kystomflüssigkeit enthielten, so dass Verhältnisse geschaffen waren, die etwa denen in der Scheide der schwangeren und der nichtschwangeren Frau entsprachen. In solchen Lösungen war die keimtödtende Kraft der Milchsäure den Staphylococcen gegenüber beträchtlich vermindert. In $\frac{1}{2}$ %igen Lösungen lebten die Staphylococcen noch nach 24 Stunden. Schliesslich starben die Mikroben auch in diesen Lösungen. Es scheint nach diesen Versuchen, die ich bisher in nur geringer Zahl ausgeführt habe und die noch zu wiederholen sind, der Säuregrad des Scheidensecretes eine beachtenswerthe Rolle bei der Selbstreinigung der Scheide mit saurem Secrete zu spielen. Doch beweist die prompte Selbstreinigung der alkalischen Scheidensecrete, dass andere mächtige Factoren in früherer Linie zu nennen sind als die Säure. Maassanalytische Bestimmungen über den Säuregehalt der Scheidensecrete nichtschwangerer Frauen habe ich bisher nicht angestellt. Allein der einfache Vergleich der Farbenveränderungen, die das blaue Lakmuspapier durch das Auftragen von Scheidensecret und von $\frac{1}{4}$ %iger Milchsäurelösung

erfährt, demonstriert mit Sicherheit den weitaus geringeren Säuregehalt des Scheidensecretes nichtschwangerer Personen. Besonders augenfällig wird dieser Unterschied, wenn man zunächst die Reaction des Secrete einer Scheide prüft, dann die letztere mit $\frac{1}{4}$ %iger Milchsäurelösung spült und nun wieder prüft. Dabei zeigen sich durchschnittlich gehörige Reactionsunterschiede.

Für die Entscheidung, welche Factoren im Scheidensecrete den Hauptantheil an der Selbstreinigungskraft beanspruchen dürfen, sind wohl folgende Versuche von besonderer Wichtigkeit gewesen.

Entnimmt man der Scheide einer nichtschwangeren Frau möglichst viel saures Secret und vertheilt dasselbe in zwei sterile Gläschen, bringt das eine der Gläschen $\frac{1}{2}$ Stunde lang in strömenden Dampf und verimpft dann in beide Secrethälften ungefähr gleiche Staphylococcenmengen, so sieht man, dass das Secret, welches nicht im Dampfe sterilisirt wurde, die Abtödtung der eingetragenen Keime in derselben Zeit vollendet, in der die Mikroben in der Scheide selbst vernichtet werden. Das sterilisirte Secret dagegen hat viel von seiner keimtödtenden Wirkung verloren, d. h. die Staphylococcen werden trotz fortbestehender saurer Reaction erst nach langer Zeit vernichtet; in einzelnen Fällen hatte sogar das Secret seine bactericide Eigenschaft völlig eingebüsst.

Vertheilt man wiederum in zwei sterile Gläschen saures Secret aus derselben Scheide, alkalisirt dasselbe in dem einen Gläschen künstlich durch Zusatz von steriler Sodalösung und setzt zu dem Secrete des anderen Behälters so viele Tropfen sterilisirten Wassers, wie von der Sodalösung nöthig waren, um das Secret in dem ersten Gläschen zu alkalisiren, so sieht man in der alkalisirten Scheidenabsonderung, wenn die nun erfolgende Staphylococcenaussaat nicht zu gross ist, dennoch den Tod der eingetragenen Bacterien allerdings verzögert eintreten; in dem zweiten Gläschen ist dagegen die Vernichtung derselben in ungefähr der gleichen Zeit durchgeführt, wie in der Scheide selbst. Sterilisirt man das künstlich alkalisirte Secret noch obendrein, so wird dasselbe für eingetragene Staphylococcen zum Nährboden. Von Hause aus alkalisches Scheidensecret wirkt ausserhalb des Körpers ebenso schnell deletär auf eingetragene Bacterien, wie in der Scheide selbst. Es unterscheidet sich also wesentlich von dem künstlich alkalisirten, das ursprünglich sauer reagirte. Durch Sterilisation wird es dagegen gleichfalls zum Nährboden für eingetragene pyogene Coccen. Spülungen der Scheide mit Alkalien vor der Bacterienübertragung setzen ihre Selbstreinigungskraft herab. Spülungen mit antiseptischen Lösungen und mit reinem Wasser thun dasselbe. Man kann diese Verminderung der Selbstreinigungskraft der Scheide sowohl bei saurem als auch bei alkalischem Secrete beobachten. Während der Menstruation ist gleichfalls das Selbstreinigungsvermögen der Scheide nach zwei angestellten Experimenten herabgesetzt.

Aus allen diesen Versuchen geht so viel hervor, dass die Säure einen wahrnehmbaren bacterienfeindlichen Einfluss hat, dass aber neben ihr Factoren wirken, welche durch eine Verdünnung des Scheidensecretes geschwächt und durch die Siedehitze zerstört werden. Wie mächtig diese Factoren sind, zeigt ein Versuch mit äusserst resistenten Sporen, denen die schwache Säure gewiss nichts anhaben kann, die aber dennoch im sauren Secrete in einer Zeit vertilgt werden, die ihnen nicht Gelegenheit gab, zu der weniger widerstandsfähigen, vegetativen Form auszukeimen.

(Schluss folgt.)