Tuberculose-Studien II.¹

Von

A. Köppen
in Norden.

Die Toxine I.

So interessant und nothwendig die Analysirung und Charakterisirung des tuberculösen Giftes, wie sie v. Behring (1)² und seine Mitarbeiter (2) ausgeführt haben, auch ist — praktisch nicht minder wichtig erscheint die Erforschung desselben in der Form, in welcher es zur Resorption und zur Wirkung gelangt: Die chemische Untersuchung muss durch die biologische ergänzt werden. Das ist auch vielfach geschehen, in letzter Zeit besonders durch Maragliano (3) und seine Schule (4, 5). Seine Ausführungen gipfeln darin, dass bei der Tuberculose zwei verschiedene Giftarten wirksam seien, die Toxalbumine und die Toxoproteide; erstere seien Ausscheidungsproducte der Tuberkelbacillen und als solche in der Culturflüssigkeit, letztere seien in den Leibern der Tuberkelbacillen enthalten und diesen durch geeignete Maassnahmen zu entziehen; erstere würden durch höhere Temperaturen zerstört, letztere seien hitzebeständig. Der grösste Unterschied bestehe aber in der verschiedenen pathologisch-physiologischen Wirkung, indem das Toxalbumin bei tuberculösen Meerschweinchen Schweiss erregen, die Temperatur herabsetzen und in genügender Dosis unter Collapserscheinungen den Tod herbeiführen solle; dagegen solle das Proteid temperaturerhöhend wirken. Die temperaturherabsetzende Eigenschaft der ersten Giftklasse soll auch beim Menschen hervortreten. Auch Bronstein und Fraenkel² wieder-

¹ Theil I erschien als: „Methode für die Agglutinations-Prüfung der Tuberkelbacillen“ im *Centralblatt für Bakteriologie*, 1903. Abth. I. O. Bd. XXXIV.

² Litteratur am Schluss der Arbeit.

holen in ihrer neuesten Veröffentlichung diese Angaben. Desgleichen Maragliano in einem neuerlichen und neuesten Vortrage (6, 10).

Es ist auffallend, dass diese experimentell gewonnenen Ergebnisse trotz ihrer augenscheinlichen Bedeutsamkeit bislang in Deutschland keine Aeussierung, weder in zustimmendem noch in abweisendem Sinne zu Folge gehabt haben. Dabei besteht, wie aus dem zusammenfassenden Bericht von v. Baumgarten (7) zu ersehen ist, über die Existenz der beiden Giftclassen keine Gewissheit, ebenso wenig über die verschiedenen Eigenschaften und abweichenden Wirkungen solcher. Aufklärung darüber schien mir dringend erwünscht; ich habe dieselbe zu erlangen versucht, sowohl durch Thierversuche, als auch durch Beobachtungen, welche anlässlich langjähriger therapeutischer Bestrebungen am tuberculösen Menschen gewonnen wurden. Alle nachstehend berichteten Injectionen des Menschen sind im Interesse der Immunisirung und Heilung Kranker angestellt worden.

Maragliano bediente sich für die Versuche mit seiner „Gruppe B“ der durch Chamberlandfilter bakterienfrei gemachten und bei 30° eingengten Culturbouillon; für seine „Gruppe A“ der längere Zeit bei Siedetemperatur gehaltenen, auf dem Wasserbade eingengten und dann erst filtrirten Gesamt-Cultur. Hiergegen ist einzuwenden, dass im ersteren Falle eine Verunreinigung des Toxins mit Pepton, Salzen, Glycerin, soweit diese Körper durch die Tuberkelbacillen nicht aufgezehrt sind — abgesehen vom Farbstoff — zugelassen wird; dass im zweiten Falle nicht allein das Toxin der Bacillenleiber, sondern auch das in die Bouillon übergegangene mit zur Verwendung gelangt. Maragliano rechtfertigt dies Vorgehen damit, dass seine Gruppe B durch Kochen zerstört werde, und dass es deshalb gleichgültig sei, ob die Bouillon mit verbraucht werde oder nicht. Wie ich aber späterhin zeigen werde, trifft diese Behauptung von Maragliano nicht zu. Es ist deshalb durchaus nothwendig, will man nicht von vornherein seine Untersuchungen fehlerhaft ausführen, dass man nach Möglichkeit die Gifte, sowohl ohne Verunreinigung, als auch ungemengt sich darstellt.

Ich bin so vorgegangen, dass ich die Gesamtcultur¹ auf ein feinstes

¹ Die Culturbouillon bestand aus:

10·0 Pepton,
10·0 Fleischextract,
5·0 Kochsalz,
60·0 Glycerin,
ad 1000·0 Wasser.

Später gewöhnlich aus:

15·0 Pepton,
20·0 Glycerin,
ad 1000·0 Pferdefleischbrühe
nach v. Behring

durch Natronlauge mit Phenolphthaleïn als Indicator neutralisirt.

Verwandt wurde die Cultur, sobald die Oberfläche vollkommen und gut bewachsen war, was nach 6 bis 8 Wochen in der Regel der Fall war.

Faltenfilter schüttete und das Filtrat durch eine Reichelkerze schickte. Die so von Bakterien befreite Bouillon wurde in die fünffache Menge absoluten Alkohols eingelassen und 24 Stunden stehen gelassen. Von dem entstandenen Bodensatz wurde die gelbe Flüssigkeit abgossen bzw. abpipettirt und noch zwei Mal durch 60 procent. Alkohol ersetzt — aber in geringerer Menge. Schliesslich wurde der gesammte Bodensatz mit absolutem Alkohol aufgenommen und im Brütofen ad maximum getrocknet. Man erhält dann eine hellbraune spröde Masse, welche zu wenigstens 90 Proc. in warmem Wasser (37°) bei einer Concentration bis zu 3 Proc. löslich ist.¹ Die wässerige Lösung sieht hell bis bernsteingelb aus und ist klar. In physiologischer Kochsalzlösung ist die Löslichkeit der Gruppe eine geringere.

Um die Toxine der Gruppe A herzustellen — ich behalte die Bezeichnung von Maragliano zunächst bei — wurden die auf dem Filter verbliebenen Tuberkelbacillen so lange mit kaltem Wasser übergossen, bis dasselbe ungefärbt ablief. Dies hat den Zweck, einmal, jede Spur der noch anhaftenden Bouillon und damit das Toxin der Gruppe B, andermal alles Glycerin zu entfernen, welch' letzteres ein vollständiges Trocknen der Tuberkelbacillen hintanhalten würde. Das Trocknen der Tuberkelbacillen geschieht während mehrerer Tage unter öfterem Umwenden im Brütofen. Sind sie trocken, so bilden sie eine mehrweniger zusammenhängende Masse von eben gelb-grauer Färbung. Hiervon wird 1^{gramm} abgewogen, mit 3^{centimeter} warmer 33 $\frac{1}{3}$ procentiger Kalilauge übergossen und über Nacht im Brütschrank zugedeckt stehen gelassen. Darauf wird sie im Achatmörser sorgfältig zu einem durchaus gleichmässigen Brei verrieben, mit Wasser ad 100^{centimeter} aufgeschwemmt und mindestens 2 Stunden lang im Dampfstrom gekocht. Das Dekokt wird zuerst durch ein feines Faltenfilter, dann durch eine Reichelkerze filtrirt. Das Filtrat ist kaum gelb gefärbt, klar und kommt nach Zusatz von 0.85 Procent Kochsalz zur Verwendung.

Hierzu ist zu bemerken, dass die Ein-Drittel-Kalilauge die Tuberkelbacillen durchfeuchten und besonders die Kittsubstanz durchdringen soll, um dadurch ein besseres und gründlicheres Verreiben der Tuberkelbacillen zu ermöglichen, was sonst nicht mehr angeht, wenn die Tuberkelbacillen einmal völlig trocken gewesen sind. Das Trocknen ist aber zur genauen Dosirung nothwendig. Diese starke Kalilauge greift die Eiweisssubstanz

¹ Auf eine peinlich genaue Angabe der Löslichkeitsverhältnisse muss ich verzichten, da ich beim Mangel einer chemischen Wage mit verhältnissmässig kleinen Mengen arbeitete. Diese Lücke liesse sich gelegentlich leicht ausfüllen. Später habe ich das Präcipitat einfach durch Fällung mit der doppelten Menge Alkohols gewonnen.

der Tuberkelbacillen nicht an, wovon man sich auch durch die mikroskopische Untersuchung überzeugen kann.

Man erhält aus einem Liter Cultur-Bouillon 4—5^{grm} des trockenen Präcipitats und etwas mehr trockene Bacillen, durchgängig ca. 1^{grm} Bacillen mehr als Präcipitat. In letzterem ist nach Maragliano auch die Toxingruppe A enthalten, weil von den im Laufe des Wachstums der Cultur absterbenden Tuberkelbacillen ein Theil durch das Culturmedium ausgelaugt, und weil diese Substanz gleicher Weise durch Alkohol gefällt wird, wie die Gruppe B. Um nun einigermaassen ein Urtheil über die Grösse dieser etwaigen Beimengung zu bekommen, habe ich folgende Selbstversuche angestellt.

Versuch I. 0.5 der trockenen Tuberkelbacillen waren mit 25.0 einprocentiger Kalilauge zuerst verrieben und dann 24 Stunden lang im Brutschrank stehen gelassen worden. Von den sedimentirten Tuberkelbacillen wurde die Flüssigkeit abgossen und durch eine Reichelkerze geschickt. Von dem Filtrat spritzte ich mir unter die Haut an der Streckseite des linken Unterarmes 0.15^{ccm} ein und zwar Nachmittags 6 Uhr.

Ausser dass die Stelle anfang, sich zu röthen, anzuschwellen, etwas zu schmerzen und wärmer zu werden, bemerkte ich vorläufig nichts. In der Nacht erwachte ich um 2 Uhr mit Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit und Schmerzen in den Gliedern, mit Herzklopfen, kurzum mit starkem Krankheitsgefühl, Temperatur 36.5°. Die Beschwerden steigerten sich in den nächsten 2 Stunden noch bedeutend, nach Art eines heftigen Influenza-Anfalles. Die Temperatur stieg auf 37.3°. Damit war die Höhe erreicht; nach zwei weiteren Stunden betrug die Temperatur 36.3°, die Beschwerden liessen etwas nach, es stellte sich ein leichter Schweissausbruch ein und darnach Schlaf.

An demselben, d. i. dem dem Injectionstage folgenden Morgen bestand noch heftiger dumpfer Kopfschmerz, höchstes Unlustgefühl, starke Abgeschlagenheit und Müdigkeit in allen Gliedern, so dass ich mich die meiste Zeit liegend verhalten musste, verminderter Appetit. Im Morgenurin kein Eiweiss, kein Diazo.

Die sämtlichen Allgemeinerscheinungen nahmen im Laufe der nächsten Tage langsam ab, so dass sie nach einer Woche verschwunden waren. Die ersten 3 Tage bestand noch Unwohlsein, die folgenden Tage bis Ende der Woche waren nur noch durch Müdigkeit hervorstechend. Die entzündliche Geschwulst um die Injectionsstelle hatte am nächsten Tage eine Grösse von ca. 10^{cm} im Längendurchmesser erreicht und lag mehr als 1^{cm} dick auf, sie war braunroth, schmerzte heftig und fühlte sich heiss an. Die Entzündung ging dann in den nächsten Tagen bei andauerndem Juckreiz zurück, doch währte es noch mindestens 14 Tage, dass die Stelle die Aufmerksamkeit nicht mehr reizte. Unter Abschuppung erfolgte die Restitutio ad integrum nach einer weiteren Woche.

Versuch II wurde, damit er nicht durch den ersten beeinflusst werde, etwa 4 Monate später angestellt. Von derselben Cultur wurden wiederum

0.5 Tuberkelbacillen genommen, mit 25.0 Aq. dest. übergossen und nach längerem Durchziehen zu einem Brei zerdrückt. Nachdem die Aufschwemmung 24 Stunden im Brütöfen verweilt hatte, wurde die Flüssigkeit von den Tuberkelbacillen abgossen und durch eine Reichelkerze filtrirt. Von dem Filtrat injicirte ich mir Vormittags 12 Uhr etwas höher als das erste Mal gleicher Weise reichlich 0.15^{cem.}

Auch dies Mal schwoll die Injectionsstelle in fast gleicher Ausdehnung wie das erste Mal an; sie schmerzte aber lange nicht in dem Maasse wie früher, röthete sich auch nicht so stark und wurde nicht so heiss und hoch. Das Befinden blieb bis Nachts 10 Uhr, trotz einer vorherigen 1½ stündigen, anstrengenden Fusstour ungestört. Dann wurde der Kopf etwas eingenommen, und der Schlaf wollte nicht kommen. Dies dauerte aber nicht lange, so dass ich noch vor 12 Uhr eingeschlafen war.

Am anderen Tage bestand noch etwas Mattigkeit, etwas Eingenommensein des Kopfes. Am zweiten Tage waren diese Erscheinungen geschwunden. Die örtliche Stelle machte sich am folgenden Tage spontan nur wenig bemerkbar, die entzündliche Reaction hatte schon nachgelassen. Auch hier erfolgte die Restitution unter Abschuppung und zwar in ca. einer Woche.

Von jedem Tuberkelbacillenbrei wurden mit Kochsalzlösung Aufschwemmungen hergestellt und davon je einem Meerschweinchen eine Pravazspritze in die Jugularvene eingespritzt. Keines der beiden Thiere zeigte nach sechs Wochen bei der Obduction irgend welche tuberculöse Organveränderungen.

Es kann auf Grund dieser beiden Parallelversuche nicht schwer fallen, den Antheil, welchen die Tuberkelbacillen durch Auslaugung an dem Toxininhalt der Culturbouillon nehmen, richtig abzuschätzen. Zunächst vergegenwärtige man sich das künstliche Wachsthum der Tuberkelbacillen auf Bouillon. Die auf deren Oberfläche gebrachte Aussaat wächst ebendasselbst weiter, so zwar, dass sie nach allen Seiten hin eine erst dünne, späterhin dickere Haut bildet, welche mit der Zunahme der Einzelindividuen an dem Rande des Glases hochkriecht und sich faltet. Diese Faltung ist die natürliche Folge davon, dass die jüngste Tuberkelbacillen-Generation für ihr Wachsthum und für ihre Vermehrung der Nahrung bedarf, welche sie nur genügend direct an der Oberfläche der Bouillon findet; und deshalb bildet sie die unterste Schicht, während die älteren Generationen als oberste Schicht zu treffen sind, welche bei längerer Culturdauer soweit in ihrer Lebensfähigkeit geschädigt sind, dass ein Weiterzüchten meistens misslingt. Daraus geht hervor, dass todte Bacillen mit der Bouillon kaum mehr in Berührung kommen, vorausgesetzt natürlich, dass das Culturgefäss nicht übermässig bewegt wird, wodurch die Haut überspült oder gar auf den Boden des Gefässes versenkt werden könnte. Bei dieser Sachlage kann von einem Auslaugen todter Bacillen gar keine Rede sein. Von den lebenden aber muss unbedingt angenommen werden, dass sie sich nicht auslaugen lassen, da sie dadurch eines integrirenden Bestandtheiles ihrer Körpersubstanz verlustig gehen würden, was sich mit einer

Weiterentwicklung nicht verträgt. Hier ist wohl zu unterscheiden, ob ein Mikroorganismus von vornherein weniger Toxin aufspeichert, also weniger gifthaltig ist, oder ob ihm das mit seinem Leibe verbundene Toxin hinterher entzogen werden soll. Dass Tuberkelbacillen in ihrer Virulenz Unterschiede aufweisen, ist bestimmt; der Virulenz-Unterschied kommt aber nicht dadurch zu Stande, dass die Bacillen an Gift hinterher einbüßen, sondern dadurch, dass sie anderen Existenzbedingungen ausgesetzt gewesen sind und so in ihren biologischen Eigenschaften sich geändert haben. Wie die beiden an die Selbstversuche angegliederten Thierversuche zeigen, hat die Giftentziehung bei den Tuberkelbacillen deren Tod zur Folge.

Bei dem zweiten Versuche waren die vorher getrockneten — zum mindesten schon lebensschwachen Bacillen in indifferenten Flüssigkeit unter zwar geringem aber doch immerhin merkbarem Drucke vertheilt. Die so ihnen entzogene Toxinmenge reichte, wie die Wirkung der Injection zeigte, bei weitem nicht an diejenige des ersten Versuches heran, bei welchem die Bacillen sowohl mechanisch als auch chemisch stark beeinflusst waren. Wenn man nun die stufenweise Einwirkung auf beide Mal zum Absterben kommende Bacillen betrachtet, so erhält man einen genügenden Anhaltspunkt dafür, was dazu gehört, um den Tuberkelbacillen eine einigermaßen merkbare Menge Toxin zu entziehen; wenn man dann hiermit den Einfluss der Bouillon auf die Tuberkelbacillencultur vergleicht, ferner die Menge der Flüssigkeit zu der Menge der Tuberkelbacillen (im Versuch 50:1, im Culturgefäß 200:1), so muss man zu dem Schluss kommen, dass eine Auslaugung der Tuberkelbacillen durch die Culturbouillon nicht stattfindet, dass mithin Toxin der Gruppe A in der Bouillon so gut wie nicht vorhanden ist.

Die Wirkung der Toxingruppe B auf die Körpertemperatur kann aus den nachfolgenden Curven 1a und 1b ersehen werden.

Es handelte sich um eine an Tuberculose der Haut und der Drüsen, sowie an Lupus des Gesichts leidende Kranke, bei welcher zur Feststellung des constitutionellen Factors¹ zunächst zwei Probeinjectionen mit dem alten Tuberculin gemacht waren und zwar das erste Mal 0.0001 Tubc. vet., das zweite Mal 0.0005 Tubc. vet. Das Ergebniss zeigt die Curve 1a. Nach Verlauf von zehn völlig fieberfreien Tagen wurde eine dritte, die erste therapeutische Injection gemacht mit 0.001 der festen Substanz der Gruppe B, deren Resultat durch die Curve 1b angezeigt wird.² Hieraus

¹ Vgl. Köppen, Die tuberculöse Constitution. Vortrag, gehalten in der Abth. für Kinderheilkunde a. d. Versammlung deutscher Naturforscher u. Aerzte in Cassel, 1903. *Verhandl. der Gesellschaft für Kinderheilkunde*. Wiesbaden 1904.

² Ich könnte noch eine ganze Reihe derartiger Curven beibringen.

geht in striktem Gegensatz zu der Angabe von Maragliano hervor, dass das Toxin der Gruppe B temperaturerhöhende Eigenschaft besitzt.

Es liegt die Frage nahe, wodurch das falsche Ergebniss bei Maragliano veranlasst ist. Ein Mal könnte es sein, dass Jener so grosse Dosen

Curve 1a.

injiziert hat, dass sich bald hernach ein Collaps angeschlossen, dessen erniedrigte Temperatur ihm das falsche Resultat vorgetäuscht hat. Andermal könnte bei vorher erhöhter Temperatur die Injection eine Immuni-

Curve 1b.

sirung des Organismus unter folgendem Fieberfall bewirkt haben; die unmittelbare fieberhafte Reaction wurde übersehen, der Temperaturabfall wurde falsch be- und verwerthet. Für einen solchen Fall möchte ich ein Beispiel beibringen.

Einem an Lungentuberculose leidenden Patienten wurde 1.0 der filtrirten und mit 0.5 Procent Carbolsäure versetzten Bouillon injicirt. Der Versuch, durch eine kräftige Reaction die Temperatur zur Norm zu bringen, gelang wie ersichtlich (Curve 2). Da eine bedeutende Besserung

Curve 2.

des Allgemeinbefindens hierdurch erzielt wurde, so ist der etwaige Einwand, dass es sich um Collaps gehandelt habe, hinfällig. Nun kann aber eine solche Wirkung nicht als eigenthümlich für ein Bakterientoxin gelten; denn sie hängt ganz allein von dem Organismus und dessen

Curve 3.

Reactionsfähigkeit ab und kommt gleicher Weise den Toxinen anderer Bakterien auch zu; ebenfalls auch den verschiedenen Toxinen derselben Bakterienart. Als Beispiel diene das Tuberkelbacillen-Toxin der Gruppe A in der Curve 3.

Es handelt sich in diesem Fall um einen jungen Menschen mit einer subacut gewordenen Hüftgelenkentzündung, bei dem gelegentlich, insbesondere nach ausgedehnteren Bewegungen Temperaturerhöhung auftrat, wie eine solche der Anfangstheil der Curve aufweist. Injicirt wurde 0.5 einer 2stündigen Abkochung von 1.0 Tuberkelbacillen in 100.0 Aq. Es ist augenscheinlich, dass der Organismus durch die Injection zu einer kräftigen immunisatorischen Reaction angeregt wurde, deren Erfolg die Verdrängung des Fiebers war.

Nachdem durch vorstehende Versuche bewiesen worden, dass die Angaben Maragliano's über die entgegengesetzte Wirkung seiner beiden Toxingruppen auf die Temperatur nicht zutreffend sind, schien es weiterhin nothwendig, zu prüfen, wie es mit der Behauptung desselben Autors steht, dass die Gruppe B höhere Temperaturen nicht erträgt, dass Siedehitze die Wirksamkeit dieser Gruppe aufhebt. Die Gruppe A, welche durch Kochen gewonnen wird, bleibt eo ipso ausser Betracht.

Zunächst prüfte ich den Einfluss der erhöhten Temperatur auf die Wirksamkeit der Gruppe B an Kaninchen und Meerschweinchen, indem ich das eine Mal das unbehandelte, das andere Mal das auf 65° und 100° erhitzte Toxin einverleibte. Ich bin nach zahlreichen Versuchen zu der Einsicht gekommen, dass diese Thiere sich zu derartigen subtilen Versuchen nicht eignen, da Schwankungen des Körpergewichts, welche allein den Maassstab für die Giftwirkung abgeben können, so wie so schon in einem Maasse vorhanden sind, dass daraus Unterschiede in der Wirkung der Gifte nicht merkbar werden.

Deshalb kamen mir einige Beobachtungen zu statten, welche ich anlässlich therapeutischer Maassnahmen bei dem letzten Patienten gewonnen hatte. Injicirt wurde bei der

- I. Injection 0.004 feste Substanz der B-Gruppe, welche kurz aufgekocht war;
- II. „ 0.008 Toxin, welches 2 Minuten lang über der Flamme gekocht war;
- III. „ 0.012 Toxin, welches 2 Stunden lang im strömenden Dampfe gekocht war.

Die Curve 4 zeigt in allen Fällen eine deutliche Reaction.

Um jeden Zweifel an der Beweiskraft dieser Beobachtungen von vornherein abzuschneiden, sei hinzugefügt, dass der betreffende Patient gegen eine recht hohe Dosis des A-Toxins bereits immunisirt war, bevor er die Injectionen mit dem B-Toxin erhielt. Wenn also auch eine ziemlich erhebliche Beimengung von A-Toxin zu dem B-Toxin vorhanden gewesen wäre, so hätte dieser Umstand doch auf die Schlussfolgerung keinen

Einfluss ausüben können. Eine Zerstörung des B-Toxins durch Siedetemperatur findet demnach nicht statt. Ob nicht eine Veränderung eintritt, soll jetzt nicht untersucht werden, da es zunächst darauf ankommt, zu zeigen, dass die Versuchsanordnung Maragliano's falsch ist, dass sie zu unrichtigen Ergebnissen führen muss, wenn er annimmt, durch Kochen das B-Toxin aus der Gesamtcultur eliminirt zu haben.

Die bisherigen Ergebnisse haben für die Verschiedenheit der beiden Toxingruppen den Beweis nicht erbracht. Vielleicht ist die chemische Untersuchung dazu im Stande.

In der Litteratur findet man die Angabe, dass die Toxingruppe B, welche ich nach v. Behring nunmehr Tubtx. benennen will, den Albumosen; die Gruppe A dagegen, welche mit Tbt. zu bezeichnen ist, den Proteiden angehöre. Die von mir angestellten chemischen Reactionen ergaben Folgendes:

Es wurde eine 1 procentige wässrige Lösung des Präcipitats und eine mehrstündige Abkochung von 1.0 Tb. in Wasser hergestellt. Die Lösungen wurden klar filtrirt; erstere war leicht gelblich, letztere anscheinend farblos.

Was von der letzteren Lösung wegen der Herstellung selbstverständlich ist, gilt auch von der ersteren: Beide können, ohne zu coaguliren, gekocht werden; und was sich ohne Weiteres aus demselben Grunde von der ersteren

ergiebt, trifft auch bei der letzteren zu: Sie werden beide durch Alkohol gefällt. Ferner zeigten beide die Xanthoprotein- und die Mil-lon'sche Reaction; dagegen war die Biuretreaction beiderseits unsicher. Mit Salpetersäure, Essigsäure, Essigsäure und Ferrocyankalium trat in der Kälte ein Niederschlag auf, welcher sich aber in der Wärme nicht vollständig löste. Dagegen löste sich der mit 30 Procent Essigsäure entstandene Niederschlag, wenn die Mischung mit Chlornatrium gesättigt wurde. Pikrinsäure, Sublimat und schwefelsaures Ammon fällten die Toxine. Salzsäure und Schwefelsäure gaben in der Kälte keinen Niederschlag. Tubtx. reducirte Kupferoxydhydrat nach Art der Pentosereaction, verlor diese Eigenschaft aber nach Aufkochen.

Gelatine wurde von keinem der beiden Toxine verflüssigt.

Es ist nicht angängig, aus dem Umstand, dass das Tubtx. reducirende Eigenschaft besitzt, auf eine Verschiedenheit beider Gruppen zu schliessen; denn dies Vermögen geht mit dem Kochen verloren, und das Tbttx. ist durch Kochen gewonnen. Die übrigen Reactionen aber fallen bei beiden Körpern gleichmässig aus; einige Reactionen haben sie mit den Proteosen gemeinsam, in anderen weichen sie wieder davon ab; ausserdem beweisen sie sich als Nicht-Peptide. Das Tubtx. lässt sich deshalb nicht als Proteose (Albumose) ansprechen, sondern beide Gruppen müssen den Proteiden zugerechnet werden.

Da auch diese Untersuchung einen Unterschied der beiden Toxin-gruppen nicht hatte nachweisen können, so habe ich den biologischen Versuch, welcher sich auf die Präcipitation körperfremden Eiweisses durch das Blutserum des vorbehandelten Organismus stützt, unternommen, indem Thieren, in erster Linie Kaninchen, von beiden Toxinen einverleibt und nachher das Blutserum auf seine fällende Eigenschaft untersucht wurde. Ich variierte die Versuche in der mannigfaltigsten Weise. Bald injicirte ich eine einzelne grosse Dosis, bald eine Reihe kleinerer oder grösserer Dosen; ich entnahm das Blut zu verschiedenen Zeiten, das eine Mal, wenn das frühere Körpergewicht wieder erreicht war, das andere Mal früher und noch ein anderes Mal eine Zeit lang nachher: Trotz alledem gelang es mir in keinem Falle, eine unanfechtbare Reaction zu erzielen; glaubte ich einmal, ein positives Resultat vor mir zu haben, und wiederholte ich den Versuch, so erhielt ich ein anderes Resultat: Kurzum, es war unmöglich, auf diesem Wege zum Ziel zu kommen.

Mir erscheint dieser Ausfall nicht mehr befremdlich. Es ist längst bekannt, dass nicht alle Eiweisskörper schlechtweg die biochemische Reaction geben, sondern dass es genuine Eiweisskörper sein müssen; so sind Peptide nach verschiedenen Untersuchungen von anderer Seite (z. B. v. Dungern) nicht im Stande, die Reaction herbeizuführen. Die ultra-

mikroskopischen Untersuchungen, welche in den Peptonlösungen körperliche Elemente im Gegensatz zu genuinem Eiweiss vermissen liessen, können für die Erklärung jener Thatsache vielleicht einen Anhaltspunkt liefern (Raehlmann, Römer).

Schliesslich habe ich die Temperatortabellen meiner Tuberculosepatienten durchgesehen, ob nicht aus ihnen eine Verschiedenheit der beiden Toxingruppen zu erkennen wäre. Diese Verschiedenheit könnte bei der gleichen, temperaturerhöhenden Eigenschaft der beiden Toxine nur so hervortreten, dass das eine Toxin auch dann noch die Temperatur erhöht, wenn der Organismus gegen eine mindestens gleiche Dosis des anderen Toxins immunisirt worden, also auf dieselbe Dosis des anderen Toxins nicht mehr durch Temperatursteigerung reagieren würde.

Bei dieser Untersuchung würde man aber zu einem falschen Ergebniss kommen, wenn man gleiche Dosen beider Toxine zu Grunde legen würde. Denn, wenn auch beide Toxine die gleiche, nämlich temperaturerhöhende Wirkung haben, so ist damit noch nicht bewiesen oder gesagt, dass sie diese Eigenschaft auch in gleichem Maasse besitzen, dass ein Gewichtstheil des einen Toxins dieselbe Temperaturerhöhung, d. h. die Erhöhung der Temperatur um gleich viel Grade bewirkt wie dieselbe Gewichtsmenge des anderen Toxins. In den mitgetheilten Versuchen und Beobachtungen ist bei dem Tbtz. überhaupt stets nur von der ursprünglichen festen Substanz die Rede gewesen, d. h. von der Gewichtsmenge Tuberkelbacillen, welche als Ausgangsmaterial gedient hat. Dass Tuberkelbacillen und Toxin aber nicht gleichwerthig sind, dass vielmehr in den Tuberkelbacilleneibern viele Substanzen, u. a. ca. 39 Procent Fettsubstanz, vorhanden sind, welche nicht mit dem Toxin identificirt werden dürfen, braucht nicht weiter auseinandergesetzt zu werden. Ausserdem aber lässt sich zeigen, dass die Tuberkelbacillen durch Kochen keineswegs an Toxin erschöpft werden können.

1.0 Tuberkelbacillen wurden auf die von mir (vgl. Fussnote zur Ueberschrift) angegebene Weise verseift; die Masse (Tuberkelbacillenseife) wurde mit Wasser auf 100.0 aufgefüllt. Nach zweistündigem Kochen wurden die Tuberkelbacillen von der Flüssigkeit durch wiederholtes Durchgiessen durch ein hartes Filter getrennt, nochmals in 100.0 stark alkalischen Wassers aufgeschwemmt und im Papin'schen Dampftopf 10 Stunden gekocht. Nach diesem wurden die abermals von der Flüssigkeit befreiten Bacillen mit 100.0 Wasser aufgeschwemmt, 2 Stunden gekocht und wiederum von der Flüssigkeit getrennt. Durch diese wiederholten Manipulationen verlieren die Bacillen sehr an Gewicht und Zahl, während das Volumen, wenigstens so lange sie feucht gehalten werden, ein grösseres geworden ist. Dies hat seinen Grund darin, dass sie, wie das Mikroskop zeigt, schwammartig aufgelockert sind.

Von diesen übrig gebliebenen Bacillen wurden so viele, dass sie an Zahl ungefähr die Hälfte der ursprünglich vorhandenen ausmachen mochten, einem in bester Gesundheit stehenden Kaninchen intraperitoneal eingespritzt.

Wenn man eine ebenso grosse Menge sterilisirten Aleuronatmehls einem Kaninchen intraperitoneal einverleibt, so bleibt das Thier am Leben, nachdem es nur am nächsten Tage als Folge der durch das Trauma herabgesetzten Fresslust einen Gewichtsverlust hat erkennen lassen, ohne dass eine exsudative Entzündung in der Bauchhöhle aufträte (8). Hier aber ging das Thier am 45. Tage unter fortgesetzter, allerdings sprungweiser Abmagerung zu Grunde (Curve 5). Aus der Obduction sei angeführt, dass

Curve 5.

kein Ascites vorhanden war; das Peritoneum parietale und viscerales injiziert und mit vielen kleinen und grösseren Knötchen besetzt; desgleichen das Mesenterium und das Netz; dieses aufgerollt. Randzone der Nieren dunkel; mit blutigen Punkten und Streifen. Lunge blutig gefleckt.

Nicht minder deutlich geht die Retention von Toxin in den Tuberkelbacillen trotz eingreifendster Behandlung aus folgender Beobachtung hervor.

Dem schon vorhin genannten, an Hüftgelenkstuberculose leidenden Patienten wurde, nachdem er bereits gegen die anderen tuberculösen Toxine immunisirt worden war, 1^{cem} einer 1 procentigen wässrigen Aufschwemmung der wie oben behandelten Bacillen subcutan einverleibt. Die darauf erfolgte Reaction zeigt die Curve 6.

Nach dem Gesagten kam es demnach darauf an, zu prüfen, ob nach Immunisirung mit dem einen Toxin die Einverleibung des anderen Toxins in höchstens gleichwirkender Dosis von Neuem eine Temperatursteigerung veranlassen würde; je kleiner aber im Vergleich zu der ersteren die zweite Toxindosis sein würde, welche eine Temperaturerhöhung auslöste, desto auffälliger musste das Ergebniss sein.

Curve 6.

Zunächst galt es festzustellen, welche Gaben von beiden Toxinen als gleichwirkend anzusehen waren. Ich habe nun bereits früher angegeben (8), dass das auf die geschilderte Art hergestellte Tbt. (auf die ursprüngliche feste Substanz berechnet) eine ca. 50 fach stärkere temperaturerhöhende Wirkung ausübt, als das Tubt. Zum Vergleiche dienen die Curven 7

Curve 7.

und 8. Injicirt war im ersten Fall 0.0001 Tbt., im zweiten 0.004 Tubt. und beide Mal ging die Temperatur um etwa $\frac{1}{2}$ Grad in die Höhe.

Die Schwierigkeit solcher Feststellungen liegt darin, dass der constitutionelle Factor bei den Personen möglichst derselbe sein muss, wenn, wie hier, verschiedene Personen in Betracht kommen; hat man es aber mit derselben Person zu thun, so müssen die Injectionen zur Vermeidung

einer gegenseitigen Beeinflussung, directer oder indirecter Art, soweit aus einander gelegt werden, dass sich inzwischen der constitutionelle Factor bedeutend verschoben haben kann. Immerhin darf man soviel nach zahlreichen Beobachtungen sagen, dass das Tbt_x. in der angegebenen Gabe um ein Vielfaches in Bezug auf die temperaturerhöhende Eigenschaft wirksamer ist als das Tubtx.

Curve 8.

Unter dieser Voraussetzung sei die Curve 9 betrachtet.

Curve 9.

Injicirt war das erste Mal 0.5^{cem} eines gemischten Toxins, welches aus einer 1 procentigen Tuberkelbacillen-Abkochung und dem vierten Theile des Präcipitats der Culturbouillon, also aus 0.005 Tbt_x. + 0.00125 Tubtx. bestand. Die darnach auftretende Temperatursteigerung war in Folge vorangegangener gleichartiger Einspritzungen nicht hoch; dieselbe Injection wiederholt, hätte, wenn überhaupt eine, bestimmt eine noch geringere Temperaturerhöhung bewirkt. Statt dessen wurden 0.2^{cem} einer 2 procentigen Tubtx.-Lösung, also 0.004 Tubtx. eingespritzt.

Dasselbe Bild giebt Curve 10. Injicirt war das erste Mal 0.85 ccm desselben gemischten Toxins, also $0.0085 \text{ Tbt.} + 0.002125 \text{ Tubtx.}$ Das zweite Mal wurden 0.4 ccm der 2 procentigen Tubtx.-Lösung, also 0.008 Tubtx. eingespritzt. (Curven, bei denen auf eine reine Tbt.-Injection eine solche von Tubtx. folgt, stehen mir nicht zu Gebote; ist auch nicht erforderlich, wenn der Ausfall ein positiver wie hier ist. Denn die vorherige Mitinjection von Tubtx. kann höchstens die Wirkung der zweiten Tubtx.-Injection abschwächen.)

In beiden Fällen bewirkte eine geringere Dosis das zweite Mal eine grössere Temperatursteigerung als das erste Mal, trotzdem das zu der zweiten Injection verwandte Toxin um ein Vielfaches schwächer ist, als das erst genommene.

Curve 10.

Dem gegenüber steht nun die Erfahrung, dass gleiche Dosen des Tuberculosegiftes, in nicht allzu grossen und in nicht allzu kurzen Zwischenräumen dem Organismus einverleibt, die nachfolgenden Male immer geringere Temperaturerhöhungen bewirken als das erste Mal, auf Grund der Immunisirung des Körpers gegen das Toxin. Nur wenn der Zwischenraum von einer Injection zur anderen allzu lang ist, so kann die Immunität inzwischen wieder verloren gegangen sein, und die nachfolgende Injection wird dann von neuem eine Temperaturerhöhung zur Folge haben. Wenn dagegen die Injectionen sich so schnell folgen, dass der Immunisirungsvorgang noch nicht ganz abgelaufen ist, so hat die folgende Injection in

der Regel trotz gleicher Dosis eine Temperatursteigerung zur Folge. Hierauf beruht der von Koch für die probatorische Tuberculoseimpfung als charakteristisch bezeichnete Ausschlag [Köppen (9)].

In den beiden vorliegenden Fällen liegen erfahrungsgemäss die beiden Injectionen gerade soweit aus einander, dass weder der Verlust der Immunität inzwischen eingetreten, noch dass der Immunisirungsvorgang zur Zeit der zweiten Injection im Gange gewesen sein kann. Die einzige Erklärung für die temperaturerhöhende Wirkung des Tubtx. trotz vorausgegangener völliger Immunisirung mit Tbttx. ist die Annahme einer verschiedenen Constitution beider Toxine.

Litteratur-Verzeichniss.

1. v. Behring, P. Römer und W. G. Ruppel, Tuberculose. *Beiträge zur experimentellen Therapie*. Marburg 1902.
2. W. G. Ruppel, Die Proteine. *Ebenda*. Marburg 1900.
3. E. Maragliano, Das antituberculöse Heilserum und dessen Antitoxin. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1896. Nr. 35.
4. L. Fränkel und O. Bronstein, Experimentelle Beiträge zur Frage über tuberculöse Toxine und Antitoxine. Aus dem chem.-bakteriol. Institut von Dr. Ph. Blumenthal-Moskau. *Ebenda*. 1901. Nr. 33.
5. Bronstein und Fränkel, Der gegenwärtige Stand der Serumtherapie der Tuberculose. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1902. Bd. XXXII.
6. Maragliano, Der Kampf und die Immunisation des Organismus gegen die Tuberculose. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1904. Nr. 25. — Bericht, erstattet in der II. allgem. Sitzung des XIV. intern. med. Congresses in Madrid.
7. v. Baumgarten, Ueber die pathologisch-histologische Wirksamkeit des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1901. Nr. 44—46.
8. Köppen, Studien und Untersuchungen über Pathologie und Therapie der tuberculösen Peritonitis. *Archiv für klin. Chirurgie*. Bd. LXIX.
9. Derselbe, Ueber die probatorische Tuberculininjection. *Beiträge z. Klinik der Tuberculose*. Bd. II.
10. E. Maragliano, Ueber die specifische Behandlung der Tuberculose und eine Schutzimpfung gegen dieselbe. Vortrag, gehalten im Henry Phipps Institut in Philadelphia. Deutsch von Sanitätsrath Dr. Hager. *Zeitschrift für Tuberculose*. 1905. Bd. VII.