DEUTSCHE MEDICINISCHE WOCHENSCHRIFT.

Mit Berücksichtigung des deutschen Medicinalwesens nach amtlichen Mittheilungen, der öffentlichen Gesundheitspflege und der Interessen des ärztlichen Standes.

Begründet von Dr. Paul Börner.

Achtzehnter Jahrgang.

Redacteur Geh. Sanitäts-Rath Dr. S. Guttman in Berlin W.

Verlag von Georg Thieme, Leipzig-Berlin.

I. Aus dem pathologischen Institut der Königlichen Universität zu Padua; Direktor Prof. A. Bonome.

Ueber die specifische Wirkung einiger Substanzen auf die Entwicklung und die pathogene Eigenschaft des Rotzbacillus.

Ein Beitrag zur Immunitätsfrage.

Von Prof. A. Bonome und Dr. M. Vivaldi.

Wenn man die wichtige Frage der Immunisirung betreffende Litteratur der letzten Jahre auch nur flüchtig durchgeht, d. h. jener Fähigkeit, welche einige Organismen erlangen, der pathogenen Einwirkung gewisser Bacterien und gewisser Gifte zu widerstehen, so wird man sich leicht überzeugen, dass diese Fähigkeit von der Anwesenheit von Substanzen abhängt, die sich im Organismus selbst unter besonderen Bedingungen bilden. Man weiss noch nicht genau, wie und in welchen Theilen des sich immunisirenden Organismus diese Substanzen entstehen; gewiss ist jedoch, dass die Verhinderung der Vermehrung der Bacterien im Blute und in den Geweben des immunisirten Thieres, sowie die Neutralisirung der Gifte im Organismus selbst der Anwesenheit jener Substanzen zugeschrieben werden muss.

Die bisher bekannten Mittel, Thiere und Menschen gegen die pathogene Wirkung bestimmter Bacterien und Gifte immun zu machen, wechseln sehr, und zwar je nach der Natur der Parasiten oder des Giftes, deren pathogener Wirkung man begegnen, und je nach der Thierspecies, die man immunisiren oder heilen will, da nicht alle Thiere auf jeden Parasiten oder auf jedes Gift in der gleichen Weise reagiren, schliesslich je nach den besonderen Umständen, unter welchen die Infection oder Intoxication auftritt und sich entwickelt, indem es nicht gleichgültig ist, ob dieselbe spontan, unter normalen Verhältnissen, oder aber ob sie experimentell durch Einführung von infectiösem Material auf genau bekannten Wegen zustande kam.

Die Bedingungen, unter welchen sich die zur Bekämpfung und Ueberwindung des Bacteriums oder des Giftes nöthigen Kräfte im lebenden Organismus entfalten, sind noch nicht genau bekannt; es scheint jedoch, dass auch sie verschieden sind je nach dem Momente, in welchem der thierische Organismus zur Vertheidigung vorbereitet oder angereizt wird. Ob man diese Immunität mit gleicher Leichtigkeit während des gesunden Zustandes des Individuums (Präventivform), oder bei bereits bestehender Infection (curative Form) hervorzurufen vermag, ist noch nicht genau festgestellt.

Und hier könnte man, ohne die Bedeutung der Vorstellung zu unterschätzen, dass die Möglichkeit der Heilung einer Infection abhängt von der Entwicklung von Substanzen in den Geweben des erkrankten Organismus, welche fähig sind, die Bacterien zu zerstören und die pathogenen Gifte zu neutralisiren, die Frage stellen, ob diese Schutzsubstanzen nur aus den gesunden anatomischen Elementen, oder auch aus pathologischen Producten entstehen; mit anderen Worten, ob die spontane Heilung einiger Infectionskrankheiten, anstatt einen Sieg der normalen Bestandtheile des thierischen Organismus über die Bacterien und die betreffenden Gifte zu bedeuten, nicht aber von einer Erschöpfung der bacteriellen Zelle abhängt, indem dieselbe im Organismus des sie beherbergenden Individuums nicht mehr die für ihr Gedeihen günstigen Verhältnisse vorfindet, und nunmehr in Gegenwart von Substanzen, welche aus den pa-

thologischen Producten selbst entstanden sind, der Zerstörung anheimfallen (Exsudatzellen, Zellen im Degenerationsstadium, Absterbestadium etc.).

Die Forschungen, welche sich heute in dieser Richtung mit geradezu fieberhafter Eile vermehren, suchen stets mehr den Zusammenhang zwischen immunisirender und curativer Wirkung nachzuweisen, wodurch die praktische Bedeutung dieser Untersuchungen immer mehr in den Vordergrund tritt, und man sieht bereits in absehbarer Entfernung die Möglichkeit, die Resultate der Laboratoriumsversuche auf den kranken Menschen anzuwenden.

Bei vielen Infectionskrankheiten können jene Substanzen, welche wir in dem gesunden Organismus eines Versuchstieres künstlich erzeugen können und welche, präventiv einverleibt, imstande sind, das Thier gegen bestimmte pathogene Parasiten zu immunisiren, spontan sich entwickeln im Organismus des bereits infectirten Thieres oder Menschen. Diese Entwicklung ist aber manchmal ungenügend, so dass der Gedanke, dass die Zuführung von in einem anderen Thiere künstlich erzeugten immunisirenden Stoffen dem kranken Menschen oder Thiere nothwendigerweise nur nützen könne, rationell genannt werden muss.

Die Verhältnisse, unter denen die Bildung der immunisirenden Substanz im Innern des gesunden oder kranken thierischen Organismus statthat, sind verschieden, und die Reize, unter deren Einfluss diese Bildung zustande kommt, sind nicht immer die gleichen. Manchmal erzielt man die Production der immunisirenden Substanz thatsächlich durch Einführung von abgeschwächten Bacterien (Vaccination), oder von, durch die Bacterien selbst erzeugten chemischen Substanzen (Präventivvergiftung), andere male wieder erzielt man sie mittels Einführung von specifisch wirkenden chemischen Substanzen.

Auch ist es ausser Zweifel, dass die immunisirende Substanz zu ihrer Bildung einer gewissen Zeit bedarf, und dass sie, einmal vorhanden, mittels des Blutserums von einem Thiere auf ein anderes der gleichen oder einer verwandten Gattung übertragen werden kann. Das gesunde Thier, welches dieses Serum empfängt, wird immun für jene gegebene Bacterienart, für die das Serum liefernde Thier immun gemacht worden war. Die interessanteste praktische Anwendung ist aber diejenige, welche sich aus der Beobachtung ergibt, dass das Blutserum eines ad maximum künstlich immunisirten Thieres oder auch der Gewebssaft einiger seiner Organe für therapeutische Zwecke verworthen werden kann, jedoch nur bei Thieren, welche an der gleichen Infection erkrankt sind, für welche das Serum liefernde Thier sicher refractär gemacht worden ist.

Auf diese Weise erhält das Verhältniss zwischen Immunisirung und Therapie tagtäglich ein deutlicheres Gepräge, so dass die Studien über Immunisirung gegen bestimmte Infectionskrankheiten, insbesondere bei Thieren, deren Serum unter normalen Verhältnissen für den Menschen vollkommen unschädlich ist, von hervorragendem Werth erscheinen.

Die zahlreichen, bisher klargestellten experimentellen Thatsachen lassen folgern, dass nur einem kleinen Theile der acuten Infection im Thiere und Menschen mittels der Vaccination vorgebeugt werden kann, d. h. mittels Einführung eines, sei es durch Hitze, oder durch Alterung, oder durch chemische Substanzen von bekannter Zusammensetzung, oder endlich infolge atmosphärischer Einflüsse verdünnten Virus. Vor einer weiteren Gruppe von Infectionen hingegen kann geschützt werden mittels Einführung von vollkommen bacterienfreien chemischen Substanzen in den Körper des zu immunisirenden Thieres. Diese chemischen Substanzen werden manchmal ausschliesslich aus

den Bacterien selbst, gegen welche man Immunität erzielen will, hergestellt, manchmal aber haben sie einen ganz verschiedenen Ursprung, d. h. es sind entweder chemische Substanzen von wohl-knowner Zusammensetzung, oder es sind die wirksamen Principe der Zellen oder der Gewebssäfte (Blut) des thierischen Organismus. Alle sind aber Substanzen, welche, specifisch wirkend, imstande sind, sei es durch einen direkten Einfluss auf die Parasiten selbst, sei es durch indirekten Einfluss, d. h. indem sie die festen und flüssigen Elemente des thierischen Organismus anreizen, sich durch Entwicklung der sogenannten bactericiden Substanzen gegen die Invasion der Bacterien zu vertheidigen, die schädliche Wirkung der Parasiten auszugleichen.

Für eine Reihe von Infectionen, welche im Menschen und in den Versuchsthiere acut zu verlaufen pflegen, ist es mit Sicherheit nachgewiesen, dass die präventive Einführung von flüssigen toxischen Substanzen, die aus den nämlichen Bacterien, gegen welche man die Immunität erzielen will, gewonnen wurden, in kurzer Zeit die gewünschte Immunität bewirkt. Dies sind z. B. die pneumonische und die putride Infection, wie dies einer von uns bereits nachgewiesen hat¹⁾; der symptomatische Milzbrand (Roux und Chamberland), die Cholera, die Metschnikoff'sche Vibrioninfection (Gama-leia) etc.

Diese Immunisirungsmethode gilt insbesondere für die Gruppe der Saprophyten und für die nicht streng obligaten Parasiten, welche sich leicht an die saprophytische Lebensweise gewöhnen. Für die Reihe der streng obligaten Parasiten gilt diese Immunisirungsmethode nicht; thatsächlich gelingt es nicht, bei Meerschweinchen durch präventive Einführung der kleinen Dosen der aus dem Bacillus der Tuberculose und des Rotzes dargestellten löslichen toxischen Producte Immunität gegen Tuberculose oder Rotz zu erzielen.

Nichtsdestoweniger haben jüngste Forschungen nachgewiesen, dass es chemische Substanzen von manchmal wohl-knowner (Jodtrichlorid), andere male hingegen von unbekannter Zusammensetzung weil von wässerigen Emulsionen aus an Zellelementen reichen Organen stammend (Thymusextract), giebt, welche, gemischt mit Culturen bestimmter pathogener Parasiten oder zugesetzt zu den Nährmitteln, auf denen diese Parasiten gezüchtet wurden, die Eigenschaft haben, die pathogene Wirkung zu modificiren und das erzeugte Gift zu neutralisiren. Es handelt sich also nicht um Antiseptica im engeren Sinne des Wortes, d. h. um Substanzen, geeignet, die Mikrophyten zu tödten und deren Entwicklung zu hemmen, sondern um solche, welche, specifisch wirkend, die pathogenen Eigenschaften der Bacterien verändern. Hier muss aber bemerkt werden, dass die Anzahl dieser bisher bekannten Substanzen äusserst gering ist; thatsächlich beschränken sie sich auf das Jodtrichlorid (Behring²⁾) und auf den Auszug der Thymusdrüse (Brieger-Kitasato-Wassermann³⁾).

Diese Substanzen zeigen sich activ bezüglich einer Gruppe von pathogenen Mikroparasiten, welche die Eigenschaft besitzen, sich nur in der Nähe der Eingangspforte zu vermehren, indem sie in das Blut nur ihre toxischen Producte gelangen lassen; solche sind: der Bacillus des Tetanus, der Diphtherie, des Schweinerotzlaufs, der Cholera vibrio und die Erysipelcocci.

Dagegen kennt man bis heute keine einzige Substanz, welche fähig wäre, auf die streng obligaten Parasiten, wie z. B. den Bacillus der Tuberculose und des Rotzes, eine specifische Wirkung auszuüben.

Indem wir in diesem Jahre mit dem Studium der Immunisirung und Therapie des Rotzes beschäftigt waren, haben wir untersucht, welchen Einfluss einige chemische Substanzen, sowie die Extracte einiger Gewebe und des Blutes gewisser gesunder und gegen Rotz natürlich immuner Thiere auf die Entwicklung und auf die Pathogenität des Rotzbacillus auszuüben vermag, und konnten uns hierbei überzeugen, dass, wenngleich der Rotz wie die Tuberculose eine Infection ist, gegen welche man die Thiere mittels der bisher gegen viele andere pathogene Mikroparasiten gekannten Mittel nicht schützen kann, man doch imstande ist, die experimentelle Infection mittels einiger Substanzen bedeutend zu modificiren, so zwar, dass die für Rotz empfänglichsten Thiere, wie Meerschweinchen und Katzen, nach Infection mit reichlicher Menge hochactiven Virus am Leben blieben, während alle anderen Controllthiere in kurzer Zeit starben.

Wir wurden bei diesen unseren Forschungen, welche einen Theil einer Arbeit bilden, die wir seit November v. J. bezüglich

der Möglichkeit, die Thiere vom Rotz zu heilen und gegen diese Infection zu immunisiren, verfolgen, von dem Gedanken geleitet, dass es, sowie es chemische Substanzen giebt, welche eine Rotzinfection erleichtern, auch bei den Thieren, die gegen diese Krankheit von Natur aus unempfindlich sind (Phloridzin), andere Substanzen geben sollte, die fähig wären, die Entwicklung der Rotzinfection zu hemmen oder deren Verlauf zu modificiren.

Die Schwierigkeit lag in der Wahl dieser Substanzen, welche nach unserem Forschungsplane vorerst ausserhalb des Organismus, d. h. in vitro versucht werden mussten, indem man studirte, wie sich der Rotzbacillus, gemischt mit Lösungen der fraglichen Substanzen, oder auf Nährböden, welche mit denselben versetzt wurden, und schliesslich wie er sich im Organismus der verschiedenen, zu unserer Verfügung stehenden Thiere verhält.

Geleitet von besonderen, aus einigen Beobachtungen, über die hier eingehend zu berichten wir als überflüssig erachten, sich ergebenden Kriterien, begannen wir mit dem Studium des Einflusses, den einige Stoffwechselproducte gewisser Bacterienarten, sowie die Auszüge einiger zellenreichen Drüsenorgane auf den Rotzbacillus haben konnten. Als erstem gaben wir den Vorzug dem Pentamethyldiamin (Cadaverin), als zweitem dem Extracte der Thymusdrüse. Nur in der Absicht einer Controlle haben wir auch den Einfluss einiger Stickstoffverbindungen, welche sich im Thymus finden, d. h. des Leucitins und des Neurins, studirt.

Jede der erwähnten Substanzen wurde auf folgende Weise studirt. Wir versuchten festzustellen:

1. ob und in welchem Grade die Zufügung dieser Substanzen zu den Nährböden, auf welchen die vollvirulenten Rotzbacillen cultivirt wurden, das Wachsthum und die Form der Bacillen beeinflussen;
2. ob und in welchem Grade die auf den mit den genannten Substanzen versetzten Nährböden gezüchteten Rotzbacillen ihre pathogene Eigenschaft gegenüber unseren Versuchsthiere verändern, und ob diese Thiere, wenn sie am Leben blieben, für die Rotzkrankheit immun wurden;
3. ob man diese culturellen und pathogenen Modificationen auch mittels Hinzufügung der genannten Substanzen zu den auf den gewöhnlichen Nährböden bereits üppig entwickelten Culturen erzielen kann;
4. ob die gleichzeitige Einführung dieser Substanzen und virulenter Rotzbacillusculturen in das Thier imstande sei, die Entwicklung der Krankheit zu verhindern, oder deren Verlauf zu modificiren;
5. ob die präventive Einführung dieser Substanzen in minimalen Dosen, in kleinen Intervallen und auf verschiedenen Wegen, eine immunisirende Wirkung habe, und schliesslich, ob die Einführung dieser Substanzen in den Körper bereits kranker Thiere eine Heilung herbeizuführen vermöchte.

Unsere Experimente haben wir bisher an den gewöhnlichen, für Rotz empfänglichen Versuchsthiere, als Meerschweinchen, Katzen und Kaninchen, angestellt. Versuche mit grösseren Thieren, wie Pferden und Eseln, sind erst begonnen worden, und da sie eine andere Versuchsreihe betreffen, über deren Resultate wir bei einer nächsten Gelegenheit berichten wollen, so ziehen wir dieselben hier nicht in Betrachtung.

Und nun schreiten wir zur Mittheilung der Resultate der mit dem Cadaverin, dem Extracte der Thymusdrüse und dem Neurin an den gewöhnlichen Versuchsthiere gemachten Experimente.

Erste Versuchsreihe mit dem Cadaverin.

In einer ersten Serie von Experimenten haben wir gesucht festzustellen, ob die Addition von ganz kleinen Mengen Cadaverin (wechselnd von 0,002 bis 0,008 g auf je 10 ccm Bouillonculturen) die Entwicklung, Form und pathogene Activität des Rotzbacillus zu beeinflussen imstande wäre.

Zu diesem Zwecke wurden vier Eproutetten mit je 10 ccm Glycerinzuckerbouillon vorbereitet und zu jeder je 0,002, 0,004 und 0,008 g Cadaverin hinzugefügt, während man die vierte Eproutette zur Controlle ohne Cadaverinzusatz belies. Jedes Proberöhrchen wurde, nachdem die Sterilität seines Inhaltes constatirt worden war, mit je einer dicken Platinöse einer virulenten Rotzculture auf Kartoffeln, infectirt und im Thermostaten bei 35° C gehalten.

Schon nach 36stündigem Verweilen im Thermostaten bemerkte man eine üppige Entwicklung in der Controlleprouvette, deren Flüssigkeitssäule diffus getrübt erschien und die bekannte, schwach saure Reaction zeigte. Die mit 0,002 g Cadaverin versetzte Culture bot eine sehr schwache Entwicklung dar; die Flüssigkeitssäule war kaum sichtbar getrübt und enthielt wenige kurze, leicht färbbare Bacillen, welche Vacuolen von unregelmässigen Formen besaßen, neben zahlreichen dünnen, in Zoogloemassen angehäuft, schlecht färbbaren und gleichfalls unregelmässige Vacuolen haltigen Filamenten. Die mit 0,004 und 0,008 g versetzten Culturen trübten sich gar nicht; eine Entwicklung war gänzlich unterblieben, die

¹⁾ Foà et Bonome, Sur les maladies causées par les microorganismes du genre Proteus. Annales Italiennes de Biologie, Turin 1887, Tom. VIII. — Foà et Bonome, Ueber Schutzimpfungen. Zeitschrift für Hygiene, 1888, Bd. V.

²⁾ Die praktischen Ziele der Blutserumtherapie, Leipzig 1892. Ueber das Zustandekommen der Tetanus- und Diphtherieimmunität bei Thieren. Deutsch. med. Wochenschr. 1890 No. 49—50.

³⁾ Zeitschrift für Hygiene 1892 Bd. XII, p. 155.

eingeführten Bacillen der Kartoffelcultur waren grösstentheils degenerirt. Die Flüssigkeitssäule hatte eine strohgelbe, harnartige Farbe angenommen. Am Boden der beiden Eproutetten zeigten sich zahlreiche nadelförmige stumpfkantige Krystalle. — Die auf andere normale Nährböden übertragenen Filamentzooglen der mit 0,002 versetzt gewesenen Cultur ergaben neuerdings Rotzbacillen von normalem Typus, jedoch von geringerer Länge und mit wenig Vacuolen versehen. Die Entwicklung erfolgte diesmal aber langsamer und weniger üppig.

Mit den mit Cadaverin versetzten Fleischbrüheculturen von Rotz wurden folgende Impfungen vorgenommen:

1. Versuch. — Meerschweinchen.

Meerschweinchen No. 1 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,002 g Cadaverin.

Meerschweinchen No. 2 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,004 g Cadaverin.

Meerschweinchen No. 3 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,008 g Cadaverin.

Meerschweinchen No. 4 erhält subcutan 0,5 ccm der Reincultur in Fleischbrühe (Controlle).

Die Meerschweinchen No. 1, 2 und 3 leben noch gegenwärtig, zwei Monate nach der Operation, und sind vollkommen gesund. Das zur Kontrolle dienende Meerschweinchen No. 4 starb elf Tage nach gemachter Injection und ergab den bekannten Leichenbefund, d. h. einen dicken Rotzknoten im subcutanen Bindegewebe, entsprechend der Impfstelle, und gleiche Knoten in der Milz und Leber. Meerschweinchen No. 1 und 2 zeigten entsprechend der Impfstelle eine ganz leichte Verhärtung von der Grösse eines Gerstenkorns, welche nach einem Monate verschwand. Meerschweinchen No. 3 hatte weder local noch im allgemeinen irgend eine Alteration.

Das nämliche Experiment wurde an Kaninchen wiederholt, indem man dieselben Culturen, nachdem sie drei Tage im Thermostaten gewesen waren, verwendete.

2. Versuch. — Kaninchen.

Kaninchen No. 1 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,002 Cadaverin.

Kaninchen No. 2 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,004 Cadaverin.

Kaninchen No. 3 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur mit 0,008 Cadaverin.

Kaninchen No. 4 erhält subcutan 0,5 ccm der Reincultur in Fleischbrühe (Controllthier).

Die Kaninchen No. 1, 2 und 3 blieben am Leben, ohne irgend welche nennenswerthe Störungen zu zeigen. Kaninchen No. 4, das zur Kontrolle diente, starb nach 18 Tagen, nachdem es im Bindegewebe der Impfstelle einen käsigen Knoten darbot, aus welchem man Reinculturen des Rotzbacillus erhielt. Die Kaninchen No. 1 und 3 leben noch gegenwärtig, drei Monate nach der Impfung. Kaninchen No. 2 nahm an Körpergewicht zu und zeigt im Bindegewebe der Impfstelle einen ganz kleinen fibrösen Knoten von der Grösse eines Reiskorns. Nach 35 Tagen wird das Thier zu einem neuen Versuch, betreffend die diagnostische Bedeutung des Mallein, benützt und werden ihm in die Jugularis 2 mg Mallein in zwei malen und in einem Zwischenraume von vier Tagen eingespritzt. Das Thier erkrankt gleich nach der ersten Injection und stirbt nach sechs Tagen. Bei der Autopsie findet man in den Eingeweiden keine Rotzknoten; der locale Knoten ist sehr klein und fibrös; die bacteriologische Untersuchung des frischen Blutes fällt negativ aus; einige mit dem Blute auf Glycerinagar angelegte Culturen ergeben jedoch eine Entwicklung.

Dieses Thier, das also anscheinend gesund war, wie dies auch die Zunahme des Körpergewichtes bewies, hatte wahrscheinlich noch einige Bacillen in dem fibrösen Knoten der Impfstelle, welche infolge der Malleininjection in das Blut übergingen, sich daselbst vermehrten und das Thier binnen kurzem tödteten.

3. Versuch. — Katzen.

Der gleiche mit Meerschweinchen und Kaninchen gemachte Versuch wurde an Katzen wiederholt, d. h. an Thieren, welche für Rotz bekanntlich sehr empfänglich sind. Dieselben mit Cadaverin in den nämlichen Verhältnissen von 0,002, 0,004 und 0,008 g versetzten Rotzculturen in Glycerinbouillon wurden, nachdem sie drei Tage bei einer Temperatur von 32° C im Thermostaten gehalten worden waren, drei Katzen subcutan eingepfimpft.

Katze No. 1 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur versetzt mit 0,002 Cadaverin.

Katze No. 2 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur versetzt mit 0,004 Cadaverin.

Katze No. 3 erhält subcutan 0,5 ccm der Fleischbrühecultur versetzt mit 0,008 Cadaverin.

Katze No. 4 erhält subcutan 0,5 ccm der Reincultur des Rotzbacillus in Fleischbrühe (Controllthier).

Die Katze No. 4 stirbt nach fünf Tagen unter dem classischen Befunde des Rotzes. Die Katze No. 1 zeigte sich während einiger Tage niedergeschlagen, nahm wenig Speise zu sich, erholte sich aber schliesslich und gebar 13 Tage nach der Impfung drei Junge. Das Thier lebt noch. Die Katzen No. 2 und 3 befanden sich immer wohlauf und nahmen an Gewicht zu. Nach 35 Tagen wurden sie in der Absicht, zu erproben ob sie noch rotzfest wären, mit sehr activer Reincultur geimpft und starben nach wenigen Tagen.

Aus diesen und andern Versuchen, die wir hier übergehen wollen, würde also resultiren, dass das Cadaverin, specifisch wirkend, die Entwicklung des Rotzbacillus modificirt und seine Vermehrung verhindert, und zwar sowohl in vitro als im Organismus von für Rotz empfänglichen Thieren. Diese immunisirende Wirkung des Cadaverin ist jedoch vorübergehend, in dem Sinne nämlich, dass die eine erste Rotzinfektion überlebenden Thiere nicht immer gegen weitere, nach langer Zeit vorkommende Angriffe des Rotzbacillus geschützt sind, ohne dass gleichzeitig neues Cadaverin eingeführt wird.

Zweite Versuchsreihe mit dem Cadaverin.

Zweck dieser zweiten Serie von Untersuchungen war, festzustellen, ob sich die soeben erwähnten, durch das Cadaverin bedingten Modificationen der Entwicklung, der Art und Weise des Wachstumes und der pathogenen Eigenschaften des Rotzbacillus auch ergäben, wenn man das Cadaverin zu den, nach einem Verweilen von 24 Stunden im Thermostaten, bereits vollkommen entwickelten Rotzculturen in Fleischbrühe hinzufügte.

Nachdem nun in vier Eproutetten vier Rotzculturen in Fleischbrühe von je 10 ccm Masse angelegt und dieselben 24 Stunden bei 35° C im Thermostaten gehalten waren, so dass die Entwicklung bereits gut vorgeschritten war, versetzten wir drei Eproutetten mit je 0,002, 0,006 bzw. 0,008 g Cadaverin; eine Cultur liessen wir rein zum Controllversuche.

Mit diesen Culturen wurden, sofort nach Hinzufügung des Cadaverins, drei Meerschweinchen und drei Kaninchen subcutan geimpft; der Rest der Culturen wurde wieder in den Thermostaten gebracht, sei es um die Veränderungen in der Entwicklung zu studiren, sei es um später zu anderen Experimenten zu dienen.

1. Versuch. — Meerschweinchen.

Meerschweinchen No. 1 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,002 Cadaverin.

Meerschweinchen No. 2 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,006 Cadaverin.

Meerschweinchen No. 3 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,008 Cadaverin.

Meerschweinchen No. 4 erhält subcutan 0,5 ccm Reincultur des Rotz in Bouillon (Controllthier).

Das Meerschweinchen No. 4 stirbt nach 15 Tagen unter dem classischen anatomischen Befunde der Rotzkrankheit. Die Meerschweinchen No. 1, 2 und 3 leben noch heute und sind vollkommen gesund (drei Monate nach der Impfung).

2. Versuch. — Kaninchen.

Kaninchen No. 1 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,002 Cadaverin.

Kaninchen No. 2 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,006 Cadaverin.

Kaninchen No. 3 erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur, versetzt mit 0,008 Cadaverin.

Kaninchen No. 4 erhält subcutan 0,5 ccm Reincultur des Rotzbacillus (Controllthier).

Kaninchen No. 4 stirbt am 20. Tage; die übrigen Kaninchen blieben alle am Leben und sind gegenwärtig vollkommen gesund.

Aus dieser Serie von Untersuchungen lässt sich schliessen, dass das zu den bereits vollkommen entwickelten Rotzculturen hinzugefügte Cadaverin die pathogene Wirkung dieser Culturen auf für Rotz empfängliche Thiere beträchtlich schwächt oder auch ganz aufhebt.

Ausser diesen Modificationen der pathogenen Wirkung bewirkt das Cadaverin eine Verlangsamung der Entwicklung und andere Constitutionsveränderungen der Bacillen, welche in dem Auftreten von Filamenten, in der Anwesenheit von Vacuolen und in einer verringerten Färbbarkeit der Bacillen mit den gewöhnlichen basischen Anilinfarben bestehen.

Was die Bedeutung des Cadaverins bei der präventiven Behandlung des Rotzes und der Heilung der bereits entwickelten Krankheit betrifft, so ist es uns vorläufig nicht möglich, endgültige Resultate mitzuthellen, da mehrere unserer Versuchsthiere, an denen wir noch gegenwärtig experimentiren, infolge von Begleiterscheinungen, die von dem eigentlichen Krankheitsbilde unabhängig waren, zu

Grunde gegangen sind. Nichtsdestoweniger scheint es, dass das in die Rotzknoten oder in die Gegend, wo vor ein bis drei Tagen Impfungen mit virulenter Rotzcultur gemacht worden waren, in sehr kleinen Dosen injicirtes Cadaverin Absterben des Rotzgewebes bewirke und derart den grössten Theil der Bacillen vernichte, die sich in demselben befinden. Mittels in Zwischenräumen von acht bis zehn Tagen wiederholter parenchymatöser Injectionen von Cadaverin ist man imstande, rotzkrank Meerschweinchen lange am Leben zu erhalten; die wenigen, bei denen wir dieses Verfahren versuchten, und die aus anderen Gründen starben, zeigten weder Bacillen im Blute noch viscereale Localisirungen.

Versuche mit dem Extract der Thymusdrüse.

Ausgehend von dem jüngst von Gautier, Bouchard und anderen ausgesprochenen Gedanken, dass sich im Thierkörper infolge des physiologischen Stoffwechsels Substanzen bilden, welche gleich Fermenten die Zersetzung und daher Neutralisirung der von der Spaltung des Albuminoidmoleküls entstehenden giftigen Producte bewirken, haben wir vermuthet, dass man die Thatsache der absoluten Unempfindlichkeit einiger Thiere, wie z. B. der weissen Ratte (*Mus decumanus*), für Rotz eben der Anwesenheit jener antitoxischen Substanzen zuschreiben müsse. Und ehe uns noch die Forschungen Brieger's, Kitasato's und Wassermann's¹⁾ bekannt waren, haben wir, vermuthend, dass die hämatopoëtischen Organe und vielleicht auch der Thymus, welcher bei den Ratten nicht die bekannte, mit dem Alter einhergehende Involution erleidet, die Theile wären, in denen diese antibacterielle, beziehungsweise in unserem Falle rotzwidrige Substanz erzeugt würde, versucht, Meerschweinchen mittels präventiver Einführung von aus der Milz und dem Thymus frisch getödteter, gesunder, weisser Ratten dargestellter Extracte für Rotz immun zu machen.

Die ersten Resultate waren nicht so günstig, wie wir erwarteten, wahrscheinlich weil wir Auszüge benützten, welche wir durch Fällung der erhaltenen Emulsionen mittels Alkohols und Eindampfung im Vacuum erhalten hatten, so dass wir eine zu geringe Menge antibacterieller Substanz einführen, während wir genöthigt gewesen wären, zu diesem Zwecke eine beträchtliche Menge gesunder Ratten zu opfern.

Bessere Resultate erzielten wir in der Folge, als wir die Bereitungsweise der fraglichen Extracte modificirten, indem wir uns nach den Vorschriften von Brieger, Kitasato und Wassermann¹⁾ bereiteten, wiederholt filtrirter und sterilisirter Emulsionen von Thymus in alkalinisirtem Wasser bedienten.

In gleicher Weise, wie wir es beim Cadaverin gethan, wollten wir auch hier untersuchen, ob die hoch virulenten Rotzbacillen nach kürzerem Contacte mit Thymusextract von verschiedenen Concentrationsgraden die Art und Weise ihres Wachstums, ihre Form und ihre Pathogenität gegenüber für Rotz empfänglichen Thieren ändern.

Bei der Darstellung des Thymusextractes bemerkten wir, dass, obgleich wir stets mit den nämlichen Cauteilen arbeiteten, der Thymus von jüngeren Kälbern ein Extract lieferte, das flüssiger, weniger schleimig und weniger activ war als jenes von älteren Kälbern. Um unter möglichst gleichen Verhältnissen zu experimentiren, musste man Extracte bereiten, welche möglichst denselben Grad von Alkalinität und die gleiche Menge wässriger Flüssigkeit besaßen. Erstere Bedingung erzielten wir durch die Methode der Titrirung, letztere, d. h. das constante Verhältniss zwischen Wasser und festem Material, indem wir zu der fein verriebenen Thymusmasse stets das gleiche Volum Wasser gaben und den bei der Sterilisirung sich ergebenden Wasserverlust durch Ergänzung des fehlenden Volums mit der entsprechenden Menge sterilisirten Wassers ausglich.

In den derart bereiteten, und manchmal rein, andere male wieder mit $\frac{1}{3}$ oder $\frac{1}{2}$ der Menge Wasser oder sterilisirter Fleischbrühe verdünnten, in Eprouvetten gebrachten Extract führten wir auf je 10 ccm Flüssigkeitssäule eine dicke Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel ein, und nachdem wir die so inficirten Eprouvetten 24 Stunden bei einer Temperatur von 32° C im Thermostaten belassen hatten, begannen wir unsere Versuche und Operationen.

Folgendes sind die Resultate einiger der beweiskräftigsten Experimente:

Meerschweinchen A erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung von 10 ccm reinen Thymusextracts und einer dicken Platinöse Kartoffelrotzcultur.

Meerschweinchen B erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung von $\frac{2}{3}$ Theilen Thymusextract und $\frac{1}{3}$ Theil Wasser, inficirt mit einer Platinöse.

Meerschweinchen C erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung von gleichen Theilen reinen Thymusextractes und Bouillon, inficirt mit einer Platinöse.

¹⁾ Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 1892 Bd. XII Heft 2.

Meerschweinchen D erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzes, dargestellt aus einer Kartoffelcultur (Controllthier).

Meerschweinchen D zeigt schon nach vier Tagen einen dicken Rotzknoten im Bindegewebe der Impfstelle und stirbt am neunten Tage nach der Impfung. Meerschweinchen A zeigte keinen Knoten und lebt noch nach Verlauf von zwei Monaten. Meerschweinchen B hatte nur eine leichte locale Verdickung des Bindegewebes, die gegenwärtig fast verschwunden ist, während das Thier vollkommen gesund erscheint. Meerschweinchen C zeigte nach vier Tagen eine diffuse Verhärtung des Bindegewebes an der Impfstelle und starb unter dem Befunde der Rotzinfektion drei Wochen nach der Impfung, zwölf Tage nach dem Tode des Controllthieres.

Katze A erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung aus 10 ccm Thymusextract und einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Katze B erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung aus $\frac{2}{3}$ Theilen Thymusextract und $\frac{1}{3}$ Theil Wasser, inficirt mit einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Katze C erhält subcutan 0,5 ccm einer Mischung aus gleichen Theilen Thymusextract und Fleischbrühe, inficirt mit einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Katze D erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur von Rotz aus einer Kartoffelcultur (Controllthier).

Der Katze D geht es nach vier Tagen sehr schlecht und sie stirbt am sechsten Tage. Die Katzen A und B befanden sich immer wohlauf, nahmen an Körpergewicht zu, indem sie sich reichlich mit Fleisch nährten; sie leben noch heute (nach zwei Monaten). Die Katze C zeigte nach vier Tagen im Bindegewebe entsprechend der Impfstelle eine feste Infiltration, welche bald exulcerirte, und das Thier starb am zehnten Tage unter dem gewöhnlichen Befunde der Rotzinfektion.

Kaninchen A erhält subcutan 1 ccm einer Mischung aus 10 ccm Thymusextract und einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Kaninchen B erhält subcutan 1 ccm einer Mischung aus $\frac{2}{3}$ Theilen Thymusextract und $\frac{1}{3}$ Theil Wasser, inficirt mit einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Kaninchen C erhält subcutan 1 ccm einer Mischung aus gleichen Theilen Thymusextract und Fleischbrühe, inficirt mit einer dicken Platinöse Rotzcultur auf Kartoffel.

Kaninchen D erhält subcutan 0,2 ccm Fleischbrühecultur von Rotz, dargestellt aus derselben Kartoffelcultur (Controllthier).

Das Kaninchen A lebt noch immer in vollkommener Gesundheit. Das Kaninchen B starb zufällig bei der Geburt, welche einen Monat nach der Impfung erfolgte. Das Kaninchen C zeigte im Bindegewebe an der Impfstelle einen Knoten von der Grösse einer Haselnuss und starb nach 38 Tagen. Jedoch weder aus dem Knoten noch aus dem Blute erzielte man in den angelegten Culturen Entwicklung von Rotzbacillen. Das Kaninchen D starb nach 18 Tage.

Was die Veränderungen betrifft, welche die im Thymusextract cultivirten Rotzbacillen darbieten, so wollen wir kurz sagen, dass man weder im reinen Thymusextract noch in dem mit $\frac{1}{3}$ Theil destillirten Wassers verdünnten irgendwelche Trübung der Flüssigkeitssäule bemerkt; das Impfmateriale setzt sich am Boden der Eprouvette ab, wo es eine nur leichte Trübung veranlasst. Die Reaction des Nährmittels bleibt alkalisch. In den auf Deckgläschen angelegten und mit der bekannten Methode gefärbten Präparaten sieht man, dass die Bacillen keine so starken Anzeichen von Degeneration zeigen, als wie wenn sie mit dem Cadaverin in Berührung waren; sie verlieren nicht die Eigenschaft, sich intensiv zu färben; verwandeln sich nicht in Filamente und entwickeln sich wieder üppig, wenn sie nach vier bis fünf Tagen auf günstige Nährböden übertragen werden.

Es scheint sonach, dass der Auszug der Thymusdrüse die Kraft besitze, die Entwicklung des Rotzbacillus sowohl in vitro als im Organismus der für diese Krankheit empfänglichen Thiere zu hemmen. Diese Kraft ist proportional dem Concentrationsgrade des Extracts. Wenn man dem Extracte Nährbouillon hinzufügt, so zeigt sich die pathogene Wirkung des Rotzbacillus langsamer, und die Thiere sterben später als die Controllthiere unter dem Befunde der Rotzinfektion. Wir sind heute noch nicht in der Lage zu entscheiden, ob dies von dem Umstande abhängt, dass der Thymusextract einen für den Rotzbacillus ungünstigen Nährboden bildet, oder aber vielleicht eher davon, dass in der Fleischbrühe chemische Principe vorhanden sind, welche imstande sind, die antibacteriellen Substanzen des Thymusextracts zu neutralisiren.

Die von uns zu dem Zwecke angestellten Forschungen, Thiere mittels Präventivinjektion kleiner Dosen von Thymusextract in die serösen Höhlen oder in die Venen gegen Rotz immun zu machen, haben bis jetzt noch zu keinem positiven Resultat geführt.

Bzüglich der Heilversuche mittels Thymusextracts bei in verschiedenen Perioden künstlich inficirten Laboratoriumsthieren können wir sagen, dass dieselben bei Katzen keinerlei Resultat gaben, vielleicht weil der Verlauf der Krankheit bei diesen Thieren

zu schnell erfolgt. Bei rotzkranken Meerschweinchen ruft die intravenöse oder peritoneale Injection von vorerst mit gleichen Theilen sterilisirtem Wasser verdünntem, später concentrirter angewendetem Thymusextract, eine sichtliche Besserung und vielleicht auch Heilung hervor: die Knoten nehmen an Grösse ab; die bereits exulcerirten geben ein mehr seröses Secret; allmählich verschwinden die Anschwellungen der Gelenke, sodass man die Möglichkeit nicht ausschliessen kann, dass ein oder das andere Thier auch zu genesen vermag. Unsere Erfahrungen in dieser Beziehung sind aber zu wenig zahlreich, als dass sie uns erlauben würden, dieselben augenblicklich zur Thatsache zu erheben.

Versuche mit dem Neurin.

Mehr zum Vergleiche als zu anderem Zweck haben wir auch einige Untersuchungen mit dem Neurin angestellt, um zu sehen, wie sich diese Substanz gegenüber dem Rotzbacillus verhält. Wir haben uns hierbei an dasselbe Verfahren gehalten, das wir beim Studium der antibacteriellen Eigenschaften des Cadaverins und des Thymusextractes beobachteten, d. h. wir haben versucht zu bestimmen, ob die Anwesenheit von ganz kleinen Mengen Neurin in den Nährböden, in welchen die Rotzbacillen gezüchtet wurden, irgend einen Einfluss auf den Entwicklungsgang letzterer ausübe und zu morphologischen Veränderungen derselben Anlass gebe. Ferner wollten wir feststellen, ob diese auf mit Neurin versetztem Nährboden gezüchteten Rotzbacillen bei Thieren dieselbe pathogene Wirkung besässen, wie die Controllculturen, welche kein Neurin enthielten.

Wir bereiteten unser Versuchsmaterial daher in der folgenden Weise vor: Drei Eprouvetten, deren jede 10 ccm sterilisirte Fleischbrühe enthält, versetzten wir mit 0,002, 0,004 bzw. 0,008 g Neurin; eine vierte Eprouvette, welche als Kontrolle diente, enthielt nur Fleischbrühe ohne Zusatz von Neurin. Nach einem 24-stündigen Verweilen im Thermostaten, um bezüglich der vollkommenen Sterilität der Nährböden sicher zu sein, wurde jede Eprouvette mit einer Platinöse einer Rotzcultur auf Kartoffel inficirt und wieder in den Brutofen bei 35° C gebracht.

Nach Verlauf von weiteren 24 Stunden versuchten wir die Wirkung dieser Culturen an vier Meerschweinchen:

A erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzbacillus, versetzt mit 0,002 g Neurin.

B erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzbacillus, versetzt mit 0,004 g Neurin.

C erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzbacillus, versetzt mit 0,008 g Neurin.

D erhält subcutan 0,5 ccm Reincultur in Fleischbrühe (Controllthier).

Keines dieser Thiere blieb am Leben. Am fünften Tage nach der Impfung zeigten sämtliche im subcutanen Bindegewebe der Impfstelle Rotzknoten verschiedener Grösse. Die mit mit Neurin versetzter Fleischbrühecultur geimpften Meerschweinchen starben etwas später als das Controllthier. Alle zeigten den anatomischen und bacteriologischen Befund der Rotzinfektion.

Mit denselben, jedoch 6 Tage lang im Thermostaten gelassenen Culturen inficirten wir drei Katzen:

A (einige Tage post partum) erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzbacillus versetzt mit 0,002 g Neurin.

B erhält subcutan 0,5 ccm Fleischbrühecultur des Rotzbacillus versetzt mit 0,008 g Neurin.

C erhält subcutan 0,5 ccm Reincultur in Fleischbrühe (Controllthier).

Katze C stirbt am sechsten Tage unter dem gewöhnlichen anatomischen und bacteriologischen Befunde der Rotzinfektion. Katze A starb nach neun Tagen und zeigte eine beträchtliche Anschwellung der Brustdrüsen, welche von zahlreichen Rotzknoten durchsetzt waren, in denen man, ebenso wie in der Milch, eine ausserordentlich grosse Anzahl Rotzbacillen fand; ausserdem zeigte sich noch ein Rotzknoten im Bindegewebe der Impfstelle, was bei Katzen selten ist; die Milz war voluminös, und das Blut flüssig. Katze B starb am zehnten Tage und zeigte gleichfalls im Bindegewebe der Impfstelle einen Rotzknoten.

In Bezug auf Formveränderung und Modification der Entwicklung der in mit Neurin versetzten Nährböden gezüchteten Rotzbacillen haben wir folgendes beobachtet:

Die Controllkultur in Glycerinbouillon zeigt schon nach 24 bis 36 Stunden eine üppige Entwicklung, welche grösstentheils aus kurzen dünnen Bacillen mit abgerundeten Enden besteht, von denen einige in Reihen gleich Diplobacillen angeordnet sind, andere wieder im Innern einen hellen Raum besitzen. Man bemerkte einige wenige Filamente von granulirtem Aussehen. Makroskopisch betrachtet, ist die ganze Flüssigkeitssäule gleichmässig getrübt, opalisirend, und am Boden der Eprouvette befinden sich weissliche, flockige dichte Massen, welche sich beim Schütteln der Eprouvette trüb erheben.

In der mit 2 mg Neurin versetzten Cultur ist die Entwicklung weit weniger üppig. Neben dünnen, schlecht färbbaren Bacillen befinden sich hier lange, dünne, granulirte, schwer färbbare und unter sich verwirrete Filamente, Zoogleen darstellend, welche den untersten Theil der Flüssigkeitssäule einnehmen. — In der mit 8 mg versetzten Cultur ist die Zahl der Filamente verhältnissmässig noch weit grösser; auch hier erscheinen die Filamente granulirt und schwach färbbar, wie denn schwach färbbar auch die wenigen kurzen Bacillen sind, die sich in der Cultur vorfinden. Die Flüssigkeitssäule bleibt vollkommen klar, bis auf den Grund, wo sich die Filamentmassen ansammeln.

Aus den gemachten Beobachtungen würde also resultiren, dass das Neurin die Entwicklung und die Form der Rotzbacillen *in vitro* modificirt; diese Veränderungen sind jedoch nicht derartige, dass sie die pathogene Wirkung dieses Parasiten auf Thiere verringern.

Die Resultate dieser bisherigen Untersuchungen zusammenfassend, kann man zu folgenden Schlüssen kommen:

1. Sowohl in den Zellen einiger Organe des thierischen Körpers, als in den isolirten vegetabilen Zellen, welche die Bacterien darstellen, bilden sich Substanzen, die, indem sie auf einige pathogene Bacterien specifisch wirken, deren Degeneration veranlassen und deren Entwicklung sowohl *in vitro* als im Innern des thierischen Organismus hemmen.

2. Thiere, welche mit Rotzbacillen, die auf mit Thymusextract oder Cadaverin versetzten Nährböden gezüchtet worden sind, geimpft werden, bleiben am Leben und werden vorübergehend refractär für die Wirkung des Rotzbacillus. Diese Immunität kann durch neuerliche Einführung von mit Thymusextract oder Cadaverin versetzten Rotzculturen verstärkt werden.