[Aus dem hygienischen Institut der Universität Giessen.]

Bakteriologische Untersuchungen von Thierlymphe.

Von

Dr. W. Dreyer,
Assistenten am Institut.

Auf der 67. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Lübeck im Jahre 1895 theilte in der Abtheilung für Hygiene Dr. Landmann¹ seine Untersuchungen über den Keimgehalt animalischer Lymphe mit, die einerseits die Zahl der in letzterer enthaltenen Keime, andererseits das Vorhandensein von solchen Mikroorganismen — speciell Staphylo- und Streptokokken — berücksichtigten, welche sich als pathogen für die angewendeten Versuchsthiere erwiesen hatten. Auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse stellte Landmann die Forderung auf, für die Zukunft darauf hinzuwirken, dass nur solche Lymphe zur Vaccination Verwendung finden dürfe, welche entweder als ganz keimfrei oder doch wenigstens als frei von pathogenen Mikroorganismen befunden sei. Da die Landmann'schen Untersuchungen und besonders seine Schlussfolgerungen in den beteiligten Kreisen berechtigtes Aufsehen erregten, und von den Gegnern des Impfweges im Kampfe gegen diesen als wirksame Waffe benutzt wurden, so sah sich, da auch mehrfach Klagen Seitens der Impfarzte laut wurden, das preussische Ministerium veranlasst, eine Commission zur Prüfung der Impfstofffrage einzusetzen. Bevor der Bericht dieser Commission zur Veröffentlichung gelangt war, kam die Angelegenheit nochmals zur Verhandlung auf der nächstjährigen Versammlung deutscher Naturforscher

¹ *Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte.* 1895. II, 2. — *Hygienische Rundschau.* Bd. V. Nr. 21.

und Aerzte zu Frankfurt a./M., wo besonders Neidhart¹ sich gegen die Forderungen Landmann's wandte, indem er hauptsächlich dessen Standpunkt, dass eine ausgedehntere Randröthe bei den Impfpusteln den in der Lymphe vorhandenen Keimen zur Last zu legen sei, entgegentrat, und darauf hinwies, dass auch bei Verwendung keimfreier Lymphe diese Reizerscheinungen auftreten, während andererseits Lymphe mit grossem Keimgehalt dieselben häufig vermissen lasse. In der darauf folgenden lebhaften Discussion war es besonders Kübler, der den Ausführungen Neidhart's sich anschloss und die Landmann'schen Behauptungen zurückwies. Auch die sehr eingehenden Untersuchungen der vorher erwähnten preussischen Commission zur Prüfung der Impfstofffrage, über welche Frosch² Bericht erstattete, konnten die Anschauungen und Befunde Landmann's nicht bestätigen; Staphylokokken, welche für Thiere pathogen waren, wurden nur in wenigen Fällen gefunden, Streptokokken überhaupt nicht, und bezüglich der Reizerscheinungen wurden die Ausführungen Neidhart's bestätigt. Von verschiedenen zum Zwecke der Verringerung der Keimzahl in der frischen Lymphe versuchten Verfahren erwies sich das Centrifugiren derselben vor dem Glycerinzusatz als das brauchbarste, da die Impfkraft der Lymphe hierbei gut erhalten blieb. Bezüglich der gefundenen Abnahme des Keimgehaltes durch Lagerung konnte festgestellt werden, dass hierbei der Glyceringehalt eine entscheidende Rolle spielt. In dem verflossenen Jahre ist dann noch eine Arbeit von Kirchner³ erschienen, worin dieser hinsichtlich des Impfstoffes der Königl. Impfanstalt zu Hannover keine schädigenden Eigenschaften constatiren konnte. Einmal nur fand er einen gelben Staphylococcus, der in seinem Aussehen und biologischen Eigenschaften den pyogenen glich, sich aber den benutzten Versuchsthieren gegenüber als nicht pathogen erwies. Die Verimpfung der Lymphe selbst auf Thiere hatte in keinem Falle schädliche Wirkungen aufzuweisen. Was die Anzahl der Keime betraf, so konnte er die bereits von anderen Seiten gemachten Erfahrungen bestätigen, dass nämlich der Keimgehalt der mit Glycerin versetzten Lymphe durch längeres Lagern erheblich abnimmt, und sich im Impfstoff in den meisten Fällen nach einigen Monaten keine Keime mehr finden lassen.

Diesen verschiedenen Untersuchungen möchte ich noch solche hinzufügen, die ich im hiesigen hygienischen Institute im Laufe der Jahre

¹ *Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturforscher u. Aerzte.* 1896. II, 2.

² *Bericht über die Thätigkeit der von dem Hrn. Minister der geistlichen u. s. w. Angelegenheiten eingesetzten Commission zur Prüfung der Impfstofffrage.* Berlin, J. Springer. 1896.

³ *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.

1896 und 1897 anzustellen Gelegenheit hatte, und die sich für das Jahr 1896 auf den Lymphstoff von 13, für 1897 von 15 verschiedenen Kälbern aus dem Landesimpfinstitut zu Darmstadt beziehen. Der Vorstand des genannten Institutes, Hr. Geh. Obermedicinalrath Dr. Neidhart, hatte sich an Hrn. Geh. Medicinalrath Prof. Dr. Gaffky gewandt mit dem Ersuchen, den Impfstoff der seiner Leitung unterstellten Anstalt in Bezug auf die Anzahl der Keime und später auch in Bezug auf die etwaige Anwesenheit pathogener Mikroorganismen untersuchen lassen zu wollen, und diese Arbeit wurde mir von Letzterem übertragen. Die Untersuchungen des Jahres 1896 bezogen sich demgemäss lediglich auf die Zahl der Keime, während im folgenden Jahre daneben auch das Vorhandensein pathogener Bakterien berücksichtigt wurde. Die Mittheilung der letzteren Untersuchungen dürfte vielleicht deshalb von besonderem Interesse sein, weil die Versuche auch auf den Menschen ausgedehnt wurden.

Die mir zugesandten Lymphproben befanden sich in kleinen Gläschen von etwa 0.2^{ccm} Inhalt, welche mit einem meistens paraffinirten Korkstopfen verschlossen in kleinen Holzbüchsen verpackt waren. In der Regel wurden von dem Impfstoff eines jeden Kalbes 5 solcher Proben zur Untersuchung geschickt. Aufbewahrt wurden dieselben im hiesigen Institut in Petri'schen Doppelschälchen, welche im Keller standen. Im Sommer 1897 wurden dieselben, um bei der sehr feuchten Kellerluft des neu bezogenen Institutes eine Schimmelbildung an der Aussenseite der Gläschen zu verhüten, in Exsiccatoren eingeschlossen. Die Untersuchung auf die Zahl der Keime wurde nach der von Landmann¹ angegebenen Methode ausgeführt, so dass aus einem Probegläschen mittels einer genau geachten sterilen Pipette 0.1^{ccm} entnommen und in 2.5^{ccm} sterilen Wassers gut vertheilt wurde; von dieser Aufschwemmung wurden dann wiederum je 0.2^{ccm} und 1^{ccm} mit je etwa 10^{ccm} Glycerinagar gemischt zu Platten ausgegossen. Liess sich bei den wiederholten Untersuchungen aus der Dauer der Lagerung oder dem Ergebniss der vorhergehenden Untersuchung vermuthen, dass die Keimzahl eine nur sehr kleine sein würde, so wurde von der Verdünnung mit sterilem Wasser abgesehen, und von 0.1^{ccm} Impfstoff direct Glycerinagarplatten angesetzt. Die Feststellung der Keimzahl erfolgte nach 48stündigem Verweilen der Platten im Brutschrank bei 37° C. Bei sehr dicht besäten Platten wurde an Stelle der gewöhnlichen Zählmethode mittels Lupe diejenige mittels des Mikroskopes gesetzt. Aus den beiden gefundenen Zahlen wurde dann das Mittel genommen und in der Tabelle vermerkt.

Was die Ausführung der Untersuchung auf pathogene Keime betrifft,

¹ A. a. O.

so gelangte einmal die Lymphe als solche zur Verimpfung und zwar in den allermeisten Fällen an demselben Tage, an welchem die Platten gegossen wurden. Zu diesem Zwecke wurde von dem Impfstoff jedes Mal je einer grauen Hausmaus¹ eine mittelgrosse Platinöse voll subcutan und eine intraperitoneal beigebracht; zu letzterem Zweck wurde die Lymphe vorher in etwa 0.5^{cem} Peptonbouillon aufgeschwemmt, und die Aufschwemmung mittels Koch'scher Spritze injicirt. In derselben Weise wurden Meerschweinchen behandelt, doch wurde hier die Dosis auf drei Oesen voll erhöht, und bei der intraperitonealen Impfung etwa 1^{cem} Bouillon verwandt. Ausser den eben genannten Thieren wurde zu den Versuchen auch die eigene Person herangezogen, so zwar, dass auf den vorher mittels Seife, Sublimat und Alkohol gereinigten, mit einem sterilen Tuche getrockneten Arm die Impfschnitte in der gewöhnlichen Weise mit einem ausgeglühten Lindennborn'schen Impfmesser angebracht, und die Impfstellen dann durch sterile Mullbinden vor Infection von aussen geschützt wurden.² Selbstverständlich wurde dabei jedes Mal zur Controle ein nicht inficirter Schnitt gemacht.

Weiter wurden dann von den Lymphplatten abgestochene, auf Glycerinagar weitergezüchtete verdächtige Bakterienarten in Reincultur einerseits subcutan auf graue Hausmäuse, andererseits auf meinen Arm in derselben Weise wie oben für den Lymphstoff angegeben verimpft.

Wie aus den Tabellen I und II hervorgeht, geschah die erste Verarbeitung des übersandten Materials in der grossen Mehrzahl der Fälle innerhalb der ersten 4 Tage nach der Entnahme desselben vom Kalbe. Nur in einem Falle konnte die erste Untersuchung erst nach 14, in zwei weiteren erst nach 21 Tagen stattfinden, da die Proben durch einen unglücklichen Zufall erst nach dieser Zeit in meine Hände gelangt waren.

Im Jahre 1896 wurden die Untersuchungen, um einen Ueberblick über den Verlauf der Veränderung der Keimzahl zu erlangen, mit nur kurzen zeitlichen Zwischenräumen für die einzelnen Lymphnummern vorgenommen, während im nächsten Jahre von diesen häufigen Untersuchungen abgesehen wurde.

Fassen wir zuerst einmal die Untersuchungen des Jahres 1896 in's Auge, so geht aus der Tabelle I hervor, dass der anfängliche Keimgehalt der Lymphe zwar innerhalb weiter Grenzen schwankte, in den meisten Fällen aber ein sehr grosser war, einmal sogar die hohe Zahl von etwa

¹ Einige Male wurden, da es an Hausmäusen mangelte, Feldmäuse benutzt.

² Diese Impfungen wurden von Hrn. Kreisassistentenarzt Dr. Tjaden ausgeführt, dem ich für seine Unterstützung an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage.

Tabelle I.

Ergebnisse der Feststellung der Keimzahl in 1^{cem} Lymphe. 1896.

Nummer der Lymphproben	Tag der Entnahme	Tag der Untersuchung von der Entnahme der Lymphe an gerechnet	Anzahl der in 1 ^{cem} gefundenen Keime	Bemerkungen
1 a	20. II. 1896	2	340 250	} Später nachgesandte Gläschen.
1 b		14	14 325	
1 c		21	2 475	
1 d		28	1 025	
1 e		41	300	
1 f		56	1 175	
1 g		77	350	
1 h		140	50	
2 a	2. III. 1896	3	28 300	} Später nachgesandte Gläschen.
2 b		10	5 750	
2 c		17	1 775	
2 d		30	735	
2 e		43	385	
2 f		57	715	
2 g		100	250	
3 a	11. III. 1896	1	4 328 560	} Später nachgesandte Gläschen.
3 b		5	560 560	
3 c		8	132 140	
3 d		21	6 320	
3 e		47	1 440	
3 f		91	525	
3 g		160	40	
4 a	27. III. 1896	1	2 624 775	} Später nachgesandte Gläschen.
4 b		5	112 750	
4 c		18	111 765	
4 d		32	4 125	
4 e		62	375	
4 f		110	150	
4 g		143	40	
5 a	15. IV. 1896	1	2 006 000	
5 b		13	65 650	
5 c		43	6 850	
5 d		91	860	
6 a	27. IV. 1896	1	3 012 180	
6 b		31	1 274 375	
6 c		54	403 560	
6 d		123	325	

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Nummer der Lymph- proben	Tag der Entnahme	Tag der Unter- suchung von der Entnahme der Lymphe an gerechnet	Anzahl der in 1 ^{cem} gefundenen Keime	Bemerkungen
7 a	6. V. 1896	1	6 049 680	
7 b		22	1 604 775	
7 c		49	25 910	
7 d		128	150	
8 a	17. V. 1896	1	1 878 030	
8 b		24	259 700	
8 c		59	16 430	
9 a	27. V. 1896	1	4 049 960	
9 b		28	281 840	
9 c		107	100	
10 a	10. VI. 1896	14	4 692 975	
10 b		45	43 540	
11 a	23. VI. 1896	1	17 469 625	
11 b		32	377 680	
12 a	24. VII. 1896	1	17 840	
12 b		49	600	
XII a	24. VII. 1896	1	487 800	
XII b		49	160	
13 a	9. IX. 1896	1	551 080	

17 $\frac{1}{2}$ Millionen im Cubikcentimeter erreichte. Die mit relativ kurzen Zwischenräumen vorgenommenen Untersuchungen lassen dann weiter erkennen, dass besonders während der ersten Tage der Lagerung die Keimmenge sehr beträchtlich sinkt, während später, wenn nur noch Mikroorganismen von grösserer Widerstandsfähigkeit vorhanden sind, die Verminderung der Zahl im Verhältniss langsamer fortschreitet. Ein völliges Verschwinden der durch das Culturverfahren nachweisbaren Keime konnte für die Dauer der Untersuchungen, die allerdings aus äusseren Gründen die Zeit von 5 Monaten nur einmal um einige Tage überschritt, nicht beobachtet werden. Die auffällige Thatsache, dass für die Lymphen 1 und 2 die Untersuchung *f* ein Ansteigen der Keimzahl gegenüber der vorhergehenden *e* aufweist, findet wohl darin ihre Erklärung, dass, wie in der Tabelle I vermerkt, die Lymphproben von *f* an uns später nachgeschickt waren und wohl in Folge anderer Aufbewahrungsbedingungen eine geringere Abnahme der Keimzahl bis dahin erfahren hatten.

Tabelle II.

Resultate der Verimpfung der übersandten Lymphproben auf Thiere und den menschlichen Arm und Ergebnisse der Feststellung der Keimzahl in 1 cem Lympe. — 1897.

Versuchs- nummer	Resultate der Verimpfung auf Mäuse		Resultate der Verimpfung auf Meerschweinchen		Resultat der Verimpfung auf menschlichen Arm	Anzahl der in 1 cem gefundenen Keime	Tag d. Unter- suchung von der Entnahme der Lympe an gerechnet	Tag der Entnahme
	subcutan	intraperitoneal	subcutan	intraperit.				
1 a	† nach 24 Std. In den Organen nur Streptokokk. nachgewiesen.	—	—	—	Impfstachel.	4 415	21	8. III. 97.
1 b	—	—	—	—	Mässige, entzündliche Röthung d. Impfstelle.	2 500	83	
1 c	—	—	—	—	"	10	181	
2 a	—	—	—	—	Impfstachel.	261 710	21	8. III. 97.
2 b	—	—	Kleiner Abscess	—	Mässige, entzündliche Röthung d. Impfstelle.	1 775	83	
2 c	—	—	"	—	"	20	181	
3 a	—	—	—	—	Impfstachel.	501 560	1	16. III. 97.
3 b	—	—	—	—	Mässige, entzündliche Röthung d. Impfstelle.	18 690	55	
3 c	—	—	—	—	"	130	173	
4 a	—	† nach 5 Tagen. Peritonitis. In d. Peritonealflüssig- keit Reincultur v. Streptokokken.	Abscess. Im Eiter fast nur Streptokokken, vereinzelt Staphylo- kokken.	—	Impfstachel.	224 195	1	23. III. 97.
4 b	—	—	Kleiner Abscess. Im Eiter vorwiegend Streptokokken.	—	Mässige, entzündliche Röthung d. Impfstelle.	9 000	48	
4 c	—	—	Kleiner Abscess.	—	"	30	167	

[illegible]

Die Untersuchungsergebnisse des Jahres 1897, soweit sich dieselben auf die Feststellung der Keimzahl beziehen, sind im Grossen und Ganzen eine Bestätigung der vorjährigen. Besonders erwähnt werden mag es, dass in einem Falle (5c, Tabelle II), allerdings erst nach 8 Monate langer Lagerung der Lymphe, keine Bakterien in derselben mehr nachgewiesen werden konnten. Es stimmen die mitgetheilten Ergebnisse im Wesentlichen mit den oben angeführten anderer Untersucher überein.

Was die Verimpfung der Lymphe auf Thiere zum Zwecke der Prüfung auf etwaige pathogene Mikroorganismen anlangt, so zeigen die Resultate bei Mäusen und Meerschweinchen ein sehr verschiedenes Bild (Tabelle II). Bei Mäusen war das Ergebniss nur in zwei Fällen ein positives, einmal bei subcutaner (1a) und das andere Mal bei intraperitonealer Verimpfung (4a). In beiden Fällen starben die Thiere, und es liessen sich im ersten Falle in den Organen, im zweiten in dem Peritonealexsudat Streptokokken und zwar nur durch das Culturverfahren nachweisen. Auf den von diesen beiden Lymphproben angesetzten Glycerinagarplatten wurden zwar auch Streptokokken gefunden, doch erwiesen sich diese weder für Mäuse noch für Menschen als pathogen. Ob bei der Infection mit der Lymphe die sonstigen darin enthaltenen Keime einen günstigen Boden für die mit eingebrachten Streptokokken geschaffen haben, oder ob es sich bei den tödtlichen Infectionen um eine andere, bezw. virulentere Art gehandelt hat, welche von den ziemlich dicht besäten Platten zum Zwecke der Verimpfung in Reincultur nicht abgestochen war, muss dahin gestellt bleiben. Für die letztere Annahme dürfte allerdings der Umstand sprechen, dass bei anderen Proben die Lymphe als solche bei Mäusen keine Reaction machte, obwohl sich durch das Plattenverfahren Streptokokken darin nachweisen liessen, während diese letzteren in Reincultur zu Infectionen Veranlassung gaben (s. Tabelle III). Die intraperitoneale Verimpfung von Lymphe auf Meerschweinchen ist stets ohne positives Resultat verlaufen, dagegen brachte die subcutane Infection dieser Thiere in den meisten Fällen einen kleinen Abscess an der Impfstelle zu Stande, welcher am 2. oder 3. Tage bemerkbar zu werden pflegte, nach der Eröffnung aber immer ohne irgend eine andere erkennbare Störung in wenigen Tagen geheilt war. Diese Resultate sind jedoch nicht ganz einwandfrei, da es schwer ist, bei Meerschweinchen die Infectionsstelle vor dem Eindringen von Schmutz und damit auch einer secundären Infection zu schützen. Ich habe versucht, durch aufgebrachtes Collodium den Abschluss herzustellen, doch wurde das deckende Häutchen in einer grossen Zahl der Fälle von den Thieren zerkratzt oder zernagt. Bei Controlthieren (Anlegung der Verletzung ohne Einbringung von Lymphe) konnte ich zweimal an der Wunde, welche im Uebrigen genau wie bei den anderen

Meerschweinchen behandelt war, eine geringe Eiterung feststellen, doch zeigte sich dieselbe auf die Wundränder beschränkt, während bei der Infection mit Lymphe ein unter der Haut gelegener Abscess sich bildete. Andererseits zeigte sich auch oft genug im Gefolge der Impfung ein Abscess, ohne dass der Collodiumüberzug eine Verletzung erkennen liess. Dass nicht etwa das Glycerin als Ursache der Eiterung anzusehen war, zeigten subcutane Verimpfungen von sterilem Glycerinwasser (Glycerin 2·0, Aq. dest. 1·0), wie es bei der Herstellung der Lymphe verwandt wird, welche keine Eiterung hervorriefen, sowie auch der negative Ausfall bei einer Anzahl der subcutanen Lymphimpfungen. Darnach bin ich geneigt zu glauben, dass bei der Mehrzahl der zugehörigen Fälle der Abscess als durch die Lymphe bedingt angesehen werden muss. Was nun die in dem Abscesseiter enthaltenen Bakterien anlangt, so fanden sich mit wenigen Ausnahmen ungefähr alle Arten vertreten, welche auf den zugehörigen Lymphplatten gewachsen waren; in einzelnen Fällen nur war eine Art in ganz überwiegender Menge vertreten, ein einziges Mal fanden sich Streptokokken in Reincultur.

Die Verimpfung der Lymphe auf den menschlichen Arm hatte, wenn wir zuerst einmal von den Proben 1*a*, 2*a*, 3*a*, 4*a* und 5*a* absehen, im Wesentlichen immer dasselbe Ergebniss. Was die eben angeführten Ausnahmefälle betrifft, so handelte es sich bei den ersten vier Proben, welche an demselben Tage neben einander verimpft wurden, um die spezifische Lymphwirkung, indem sich typische Abortivpusteln entwickelten, welche von Schwellung und Schmerzhaftigkeit der zugehörigen Achseldrüsen begleitet waren. Das negative Resultat der Verimpfung von 5*a* glaube ich auf einen zu seichten Schnitt zurückführen zu müssen. In allen übrigen Fällen zeigte sich stets am folgenden Tage eine deutliche entzündliche Röthung verbunden mit einer leichten Schwellung der Impfstellen. Die Breite des Entzündungshofes betrug aber niemals mehr als 0·5 cm. Am dritten Tage waren diese Erscheinungen, die mit geringem Juckreiz einhergingen, immer fast ganz wieder verschwunden. Um auszuschliessen, dass es sich hierbei etwa um eine speciell meine Person betreffende, gewissermassen idiosyncratische Reaction handele, habe ich einen anderen im hiesigen Institut arbeitenden Herrn, der sich mir zu diesem Zwecke freundlichst zur Verfügung stellte, zu diesen Versuchen mit herangezogen und zwar mit demselben Erfolg. Der Glyceringehalt der Lymphe konnte auch hier als Ursache der Entzündungserscheinungen ausgeschlossen werden, da steriles Glycerinwasser keine Spur von Reaction hervorbrachte; ebenso verhielten sich die mit sterilem Messer gemachten Controlschnitte. Die beschriebenen entzündlichen Erscheinungen könnten, sofern man sie nicht auf Rechnung des specifischen Contagiums der Lymphe setzen will, als

eine Wirkung der in der Lymphe angehäuften Bakterientoxine erklärt werden; so spricht hierfür einmal das frühzeitige Auftreten und schnelle Verschwinden derselben, andererseits auch die von mir gemachte Beobachtung, dass mit zunehmendem Alter der Lympheproben die Intensität der entzündlichen Reaction zunahm, und schliesslich der Umstand, dass dieselben auch bei einer Lymphe auftraten, bei welcher das Culturverfahren keine Keime mehr nachweisen konnte. Niemals jedoch liessen sich Folgen irgend welcher Art feststellen, die die Vermuthung, dass es sich um eine Infection mit pyogenen Staphylo- oder Streptokokken handeln könnte, hätten aufkommen lassen. Der Grund, weshalb diese Reizerscheinungen, soweit mir wenigstens bekannt, bei erfolgloser Impfung sonst nicht zur Beobachtung gekommen sind, ist wohl darin zu suchen, dass die Impfstellen der Vaccinirten am nächsten oder übernächsten Tage von Sachverständigen in der Regel nicht daraufhin besichtigt zu werden pflegen.

Die Ergebnisse der Verimpfung von Reinculturen verschiedener Kokken, welche von den Lymphplatten abgestochen waren, sind in der Tabelle III verzeichnet. Die Verimpfung geschah in der Weise, dass bei Mäusen von einer Glycerinagarcultur der betreffenden Art eine geringe Menge in eine Hauttasche eingebracht wurde, während beim Verimpfen auf den Arm ein wenig vom Culturrasen abgenommen, mit einem Tropfen sterilen Wassers auf der Fläche eines ausgeglühten Lindenborn'schen Impfmessers verrieben und dann mittels der gewöhnlichen Scarificationsschnitte in die Haut eingebracht wurde. In der Tabelle sind nur diejenigen Impfungen aufgeführt, welche einen positiven Ausfall entweder bei Mäusen oder beim Menschen bezw. bei beiden gehabt haben. Die auffallende Thatsache, dass bei der zweiten Untersuchung einer Lymphprobe in mehreren Fällen mehr reactionsfähige Kokkenarten gefunden wurden als bei der ersten, erklärt sich leicht dadurch, dass die dichte Besetzung der Platten in letzterem Falle einige Arten übersehen liess, die später bei der grösseren räumlichen Trennung der Colonieen berücksichtigt wurden. Bei Mäusen konnte bei der subcutanen Application der verschiedenen aufgeführten Staphylokokken bei positivem Resultat immer nur ein kleiner Abscess an der Impfstelle festgestellt werden, der am Tage nach der Infection bereits seinen Höhepunkt erreichte und nach der Eröffnung meistens schon am folgenden Tage ohne weitere nachtheilige Folgen wieder verheilt war. Es handelte sich auch hierbei wohl sicher nur um eine Wirkung der von den Kokken producirten Toxine. Für diese Annahme spricht auch der Umstand, dass, obwohl die verimpften Staphylokokken nicht immer alle biologischen Eigenschaften der pyogenen zeigten, indem sie zum grossen Theil die Gelatine nicht verflüssigten, auch bei diesen ein positiver Erfolg der Impfung festgestellt werden konnte, ebenso bei einigen

Tabelle III.

Resultate der Verimpfung von aus der Lymphe gezüchteten Reinculturen auf Mäuse und den menschlichen Arm.

Nummer der Lymphprobe	Art der Mikroorganismen		Resultat der subcutanen Verimpfung auf Mäuse	Resultat der Verimpfung auf den menschlichen Arm
1a	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	Kleiner Abscess	—
2a	„	Gelatine nicht verflüssigend	Kleiner Abscess	—
	Streptokokken	—	—	Mässige, entzündliche Röthung.
3a	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
4a	desgl.			
5a	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	—	Pustel mit wenig Eiter. Randröthung etwa 1 ^{cm} breit. ¹
	Streptokokken	—	—	Pustel mit wenig Eiter. Randröthe gering. ¹
6a	Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	Kleiner Abscess	—
7a	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
8a	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	Kleiner Abscess	—
	„	„	—	Kleine Pustel mit wenig Eiter u. geringer entzündl. Röthung.
	Streptokokken	—	Anfangs kleiner Abscess. Nach 6 Tagen starb dieses Thier. In d. Organen liessen sich durch Cultur Streptokokken nachweisen.	„
9a	Weisse Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	Kleiner Abscess	—
	Goldgelbe Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	„	Leichte, entzündliche Röthung.
	Streptokokken	—	† nach 5 Tagen. In den Organen liessen sich durch Cultur Streptokokken nachweisen	Kleine Pustel mit geringer Eiterung und entzündl. Röthung.
10a	„	—	—	Geringe entzündliche Röthung.
11a	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
12a	desgl.			

¹ Es bestand Schwellung der zugehörigen Achseldrüsen.

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Nummer der Lymph- probe	Art der Mikroorganismen		Resultat der subcutanen Ver- impfung auf Mäuse	Resultat der Verimpfung auf den menschlichen Arm
13 a	Weisse Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	Kleiner Abscess	Mässige, entzündliche Röthung.
	Gelbe Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	—	Leichte, entzündliche Röthung.
14 a	"	"	Kleiner Abscess	—
	Weisse Staphylokokken	"	"	—
15 a	"	"	"	Leichte, entzündliche Röthung.
	Gelbe Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	"	—
	Grauweisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	"	Leichte, entzündliche Röthung.
1 b	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
2 b	Streptokokken	—	Kleiner Abscess	Mässige, entzündliche Röthung.
3 b	Grauweisse Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	—	Kleine Pustel mit wenig Eiter und mässiger entzündlicher Röthung.
	Weisse Staphylokokken	"	Kleiner Abscess	"
4 b	"	Gelatine verflüssigend	"	—
	Gelbe Staphylokokken	"	"	—
	Streptokokken	—	"	Leichte, entzündliche Röthung.
5 b	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	"	—
6 b	"	"	"	—
	Gelbe Staphylokokken	"	"	Leichte, entzündliche Röthung.
7 b	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
8 b	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	—	Leichte, entzündliche Röthung.
9 b	"	"	—	"
	Grauweisse	"	—	"
	Weisse Staphylokokken	"	Kleiner Abscess	"

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Nummer der Lymph- probe	Art der Mikroorganismen		Resultat der subcutanen Ver- impfung auf Mäuse	Resultat der Verimpfung auf den menschlichen Arm
10 b	Weisse Staphylokokken	Gelatine verflüssigend	Kleiner Abscess	Leichte, entzündliche Röthung.
	Grauweisse Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	"	—
11 b	Weisse Staphylokokken	"	"	—
	"	Gelatine verflüssigend	"	Mässige, entzündliche Röthung.
12 b	"	"	"	Mässige, entzündliche Röthung mit geringer Eiterung.
	Grauweisse Staphylokokken	"	"	—
1 c	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
2 c	desgl.			
3 c	desgl.			
4 c	desgl.			
5 c	desgl.			
6 c	Weisse Staphylokokken	Gelatine nicht verflüssigend	Kleiner Abscess	Leichte, entzündliche Röthung.
7 c	Keine pathogenen Kokken gefunden.			
8 c	Die Untersuchung konnte äusserer Umstände wegen nicht mehr ausgeführt werden.			

von den Lymphplatten abgestochenen Bacillenarten, die keiner bekannten pathogenen Species angehörten, und die in der Tabelle nicht weiter aufgeführt sind. Die subcutane Verimpfung der in den Lymphproben gefundenen Streptokokken rief meistens keine schwereren Erscheinungen hervor als für die Staphylokokken angegeben wurde, in zwei Fällen jedoch führte dieselbe zu einer Allgemeininfektion der Versuchsthiere, der dieselben nach einigen Tagen erlagen (8a, 9a Tab. III). Beide Male konnten durch das Culturverfahren aus den Organen der Thiere Streptokokken in Reincultur gezüchtet werden.

Was nun die Verimpfung von aus Lymph gezüchteten Reinculturen auf den menschlichen Arm betrifft, so waren die Folgen hier meistens nur unbedeutende; es stellte sich geringe entzündliche Röthung an der Impfstelle und leichte Schwellung der Umgebung ein, Erscheinungen, die offenbar auch als Toxinwirkung aufzufassen sind. Einige Male nur ent-

wickelten sich kleine Eiterpusteln, die nach wenigen Tagen wieder eingetrocknet waren. Hervorheben möchte ich, dass es einmal auch zu einer schmerzhaften Schwellung der zugehörigen Achseldrüsen kam (s. Tab. III, 5a); doch konnte hierbei nicht festgestellt werden, wem von den gleichzeitig verimpften Staphylokokken und Streptokokken, die beide eine locale Reaction hervorgebracht hatten, die Schuld an der Erkrankung der Drüsen zuzuschreiben sei. Nachdem diese Schwellung nach wenigen Tagen zurückgegangen war, hat sich später ganz allmählich eine neue, wenn auch unbedeutende Vergrößerung der Drüsen mit geringer Druckempfindlichkeit herausgebildet, die zur Zeit noch besteht.

Bei der Anordnung der Versuche am Menschen wird man mir den Vorwurf machen, dass, da nur eine Versuchsperson in Betracht kam, allmählich eine Immunisirung des Körpers zu Stande gekommen sei, welche die Wirkung der später verimpften Bakterien beeinflusst habe¹. Was in dieser Hinsicht die Staphylokokken anlangt, so lehrt ja die tägliche Erfahrung (multiple Abscesse, immer wieder auftretende Eiterung bei wiederholten Verwundungen), dass man auf diesem Wege eine Immunität gegen dieselben nicht erzielen kann. Für die verimpften Streptokokken lässt sich indessen dieser Vorwurf nicht ganz von der Hand weisen, wenngleich der Umstand wenig dafür spricht, dass nach der ersten erfolgreichen Impfung mit Streptokokken zwar längere Zeit hindurch aus anderen Lymphproben gezüchtete keine Reaction zeigten, dann aber wieder ein deutlicher Erfolg zu verzeichnen war, und auch später häufiger noch wenn auch schwächere Wirkungen erzielt werden konnten.

Interessant ist ein Vergleich der Wirkungen der verimpften Staphylo- und Streptokokken auf den Menschen einerseits und die Mäuse andererseits. Während nämlich sich häufig ein Erfolg bei der Impfung von Mäusen feststellen liess, ohne dass die betreffenden Mikroorganismen beim Menschen irgend eine Spur von Reaction hervorgerufen hätten, war oft genug auch das Gegentheil der Fall. So erwiesen sich z. B., um einen Fall herauszugreifen, Streptokokken, welche wie die in 5a gefundenen beim Menschen Eiterung hervorgerufen hatten, den Mäusen gegenüber als völlig unwirksam. Es zeigt sich hier deutlich, wie wenig berechtigt es in solchem Falle ist, aus den bei Thieren gemachten Erfahrungen auf den Menschen zu schliessen.

Was endlich die Lebensdauer der in Betracht gezogenen Bakterien in der Lymphe betrifft, so konnte ich Streptokokken in einem Falle (Probe 9b) noch nach 4 Monaten nachweisen, doch war die Verimpfung derselben erfolglos; aus einer anderen Probe (2b) nach 83 Tagen gezüchtete

¹ Leider war es mir nicht möglich, durch Heranziehen einer grösseren Anzahl Menschen zu den Versuchen diesem Vorwurf aus dem Wege zu gehen.

hatten sowohl bei der Versuchsmaus als auch auf dem menschlichen Arm noch geringe Wirkung. Wirksame Staphylokokken liessen sich dagegen noch nach 7 Monate langer Lagerung der Lymphe feststellen.

Wenn ich am Schlusse noch einmal kurz die Resultate meiner Untersuchungen zusammenfasse, so haben dieselben, soweit sie die Zahl der in der Lymphe gefundenen Keime berücksichtigen, bezüglich der anfänglichen Menge und der Abnahme derselben die Mittheilungen anderer Untersucher bestätigt. Was die Anwesenheit pathogener Bakterien anlangt, so führte die Verimpfung der Lymphproben bei einem Theil der benutzten Versuchsthiere Erkrankungen, bezw. in 2 Fällen (Mäuse) den Tod herbei, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, dass die subcutane und intraperitoneale Verimpfung einen ganz anderen Eingriff darstellt, als der oberflächliche „Impfschnitt“, und dass ferner den Thieren im Verhältniss zum Körpergewicht bedeutend grössere Mengen einverleibt wurden, als es bei der Vaccination des Menschen geschieht. Beim Menschen dagegen war niemals eine bedeutendere Wirkung festzustellen. Von den Lymphplatten gezüchtete Kokken tödteten in zwei Fällen (Streptokokken) die damit inficirten Mäuse, während sonst auch hier keine schwereren Symptome constatirt werden konnten; bei Verimpfung auf den Menschen traten gewöhnlich unbedeutende locale Entzündungen auf, in einigen Fällen kam es zur Bildung kleiner Eiterpusteln, darunter einmal mit Affection der benachbarten Lymphdrüsen. Diese letztere Thatsache lässt sich jedoch meines Erachtens nicht gegen den Gebrauch der Lymphe verwerthen, da Impfungen mit Reinculturen schon allein der Menge der betreffenden Keime wegen mit der Lymphübertragung nicht ohne Weiteres verglichen werden können.

Ich glaube daher aus meinen Untersuchungen den Schluss ziehen zu dürfen, dass dieselben keine Anhaltspunkte ergeben haben, welche die Befürchtung gerechtfertigt erscheinen lassen, dass die animale Lymphe bei ihrer jetzigen Herstellung irgend welche ernstere Schädigungen für die Impflinge bedingt.