Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der „Leukine“ für die Heilung infektiöser Bindehaut-entzündungen.

Von
Dr. Rudolf Schneider.

Mit einer Figur im Text.

Einleitung.

Die neuere Immunitätsforschung hat unsere Kenntnisse von den natürlichen Schutzmitteln des Körpers bedeutend erweitert. Eine Fülle von Tatsachen wurde gefunden, die das Wesen der natürlichen Resistenz immer noch komplizierter erscheinen und eine ganze Reihe neuer Theorien auftauchen liessen. Es soll nicht geleugnet werden, dass dadurch die Unsicherheit unserer Vorstellungen von den Abwehrvorrichtungen des Organismus vermehrt worden sind; wenn aber Sauerbeck (1) seine vorzügliche letzte Zusammenfassung mit „die Krise in der Immunitätsforschung“ betitelt, so darf dies nicht dahin verstanden werden, als ob durch die neuen Erfahrungen und Theorien der Bau der Immunitätsforschung in den Grundfesten erschüttert sei.

Sind auch die humorale und die celluläre Theorie in ihrer ursprünglichen Form nicht mehr aufrecht zu erhalten, so sind sie deshalb noch lange nicht abgetan. Es handelt sich in der gegenwärtigen „Krise“ nicht um Sein oder Nichtsein der klassischen Theorien Buchners und Metschnikoffs. Im Gegenteil, man darf wohl behaupten, dass durch die fortschreitende Erforschung der natürlichen antibakteriellen Immunität beide Theorien nur ergänzt, dadurch in vielen Beziehungen näher gebracht und einer gerechten Würdigung zugeführt worden sind.

Nichts anderes ist durch die Arbeiten von Wright, Gruber u. A. geschehen, auf denen die Opsonintheorie aufgebaut ist. Wenn diese Autoren im normalen Plasma und Serum und Verfasser im regenerierten Vorderkammerwasser thermolabile Stoffe, „Opsonine“ gefunden haben, welche die Bakterien so beeinflussen, dass sie von den Leukocyten gefressen werden, so erhellt daraus, wie sehr die Phagocyten auf die Unterstützung aktiver gelöster Substanzen des Blutes und der Gewebsflüssigkeiten angewiesen sind.

Eine ähnliche vermittelnde Stellung nehmen Neufeld und Rimpau mit ihrer Bakteriotropintheorie in bezug auf die Verhältnisse beim immunisierten Tiere ein. Nach ihnen sollen neben den bakteriolytischen Antikörpern im Immunserum thermostabile Stoffe, „Bakteriotropine“ existieren, welche in spezifischer Weise die Bakterien für die Phagocytose vorbereiten.

Die Agressinlehre Bails dagegen ist lediglich die klarere und präzisere Form der Phagocytentheorie Metschnikoffs. Wie dieser erblickt Bail in den Leukocyten allein die ausreichende Schutzwehr des Organismus. Werden sie durch die von den Bakterien gebildeten Angriffsstoffe, „Aggressine“ lahmgelegt, so kommt es zur Infektion. Durch Immunisierung mit Aggressinen werden Antiaggressine produziert und diese vermögen die die Phagocytose unterdrückende Wirkung der bakteriellen Angriffsstoffe zu neutralisieren. Es haben also hierbei die Körpersäfte nur insofern eine Bedeutung, als sie die Phagocytose ermöglichen und begünstigen.

Inwieweit die neuen Untersuchungen über die strukturellen Veränderungen, welche die Bakterien im Verlaufe der Infektion erleiden (Bail, Gruber, Ascoli), auf die Lehre von der antibakteriellen Immunität modifizierend einwirken werden, lässt sich jetzt noch ebenso wenig beurteilen wie die Bedeutung einiger anderer Theorien neuesten Datums.

Haben so in den letzten Jahren die Leukocyten als Verteidiger des Körpers endlich auch bei den deutschen Forschern die ihnen gebührende Anerkennung gefunden und neigt man vielleicht gegenwärtig mehr der cellulären Auffassung der Immunität zu, so wurde die Berechtigung der humoralen besonders durch die Arbeiten von Gruber und Futaki sowie vom Verfasser in jüngster Zeit von neuem bestätigt.

Gruber und Futaki (2 u. 3) haben bei ihren Studien über die Milzbrandinfektion festgestellt, dass das im Blute kreisende Alexin, das an der Vernichtung so zahlreicher Bakterien beteiligt ist, jeder Wirkung auf den Milzbrandbacillus entbehrt.

Statt dessen stehen dem tierischen Organismus Abwehrmittel gegen den Milzbrandbacillus in den Leukocyten und Blutplättchen und deren Stoffen zur Verfügung. Die Leukocyten kommen in dreifacher Richtung als Schutztruppen in Betracht; einmal können sie sich als Phagocyten betätigen, indem sie die Milzbrandbacillen auffressen und verdauen, dann können sie, wie sie es besonders beim Kaninchen und Meerschweinchen tun, durch „Umklammerung“ und „Kontaktverdauung“

der Bacillen Herr werden, und schliesslich können sie zu deren extracellulären Vernichtung dadurch beitragen, dass sie anthrakocide Stoffe unter Einwirkung der normalen Lymphe oder Stauungslymphe im Unterhautzellgewebe abgeben.

Die Blutplättchen des Kaninchens und der Ratte, die sich nach einer vom Verfasser (4 u. 5) angegebenen Methode reichlich und bequem gewinnen lassen, sind durch einen enormen Gehalt an milzbrandfeindlichen Substanzen, den „Plakinen“ ausgezeichnet, die ihnen durch verschiedene Extraktionsmittel entzogen werden können und die in einem gewissen Stadium der Milzbrandinfektion auch in das Plasma des lebenden Tieres übergehen.

Gegen all diese Schutzwehren wappnet sich seinerseits der Milzbrandbacillus in den tierischen Säften durch Bildung einer Kapsel, die ihn vor der Phagocytose und der Umklammerung schützt und die Plättchen von der Abgabe ihres Plakines abhält. In der Verhütung der Kapselbildung durch den raschen Untergang, welchen die Milzbrandbacillen extracellulär im Unterhautzellgewebe finden, haben Gruber und Futaki die lang gesuchte Ursache für die Unempfänglichkeit des Hundes und Huhnes erkannt, während die Wehrlosigkeit des Kaninchens und des Meerschweinchens trotz all seiner Schutzeinrichtungen, sich aus der geringen Wirksamkeit der Unterhautlymphe und der Fähigkeit des Milzbrandbacillus in letzterer Kapseln zu bilden, erklärt. Fürwahr ein glänzender Beweis für die Bedeutung der Säftebaktericidie!

Die Untersuchungen, welche Verfasser (6 u. 7) gleichzeitig mit den Studien Grubers und Futakis angestellt hat, erstrecken sich auf die baktericide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten überhaupt und ihre Beziehungen zu den Leukocyten. Dass letztere baktericide Stoffe enthalten, war schon durch die Arbeiten von Denys und seinen Schülern sowie besonders durch Buchner und seine Mitarbeiter Hahn und Trommsdorff mit Sicherheit erwiesen. Buchner identifizierte bekanntlich die Leukocytenstoffe mit dem Alexin des cirkulierenden Blutes, das er wie das histolytische Enzym, das Leber in den Leukocyten nachgewiesen hatte, für ein von den lebenden Leukocyten, „Alexocyten“ secerniertes Endoenzym hielt. Dem gegenüber bezeichnete Metschnikoff und seine Schüler das Alexin des Blutserums für ein Absterbeprodukt der Leukocyten, das er je nach seiner Herkunft von den polymorphkernigen Leukocyten, den „Mikrocyten“ oder den mononukleären Leukocyten, den „Makrocyten“, Mikrocytase oder Makrocytase nannte. Diese sollte

hämolytische, jene baktericide Funktion haben und beide sollten im zirkulierenden Blute fehlen und im lebenden Tiere nur intracellulär zur Geltung kommen.

Buchners wie Metschnikoffs Ansicht blieb nicht unwidersprochen und, wie die Zusammenstellung in Verfassers Arbeit (loc. cit.) dartut, knüpfte sich im Laufe der Jahre eine ziemlich umfangreiche Literatur an die Frage des leukocyitären Ursprunges des Alexins, ohne jedoch deren Lösung herbeiführen zu können.

Das Ergebnis der eigenen Untersuchungen ist nun, dass die polymorphkernigen Leukocyten die in ihnen enthaltenen baktericiden Substanzen weniger bei ihrem Zugrundegehen als infolge einer vitalen sekretorischen Tätigkeit abgeben können. Die Leukocytenstoffe vom Verfasser „Leukine“ genannt, weichen in vieler Beziehung von dem Alexin ab und zeichnen sich u. a. durch Thermostabilität und besonders dadurch aus, dass ihre Wirkung sich auch auf Mikroorganismen erstreckt, gegen die das Serum nichts vermag. Sie sind also wohl charakterisierte Substanzen eigener Art und spielen, wie ja auch die Versuche von Gruber und Futaki beweisen, neben dem Blutalexin und dem Plakin bei der humoralen Baktericidie eine Rolle, verdankt doch die Lymphe des Unterhautzellgewebes ihre baktericide Wirkung hauptsächlich ihrem Gehalte an Leukinen, und in frischen leukocytenreichen Exsudaten der Pleura- und Peritonealhöhle wird man sie kaum vermissen.

Aus den mononukleären Leukocyten, die sich wie die polymorphkernigen an der Phagocytose und intracellulären Verdauung von Bakterien beteiligen können, liessen sich weder baktericide noch hämolytische Stoffe extrahieren.

Die Blutplättchen betätigen sich in Übereinstimmung mit früheren eigenen Versuchen und denen von Gruber und Futaki sowie von Ohtaki(8) als die Spender von Substanzen, deren abtötende Wirkung sich nur auf den Milzbrandbacillus und seine Verwandten erstreckt.

In dem Bestreben, obige Beobachtungen aus dem Gebiete der Immunitätsforschung auch dem speziellen Fache der Ophthalmologie nutzbar zu machen, wurden die folgenden experimentellen Untersuchungen angestellt, welche die Bedeutung der „Leukine“ für die Heilung der infektiösen Bindehauterkrankungen klarlegen sollten.

Die Lösung dieser Frage wurde in der Weise in Angriff genommen, dass nach Applikation der bei der Behandlung von Conjunctivitiden am meisten verwandten Heilmittel das im Bindehautsack sich bildende Sekret auf seine antibakterielle Wirksamkeit geprüft wurde.

Dabei ergab sich von selbst die Notwendigkeit, vorerst festzustellen, wie sich die normale Tränen- und Conjunctivalflüssigkeit hinsichtlich ihres Gehaltes an bakteriolytischen Substanzen verhält, eine Frage, die, wie mir scheint, trotz vielfacher Bearbeitung noch nicht definitiv gelöst ist.

Über die bakteriolytischen Eigenschaften der normalen Tränenflüssigkeit.

Die bakterientötende Funktion der Tränen fand hauptsächlich als einer der bei der Selbstreinigung des Bindehautsackes beteiligten Faktoren Beachtung.

Schon die gute Heilung operativer Wunden am Auge in der vorantiseptischen Zeit im Vergleich zu der Häufigkeit der Eiterungen chirurgischer Wunden an andern Stellen wies darauf hin, dass das Auge über besondere Schutzvorrichtungen verfügen müsse, welche die Vermehrung von Eitererregern verhindern. Wie anders wäre es ferner bei der Ubiquität der Bakterien und der freien Kommunikation mit der Aussenwelt, durch die der Conjunctivalsack der Infektion durch die verschiedensten Bakterien preisgegeben ist, denkbar, dass nicht öfters Wundinfektionen und ausgedehnte Bakterienansiedelungen in dem als Aufenthaltsort für Mikroorganismen an sich nicht ungeeigneten Bindehautsack zu stande kämen.

Wir wissen, dass auch die normale Conjunctiva die mannigfaltigsten — auch pathogene — Keime beherbergen kann, und dennoch besitzt sie eine geringe Infizierbarkeit.

Zur Allgemeininfektion von der Conjunctiva aus dürfte es nur in den seltensten Fällen kommen; hat doch Römer (9) durch seine Untersuchungen gezeigt, dass die intakte Bindehaut den pathogenen (Milzbrand-) Keimen einen erheblichen Widerstand entgegensetzt, wie denn nur in einzelnen Fällen hineingebrachter Staub im Verein mit gleichzeitigem Reiben den als Infektionserreger benutzten Milzbrandbacillen den Weg in die Lymphbahnen und so zur allgemeinen Überschwemmung des Organismus eröffnete.

Der lokalen Vermehrung der im Bindehautsack vorhandenen Keime wirken eine Reihe Momente entgegen, die in ihrer Bedeutung für seine Selbstreinigung verschieden bewertet worden sind.

Sehen wir von dem Umstande ab, dass ununterbrochen die oberflächlichsten Epithelien mit den an ihnen haftenden Keimen abgestossen werden, und dass die pathogenen Bakterienarten im Conjunc-

tivalsack durch Saprophyten überwuchert werden können, so kommen für die Regulierung des Keimgehaltes vor allem der Lidschlag und der Tränenstrom in Betracht.

I. Literaturübersicht.

Die mechanische Bedeutung dieser Momente hatten schon Horner (10), John (11), Widmark (12), Michel (13), Gombert (14) und Leber (15) hervorgehoben.

Van Genderen Stort (16) hat zuerst experimentell gezeigt, wie durch den mechanischen Vorgang des Wegspülens eine bedeutende Verringerung des Keimgehaltes des Bindehautsackes bewirkt wird. Kolibacillen, welche in grossen Mengen in den Conjunctivalsack von Kaninchen gebracht waren, liessen sich bereits nach einer Stunde nicht mehr in ihm nachweisen und wurden statt dessen in der Nasenhöhle gefunden. War aber der Abfluss der Tränen nach der Nase durch Verlegung der Tränenspalte verhindert, so war von einer Abnahme der Bacillen in den im Bindehautsack angesammelten Tränen nichts zu bemerken. Van Genderen Stort erblickt daher den Grund für den geringen Keimgehalt des Conjunctivalsackes in dem Transport der Keime nach der Nasenhöhle und nicht etwa in der bakterientötenden Eigenschaft der Tränen.

Dass jedoch letztere existiert, hat Bernheim (17), der baktericide Versuche mit Tränen im Reagenzglase angestellt hat, beobachtet. Hinsichtlich der Gewinnung der notwendigen Quantitäten von Tränen sei hier eigens betont, dass das Untersuchungsmaterial von Augen, die an Keratitis und Conjunctivitis ekzematosa mit starkem Tränenträufeln litten, herrührte und dass Tränen gesunder Augen dadurch verschafft wurden, dass durch Einatmen von Ammoniakdämpfen Tränenträufeln erzeugt worden war. Die Tränen, welche meist leicht getrübt waren, wurden mit einem kleinen Apparat, der aus einem Kautschukballon, Verbindungsrohr, Rezipienten und kapillarem Saugrohr bestand, aus dem Bindehautsack aufgesaugt. Die Wirkung der Tränen wurde gegenüber dem *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus subtilis* und dem *Micrococcus prodigiosus* geprüft. Die Versuche liessen einen deutlichen baktericiden Einfluss auf die Staphylokokken bei kleinen und mittleren Einsaaten erkennen, der *Bacillus subtilis* wurde in ausserordentlich rascher Weise vernichtet, während dem *Micrococcus prodigiosus* gegenüber die Tränen nichts vermochten. Bernheim weist auf den Unterschied zwischen Tränen und Blutserum hin, welches nach den damals vorliegenden Versuchen von Nuttall (18) und Nissen (19) ohne jede Wirkung auf den *Staphylococcus* sich gezeigt hatte. Auch fiel ihm die Tatsache auf, dass die Tränen im Gegensatz zu dem Blutserum in einzelnen Fällen ein Erhitzen auf 58° ohne Einbusse ihrer antibakteriellen Funktion vertragen hatten. Bei Besprechung der etwaigen Ursachen hierfür drückt Bernheim die Vermutung aus, es könne vielleicht die bakterientötende Eigenschaft der Tränen andersartig und abhängig von andern Eiweisskörpern als die des Serums sein; dass der Salzgehalt der Tränen nicht schuld ist, hatte Bernheim durch eigene Versuche konstatiert.

Eine Ergänzung und Bestätigung der Untersuchungen Bernheims

bildet die Arbeit Marthens (20). Seine Versuchsanordnung war im wesentlichen dieselbe wie diejenige Bernheims. In Speziellen stammten die untersuchten Tränen ebenfalls von Patienten, die infolge Keratitis interstitialis und Conjunctivitis ekzematosa an starkem Tränenträufeln litten. Als Testobjekte benutzte Marthen (20) verschiedene Mikroorganismen, die aus dem menschlichen Bindehautsack gezüchtet waren. Von diesen Keimen erfuhren die meisten entschieden eine Verminderung, manche eine langsame unsichere Abtötung und einzelne eine Vermehrung. Auf Grund seiner Versuchsreihen erblickt Marthen in der bakterienfeindlichen Eigenschaft der Tränenflüssigkeit neben dem Lidschlage die Schutzvorrichtung, welche die Oberfläche der Conjunctiva vor der Invasion der Mikroorganismen schützt. Die Tränen spielen dabei die Hauptrolle, während der Lidschlag lediglich die gleichmässige Bespülung der Conjunctiva zu besorgen habe.

Dem gegenüber kommt Bach (21) bei seinen Untersuchungen zu dem Resultat, dass der Keimgehalt des Bindehautsackes in erster Linie durch die mechanische Wegschwemmung der Bakterien nach der Nase beeinflusst wird. Brachte Bach den leicht nachweisbaren roten Kieler Wasserbacillus auf die menschliche Conjunctiva, so konnte er letzteren in dem Grade, wie er aus dem Conjunctivalsack verschwand, in der Nase auftreten und an Zahl zunehmen sehen.

Dass jedoch den Tränen auch eine bakterienfeindliche Wirkung zukommt, ging aus der grossen Mehrzahl seiner Versuche hervor. Auch Bach gewann nach dem Beispiele obiger Autoren sein Untersuchungsmaterial von Kindern, die an Conjunctivitis und Keratitis ekzematosa litten, und andern Patienten, die bei normaler Bindehaut starke Epiphora zeigten. Die Tränen wurden mittels eines Saugapparates aus dem unteren Teil des Bindehautsackes gesammelt und waren meist mehr oder minder flockig getrübt. Bei 19 baktericiden Versuchen mit *Staphylococcus pyogenes aureus* trat in der Regel Keimverminderung und nur 4mal Keimvermehrung ein. Die bakterienfeindliche Eigenschaft blieb in 16 Fällen, in denen die Tränen eine Stunde auf 58° erhitzt waren, ganz oder zum Teil erhalten. Während auch Typhusbacillen abgetötet wurden, konnten sich der Kieler Wasserbacillus und die *Sarcina aurantiaca* ungehemmt in den Tränen entwickeln.

Im Bestreben den wirksamen Bestandteil der Tränen zu eruieren, stellte Bach eine Reihe Untersuchungen mit verschiedenartigen Salzlösungen und Pferdeblutserumdialysat an und kam zu dem Schluss, dass die keimvernichtende Aktion der Tränen unabhängig von ihrem Gehalt an Serumalbumin sei und vielleicht in einer gewissen Beziehung zu ihrem Salzgehalt stehe.

Von der immerhin hohen Bewertung, die Bach in vorstehender Arbeit der baktericiden Eigenschaft der Tränen angedeihen liess und die er dann noch Ahlstroem gegenüber verteidigt hatte (22), scheint er einer späteren Publikation (23) nach zu schliessen abgekommen zu sein, wenn er den Lidschlag, ohne den nach Schirmer (24) keine Tränen abgeleitet werden, als den wichtigsten Faktor bei der Reinigung des Bindehautsackes bezeichnet und die Wirkung der Tränen als eine chemische mit derjenigen der Kochsalzlösung vergleicht.

Hatten die bisher citierten Autoren in den von ihnen geprüften „Tränen“ das gemischte Sekret der Tränendrüse und der Bindehaut verwendet, so

war Ahlstroem (25) der Erste, der in der fraglichen Hinsicht echte Tränen, d. h. das Sekretionsprodukt der Glandula lacrimalis untersuchte. Ahlstroem bekam einen seltenen Fall zur Beobachtung, bei dem sich im Anschluss an eine akute Dakryoadenitis eine Fistel der Tränendrüse gebildet hatte. Ehe er diese schloss, benutzte er die günstige Gelegenheit, sich mit Hilfe einer kleinen Retorte, deren Spitze er in den Fistelgang einführte, eine hinreichende Menge Tränenflüssigkeit zu verschaffen, um diese auf ihr baktericides Vermögen gegenüber Staphylokokken zu prüfen. Das Ergebnis war eine Wachstumshemmung der eingesäten Keime, die Ahlstroem als durch das ungünstige Medium bedingt auffasste. Vergleichshalber verschaffte er sich auch Tränen von Kindern mit phlyktänulösen Augenaffectationen und konstatierte bei diesen einen schwachen abtötenden Einfluss auf die Staphylokokken. Den Unterschied in der Wirkung der beiden Tränenflüssigkeiten erklärte sich der Autor aus der verschiedenen chemischen Zusammensetzung, indem die Tränen aus der Fistel stärkere alkalische Reaktion zeigten als die aus dem Bindehautsack gesammelten. Jedenfalls spricht er den Tränen eine eigentliche baktericide Kraft ab und schreibt die Beseitigung der Keime den mechanischen Momenten zu.

Versuche von Goufrein (26) galten der Widerlegung von Valude (27). Diesem war es nicht gelungen, bei Kaninchen durch Injektion von wässriger Tuberkelbacillenemulsion in den Tränensack dessen tuberkulöse Erkrankung zu erzeugen, und hatte das negative Resultat auf eine die Tuberkelbacillen schädigende Wirkung der Tränenflüssigkeit zurückgeführt. Goufrein nun glaubte die Unhaltbarkeit dieser Anschauung damit dargetan zu haben, dass er bei normalen Kaninchen und bei solchen, denen er 2—3 Wochen vorher die Tränendrüse exstirpiert hatte, durch Einverleibung von Tuberkelbacillen-Reinkultur in den Tränensack ausnahmslos typische Tränensacktuberkulose hervorrufen konnte.

Trotzdem beharrt Valude (28) in einer späteren Arbeit auf seinem ursprünglichen Standpunkt. Er hatte einer Frau wegen Epitheliom der Lider die Lidränder samt den Tränenröhrchen reseziert. Als nach $1\frac{1}{2}$ Jahren die Patientin ihn wieder aufsuchte, hatte sie vor dem operierten rezidivfrei gebliebenen Auge einen stattlichen Tumor, der sich durch Ansammlung von Tränen unter der Conjunctiva gebildet hatte. Die 22 cem betragende Retentionsflüssigkeit erwies sich steril, opaleszierte leicht und enthielt feine Flocken, die sich beim Stehen zu Boden senkten. In dieser Flüssigkeit starben Milzbrandbacillen und Staphylokokken in 14 bzw. 8 Tagen ab, Kolibacillen in grösserer Menge eingesät, vermehrten sich erst, um dann allmählich zu degenerieren, während Tuberkelbacillen wohl in ihr wuchsen, aber ihre Virulenz verloren. Aus diesen Versuchen schliesst er von neuem, dass die Tränen ein schlechter Nährboden für Mikroorganismen sind. Auch er findet in der alkalischen Reaktion ein für die Vernichtung der Keime förderliches Moment, hatte er doch 3 mal unter 80 darauf untersuchten Fällen bei Patienten mit sauer reagierenden Tränen postoperative Infektion beobachtet.

Zur Erlangung reichlicherer Quantitäten Tränen benutzten De Bono und Frisco (29) grössere Tiere: Esel, Ziegen und Kälber, denen sie die Flüssigkeiten aus dem Bindehautsack mit einer entsprechend gestalteten

Pipette entnehmen; eine ausgiebigere Sekretion der Tränendrüse erreichten sie dabei durch Berührung der Cornea mit der Pipettenspitze und leichte Massage. Die in vitro geprüfte Wirkung gegen Typhus-, Cholera-, Diphtheriebacillen und Staphylokokken war im günstigsten Falle als eine Wachstumshemmung zu bezeichnen. Eine Abschwächung der Virulenz und Giftigkeit verursachten diese Tiertränen bei Koli- und Typhusbacillen sowie Diphtheriegift, während sie Tuberkelbacillen, Milzbrandbacillen und Staphylokokken unbeeinflusst liessen. Eine Bakterienausscheidung durch die Tränen nach subcutaner oder intravenöser Infektion mit Milzbrand- und Prodigiosusbacillen sowie Pneumokokken kam weder unter normalen Verhältnissen, noch wenn den Tieren (Hund und Kaninchen) der Nervus lacrimalis durchschnitten war, vor. Nur in 4 Fällen, in denen den Kaninchen der Halssymphathicus durchtrennt war, konnten sie, wie sie annehmen, infolge der Gefässlähmung nach frühestens 30 Stunden in den Tränen lebende Milzbrandbacillen feststellen.

Nach Römer (loc. cit.) kommt den Tränen die Fähigkeit, infektiöses Material abzutöten, nicht zu. Bis zu 8 Tagen fand er im Bindehautsack von Kaninchen und Meerschweinchen, denen nach der Implantation die Lider vernäht waren, vollvirulente und lebensfähige Milzbrandsporen. Wenn daher auch ein gewisser entwicklungshemmender Einfluss den Tränen zuzusprechen sei, so sei ihre Hauptwirkung doch in der mechanischen Fortspülung und ständigen Verdünnung des Keimgehaltes zu suchen. In diesem Sinne spräche auch der Umstand, dass dort, wo der normale Abfluss der Tränen behindert sei, so unter dem Verbande und bei Erkrankung der Tränenwege, die Zahl der Keime zunimmt. Auch die Ergebnisse seiner Staubversuche können als Beweise für seine Anschauung dienen. Brachte er zugleich mit Milzbrandbacillen einige Ösen sterilen Staubes verschiedener Provenienz in den Bindehautsack von Kaninchen und Meerschweinchen, so stieg, obgleich durch den Staub eine Vermehrung der Reizung des Auges, der conjunctivalen Hyperämie und der Tränensekretion eingesetzt hatte, der Keimgehalt des Bindehautsackes ausserordentlich.

Der Beimischung von Alexinen verdanken, wie Helleberg (30) annimmt, die Tränen das Staphylokokken tötende Vermögen, das er bei seinen Versuchen in geringem und nicht immer gleich deutlichem Grade gefunden hatte und das durch Erhitzen auf 58° aufgehoben wurde.

Plant und Zelewski (31) hatte Axenfeld die Aufgabe gestellt, den Widerspruch zu erklären, der dadurch gegeben ist, dass die Tränensackexstirpation auf der einen Seite die für die physiologische Selbstreinigung des Bindehautsackes wichtige Ableitung der Tränen aufhebt und auf der andern eine von der Conjunctiva zu befürchtende Infektion geradezu ausschaltet. Sie untersuchten im ganzen 40 Bindehäute von Patienten, deren Tränensäcke exstirpiert waren, auf ihren Keimgehalt. Von diesen konnten 30 als klinisch gesund gelten; alle 30 waren stark bakterienhaltig, und zwar wurde 29 mal Xerosebacillen, 17 mal *Staphylococcus albus*, 6 mal *Staphylococcus aureus*, 2 mal Pneumokokken und 3 mal Diplobacillen gefunden. Die Zahl der mit einer Doppelöse aus der unteren Übergangsfalte abgeimpften Bakterien war im Vergleich zu der von normalen Conjunctiven mit normalem Tränenabfluss sehr gesteigert. Wenn trotzdem die Bindehaut klinisch normal war, so erhellt daraus, dass die Tränensackexstirpation nur eine quantitative

Vermehrung, aber keine Virulenzsteigerung und Erhöhung der Infektiosität im Gefolge habe. Damit sei auch ein Schluss auf die grosse Bedeutung der mechanischen Fortspülung und auf die untergeordnete Rolle, welche die baktericiden Eigenschaften der Tränen spielen, gestattet. —

So schreibt denn auch Axenfeld (32) den Tränen nur eine beschränkte Baktericidie zu. Ausschliessen möchte er sie gänzlich für die Bacillen der Diphtheriegruppe, nachdem er die enorme Vermehrung der Xerosebacillen in den eben angeführten Versuchen von Plaut und Zelewski gesehen hat. Und wenn auch eine gewisse bakterientötende Rolle den Tränen dem *Staphylococcus aureus* gegenüber zukomme, so sei sie nicht für andere Infektionserreger erwiesen. Wünschenswert seien daher vor allem Untersuchungen, in denen die Wirkung der Tränen auf andere für die Conjunctiva wichtige pathogene Keime geprüft würden. Versuche, die Blair mit Gonokokken und Ogawa mit Pneumokokken in seinem Laboratorium angestellt haben, ergeben keine Baktericidie; sie scheinen aber nicht zu einer völligen Entscheidung dieser Frage geführt zu haben, hält er selbst sie doch noch der Ergänzung und Vervollständigung bedürftig.

Von den als Erreger von Conjunctividen in Betracht kommenden Mikroorganismen hat in neuerer Zeit zur Nedden (33) einen aus einer Hypopyonkeratitis gezüchteten *Diplobacillus Morax-Axenfeld*, welcher hinsichtlich seines Wachstums auf künstlichen Nährböden ausnahmsweise so anspruchslos war, dass er auf Glycerinagar gedieh, als willkommenes Testobjekt neben Typhus- und Dysenteriebacillen benutzt. Er experimentierte zunächst mit Tränen von normalen und katarrhalisch erkrankten Bindehäuten — über ihre Gewinnung wird nichts Genaueres verlautet — und konstatierte in ihnen das völlige Fehlen einer für die 3 Keimarten baktericiden Kraft, welche sich im Blutserum der entsprechenden Individuen leicht nachweisen liess. Indem zur Nedden zwischen seröser Tränenflüssigkeit und Bindehautsekret, d. h. dem schleimigen, flockigen oder eitrigen Absonderungsprodukt der Conjunctiva unterscheidet, dehnte er seine Untersuchungen auch auf normales und pathologisches Bindehautsekret aus. Leider vermissen wir genauere Versuchsprotokolle, die ich mit Rücksicht auf die mannigfaltigen Berührungspunkte, die seine Arbeit mit der meinen bietet, sehr begrüsst hätte.

Da ich später auf die Versuche mit den pathologischen Bindehautsekreten zurückkommen werde, sei hier nur erwähnt, dass das der normalen Conjunctiva, welches zur Nedden in Gestalt von etwas Schleim morgens aus der Übergangsfalte und dem inneren Augenwinkel abnahm, keine baktericiden Eigenschaften besass, dass jedoch bei den verschiedenen Formen von Conjunctivitis das Absonderungsprodukt stets bakterientötende Kraft zeigte. Diese ging durch $\frac{3}{4}$ stündliches Erhitzen auf 58° verloren, weshalb zur Nedden die baktericiden Substanzen des Sekretes mit den im normalen Blute vorhandenen identifizierte.

In seiner letzten Mitteilung weist zur Nedden (34) darauf hin, dass die Tränenflüssigkeit und das normale Bindehautsekret der Opsonine ebenso wie des Alexines entbehre, indem die Leukocyten in ihnen nicht mehr als in physiologischer Kochsalzlösung phagocytieren, dass dagegen die Normalopsonine in die katarrhalischen Sekrete der Conjunctiva übertreten.

Schliesslich hat Lindahl (35) bei seinen Versuchen eine ungleichmässige Wirkung der Tränenflüssigkeit auf Pneumokokken und Streptokokken beobachtet. Er erklärt sich dies daraus, dass verschiedene Kulturen und Tränen verschiedener Patienten verwendet wurden. Die baktericide Wirkung führt er auf enzymartige Eiweisskörper zurück, die durch Erwärmen vernichtet wurden, aber trotzdem nicht aus dem Serum, sondern aus den Tränendrüsen oder der Bindehaut stammen sollen.

Es kann zunächst als Ergebnis der bisherigen Versuche bezeichnet werden, dass der Lidschlag und die physiologische Berieselung als mechanischer Vorgang für die Selbstreinigung der Bindehaut sicherlich grösste Bedeutung besitzt. Was die bakterienfeindliche Wirkung der Tränen betrifft, so kann ein grosser Glaube an sie nicht mehr entstehen. Allerdings scheinen für sie in einem gewissen Grade die Resultate einer Anzahl von Autoren (Bernheim, Marthen, Bach, Helleberg, Lindahl) zu sprechen. Die Beweiskraft aber dieser Versuche wird teilweise dadurch beeinträchtigt, dass, was ihre Technik anbelangt, sie kaum vor einer strengeren, auf den jetzigen bakteriologischen Erfahrungen fussenden Kritik bestehen können. Dann aber ist zu berücksichtigen, dass mangels genügender normaler Tränenflüssigkeit ohne Bedenken mit Sekret kranker Augen experimentiert worden ist. Auch die nach Einatmen von Ammoniakdämpfen secernierten Tränen gesunder Augen können nicht als normal gelten, gibt doch Bernheim selbst an, dass sie meist trüb waren, und sieht Bach von der Verwendung von Ammoniakdämpfen deshalb ab, weil er bei Kaninchen beobachtet hatte, dass dadurch die Tränen sehr getrübt waren.

Beachtenswert ist immerhin die Wirksamkeit gegenüber Staphylo-, Strepto- sowie Pneumokokken und die Thermostabilität der Baktericide, welche einzelne Autoren bei ihren Untersuchungen konstatiert haben, und die sie zu den verschiedensten Deutungen hinsichtlich der Natur der baktericiden Substanz geführt haben.

Echte Tränen standen eigentlich nur Ahlstroem zur Verfügung; die Retentionsflüssigkeit, die Valude verarbeitet hat, kann nimmermehr dem physiologischen Produkt der menschlichen Tränendrüse gleichgesetzt werden.

II. Eigene Versuche.

Die Schwierigkeit der Behandlung der Frage nach den baktericiden Eigenschaften der Tränen liegt vor allem in der Beschaffung genügenden Untersuchungsmateriales und dem exakten Arbeiten mit kleinen Quantitäten, sowie in der zweckmässigen Gestaltung des bak-

tericiden Reagenzglasversuches. Die Überwindung dieser technischen Schwierigkeiten nun ist mir gelungen, und ich glaube mit meiner Versuchsanordnung zu einer zutreffenden Lösung der vorliegenden Frage gelangt zu sein.

Sind auch meine Versuche vorwiegend an Kaninchen angestellt, so lässt sich meine Methode unter entsprechender Modifikation auch beim Menschen verwenden.

Der Kunstgriff bei der Gewinnung der Tränen zunächst besteht darin, dass ich die Tränenflüssigkeit im Bindehautsack durch Wattebäusche aufsaugen liess und diesen wieder die aufgenommene Flüssigkeit völlig entzog. Die Wattebäusche wurden in der Weise vorbereitet, dass gewöhnliche entfettete Verbandwatte erst mehrere Tage in fliessendem Wasserleitungswasser und dann in mehrmals erneutem destilliertem Wasser gehalten wurde. Hierauf wurde sie getrocknet, in kleinere Flecken geschnitten, und sorgfältig sterilisiert. Dies geschah entweder im Trockensterilisator durch mehrmalige vorsichtige Erhitzung, wobei zur Vermeidung von etwaigen desinfizierenden Verbrennungsstoffen jede Bräunung der Watte verhütet werden muss, oder im Dampfsterilisator mit nachherigem gutem Trocknen. Von dieser Watte nun wurden kleine lockere Bäusche mit sterilen Pincetten unter Verhütung der Berührung der Lidränder in den oberen und unteren Teil des Bindehautsackes eingelegt. Die Lider wurden dann mit einer feinen, durch die äussere Lidhaut gelegten Suture oder mit Dieffenbachschen Klemmen geschlossen gehalten. Nach $\frac{1}{2}$ bis 8 Stunden erfolgte die Herausnahme der mehr oder minder mit Flüssigkeit getränkten Wattebäusche. Durch den mechanischen Reiz derselben injiziert sich meist die Conjunctiva, und wird die Tränenabsonderung gesteigert, zu einem Austritt von Blut kommt es jedoch nicht, so dass die Bäusche ungefärbt sind, wenn nicht zufällig ein Tröpfchen Blut von der Lidnaht in den Bindehautsack geflossen ist.

Um die Flüssigkeit den Bäuschen restlos zu entziehen, benutzte ich folgende einfache Vorrichtung (siehe Abbildung). Ein gewöhnliches spitzes Zentrifugenröhrchen von 10—12 cm Inhalt und ungefähr 1,5 cm lichte Weite wird mit einem doppelt durchbohrten Gummipfropfen verschlossen. Durch die eine seiner Öffnungen geht ein knieförmig gebogenes Glasrohr, durch die andere der auf ungefähr 2 mm Durchmesser verjüngte Teil eines trichterförmig ausgezogenen Stückes Reagenzrohr. In diesen Trichter bringt man die feuchten Wattebäusche, drückt sie mehr oder minder fest in der Verjüngungsstelle zusammen, während man durch Verbindung des Knierohres mit einer Wasserstrahlpumpe in dem Zentrifugenröhrchen das nötige Vakuum herstellt¹⁾.

¹⁾ Diese Wattebauschmethode haben wir bereits früher (loc. cit.) zur Gewinnung der Unterhautzellgewebslymphe benutzt. Das Prinzip, das Sammeln der Flüssigkeit durch Aufsaugenlassen zu bewerkstelligen, hat mein Verfahren mit der von Schirmer: Mikroskopische Anatomie und Physiologie der Tränenorgane, Graefe-Saemisch, Handb. d. ges. Augenheilk. Bd. I. Kap. 7. 1904

Die abgesaugte Flüssigkeit ist meist durch mitgerissene Wattefaserchen etwas getrübt und wird daher zentrifugiert. Alsdann stellt sie eine farblose oder blassgelbliche klare Flüssigkeit dar, die nicht gerinnt und in den meisten Fällen keine oder nur so wenige Keime enthält, dass sie nicht stören. Hier und da enthielt der ausgeschleuderte Bodensatz einige Epithelien, Erythrocyten oder polymorphkernige Leukocyten. Der Ertrag an Tränenflüssigkeit aus den Wattebüschen eines Auges belief sich je nach der Dauer des Verweilens im Bindehautsack auf $\frac{1}{2}$ —1 ccm.

Diese Quantität genügt bei meiner Methodik vollkommen zur exakten Durchführung des baktericiden Versuches. Zum Abmessen der Flüssigkeitsmengen besitze ich in reichlicher Anzahl genau geeichte Kapillarpipetten, die oben mit einem kleinen Kautschukballon versehen werden und mit denen sich unschwer 0,01—0,1 ccm abmessen lässt. Grosse Sorgfalt muss auf ihre Reinigung verwendet werden; nach dem Gebrauch kommen sie in eine ungefähr 10 prozentige Sodälösung und aus dieser nach Abspülen mit Wasser in ein Gemisch von 6 prozentiger Kaliumbichromatlösung und konzentrierter Schwefelsäure. Hierin werden sie erwärmt, dann mit Leitungs- und destilliertem Wasser gründlich durch- und abgespült, getrocknet und in weiten Reagenzröhren bei 160° sterilisiert.

Als Testobjekte wurden die hauptsächlichsten der für die Conjunctiva und für das Auge im allgemeinen pathogenen Keime herangezogen. Es wurde darauf gesehen, dass die Mikroorganismen nicht alte Sammlungsobjekte, sondern möglichst frisch aus dem

Ausgangsmaterial gezüchtet und virulent waren. Leider konnte ich trotz vieler Bemühungen nicht in den Besitz des Koch-Weeksschen Bacillus gelangen.

Die Bakterienemulsionen wurde jeweils von höchstens 14 Stunden alten Kulturen dargestellt; und zwar wurden fast durchgehends von Kulturen auf festen Nährböden (Agar, Löfflerseum) ausgegangen. Das Kulturmaterial wurde mit der 1 mg Aqua destillata fassenden Platinöse in

angewendeten Methode gemein, worauf mich Herr Geheimrat Eversbusch aufmerksam zu machen die Güte hatte. Schirmer mass die abgesonderten Tränenmengen in der Weise, dass er Fliesspapierstreifen von 3,5 cm Länge an einem Ende umbog, das umgebogene 0,5 cm lange Stück hinter das Unterlid schob, und die Länge der in einer gewissen Zeit befeuchteten Strecke des Streifens notierte.

einer Flüssigkeit aufgeschwemmt und weiter verteilt, von der im Vorversuch festgestellt war, dass sie den betreffenden Keim nicht schädigte; meist war es physiologische Kochsalzlösung mit Bouillon oder Serumzusätzen. Um mit der Aufschwemmungsflüssigkeit möglichst wenig Stoffe, die etwa vorhandene baktericide Substanzen paralysieren konnten, den Proben zuzusetzen, wurde die gewünschte Keimzahl in nur 0,05 ccm Flüssigkeit emulgiert in die zu untersuchenden Tränen eingesät.

Die Aussaaten zu den verschiedenen Zeiten wurden in der Regel mit der sogenannten grossen Öse, die genau 0,0125 g Aqua destillata von 15° C. fasst, gemacht. Da nun eine Reihe der in Betracht kommenden Mikroorganismen in Gelatine und Peptonagar nicht gedeihen, so wurden die jeweils den Röhren entnommenen Proben nicht, wie sonst üblich ist, in diesen verflüssigten Nährboden verteilt und dann Platten gegossen, sondern der Inhalt der grossen Öse wurde auf Petrischalen, die das den Keimen zusagende Medium: Agar, Serum-, Glycerin-, Blutagar, Löffler Serum in erstarrtem Zustande enthielten, ausgestrichen. Dass dies ohne Beeinträchtigung der notwendigen Genauigkeit geschehen durfte, war in Vorversuchen festgestellt und lässt sich auch aus den anzuführenden Versuchsprotokollen entnehmen. Gewöhnlich wurden Aussaaten sofort, 1, 3, 7 und 24 Stunden nach der Impfung der Röhren gemacht.

Baktericide Versuche mit normaler Kaninchentränenflüssigkeit.

Versuch I.

Dem Tier werden beiderseits Wattebäusche unter die Lider eingelegt, diese durch je eine Suture, welche durch die Haut in der Nähe der Lidränder ging, geschlossen. Nach 6 Stunden Herausnahme der gut durchfeuchteten Bäusche. Nach Absaugen derselben und Zentrifugieren werden fast 2 ccm einer klaren, blassgelblichen Flüssigkeit erhalten, die sich so gut wie keimfrei erweist. Gleichzeitig wird dem Tier etwas Blut entzogen und von dem aus diesem ausgepressten Serum, sowie von der Tränenflüssigkeit je eine Portion eine Stunde auf 56° erhitzt.

Baktericider Versuch. Typhusbacillen.

Inhalt der Röhren je 0,5 ccm; davon 0,05 ccm verdünnte Aufschwemmung von einer 12 Stunden alten Typhusbacillen-Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung, der einige Tropfen Bouillon zugesetzt sind. Aussaat mit grosser 0,0125 ccm fassender Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden auf in Petrischalen erstarrtem Agar.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum	105	30	7	4	0
0,45 „ inakt. „	103	106	185	reichl.	∞
0,45 „ akt. Tränensekret	105	109	204	„	∞
0,45 „ inakt. „	100	114	213	„	∞

Im folgenden Versuch wurde mit Absicht ein Typhusbacillus (Stamm „Gabersee“) verwendet, von dem mir bekannt war, dass Kaninchen Serum ihn so gut wie nicht abtötet.

Versuch II. Typhusbacillen.

Die Wattebäusche werden nach Vernähung der Lidränder 2 $\frac{1}{2}$ Stunden im Bindehautsack belassen und sind bei der Herausnahme mässig durchtränkt. Die abgesaugte und zentrifugierte Flüssigkeit ist fast farblos, steril und beträgt je 0,7 ccm bei einem Auge.

Baktericider Versuch.

Inhalt der Röhren je 0,5 ccm; davon 0,05 ccm verdünnte Emulsion einer 13 Stunden alten Agarkultur von Typhus „Gabersee“ in physiologischer Kochsalzlösung, der einige Tropfen Bouillon zugesetzt sind. Aussaaten mit der grossen Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden auf Agar ausgestrichen.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Kaninchen Serum	74	62	64	89	196
0,45 „ „ Tränensekret	76	66	58	105	115

Versuch III.

Schon nach $\frac{1}{2}$ stündigem Verweilen im geschlossenen Bindehautsack eines Auges werden die Bäusche herausgenommen und ihrer spärlichen Flüssigkeit beraubt.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhren nur 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Aufschwemmung einer 12stündigen Agarkultur von Staphylococcus pyogenes aureus in mit etwas Bouillon versetzter physiologischer Kochsalzlösung. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden durch Ausstreichen auf Agar.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 ccm akt. Tränensekret	127	158	205	450	∞

Versuch IV.

0,6 ccm Flüssigkeit lieferten die Bäusche eines Auges, nachdem sie 2 Stunden im Bindehautsack gelegen hatten. Behufs Gewinnung von Serum wurde dem Tier etwas Blut entzogen.

Baktericider Versuch. Streptokokken.

Inhalt der Röhren 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Emulsion einer 12 Stunden alten Agarkultur von Streptokokken in physiologischer Kochsalzlösung,

die 10 $\frac{0}{10}$ Bouillonzusatz enthält. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach $\frac{3}{4}$, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach $\frac{3}{4}$ Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 cem akt. Kaninchenserum	177	203	reichl.	sehrreichl.	∞
0,3 „ „ Tränensekret	165	189	„	reichl.	∞

Versuch V.

2 Stunden hatten die Wattebäusche diesmal im Bindehautsack gelegen und aus einem Auge 0,77 cem blassgelblicher Flüssigkeit ergeben. Vergleichshalber wird auch Serum für den baktericiden Versuch gewonnen.

Baktericider Versuch. Pneumokokken.

Inhalt der Röhrchen 0,4 cem; davon 0,05 cem Aufschwemmung von Pneumokokken, Stamm Römer, der nach intraperitonealer Injektion von 0,0025 cem einer Pferdeserumbouillonkultur eine Maus in 24 Stunden tötete. Aufschwemmungsflüssigkeit ist physiologische Kochsalzlösung mit 10 $\frac{0}{10}$ Pferdeserumbouillonzusatz und die Einsaat enthielt $\frac{1}{20.000}$ cem einer 14stündigen Pferdeserumbouillonkultur. Aussaat mit grosser Öse durch Aufstreichen auf Löffler Serum in Petrischalen sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,35 cem akt. Kaninchenserum	196	190	275	—	reichl.
0,35 „ „ Tränensekret	194	235	155	26	0

Nach diesem Versuche könnte es fast scheinen, als ob das Sekret die Pneumokokken abzutöten vermöge. Dem widerspricht jedoch das Ansteigen der Keimzahl in der ersten Stunde; es macht vielmehr den Eindruck, dass die eingesäten Pneumokokken nach anfänglicher Vermehrung und Erschöpfung der hierzu notwendigen Stoffe spontan zugrunde gehen. Diese Ansicht bekräftigt der nächste Versuch, in dem dasselbe Tränensekret gegenüber echten Diphtheriebacillen, die hinsichtlich des Nährbodens weniger anspruchsvoll sind, geprüft wurde, sowie Versuch XI und XIa.

Versuch VI.

Dasselbe Tränensekret und dasselbe Serum wie im Versuch V wird am gleichen Tage auf sein Verhalten gegen Diphtheriebacillen untersucht.

Baktericider Versuch. Diphtheriebacillen.

Inhalt der Röhrchen 0,4 cem; davon 0,05 cem Aufschwemmung einer 14stündigen Kultur von Diphtheriebacillen auf Löffler Serum. Die Emulsion

wird in physiologischer Kochsalzlösung, die mit 10 % Pferdeserumbouillon versetzt ist, gemacht. Aussaat mit grosser Öse durch Ausstreichen auf Löffler-serum sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,35 ccm akt. Kaninchenserum	130	141	188	ungefähr 600
0,35 „ „ Tränensekret	125	121	375	„ 700

Auch der nächste Versuch bestätigt die vollkommene Unwirksamkeit des Kaninchensерums wie der Bindehautflüssigkeit gegen Diphtheriebacillen.

Versuch VII.

Aus den Wattebäuschen, die $2\frac{1}{4}$ Stunden im Bindehautsack eines Auges gelegen haben, werden 0,6 ccm Flüssigkeit gewonnen und ebenso wie das Serum des Tieres gegenüber Diphtheriebacillen geprüft.

Baktericider Versuch. Diphtheriebacillen.

Inhalt der Röhrcchen je 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Diphtheriebacillenaufschwemmung einer 12 Stunden alten Kultur in physiologischer Kochsalzlösung, die 10 % Pferdeserumbouillon enthält. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler-serum sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	171	160	212	∞
0,3 „ „ Tränensekret	200	227	242	reicht.

Dass die den Diphtheriebacillen stammesverwandten Xerosebacillen sich Kaninchenserum und Tränensekret gegenüber ähnlich verhalten, zeigt der nächste Versuch.

Versuch VIII.

Das verwendete Tränensekret wurde aus Wattebäuschen, die $2\frac{1}{2}$ Stunden im Bindehautsack gelegen hatten, ausgesaugt und zentrifugiert, wonach eine lichtgelbe Flüssigkeit resultierte.

Baktericider Versuch. Xerosebacillen.

Inhalt der Röhrcchen je 0,5 ccm; davon wieder 0,05 ccm Emulsion einer 12stündigen Löffler-serumkultur von Xerosebacillen, die von einer leicht katarrhalisch affizierten menschlichen Conjunctiva sofort in Reinkultur gezüchtet waren. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung mit 10 % Bouillonzusatz. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler-serum sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum	44	53	84	140	77
0,45 „ „ Tränensekret	47	50	78	131	102

Dass die normale Conjunctivalflüssigkeit dem *Diplobacillus Morax-Axenfeld* reichliche Vermehrung gestattet, während Kaninchen- — und auch nebenbei bemerkt — Menschenserum ihn energisch abtötet, erkennt man aus folgendem Versuch.

Versuch IX.

Das $2\frac{1}{4}$ stündige Sekret und das Serum ist mit dem von Versuch VII identisch. Das Menschenserum ist durch Punktion der Vena mediana von einem gesunden Menschen entzogen.

Der benutzte *Diplobacillus* stammte aus der Klinik Axenfelds und gedieh auf unserm Fleischwasserpeptonagar recht gut, so dass im baktericiden Versuch die Aussaaten auch auf Agar hatten gemacht werden können; da jedoch bei vergleichenden Untersuchungen immer etwas mehr Kolonien auf Löfflerserum als auf Agar angegangen waren, wurden die den Röhren entnommenen Proben durchgehends auf Löfflerserum ausgestrichen.

Baktericider Versuch. *Diplobacillen*.

Inhalt der Röhren je 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Aufschwemmung von einer 12stündigen Agarkultur des *Diplobacillus* in physiologischer Kochsalzlösung, der 10% Pferdeserumbouillon beigemischt ist. Aussaat mit grosser Öse auf Löfflerserum sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	118	0	0	0
0,3 „ „ Menschenserum	116	0	0	0
0,3 „ „ Tränensekret	113	118	310	∞

Die grosse Hinfälligkeit im Serum und im Gegensatz dazu die gute Entwicklung in der Conjunctivalflüssigkeit wurde für *Diplobacillen* eigener Züchtung noch in einigen andern Versuchen der gleichen Art beobachtet.

Infolge einer kleinen Genickstarreepidemie, welche bei einem hiesigen Truppenteile ausgebrochen war, war es mir möglich, auch den *Meningococcus* mit in den Bereich meiner Untersuchungen zu ziehen. Der als Testobjekt verwendete Stamm rührte von einem Falle her, der in 30 Stunden letal geendet hatte, und war erst 2mal auf Löfflerserum gezüchtet.

Versuch X.

Zur Aufsaugung der Conjunctivalfüssigkeit hatten sich die Wattebäusche 2 Stunden im Bindehautsack befunden. Sekret und Serum spendete natürlich dasselbe Tier.

Bakterieider Versuch. Meningokokken.

Inhalt der Röhren je 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Meningokokkenaufschwemmung. Und zwar wurde eine Öse Löfflerserumkultur in 10% Pferdeserumbouillon enthaltender Kochsalzlösung emulgiert. Aussaat mit grosser Öse auf Löfflerserum sofort, nach 1, 3 und 8 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	116	1	0	0
0,3 „ „ Tränensekret	118	135	320	—

Als Ergänzung zu Versuch V, in dem die Pneumokokken im Gegensatz zu den Diphtheriebacillen im normalen Conjunctivalsekret langsam absterben, seien zwei Versuche noch hier angeführt, welche die geringe Widerstandsfähigkeit des Pneumococcus erkennen lassen und meiner Vermutung recht geben, dass sein Zugrundegehen wohl weniger durch baktericide Substanzen als durch schlechte Ernährungsverhältnisse verursacht werde.

Versuch XI.

Einem Kaninchen wird in den Bindehautsack eines Auges Watte auf 1½ Stunden eingelegt. Das aufgesaugte Sekret beträgt 0,4 ccm; ausserdem wird etwas Blut aus der Ohrrendvene entzogen.

Bakterieider Versuch. Pneumokokken.

Inhalt der Röhren je 0,4 ccm; davon 0,05 ccm Pneumokokkenaufschwemmung in physiologischer NaCl-Lösung mit 10% Pferdeserumbouillon-zusatz. Aussaat mit grosser Öse auf Löfflerserum sofort, nach 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,35 ccm akt. Kaninchenserum	68	112	ungefähr 600	—
0,35 „ „ Tränensekret	67	70	67	5
0,35 „ phys. NaCl-Lösung	60	56	29	14

Das Tränensekret verhält sich gegenüber den Pneumokokken in diesem Versuch fast wie physiologische Kochsalzlösung.

In dem folgenden Versuche scheint eine geringe Spur bakteri-

cider Substanz unter dem Reiz der Wattebäusche in das Tränensekret übergegangen zu sein, das eine langsame Vernichtung der hinfälligen Pneumokokken bedingt.

Versuch XIa.

Beim Kaninchen werden auf beiden Augen Wattebäusche unter die Lider geschoben und $1\frac{1}{4}$ Stunden daselbst gelassen. Dann wird die aufgenommene Flüssigkeit in der üblichen Weise den Bäuschen entzogen und zentrifugiert. Ausserdem wird dem Tiere etwas Blut zur Gewinnung von Serum entzogen, von letzterem und von dem Tränensekret werden Proben 30 Minuten auf 56° erhitzt.

Baktericider Versuch. Pneumokokken.

Inhalt der Röhrchen je 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Pneumokokkenemulsion in physiologischer Kochsalzlösung mit 10 prozentigem Zusatz von Pferdeserumbouillon. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler Serum sofort, nach 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	75	82	ungefähr 500	∞
0,3 „ inakt. „	74	91	„ 500	∞
0,3 „ akt. Tränensekret	70	49	„ 2	1
0,3 „ inakt. „	78	19	1	0

Versuche mit Gonokokken scheiterten gänzlich, indem letztere in dem erhitzten wie in dem nicht erhitzten Serum und Tränensekret des Kaninchens rasch abstarben, obgleich die aus frischem Urethral-eiter gezüchteten Kokken aus Ascitesagar verhältnismässig gut gediehen.

Aus den angeführten Versuchen geht also hervor, dass die normalerweise im Bindehautsack anzutreffende Flüssigkeit, die ich kurz Tränensekret oder auch Conjunctivalflüssigkeit genannt habe, und die eine Mischung der Absonderungsprodukte, Tränen-drüse und der Bindehaut darstellt, aktiver baktericider Stoffe entbehrt.

Die Abnahme der Pneumokokken in obigen Beispielen habe ich schon als ein durch die Ungunst des Nährmediums bedingtes spontanes Absterben charakterisiert. Dies ist wohl auch bei dem anspruchsvollen und empfindlichen Gonococcus die hauptsächlichste Ursache für die Raschheit, mit der er in allen Flüssigkeiten im Vitroversuch zugrunde geht.

Bei dem weitgehenden Parallelismus, der zwischen der baktericiden, hämolytischen und opsonierenden Aktion des normalen Serums besteht, musste eine Orientierung, wie sich hinsichtlich der

beiden letzteren die Conjunctivalflüssigkeit verhält, von Interesse sein. Dies um so mehr, als im allgemeinen der hämolytische Versuch eine noch feinere Reaktion zum Nachweise etwa vorhandenen Alexins ist als der baktericide.

Mehrmals daher wurden vergleichende Untersuchungen über die globulicide Kraft des Tränensekretes und des entsprechenden Kaninchenserums angestellt. Das stets gefundene Ausbleiben der Auflösung der Erythrocyten in der Conjunctivalflüssigkeit illustrierte der folgende Versuch.

Versuch XII.

Das Tränensekret und Blutserum ist identisch mit dem im Versuch I gegen Typhusbacillen geprüften.

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 3 ccm; davon a. 1 ccm einer 5 prozentigen Aufschwemmung gewaschener Ziegenblutkörperchen und b. 1 ccm einer Verdünnung (1 : 320) eines inaktiven Antiziegenblutkörperchenserums vom Kaninchen. a. und b. werden $\frac{1}{2}$ Stunde vor Beginn des Versuches bei Zimmertemperatur miteinander gemischt. Auffüllungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn. 38°
0,2 ccm akt. Kaninchenserum	vollständig
0,1 „ „ „	„
0,05 „ „ „	fast vollständig
0,3 „ inakt. „	keine
0,3 „ akt. Tränensekret	„

Ebensowenig wie von einer baktericiden und hämolytischen Wirkung kann von einer eigentlichen opsonierenden bei der normalen Conjunctivalflüssigkeit die Rede sein. Dies konstatierte ich an mehreren in der früher geschilderten Weise ausgeführten Phagocytoseversuchen.

Wohl nahmen die Kaninchenleukocyten nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde die dargebotenen Typhusbacillen und Staphylokokken etwas besser in aktiver Tränenflüssigkeit als in inaktivem Kaninchenserum, dem bekanntlich ein hemmender Einfluss zukommt, auf, doch liess sich die Phagocytose nicht mit der intensiven und sogleich einsetzenden im aktiven Kaninchenserum vergleichen.

Es kann somit auf Grund meiner Versuche jede Alexinwirkung wie bakteriolytische Wirkung überhaupt der normalen Tränen und Conjunctivalflüssigkeit beim Kaninchen ausgeschlossen werden. Man darf daher wohl auch annehmen, dass beim lebenden Tier und Men-

schen keine baktericiden Substanzen in jene Sekrete normalerweise übergehen, und dass eine aktive desinfizierende Wirkung der Tränen bei der Selbstreinigung des Bindehautsackes **keine** Rolle spielt.

Demnach müssen auch wir in den mechanischen Momenten die wichtigsten Faktoren für die Regulierung des Keimgehaltes des Bindehautsackes erblicken. Es sei jedoch hier auf einen Punkt hingewiesen: Erstaunlich ist die rasche Abnahme der Zahl der Mikroorganismen, die nach künstlicher Infektion mit der Platinöse aus dem Conjunctivalsack wieder entnommen werden können. Van Genders Stort und Bach haben ziffernmässige Zusammenstellungen nach eigenen Versuchen mitgeteilt, bei denen selbst von grossen Mengen eingeführter Bakterien schon nach kurzer Zeit — nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde — keine oder nur wenige Exemplare nachzuweisen waren. Folgende zwei Beispiele, die höchstens hinsichtlich der Art der implantierten Keime etwas Neues bieten, sollen diese Erscheinung nochmals vor Augen führen.

Versuch XIII.

Einem Kaninchen mit gesunder Conjunctiva und normalen Tränenwegen wird 0,05 ccm einer 12 stündigen Pferdeserumbouillonkultur von Pneumokokken in den unteren Bindehautsack unter Abhebung des Lides instilliert. In bestimmten Intervallen wird mit Platinöse etwas von dem Inhalt des Conjunctivalsackes entnommen und auf Löfflerserum ausgestrichen.

Zeit nach der Infektion	Zahl der Kolonien
sofort	unzählige
nach 20 Minuten	reichliche
„ 40 „	126
„ 60 „	14
„ 90 „	0

Versuch XIV.

Einem gesunden Kaninchen werden in 0,05 ccm Aufschwemmungsflüssigkeit ungefähr 10 Millionen Diplobacillen eingeträufelt. Von Zeit zu Zeit wird auf Löfflerserum die über die untere Conjunctiva geführte Platinöse ausgestrichen.

Zeit nach der Infektion	Zahl der Kolonien
sofort	unzählige
nach 5 Minuten	„
„ 15 „	reichliche
„ 30 „	312
„ 45 „	40
„ 60 „	21
„ 2 Stunden	9
„ $2\frac{1}{2}$ „	14
„ 3 „	13

Es geht nun nicht an, diese rapid fortschreitende Reduktion der Koloniezahl allein als den Effekt des Lidschlages, der Berieselung und Verdünnung durch die Tränen und des Transportes nach der Nase zu anzusehen. Man würde diese Faktoren überschätzen, würde man die grosse Oberfläche, auf welche die in 0,05 ccm Aufschwemmungsflüssigkeit enthaltenen 10 Millionen Keime durch Kapillarattraktion beim Lidschluss verteilt werden, nicht berücksichtigen. Wieviel 100 qmm Bindehautoberfläche im Vergleich zu der schmalen Fläche, welche die nicht über 4 qmm messende Platinöse bestreicht! Wieviel Schlupfwinkel bieten sich den Keimen in den Falten und Taschen der Conjunctiva, besonders der des unteren und oberen Fornix.

Die Zahlen der Kolonien auf der Löfflerserumplatte spiegeln nicht den Grad des Verschwindens der Bakterien aus dem Bindehautsack wider. Die regulierende Wirkung der mechanischen Momente ist bei weitem nicht so gross als wie es bei künstlichen Infektionsversuchen und nach obigen Zahlen den Anschein hat. Man könnte sonst nicht begreifen, wie bei normalem Lidschlag und durchgängigen Tränenwegen der Bindehautsack relativ häufig eine nicht unbeträchtliche Zahl Keime enthalten kann. Ihr Schicksal wird jedenfalls durch das Zusammenwirken verschiedener Faktoren bestimmt; von diesen rangieren die bekannten mechanischen Momente wohl an erster Stelle, während die vielfach angenommene baktericide Eigenschaft der normalen Tränenflüssigkeit nicht existiert.

Einfluss der Adstringentia und Antiseptica auf die Baktericidie der Conjunctivalflüssigkeit.

Nachdem so die Vorfrage gelöst war, konnte an die Behandlung der eigentlich gestellten Aufgabe herangetreten und geprüft werden, wie sich die antibakterielle Aktion der Conjunctivalflüssigkeit nach Anwendung der hauptsächlich bei der Behandlung von Bindehauterkrankungen in Betracht kommenden Heilmittel gestaltet.

Allgemeines über die Wirkung der Adstringentia.

Seit langer Zeit spielen in der Therapie der Bindehauterkrankungen die „Adstringentien“ eine grosse Rolle. In Unkenntnis über die Ätiologie der Conjunctividen wurde bei ihrer Behandlung das Hauptaugenmerk auf ihre Symptome: die Rötung, Schwellung und Absonderung der Bindehaut und deren Beseitigung gerichtet. Man hatte Mittel gefunden, die infolge ihrer Fähigkeit mit dem Eiweiss der Sekrete und Zellen eigentümliche Verbindungen einzugehen und

so koagulierend zu wirken, den Symptomenkomplex des Bindehautkatarrhs heilend beeinflussen sollten. Wird ein solches Mittel in entsprechend konzentrierter Lösung auf eine Schleimhaut gebracht, so entsteht auf ihr ein häutchenförmiger Überzug, der sich wohl auch runzeln und die darunter liegende Schleimhaut in kleine Falten zusammenziehen kann; — daher der Name „Häutchenbildner“ — und „Adstringens“. Der therapeutische Effekt derselben sollte nun darin bestehen, dass nach Abstossung des Koagulationsschorfes und während der Neubildung der oberflächlichen Epithelschicht die entzündlichen Erscheinungen unter das frühere Niveau heruntergingen, und durch erneute Applikation der Mittel der Entzündungsgrad immer weiter herabgesetzt wurde.

Als man dann in gewissen Mikroorganismen die Erreger der meisten Conjunctivitiden kennen gelernt hatte, sah man neben dem symptomatischen Erfolg der durch die Adstringentien verursachten Escharabildung auch darin ein heilendes Moment, dass mit Abstossung der koagulierten, oberflächlichen Epithelschicht auch gleichzeitig die ihr anhaftenden Bakterien abgestossen wurden. Daneben rechnete man mit einer direkt desinfizierenden Wirkung der Adstringentia, die sich entsprechend ihrer Einwirkung auf lebendes tierisches und pflanzliches Eiweiss auch als Bakteriengifte, „Antiseptica“ — in vitro wenigstens — bewährt hatten.

Dies sind die Vorstellungen, die man sich von der Wirkung der Adstringentien gebildet hat, und wie sie in den zusammenfassenden Arbeiten von Th. Saemisch(36) und H. Snellen jr.(37), sowie in der von ihnen bis zum Jahre 1904 citierten umfangreichen Literatur zum Ausdruck gebracht sind.

Erst in neuerer Zeit wurde die Bedeutung der Adstringentien auch in anderer Richtung gewürdigt. Zur Nedden (loc. cit.) hatte, wie oben schon erwähnt wurde, im Sekret katarrhalisch erkrankter Bindehäute Dysenterie-, Typhus- und Diplobacillen abtötende Substanzen sowie Opsonine nachweisen können. Ausserdem hatte er wegen der Schwierigkeiten, die andere augenpathogene Bakterien für die einwandfreie Durchführung von Reagenzglasversuchen machen, im mikroskopischen Präparat die Veränderungen, welche die Keime im Bindehautsekret erleiden, ausser an Dysenterie- und Diplobacillen auch an Pneumokokken, Koch-Weeksschen Bacillen und Gonokokken studiert.

Brachte er in blennorrhoidisches Bindehautsekret Dysenteriebacillen, so wurden sie teilweise phagocytiert, teilweise gingen sie auch extracellulär zugrunde, was an ihrem Zerfall und ihrer schlechten Färb-

barkeit zu erkennen war. Diplobacillen wurden von den Leukocyten nicht aufgenommen, erlitten aber stellenweise nicht zu verkennende Veränderungen. Die Pneumokokken, Koch-Weeksschen Bacillen und Gonokokken untersuchte zur Nedden nicht in Reinkultur, sondern im Sekret der von ihnen infizierten Conjunctiven, indem er die betreffenden Sekretflocken im hohlgeschliffenen Objektträger bei 37° hielt. Morphologische Veränderungen waren nicht zu beobachten, jedoch soll hie und da eine Keimvermehrung nach einigen Stunden eingetreten sein.

Mit Recht erblickt zur Nedden in dem Wirksamwerden der pathologischen Conjunctivalsekrete die Folge einer Heilung bringenden Reaktion des infizierten Gewebes, indem die Entzündung den Austritt baktericider Substanzen aus dem Blute bedinge. Aufgabe der Behandlung der Conjunctivitiden nun sei es, die Selbstheilung im Sinne Biers durch Hyperämisierung der erkrankten Schleimhaut zu unterstützen; dies geschehe seit langer Zeit durch die Adstringentien.

Als zur Nedden die eben angeführten Untersuchungen und Erwägungen anstellte, war ihm von der Existenz der Leukine noch nichts bekannt. Für ihn kam als keimtötende Substanz nur das Alexin des Blutes in Frage. Dass er auf dieses die Wirkung der Sekrete zurückführt, erhellt auch aus seinem inzwischen erschienenen Vortrage (38), in welchem er behauptet, dass „das Blutserum schon unter normalen Verhältnissen für alle Arten von Mikroorganismen in hohem Masse bakterientötende Eigenschaften besitze“. Dem ist jedoch nicht so, bildet doch z. B. das Blutserum für eine Reihe Bakterien, Pneumokokken, Streptokokken, Diphtheriebacillen sogar einen guten Nährboden. Wenn also im Conjunctivalsekret derartige Infektionserreger zugrunde gehen sollen, so müssen neben dem Blutalexin noch andere Stoffe vorhanden sein. Im übrigen hat zur Nedden die Baktericidie der pathologischen Sekrete nur gegenüber solchen Bakterien geprüft, die der Alexinwirkung zugänglich sind.

In der oben citierten Publikation erwähnt in Beziehung auf meine Arbeit zur Nedden mit einigen Worten auch schon, wie er sich habe überzeugen können, dass die Leukocyten des blennorrhoeischen Bindehautsekretes sich bakterientötenden Sekretes entäussern können; doch stehe die Wirkung des letzteren hinter der des Serums zurück.

Hat auch somit zur Nedden, wie wir noch genauer sehen werden, das bakterientötende Moment der Conjunctivalsekrete nicht vollkommen erkannt, so hat er doch das Verdienst, auf die Möglichkeit hingewiesen zu haben, dass die Adstringentien durch Vermeh-

rung der baktericiden Substanzen der Entzündungsprodukte wirken könnten.

Aus der Schar der heute noch verwendeten Adstringentien habe ich für meine Versuche das *Argentum nitricum*, das Protargol und das *Zincum sulfuricum* ausgewählt. Diese drei Mittel empfahlen sich von selbst für die Experimente, sind sie doch in ihrer Wirkung und hinsichtlich der Indikation ihrer Anwendung am besten studiert und auch heute noch allen Ersatzpräparaten zum Trotz am meisten im Gebrauch.

Argentum nitricum.

Es ist der Veteran der Adstringentien, indem es schon anfangs des 18. Jahrhunderts von St. Yves als Augenheilmittel benutzt wurde. Und heute marschiert es immer noch an der Spitze, nachdem A. v. Graefe (39) es 1854 der Vergessenheit entzogen und die Prinzipien seiner Wirkungsweise und Anwendung in seiner klassischen Arbeit fixiert hat. Eine besondere Wertschätzung erfuhr das Silbernitrat, als es vor 28 Jahren in Gestalt des Credé'schen Tropfens als Prophylaktikum der Ophthalmoblenorrhoea neonatorum seine Einführung fand. Als solches und als Adstringens erfreut es sich, wie gesagt, auch heute noch bei allen akuten, mit Schwellung und starker Sekretion einhergehenden Katarrhen der Conjunctiva allgemeiner Beliebtheit. In 1—2prozentiger Lösung wird es empfohlen und seine Wirkung auch in den neuesten Lehrbüchern von Fuchs (40) und Axenfeld (41) noch als besonders auf seiner Schorfbildung in oben skizzierten Sinne beruhend gedeutet.

Eigene Untersuchungen.

In meinen Versuchen wurde das *Argentum nitricum* meist in 1prozentiger Lösung verwendet. Ein oder mehrere Tropfen derselben wurden unter Abhebung des Unterlides in den unteren Bindehautsack eingeträufelt und dann durch leichtes Streichen mit den Lidern für ihre gleichmässige Verteilung auf der Bindehaut gesorgt. Hierbei oder schon beim Anlegen des abgehobenen Lides fliesst der grösste Teil der Flüssigkeit milchig getrübt wieder ab, so dass die zur Neutralisation etwaigen überschüssigen Silbernitrats eingegossene physiologische Kochsalzlösung durch Chlorsilber kaum oder gar nicht getrübt wird.

Welches sind nun die Erscheinungen an dem Kaninchenauge nach der Instillation? Nehmen wir z. B. an, es sei 0,05 ccm einer 1prozentigen *Argentum nitricum*-Lösung in obiger Weise eingeträufelt und neutralisiert worden. Fast momentan überzieht sich die gespülte Conjunctiva mit einem weissbläulichen Häutchen, durch welches das darunter befindliche Rot der gleichmässig injizierten Schleimhaut zu

einem zarten Rosa gemildert wird. Auch die Cornea hat eine zarte oberflächliche Trübung bekommen. Die Tränenabsonderung ist etwas vermehrt, aber nicht so sehr, dass der Abfluss nach der Nase nicht genügt. In der noch klaren Flüssigkeit finden sich abgestossene Epithelien und bereits vereinzelte Leukocyten von schlechtem Aussehen. Nach ungefähr 10 Minuten schon beginnt die Abstossung des dünnen, weisslichen Schorfes, der zu Fäden zusammengerollt oder in Flocken zusammengeballt in den Canthus internus zu liegen kommt. Das Sekret staut sich im Bindehautsack etwas, vielleicht fliesst ein Tröpfchen am inneren Augenwinkel über und benetzt dessen äussere Haut. Macht man eine Viertelstunde nach der Instillation ein Ausstrichpräparat von der inzwischen makroskopisch leicht getrübten Conjunctivalflüssigkeit, so findet man neben zugrunde gegangenen Epithelzellen und deren karyolysierten Kernen polymorphkernige Leukocyten in nicht mehr geringer Anzahl. Indem sich nun die Eschara immer mehr ablöst und die gerötete Conjunctiva mit ihren injizierten Gefässen sich deutlicher präsentiert, sammelt sich das Sekret etwas reichlicher an; dies halte ich weniger durch eine weiter gesteigerte Absonderung, als dadurch verursacht, dass infolge einer inzwischen stärker gewordenen Schwellung der Conjunctiva der Abfluss durch die Tränenspalte behindert wird. Während der zweiten Viertelstunde schreitet die Trübung der Tränenflüssigkeit durch die in ihr suspendierten Schorfteilchen, isolierten Epithelien und ausgewanderten Leukocyten fort; sie erhält dadurch eine grosse Viskosität und mehr schmieriges Aussehen. Saugt man von ihr etwa $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Höllensteininstillation etwas auf, so zeigt sie milchige Trübung und im mikroskopischen Präparat neben den abgestossenen Epithelien und ihren Trümmern ziemlich zahlreiche Leukocyten. Während sich dann die Schleimhautoberfläche von den letzten Resten anhaftenden Schorfes befreit, behält das Sekret seine milchige Trübung, indem die Leukocyten immer zahlreicher werden und die Epithelien verschwinden. Allmählich sistiert auch die Leukocytenemigration, das Epithel der Conjunctiva regeneriert sich und nach einigen Tagen ist das Auge zu normalem Aussehen zurückgekehrt.

So etwa verläuft die Reaktion nach Instillation der geringen Mengen von 0,05 ccm 1prozentiger Silbernitratlösung. Ätzt man durch Benutzung grösserer Mengen oder konzentrierterer Lösungen stärker, so sind natürlich die entzündlichen Erscheinungen auch grösser; besonders hält die eitrige Sekretion länger an und die Restitutio ad integrum nimmt, wenn sie überhaupt eintritt, mehr Zeit in Anspruch.

Die Stärke der Reaktion ist bei gleicher Quantität und Konzentration auch individuell verschieden.

Das Charakteristische des Effektes der Argentuminstillation ist, wie wir gesehen haben, neben der Schorfbildung die rasche und intensive Leukocytenemigration. Nimmt man sich die Zeit und gibt man sich Mühe, so kann man, wie es in folgendem Versuch geschehen ist, das Sekret nach der Einträufelung in einer bescheidenen Menge sammeln und nach Trennung von den cellulären Bestandteilen auf seine baktericide Wirksamkeit untersuchen.

Versuch XV.

Einem Kaninchen werden in den Bindehautsack beider Augen je zwei Tropfen einer 1 prozentigen Silbernitratlösung eingeträufelt; letztere fliesst, milchig getrübt, sofort zum grössten Teile ab. Dann werden die Augen mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Eine Viertelstunde nach der Instillation wird mit Hilfe einer Kapillarpipette begonnen, das weissliche Sekret aus den Conjunctivalsäcken aufzusaugen — mit dem Resultat, dass in 15 Minuten 0,35 ccm desselben gesammelt werden — „Conjunctivalsekret I“ —. Eine Stunde nach der Einträufelung wird wieder etwas Sekret in der geringen Menge von 0,15 ccm aufgesaugt — „Conjunctivalsekret II“ —. Beide Flüssigkeiten werden klar zentrifugiert; der Bodensatz enthält zahlreiche Leukocyten, die im Bodensatz des Conjunctivalsekretes I mit reichlichen Epithelzellen vermischt sind. Ausserdem wird dem Tier etwas Blut entzogen; von dem ausgepressten Serum und der Conjunctivalflüssigkeit wird je 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt.

Baktericider Versuch.

Inhalt der Röhrechen 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Aufschwemmung von Typhusbacillen in physiologischer Kochsalzlösung, der einige Tropfen Bouillon zugesetzt sind. Auffüllungsflüssigkeit ist physiologische Kochsalzlösung. Aussaat mit grosser Öse (0,0125 ccm fassend) auf Agarplatten sofort nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,1 ccm akt. Kaninchenserum	123	29	0	38	reichlich
0,1 „ inakt. „	120	118	260	reichlich	∞
0,1 „ akt. Conjunct.-Sekret I	126	0	0	0	0
0,1 „ inakt. „ I	121	0	0	0	0
0,1 „ akt. „ II	116	1	0	0	0
0,45 „ phys. NaCl-Lösung	114	96	93	91	∞

Wir sehen also bei beiden Conjunctivalsekreten eine baktericide Wirkung auf die eingesäten Keime, die stärker als die des Serums ist und im Gegensatz zu dieser einhalbstündiges Erhitzen auf 56° verträgt.

Bei meinen weiteren Versuchen benutzte ich zur Gewinnung der Sekrete die früher geschilderte Wattebauschmethode. Dies war gestattet, nachdem früher festgestellt war, dass der Reiz der eingelegten Watte noch keinen Übertritt baktericider Substanzen veranlasst und der vorige Versuch gezeigt hatte, dass das Sekret infolge der Instillation des Adstringens allein baktericide Eigenschaft erhält. Allerdings kann nicht bestritten werden, dass durch die Summation des mechanischen und chemischen Reizes die entzündliche Reaktion wohl etwas verstärkt wird.

Versuch XVI.

Einem Kaninchen werden nach Instillation mehrerer Tropfen 1 prozentiger Höllesteinlösung und nachfolgender Neutralisation mit physiologischer Kochsalzlösung kleine Wattebäusche unter die Lider geschoben und diese durch je eine oberflächliche Hautnaht geschlossen gehalten. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden erfolgt die Herausnahme und Absaugung der farblosen Bäusche, die eine 1,4 ccm betragende, weissgelbliche Flüssigkeit liefern. Nach Entnahme der Watte wird aus einem Bindehautsack 0,05 ccm des noch in ihm befindlichen milchigen Sekretes aufgesaugt und behufs Feststellung der Lebensfähigkeit der Leukocyten hierzu $\frac{1}{10}$ Öse einer Typhusbacillenkultur, welche in 0,05 ccm einer 4 ‰ natriumzitrathaltigen physiologischen Kochsalzlösung emulgiert ist, hinzugesetzt. Nach weiterer Zugabe von 0,2 ccm aktiven Kaninchenserums wird das Gemisch bei 38° gehalten und aus ihm in viertelstündigen Intervallen Ausstriche gemacht. Es zeigt sich an den hitzefixierten und nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparaten, dass die reichlich vorhandenen polymorphkernigen Leukocyten fast durchgehend die dargebotenen Typhusbacillen massenhaft aufgenommen haben.

Baktericider Versuch a. Typhusbacillen.

Von dem Conjunctivalsekret und dem frisch gewonnenen Serum des Tieres ist eine kleine Portion 35 Minuten auf 56° erhitzt worden. Der Inhalt der Röhren beträgt 0,35 ccm; hiervon ist 0,05 ccm eine Aufschwemmung des Typhusbacillus „Gabersee“, für den das Serum kaum eine abtötende Wirkung hat. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	64	15	39	∞
0,3 „ inakt. „	67	71	296	∞
0,3 „ akt. Conjunctivalsekret	65	0	0	0
0,3 „ inakt. „	65	0	0	0

Baktericider Versuch b. Staphylokokken.

Inhalt der Röhren ebenfalls 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Emulsion einer 12stündigen Agarkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* in phy-

siologischer Kochsalzlösung mit Zusatz einiger Tropfen Bouillon. Aussaat mit grosser Öse wie im vorigen Versuch.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	74	3	95	∞
0,3 „ inakt. „	75	165	reichl.	∞
0,3 „ akt. Conjunctivalsekret	77	0	0	0
0,3 „ inakt. „	80	0	0	0

Hämolytischer Versuch.

Je 1 ccm 5 prozentiger Ziegenblutkörperaufschwemmung und 1 ccm eines verdünnten Antiziegenblutserums wird in den Röhrchen eine halbe Stunde vor Zusatz der zu prüfenden Flüssigkeiten behufs Präparierung der ersteren zusammengemischt. Die Röhrchen werden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 3 ccm aufgefüllt und bleiben 2 Stunden bei 38°.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stunden
0,1 ccm akt. Kaninchenserum	vollständig
0,05 „ „ „	teilweise
0,025 „ „ „	deutliche Spur
0,01 „ „ „	Spur
0,3 „ „ Conjunctivalsekret	„
0,1 „ „ „	keine
1,0 „ „ Kochsalzlösung	„

Im Gegensatz zu dem Serum des Tieres ist die nach der Höllensteineträufelung produzierte Conjunctivalflüssigkeit durch eine kräftige thermostabile Aktion für den Typhusbacillus „Gabersee“ und den Staphylococcus aureus ausgezeichnet. Dies schliesst schon eine Identifizierung mit der Alexinwirkung aus; ausserdem aber weist auch die geringe hämolytische Wirkung des Sekretes im Vergleich zu der des Serums darauf hin, dass nur eine minimale Menge von gelösten Serumbestandteilen ausgetreten ist.

Das Conjunctivalsekret hat hinsichtlich seiner Wirksamkeit eine weitgehende Ähnlichkeit mit der Unterhautzellgewebslymphe; es lag daher der Gedanke nahe, dass jene ihre Baktericidie wie diese ihre Gehalte an Leukocytenstoffen verdankt.

Zur Bestätigung dieser Vermutung wurden in dem folgenden Versuche Leukocyten, die in das Conjunctivalsekret nach der Silbernitratlösung ausgewandert waren, in unwirksamer, normaler Conjunctivalflüssigkeit digeriert und dann das Digest auf seine bakterientötende Fähigkeit geprüft.

Versuch XVII.

Von zwei Kaninchen wird, bei dem einen ohne dass etwas vorher eingeträufelt wurde, in beide Bindehautsäcke Watte eingelegt. Dem zweiten wird beiderseits 0,2 ccm einer 1prozentigen Argentum nitricum-Lösung eingeträufelt, aber nur auf dem einen Auge Watte unter die Lider geschoben. Nach 2 Stunden werden die Wattebäusche bei beiden Tieren in der üblichen Weise entnommen, abgesaugt und die gewonnenen Flüssigkeiten getrennt zentrifugiert: „normales Conjunctival-Sekret“ und „Watte $AgNO_3$ -Sekret“. Aus dem Auge, das nach der Silbernitratlösung keine Wattebäusche erhalten hatte, wird nach 2 Stunden in kleinen Portionen das im Bindehautsack befindliche Sekret in der Gesamtmenge von nicht ganz 0,35 ccm aufgesaugt, zentrifugiert — „ $AgNO_3$ -Sekret“ — und von dem ausgeschleuderten Bodensatz 0,04 ccm in 0,8 ccm normaler Conjunctivalflüssigkeit des ersten Tieres 25 Minuten bei 38° digeriert und dann wieder mit der Zentrifuge eliminiert — „ $AgNO_3$ -Leuk. Digest“ —. Alle Flüssigkeiten sind klar, von leicht gelblicher Farbe und gerinnen nicht.

Baktericider Versuch. Typhusbacillen.

Inhalt der Röhren je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Aufschwemmung einer 12 Stunden alten Typhusbacillenagarkultur in physiologischer Kochsalzlösung mit geringem Bouillonzusatz. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 ccm $AgNO_3$ -Sekret	103	0	0	0
0,45 „ Watte $AgNO_3$ -Sekret	107	0	0	0
0,45 „ Norm.-Conjunctivalsekr.	108	161	362	∞
0,45 „ $AgNO_3$ -Leuk.-Digest	100	36	4	0

War durch diesen Versuch schon mit grosser Wahrscheinlichkeit dargetan, dass das Silbernitratsekret seine Wirkung durch die von den ausgewanderten Leukocyten herrührenden Leukine enthält, so wurden doch noch einige Experimente angestellt, auf Grund deren ich jede etwa mit dem Höllenstein zusammenhängende chemische Wirkung des Sekretes wollte ausschliessen können.

Dass nicht etwa nach der Neutralisation des Argentum nitricum zurückgebliebene chloresilberhaltige Flüssigkeit in die Bäusche eindringt und den wirksamen Bestandteil der später abgesaugten Conjunctivalflüssigkeit abgibt, erhellt aus dem nächsten Versuch.

Versuch XVIII.

Das eine Auge eines Kaninchens wird mit einer Flüssigkeit, in der auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 4 Tropfen einer 1prozentigen

Silbernitratlösung zugesetzt sind, ausgiebig gespült; dann wird in seinen Conjunctivalsack Watte eingelegt; das gleiche geschieht auf dem andern Auge, ohne dass vorher etwas an ihm vorgenommen ist. Die Bäuseche werden nach $2\frac{1}{2}$ Stunden herausgenommen und die in ihnen enthaltene Flüssigkeit in der üblichen Weise gewonnen und zentrifugiert. Die Ausbeute beträgt auf jedem Auge ungefähr 0,7 cem.

Baktericider Versuch. Typhusbacillus „Gabersee“.

Inhalt der Röhren je 0,5 cem, davon 0,05 cem Emulsion von einer 12stündigen Agarkultur des Typhusbacillus „Gabersee“. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 cem akt. Norm.-Conjunctivalsekret	76	66	58	165	115
0,45 „ „ Chlorsilber-Conjunctivalsekret	74	62	64	89	196

Um dem Einwand zu begegnen, dass etwa dem Ätzschorf von dem Argentum nitricum herrührende bakterienfeindliche Stoffe anhaften, wurde in folgendem Versuch mit dem Einlegen der Watte $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Instillation gewartet, damit sich die Eschara erst abstossen konnten.

Versuch XIX.

In das eine Auge eines Kaninchens wird 0,5 cem 1 prozentige Höllensteinlösung eingeträufelt und dann neutralisiert. Die Conjunctiva zeigt daraufhin die typischen Veränderungen: weisslicher Ätzschorf, Injektion und ziemlich starke Absonderung. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden hat sich die Schorfschichte in weisslichen Fäden und Flocken abgestossen. Erst dann erfolgt beiderseits — auf dem zweiten Auge ohne vorangegangene Instillation — die Einlegung der Watte, die im Höllensteinauge nur eine Viertelstunde, im Kontrollauge $\frac{1}{2}$ Stunde liegen bleibt. Gewinnung der Sekrete in gewohnter Weise.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhren 0,35 cem; davon 0,05 cem Emulsion einer 13stündigen Staphylokokkenkultur auf Agar. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden auf Agar.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,3 cem akt. Norm.-Conj.-Sekret	131	160	208	ungef. 500	∞
0,3 „ „ $AgNO_3$ - „ „	128	61	7	0	0
0,3 „ inakt. „ „ „	130	75	5	0	0

Wurde in den bisherigen Versuchen auf die gründliche Beseitigung der instillierten Flüssigkeiten aus dem Bindehautsack gesehen, so geschah dies in dem nächsten Versuch in besonderem Grade. Sollte doch gezeigt werden, dass nicht etwaige Reste der Einträufelungsflüssigkeiten, sondern die Dauer des Verweilens der Wattebäusche im Auge die Stärke der Wirkung der Flüssigkeit beeinflusst.

Versuch XX.

In den Conjunctivalsack eines Kaninchenauges wird 0,1 cem 1prozentige Argentum nitricum-Lösung vorsichtig eingeträufelt; trotzdem fliesst sofort ein Teil milchigweiss getrübt ab. Der Rest wird durch Öffnen und Schliessen, Abheben und Anlegen der Lider möglichst über die ganze Bindehautoberfläche verteilt und dann durch Streichen und Andrücken der Lider an den Bulbus möglichst wieder herausbefördert. Darauf hat die Conjunctiva ein mattes, trockenes, blassrötliches Aussehen und im Bindehautsack ist keine Spur von Flüssigkeit. Alsdann werden 10 cem physiologische Kochsalzlösung in Portionen von je 2 cem in den Bindehautsack eingegossen und dieser möglichst überall bespült. Durch obige Manipulationen wird die Neutralisationsflüssigkeit, die keine Spur von Trübung zeigt, eliminiert und ausserdem der Conjunctivalsack mit kleinen Wattetupfern vollständig ausgetrocknet. All diese Manöver nehmen 7 Minuten in Anspruch, worauf Wattebäusche eingelegt und die Lider geschlossen werden. Nach einer Viertelstunde werden sie herausgenommen und durch neue ersetzt; diese bleiben ebenso lange liegen und werden abgelöst von Bäuschen, die $1\frac{1}{4}$ Stunde im Bindehautsack verweilen. Dann wird jede Gruppe für sich abgesaugt und werden die Flüssigkeiten zentrifugiert. Die Menge des ersten $\frac{1}{4}$ stündigen Sekretes beträgt 0,52 cem, die des zweiten 0,55 und die des dritten 0,85 cem.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhrechen 0,45 cem, davon 0,05 cem Emulsion von Staphylokokkenkultur in Kochsalzlösung mit einigen Tropfen Bouillon. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach $1\frac{1}{4}$, $3\frac{1}{2}$ und 9 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach $1\frac{1}{4}$ Stdn.	nach $3\frac{1}{2}$ Stdn.	nach 9 Stdn.
0,4 cem akt. Conjunctivalsekret I	98	86	23	6
0,4 „ „ „ II	104	59	40	6
0,4 „ „ „ III	97	2	0	0

Im hämolytischen Versuch, der wegen Materialmangels nicht komplett anzustellen ist, löst 0,1 cem Sekret I in geringer Spur, 0,15 cem Sekret II ebenfalls in geringer Spur und 0,45 cem Sekret III in deutlicher Spur in 2 Stunden, die als Testobjekt benutzten präparierten Ziegenblutkörperchen, während 0,05 cem Serum des Tieres vollständige Lyse bewirken.

Nach den vorhergehenden Versuchen kann es kaum mehr einem Zweifel unterliegen, dass die Conjunctivalsekrete nach

Silbernitratlösunginstillation ihre baktericide Wirksamkeit hauptsächlich ihrem Gehalte an Leukinen verdanken.

Entsprechend erstreckt sich ihre baktericide Wirkung, wie ich noch an einigen weiteren Beispielen zeigen will, auch auf Bakterien, die in dem entsprechenden Blutserum reichlich sich vermehren können.

Versuch XXI.

Nach Einträufelung mehrerer Tropfen 1prozentiger Höllensteinlösung werden Wattebäusche in den Bindehautsack eingelegt und $2\frac{1}{4}$ Stunden darin gelassen, bis sie in üblicher Weise ihrer Flüssigkeit beraubt werden.

Baktericider Versuch. Pneumokokken.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 cem, davon 0,05 cem Aufschwemmung von einer 12 stündigen Pneumokokken-Pferdeserumbouillonkultur. Aufschwemmungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung, die 10% Pferdeserumbouillon enthält. Aussaat mit grosser Öse auf Löfflerserum sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,45 cem akt. Kaninchenserum	40	68	195	reichl.
0,45 „ „ Conjunctivalsekret	44	0	0	0

Versuch XXII.

Es bleibt die Watte 2 Stunden nach der Instillation des Argentum nitricum und seiner Neutralisation liegen, um dann wie immer ihre Imbibitionsflüssigkeit herzugeben. Das Serum ist aus dem tags zuvor entzogenen Blut desselben Tieres ausgepresst.

Baktericider Versuch. Streptokokken und Meningokokken.

Die Streptokokken stammen von einer 12stündigen Agarkultur, die Meningokokken von einer ebenso alten Kultur auf Löfflerserum. Die Aufschwemmung der Keime wird in physiologischer Kochsalzlösung, die mit 10% Pferdeserum versetzt ist, gemacht. Inhalt der Röhrchen 0,35 cem; davon 0,05 cem Bakterienemulsion. Aussaat der Streptokokken auf Agar, der Meningokokken auf Löfflerserum mit grosser Öse sofort, nach $\frac{3}{4}$, 3, 7 und 24 Stunden. In Röhre 1 und 2 sind Streptokokken, in 3 und 4 Meningokokken eingesät.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
		sofort	nach $\frac{3}{4}$ Std.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
1	0,3 cem akt. Kaninchenserum	187	215	reichl.	∞	∞
2	0,3 „ „ Conjunctivalserum	179	2	0	0	0
3	0,3 „ „ Kaninchenserum	110	0	0	0	0
4	0,3 „ „ Conjunctivalserum	100	0	0	0	0

Versuch XXIII.

2 ccm Conjunctivalsekret, das $2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Silbernitrateinträufelung aus der eingelegten Watte entzogen worden ist, und Serum desselben Tieres werden zusammen mit Proben von frischem Menschen Serum und Kaninchenleukocytendigest in 5 prozentiger Serum-Kochsalzlösung („Kaninchenleukin“) auf ihre Wirksamkeit für Diphtherie- und Xerosebacillen geprüft.

Bakterieller Versuch. Diphtherie- und Xerosebacillen.

Beide Bacillen sind auf Löffler Serum 12 Stunden gewachsen; der Xerosebacillus ist nach Isolierung aus Bindehautsekret erst zum dritten Male umgeimpft. Aufschwemmungsflüssigkeit ist Kochsalzlösung mit 10 % Bouillon. Inhalt der Röhren 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Bakterienemulsion. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler Serum sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

In Röhre 1—5 sind Diphtheriebacillen, in Röhre 6—9 Xerosebacillen eingesät.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
		sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
1	0,45 ccm akt. Kaninchenserum	256	296	370	reichl.
2	0,45 „ „ Conjunctivalsekret	253	0	0	0
3	0,45 „ inakt. „	261	0	0	0
4	0,45 „ akt. Kaninchenleukin	250	0	0	0
5	0,45 „ „ Menschenserum	254	285	376	reichl.
6	0,45 „ „ Kaninchenserum	135	160	215	430
7	0,45 „ „ Conjunctivalsekret	138	0	0	0
8	0,45 „ „ Kaninchenleukin	142	0	0	0
9	0,45 „ „ Menschenserum	147	169	272	540

Die Beispiele mögen zur Illustrierung der Leukinwirkung der Höllenstein-Conjunctivalsekrete auf vom Serum nicht lysierbare Bakterien genügen.

In dem nächsten Versuche haben die Wattebäusche verschieden lange Zeit sich zu imbibieren gehabt.

Versuch XXIV.

Von zwei Kaninchen wird dem einen nach Instillation und Neutralisation von 4 Tropfen Silbernitratlösung in beide Augen Watte eingelegt; letztere wird rechts nach 2 Stunden, links nach 1 Stunde herausgenommen. Dem andern Tier wird in das rechte Auge ebenfalls Argentum nitricum eingeträufelt und dann in ihm Watte nur eine halbe Stunde liegen gelassen, während in dem linken, nicht vorbehandelten Auge die Bäusche 2 Stunden liegen bleiben. Die Ausbeute an $\frac{1}{2}$ stündigem $AgNO_3$ -Sekret beträgt 0,81 ccm, an 1 stündigem $AgNO_3$ -Sekret 0,83 ccm, an 2 stündigem $AgNO_3$ -Sekret 1,4 ccm und an 2 stündigem Normal-Sekret 0,84 ccm.

Baktericider Versuch. Pneumokokken und Diphtheriebacillen.

Die Pneumokokken entstammen einer 13stündigen Pferdeserumbouillonkultur, von der 0,002 cem eine Maus in 24 Stunden tötet. Die Diphtheriebacillen rühren von einer ebenso alten Löfflerserumkultur her. Aufschwemmungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung mit 10% Pferdeserumbouillon. Inhalt der Röhrchen 0,4 cem, davon 0,05 cem Emulsion. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3 und 7 $\frac{1}{2}$ Stunden auf Löfflerserum. Röhre 1—4 enthält Pneumokokken, 5—8 Diphtheriebacillen.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
		sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 $\frac{1}{2}$ Stdn.
1	0,35 cem akt. $\frac{1}{2}$ h $AgNO_3$ -Sekret	230	0	0	0
2	0,35 „ „ 1 „ „ „	220	0	0	0
3	0,35 „ „ 2 „ „ „	192	0	0	0
4	0,35 „ „ 2 „ Norm.-Sekret	230	220	268	310
5	0,35 „ „ $\frac{1}{2}$ „ $AgNO_3$ -Sekret	133	0	0	0
6	0,35 „ „ 1 „ „ „	131	0	0	0
7	0,35 „ „ 2 „ „ „	115	0	0	0
8	0,35 „ „ 2 „ Norm.-Sekret	135	133	405	reichl.

Im hämolytischen Versuch löst 0,1 cem des Kaninchensersums die präparierten Ziegenblutkörperchen komplett, 0,05 cem fast komplett, während 0,1 cem des $\frac{1}{2}$ stündigen $AgNO_3$ -Sekretes keine, das 1- und 2stündige $AgNO_3$ -Sekret nur spurweise Hämolyse bewirkt.

Man erkennt also aus dem letzten Versuche, dass schon $\frac{1}{2}$ Stunde post instillationem eine ausgiebige Leukinproduktion im Conjunctivalsekret stattgefunden hat.

Interessant war es nun, zu erfahren, bis zu welcher Konzentration das Silbersalz noch wirksame Sekrete schafft. Dies sollte in folgendem Versuche festgestellt werden.

Versuch XXV.

Von einer $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$ und $\frac{1}{2}$ prozentigen Silbernitratlösung wird je $\frac{1}{2}$ cem in ein Kaninchenauge einfließen gelassen und für eine gute Benetzung der ganzen Bindehaut gesorgt. Dann wird mit 2 cem physiologische $NaCl$ -Lösung neutralisiert. Die $\frac{1}{20}$ - und $\frac{1}{10}$ prozentige Lösung hinterlässt eine kaum sichtbare Verätzung der Schleimhautoberfläche. Die eingebrachten Wattebäusche werden nach genau 2 Stunden entfernt und durch frische ersetzt, die ebenfalls 2 Stunden liegen bleiben. Die Gewinnung der verschiedenen Flüssigkeiten geht in bekannter Weise vor sich: „ $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{2}$ prozentiges $AgNO_3$ -Sekret I und II“.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhrchen 0,45 cem; davon 0,05 cem Emulsion einer Staphylokokkenagarkultur in Kochsalzlösung mit etwas Bouillonzusatz. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten					Koloniezahl				
					sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Sdn.
0,4 ccm akt.	$\frac{1}{20}$ %	$AgNO_3$ -Sekret	I	185	46	72	reichlich	∞	
0,4 „ „	$\frac{1}{10}$ %	„	I	183	0	0	0	0	
0,4 „ „	$\frac{1}{5}$ %	„	I	190	0	0	0	0	
0,4 „ „	$\frac{1}{2}$ %	„	I	183	0	0	0	0	
0,4 „ „	$\frac{1}{20}$ %	„	II	184	45	20	reichlich	∞	
0,4 „ „	$\frac{1}{10}$ %	„	II	186	67	0	0	0	
0,4 „ „	$\frac{1}{5}$ %	„	II	175	19	0	0	0	
0,4 „ „	$\frac{1}{2}$ %	„	II	176	113	73	9	0	
0,4 „ „		Kaninchenserum		176	—	220	reichlich	∞	
0,4 „ phys.		$NaCl$ -Lösung		180	—	206	„	∞	

Baktericider Versuch. Diphtheriebacillen.

Dasselbe Material wie in vorstehendem baktericiden Versuch in der geringen Menge von 0,1 ccm gegenüber Diphtheriebacillen geprüft. Diese werden in Kochsalzlösung mit 10 % Pferdeserumbouillonzusatz emulgiert und von der Aufschwemmung 0,05 ccm den Röhrchen hinzugefügt. Ausserdem werden die Röhrchen mit 0,2 ccm physiologischer $NaCl$ -Lösung auf 0,35 ccm aufgefüllt. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler Serum sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten					Koloniezahl				
					sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,1 ccm akt.	$\frac{1}{20}$ %	$AgNO_3$ -Sekret	I	118	109	91	reichlich	∞	
0,1 „ „	$\frac{1}{10}$ %	„	I	125	0	0	0	0	
0,1 „ „	$\frac{1}{5}$ %	„	I	127	0	0	0	0	
0,1 „ „	$\frac{1}{2}$ %	„	I	126	0	0	0	0	
0,1 „ „	$\frac{1}{20}$ %	„	II	127	147	260	reichlich	∞	
0,1 „ „	$\frac{1}{10}$ %	„	II	128	136	226	400	0	
0,1 „ „	$\frac{1}{5}$ %	„	II	130	125	100	0	0	
0,1 „ „	$\frac{1}{2}$ %	„	II	130	84	10	0	0	

Dieser Versuch zeigt, dass *Argentum nitricum* bereits in $\frac{1}{10}$ prozentiger Lösung eine Baktericidie des Conjunctivalsekretes verursacht, die, wenn sie auch rascher als die nach konzentrierten Lösungen auftretende vorübergeht, dieser nicht viel nachsteht. Darf diese an gesunder Kaninchenbindehaut gemachte Beobachtung nicht ohne weiteres auf die katarrhalisch erkrankte menschliche Conjunctiva übertragen werden, so lässt sie sich vielleicht doch als Hinweis verwerten, dass in gewissen Fällen schwächere Lösungen in häufigerer Anwendung indiziert sind. Ich werde auf diesen Punkt später noch zurückkommen.

Protargol.

Von den 8 Ersatzpräparaten des Höllensteins, der wegen seiner stark reizenden verschorfenden und nur oberflächlichen Wirkung viel-

fach Anfechtungen erlitten hat, wurde allein das Protargol, als dessen Vorzüge relative Reizlosigkeit und grössere Tiefenwirkung bei gleicher antiseptischer Kraft von verschiedenen Seiten gerühmt worden ist, hinsichtlich seines leukinbildenden Vermögens untersucht.

Versuch XXVI.

Nach Instillation einer 10 prozentigen, vorschriftsmässig hergestellten Protargollösung werden Wattebäusche in den Conjunctivalsack eingelegt und nach $2\frac{1}{2}$ Stunden herausgenommen. Das gewonnene Sekret wird gegenüber Diphtheriebacillen und Pneumokokken auf seine baktericide Eigenschaft geprüft.

Baktericider Versuch. Diphtheriebacillen und Pneumokokken.

Inhalt der Röhrechen 0,45 ccm, davon 0,05 ccm Aufschwemmung von Diphtheriebacillen bzw. Pneumokokken in phys. *NaCl*-Lösung mit 10% Zusatz von Pferdeserumbouillon. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 3, 9 und 24 Stunden und zwar aus dem Diphtherieröhrchen 1 auf Löfflerserum und dem Pneumokokkenröhrchen 2 auf Agarplatten, die mit Pferdeserumbouillon bestrichen sind.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
		sofort	nach 3 Stdn.	nach 9 Stdn.	nach 24 Stdn.
1	0,4 ccm	190	0	0	0
2	0,4 „	138	0	0	0

Das Protargol teilt also mit dem Argentum nitricum die Fähigkeit, die Leukinproduktion zu veranlassen und das Conjunctivalsekret durch diese Leukocytenstoffe zu einer für alle in Betracht kommenden Mikroorganismen baktericiden Flüssigkeit zu machen.

Nachdem uns diese Erkenntnis durch das Experiment geworden ist, sei es gestattet, einmal die bisher den Silbersalzen vindizierten Funktionen mit kritischen Augen anzuschauen.

„Adstringierend“, d. h. zusammenziehend solle das Argentum nitricum wirken und man verknüpft damit die Vorstellung, dass durch Verminderung der Blutfülle der entzündeten Conjunctiva die Entzündung vermindert werde. Nun in der gebräuchlichen Konzentration von 1—2 Prozent bewirkt der Höllenstein keine Gefässverengung oder sie dauert so kurz an, dass sie gegenüber der sofort sich einstellenden Hyperämie nicht in Betracht kommt. Wir erstreben aber auch gar nicht so sehr eine Gefässkontraktion, können doch die Leukocyten durch erweiterte Gefässe leichter und zahlreicher durchtreten. Und wenn es auch gelänge, die Blutüberfüllung herabzusetzen, so ist

damit nur ein Symptom gemildert, was bei fortbestehender ursächlicher Noxe noch keine Heilung bedeutet.

Wie steht es mit der Elimination durch die Schorfbildung? Ich bin nicht der erste, der auf die geringe Tiefe der Verätzung durch *Argentum nitricum* hinzuweisen für angebracht hält. Gewiss werden mit der Abstossung der Eschara eine Anzahl anhaftender Keime mit entfernt, aber eine radikale Arbeit ist damit auch nicht geleistet, denn tiefer sitzende und etwa in Schorffresten zurückbleibende Bakterien werden sich in den für ihr Wachstum geeigneten Gewebstrümmern vermehren und durch die Schädigung des schützenden Epithels leichter eindringen können.

Aus ähnlichen Gründen kann auch die antiseptische Wirkung der Höllensteineinträufelungen nur gering sein. Ist sie doch auch oberflächlich und kann die in den Taschen und Unebenheiten der Schleimhaut versteckten Bakterien kaum treffen; dazu kommt, dass das *Argentum nitricum* sehr rasch durch das Eiweiss der Zellen und des Sekretes gebunden und durch das Chlornatrium neutralisiert wird, ganz abgesehen davon, dass infolge der Verdünnung die Konzentration der eingeträufelten Lösung stark reduziert wird.

So bleibt nur wenig von dem übrig, was man als den therapeutischen Effekt des *Argentum nitricum* angesehen hat, und wenn darin seine ganze Leistung bestände, so könnte man die Geringschätzung, die manche Autoren dem Höllenstein als Heilmittel zu teil werden liessen, schon verstehen. Die Emigration der Leukocyten und die Leukinbildung ist das Wertvolle der Höllensteintherapie bei infektiösen Bindehauterkrankungen. Wenn man sich zu dieser Anschauung bekennt, so wird man auch eine praktische Nutzenanwendung daraus ziehen. Statt einer möglichst tief ätzend und möglichst stark desinfizierend wirkenden Lösung wird man eine Konzentration wählen, die etwa hinreicht, die Leukocyten zur Auswanderung und zur Abgabe ihrer Stoffe zu bringen. Dadurch werden eine grössere Schonung des Gewebes und eine wirksamere Unterstützung des natürlichen Heilungsvorganges garantiert.

Ob und wie die aus meinen Versuchen sich ergebenden Gesichtspunkte praktisch zu realisieren sind, ist Sache der klinischen Beobachtung zu entscheiden. Jedenfalls kann ich mir vorstellen, dass es unter Umständen dem Praktiker erwünscht ist, zu wissen, dass auch in schwächerer Konzentration das *Argentum nitricum* in der von mir angegebenen Richtung von Nutzen ist. Er wird sich eher zur Applikation dieses Mittels entschliessen, wenn er die mit der

üblichen Konzentration von $\frac{1}{2}$ bis 1 Prozent verbundenen Reizungen und Schädigungen der Conjunctiva nicht mit in Kauf zu nehmen braucht. Letztere zu vermeiden, ohne auf die Silbersalzwirkung verzichten zu müssen, war der Grund dafür, warum man auf die Suche nach Ersatzpräparaten des Höllesteins ging. Ja, man sah deshalb ganz von der Anwendung des Silbernitrat ab und begnügte sich — ich denke hier besonders an die Behandlung der Ophthalmoblenorrhoe — mit Spülungen mit dünnen Lösungen von Kalium hypermanganicum [Kalt(42—43)], mit ganz indifferenter physiologischer Kochsalzlösung, Lamhofer¹⁾, [v. Ammon(44)], oder mit dem sicher auch nicht harmlosen Hydrargyrum oxycyanatum [Schlösser — v. Sicherer(45)]. Auch die Behandlung der Ophthalmoblenorrhoe, die Gilbert(46) in der Klinik vor Eversbusch und Lenz in der Uhthoff'schen Klinik in der Form wiederholter Spülungen mit Rinder Serum bei einer Reihe Fälle durchgeführt hat, ist als ein Versuch mit einer schonenderen Therapie anzusehen. An Publikationen über günstige Erfolge mit schwächeren Lösungen des Höllesteins hat es nicht gefehlt [Burchardt(47), Greeff(48)].

Will ich mich hinsichtlich der therapeutischen Anwendung der Silbernitratlösung zu der Äusserung im Sinne einer zu erstrebenden Herabsetzung ihrer Konzentration enthalten und dem Kliniker anheimgeben, ob er mit Rücksicht auf meine Resultate es mit öfter zu wiederholenden schwächeren Instillationen versuchen will, so möchte ich schon eher einer Reduktion des Silbergehaltes des als Prophylaktikum verwendeten Credé'schen Tropfens das Wort reden. Dürften doch auch nach einer etwa $\frac{1}{10}$ - bis $\frac{1}{5}$ prozentigen Höllesteinlösung hinreichend Leukinmengen im Bindehautsack anzutreffen sein, dass einer Ansiedelung von Infektionserregern dadurch vorgebeugt wäre. Sicher würden dann auch die allerdings seltenen Fälle vermieden werden, in denen es im Anschluss an die Credé'sche Einträufelung zu Reizerscheinungen der Conjunctiva kam [v. Ammon (loc. cit.), Cramer(49), Bischoff(50), Scipiadés(50a)].

Am Schlusse dieser Erörterungen über die Argentum-Wirkung muss ich einem naheliegenden Einwande begegnen. Ich habe die Emigration der Leukocyten und die Abgabe ihrer Stoffe als die wesent-

¹⁾ Lamhofer hat nach einer Mitteilung, die Eversbusch auf der deutschen Naturforscherversammlung 1899 gemacht hat, die Behandlung der Ophthalmoblenorrhoe mit warmer physiologischer Kochsalzlösung und 3proz. Boricidlösung eingeführt. Eversbusch: Behandlung der gonorrhoeischen Erkrankungen des Auges; Penzoldt-Stintzing, Handb. d. spez. Ther. inn. Krankh. Bd. VI. S. 113 bis 114, 1903 hat diese milde Behandlung durchweg bewährt gefunden.

lichsten, durch das Silbernitrat bewirkten Momente bezeichnet, die für die Heilung der infektiösen Bindehautkatarrhe in Betracht kommen. Nun gibt es Bindehautinfektionen — der akute Schwellungskatarrh und besonders die Blennorrhöe —, deren Krankheitsbild durch die Produktion eines äusserst leukocytenreichen Sekretes geradezu charakterisiert ist und bei denen wir mit Vorliebe die Silberpräparate verwenden. Liegt darin kein Widerspruch? Durchaus nicht; denn Ansammlung von Leukocyten besagt noch nicht ausgiebige Bildung von Leukinen. Dass eine gewisse Menge baktericider Stoffe in pathologischen Sekreten der Bindehaut vorkommt, zeigen die Versuche von Bernheim, Bach, zur Nedden u. A. Die von ersterem angegebene Thermostabilität und Wirksamkeit auf Strepto- und Staphylokokken lässt die Anwesenheit von Leukinen vermuten. Aber immerhin war die Baktericidie doch recht schwach. Auch in dem Eiter der Dakryocystoblennorrhöe sind massenhaft Leukocyten vorhanden; aber wie zur Nedden gefunden hat, ist die Flüssigkeit des Eiters ebensowenig baktericid wie die Leukocyten befähigt sind, Mikroorganismen zu fressen. Zur Nedden erklärt dies baktericide Unvermögen damit, dass das Tränensacksekret meist viel Schleim und Tränenflüssigkeit enthalte, die nicht baktericid sind, und dass etwaige aktive Substanzen durch die im Eiter zahlreich enthaltenen Bakterien gebunden würden. Diese Erklärung genügt jedenfalls nur teilweise.

Wie ich gezeigt habe (loc. cit), geben die Leukocyten nicht von selbst — weder im Leben noch bei ihrem Absterben — ihre wirksamen Stoffe ab; sie bedürfen hierzu eines Reizes. Heile (51) konnte dartun, wie der mit Eiter angefüllte tuberkulöse Abscess erst eine heilende Tendenz erhielt, wenn durch Jodoforminjektionen neue Leukocyten in die Abscesshöhle gelockt und zur Abgabe ihres Leibesinhaltes gebracht wurden. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den eitrigen Bindehautkatarrhen; durch den von den Mikroorganismen und ihren Produkten ausgelösten Reiz kommt es wohl zu einer massenhaften Auswanderung der Leukocyten. Diese sterben, wenn nichts geschieht, in dem stagnierenden Sekret allmählich ab, ohne sich ihrer wirksamen Stoffe zu entäussern. Wird dagegen ein Silbersalz eingeträufelt, so kommt es zu einer Emigration frischer Leukocyten und diese werden, wie vielleicht auch ein Teil der vorhandenen, durch den gesetzten Reiz zur Absonderung gebracht. Es wirkt demnach das *Argentum nitricum* auf die Leukocyten nicht nur anlockend, sondern es veranlasst sie auch zur Abgabe der Leukine.

Dass die Leukocyten nur nebenbei durch Phagocytose bei der

Vernichtung der Keime im Bindehautsekret mithelfen, habe ich bei einigen Infektionsversuchen beobachtet, von denen nur einer kurz skizziert sei.

Versuch XXVII.

Einem Kaninchen wird 20 Minuten nach Instillation von 0,1 cem einer 1prozentigen Höllesteinlösung und deren Neutralisation mit *NaCl*-Lösung in den Bindehautsack 0,025 cem einer 14stündigen virulenten Pneumokokkenkultur in Pferdeserumbouillon eingeträufelt. Aus dem Bindehautsack wurden mit der Platinöse von Zeit zu Zeit Ausstriche auf Löfflerserum und Objektträger gemacht.

Nach einer Stunde bereits sind die massenhaft eingebrachten Pneumokokken kulturell nicht mehr nachzuweisen. In den mikroskopischen Präparaten, die nach 10 Minuten angefertigt sind, findet man ausserhalb der polymorphkernigen Leukocyten zum Teil schon stark veränderte Keime vor. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde sind die Pneumokokken fast nur mehr als schemenhafte blasige Gebilde, zu denen ich sie auch bei Vitroversuchen in Leukinlösungen werden sah, vorhanden. Nur ganz vereinzelt war ein Leukocyt mit einigen solcher degenerierten Pneumokokken in seinem Zelleibe zu erblicken.

Zu bemerken ist noch, dass das Tier 63 Stunden nach Beginn des Versuches an einer Pneumokokkensepsis verendete. Die Augen wurden fixiert, gehärtet und in Paraffin eingebettet geschnitten. In den histologischen Präparaten imponierte besonders die Zerstörung der oberen Epithelschichten der Conjunctiva, die Ansammlung von vorwiegend mononukleären Leukocyten und die ausgedehnte Ansiedlung der Pneumokokken unterhalb der Epithelien; es hatte also eine Allgemeininfektion mit Pneumokokken von der Conjunctiva aus stattgefunden.

Zincum sulfuricum.

Das Zinksulfat gehört in $\frac{1}{2}$ —1prozentiger Lösung ebenfalls schon lange zu dem therapeutischen Rüstzeug gegen die verschiedenen Formen der Bindehautentzündungen. Besondere Beachtung hat es jedoch erfahren, seitdem man in ihm ein souveränes Mittel gegen die Diplobacillenconjunctivitis kennen gelernt hat. Als Erreger dieser weit verbreiteten Infektionskrankheit haben fast gleichzeitig Morax (52) und Axenfeld (53) 1896 den nach ihnen benannten Diplobacillus entdeckt; auch das eigenartige klinische Bild, das meist der Krankheit zukommt, haben diese Autoren bereits präzisiert. Bald wurde auch festgestellt, dass Hornhautkomplikationen-Infiltrate Geschwüre, ja schwere Hypopyonkeratitis durch den Diplobacillus verursacht sein kann, so durch Morax (loc. cit.) und Axenfeld (loc. cit.) selbst, Uhthoff (55), Peters (56), zur Nedden (57), Petit (58), Paul (59), Erdmann (60), Stower (61), Agricola (62), Zade (62a). Gegenüber allen Diplobacilleninfektionen des Auges erweist sich das Zincum sulfuricum als ein sicher und rasch wirkendes Mittel.

Die Ursache für die auffallend gute Wirkung der Zinktherapie

auf die Diplobacilleninfektion zu ergründen, wurden von Paul (loc. cit.), Silva (63) und zur Nedden (loc. cit.) Untersuchungen angestellt.

Paul stellte einen regelrechten Desinfektionsversuch mit Zink an und fand, dass selbst nach einer 5 Minuten langen Einwirkung von 1 prozentiger Lösung die an Granaten angetrockneten Diplobacillen widerstehen. Da unmöglich die Zinklösung so lange und in so hoher Konzentration im Bindehautsack sich halten könne, hält Paul für ausgeschlossen, dass die heilende Wirkung des Zink einfach durch dessen desinfizierende Kraft erklärt werden könne.

Silva führte im bakteriologischen Laboratorium der Freiburger Augenklinik ähnliche Versuche wie Paul aus und konstatierte erst nach $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinklösung eine desinfizierende Wirkung. Dagegen konnte er Entwicklungshemmungen der in Ascitesagar eingesäten Diplobacillen beobachten, wenn er auf 7 ccm des Nährbodens 0,3 ccm einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinksulfatlösung zusetzte. In den Kontrollen mit Staphylokokken und Pneumokokken behinderten diese Quantitäten Zink das Wachstum nicht. Silva erachtet die Heilwirkung des Zinks als hauptsächlich auf dessen entwicklungshemmenden Einfluss beruhend.

Auch zur Nedden untersuchte das Verhalten von Diplobacillenkulturen gegenüber Zinksulfat und ausserdem gegenüber Silbernitrat und Quecksilberoxycyanat und zog vergleichsweise Versuche mit Staphylokokken heran. Zu diesem Zwecke bereitete er sich Aufschwemmungen dieser beiden Bakterienarten in Bouillon und Aqua destillata. In je 2 ccm dieser Emulsionen setzte er einen Tropfen einer 1 prozentigen Silbernitrat-, $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinksulfat- oder $0,3\frac{0}{100}$ Quecksilberoxycyanatlösung. Nach einer eine Minute lang während der Einwirkung sollen nun die Diplobacillen wie die Staphylokokken durch das Argentum nitricum und das Hydrargyrum oxycyanatum vollständig abgetötet worden sein, während das Zincum sulfuricum kaum von Einfluss auf beide Keimarten war. Zur Nedden hält daher eine besondere Beziehung zwischen Diplobacillen und Zinksulfat nicht für gegeben, wie überhaupt letzteres ein ganz ungeeignetes Desinfektionsmittel sei. Weit entfernt daher die Erfolge der Zinktherapie auf eine desinfizierende oder entwicklungshemmende Wirkung des Zinksulfats zurückzuführen, erklärte er sie als eine Folge der durch das Zinksalz hervorgerufenen Hyperämie der Conjunctivalgefäße und des aus diesen erfolgenden Austrittes baktericider Substanzen.

Eigene Untersuchungen über die Wirkung des Zinks.

Mit Rücksicht auf die geringe Klarheit, die nach dem Gesagten immer noch über die Ursache der Heilwirkung des Zincum sulfuricum herrscht, war es natürlich doppelt interessant, die Leukinbildung nach Zinkinstillationen zu studieren. Vorher wollte ich mir selbst ein Urteil über die direkt bakterientötende Eigenschaft des Zinksalzes bilden. Zu diesem Zwecke stellte ich einige vergleichende Desinfektionsversuche mit Zinksulfat, Silbernitrat und Quecksilberoxycyanat gegenüber Diplobacillen, Staphylokokken und Pneumokokken an. Folgender Versuch lehnt sich an die Methode an, die zur Nedden anwandte.

Versuch XXVIII.

Von einer 12stündigen Agarkultur des *Diplobacillus Morax-Axenfeld* wird eine Öse = ungefähr 70 Millionen Keime in 10 cem Bouillon emulgiert und von dieser Aufschwemmung kommen je 2,0 cem in die Röhren I—IV. Zu Röhre I. (Kontrolle) wird dann 0,05 cem Aqua destill., zu II. 0,05 cem 1% Argentinum nitricum, zu III. 0,05 cem $\frac{1}{2}\%$ Zincum sulfuricum und zu IV. 0,05 cem 1:1500 cem Hydrargyrum oxycyanat. hinzugesetzt. 1 Minute, 24 und 60 Minuten, sowie 16 Stunden, nachdem die letzteren Zusätze gemacht sind, wird mit der grossen Öse 0,0125 cem entnommen und auf Löfflerserumplatten ausgestrichen.

In derselben Weise wird eine Öse einer Agarkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* in 10 cem Bouillon emulgiert, diese in die 4 Röhren V—VIII verteilt und mit den entsprechenden Zusätzen versehen. Die Ausstriche des entnommenen Öseninhaltes erfolgen auch in denselben Intervallen, jedoch auf Agarplatten. Hervorgehoben sei, dass der als Testobjekt benutzte Staphylokokkenstamm recht resistent war, d. h. er widerstand 1proz. Karbolsäurelösung $1\frac{1}{2}$ Stunden. Bei Röhre IX—XII ist in 2 cem Aqua destill. je eine ganze Öse Diplobacillen bzw. Staphylokokken emulgiert und die Entnahme der Proben erfolgt sofort, nach 2, 10, 30 Minuten und 16 Stunden. Alles Weitere ist aus der Tabelle ersichtlich. Die mit Silbernitratlösung versetzten Röhren trüben sich leicht.

Röhre	Aufschwemmungsflüssigkeit	Testobjekt	Zusätze	Koloniezahl			
				nach 1 Min.	nach 24 Min.	nach 1 Stde.	nach 16 Stdn.
I	2 cem Bouillon	Diplobac.	0,05 cem Aqu. dest.	—	8	8	8
II	2 " "	"	1% $AgNO_3$	—	8	reichl.	86
III	2 " "	"	$\frac{1}{2}\%$ $ZnSO_4$	—	8	8	8
IV	2 " "	"	1:1500 $Hg(CN)_2$	—	8	ca. 500	0
V	2 " "	Staphyl.	Aqu. dest.	—	8	8	8
VI	2 " "	"	1% $AgNO_3$	—	8	8	155
VII	2 " "	"	$\frac{1}{2}\%$ $ZnSO_4$	—	8	8	8
VIII	2 " "	"	1:1500 $Hg(CN)_2$	—	8	8	8
				sofort	nach 2 Min.	nach 10 Min.	nach 30 Min.
IX	2 cem Aqu. dest.	Diplobac.	0,05 cem Aqu. dest.	8	8	8	8
X	2 " "	Staphyl.	0,05 "	8	8	8	8
XI	2 " "	Diplobac.	$\frac{1}{2}\%$ $ZnSO_4$	8	8	233	83
XII	2 " "	Staphyl.	$\frac{1}{2}\%$ "	8	8	8	reichl.

Wir sehen, dass die Diplobacillen nur in Aqua destillata emulgiert durch das Zink beeinflusst werden, da eine so rapide Vernichtung der Diplobacillen und Staphylokokken, durch Silbernitrat und Quecksilberoxycyanat, wie sie zur Nedden schon nach einer Minute angibt, in diesem Versuche nicht zu beobachten war, wurden im nächsten Versuch kleinere Mengen Bakterien als Einsaaten verwendet.

Versuch XXIX.

Die Versuchsanordnung entspricht der des vorstehenden Versuches, nur werden die Proben sofort, nach 1 und 15 Minuten mit der grossen Öse entnommen.

Röhre	Aufschwemmungsflüssigkeit	Test-objekt	Zusätze	Koloniezahl		
				sofort	nach 1 Min.	nach 15 Min.
I	2 ccm Bouillon	Diplobac.	0,05 ccm phys. NaCl	161	154	117
II	2 „ „	„	1% AgNO_3	153	151	100
III	2 „ „	„	$\frac{1}{2}$ % ZnSO_4	133	130	113
IV	2 „ „	„	1:1500 $\text{Hg}(\text{CN})_2$	126	109	10
V	2 „ „	Staphyl.	phys. NaCl	195	181	202
VI	2 „ „	„	1% AgNO_3	180	180	210
VII	2 „ „	„	$\frac{1}{2}$ % ZnSO_4	191	192	206
VIII	2 „ „	„	1:1500 $\text{Hg}(\text{CN})_2$	194	200	208
IX	2 ccm Aqu. dest.	Diplobac.	phys. NaCl	134	127	131
X	2 „ „	„	1% AgNO_3	128	31	0
XI	2 „ „	„	$\frac{1}{2}$ % ZnSO_4	134	91	0
XII	2 „ „	„	1:1500 $\text{Hg}(\text{CN})_2$	119	47	0
XIII	2 „ „	Staphyl.	phys. NaCl	261	207	231
XIV	2 „ „	„	1% AgNO_3	209	175	167
XV	2 „ „	„	$\frac{1}{2}$ % ZnSO_4	258	233	221
XVI	2 „ „	„	1:1500 $\text{Hg}(\text{CN})_2$	201	176	128

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass selbst innerhalb 15 Minuten von den in Bouillon emulgierten Bakterien nur der Diplobacillus und dieser allein durch den zugesetzten Tropfen Quecksilberoxycyanat merklich geschädigt wird. Das Absterben der mit Aqua destillata aufgeschwemmten Diplobacillen lässt keinen grossen Unterschied zwischen den 3 Salzen erkennen, zum mindesten sieht man, dass Zink keine elektive Wirkung auf den Diplobacillus ausübt. Die auffällige Differenz der Ergebnisse zur Neddens und meiner Desinfektionsversuche lässt sich nur aus der Annahme erklären, dass zur Nedden äusserst wenig widerstandsfähige Keime als Testobjekte benutzt hat.

Dass aber Zinksulfat tatsächlich ein schlechtes Desinfektionsmittel ist und in keiner Weise spezifisch auf Diplobacillen wirkt, zeigt der folgende Versuch, in dem wieder kleine Bakterienmengen mit relativ grossen Quantitäten der zu untersuchenden Substanzen zusammengebracht wurden.

Versuch XXX.

Diplobacillen, Staphylokokken und Pneumokokken 12 Stunden alter Kultur werden in phys. Kochsalzlösung, der 5% Pferdeserumbouillon zugesetzt sind, emulgiert und 0,5 ccm dieser Emulsionen als Testobjekt mit je 0,5 ccm einer Lösung von 1% Zinksulfat, 1% Silbernitrat und Quecksilberoxycyanat (1:1500) zusammengebracht. Sofort nach Vermischen der Flüssigkeiten sowie nach weiteren 7, 10, 70, 90 Minuten und nach 15 Stunden wird eine grosse Öse voll aus den Proben entnommen und auf

Löfflerserum und Agar ausgestrichen oder in Pferdeserumbouillon verteilt. Die Röhren mit den Höllensteinzusätzen trüben sich natürlich sofort, die mit Zinksulfat versetzten bleiben zunächst klar, trüben sich allmählich und lassen nach einigen Stunden einen weissen, flockigen Niederschlag ausfallen.

Röhre	Testobjekt	phys. NaCl-Lösung	1% $ZnSO_4$	1% $AgNO_3$	1:1500 $Hg(CN)_2$	Koloniezahl oder Wachstum					
						sofort	nach 7 Min.	nach 10 Min.	nach 70 Min.	nach 90 Min.	nach 15 Stdn.
I	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm						
II	0,5 Diplobac.-Emuls.	0,5				213	+	194	181	+	140
III	0,5 "		0,5			173	+	0	0	0	0
IV	0,5 "			0,5		17	0	0	0	0	0
V	0,5 Staphylok.-Emuls.	0,5			0,5	0	0	0	0	0	0
VI	0,5 "		0,5			320	+	307	257	+	232
VII	0,5 "			0,5		316	+	276	270	+	0
VIII	0,5 "				0,5	286	+	270	174	+	21
IX	0,5 Pneumok.-Emuls.	0,5				39	+	0	0	0	0
X	0,5 "		0,5			318	+	310	315	+	310
XI	0,5 "			0,5		248	+	132	21	+	0
XII	0,5 "				0,5	151	+	190	152	+	0
						152	+	0	0	0	0

Diese Zahlen sind recht instruktiv; sie zeigen wieder die grosse Hinfälligkeit des Diplobacillus, und die geringe desinfizierende Wirkung des Zinksulfats, die eigentlich nur dem Diplobacillus gegenüber zur Geltung kommt.

Auch das Silbernitrat hat nur eine unbedeutende bakterientötende Kraft, werden doch in einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Lösung Staphylokokken und Pneumokokken innerhalb 70 Minuten nur in geringer Anzahl vernichtet. Diese Tatsache beruht auf der Bindung des Argentum nitricum an die Eiweisskörper und seine Fällung durch das Chlornatrium der Medien und schliesst weiter die Möglichkeit aus, dass das Conjunctivalsekret nach Höllensteineinträufelung eine Bactericidie etwa seinem Gehalte an Instillationsflüssigkeit verdankt. Das Quecksilberoxycyanat dagegen betätigt sich als kräftiges Desinfektionsmittel, indem in der Lösung 1:1500 die Staphylokokken und Pneumokokken innerhalb 10 Minuten gänzlich verschwunden sind und die Diplobacillen momentan abgetötet werden.

Die Wirkung von Zinksulfatlösungen geringeren Konzentrationsgrades auf Diplobacillen sei im folgenden illustriert.

Versuch XXXI.

Wie im vorhergehenden Experiment werden Diplobacillen einer 12 stündigen Kultur in physiol. Kochsalzlösung, die 5% Pferdeserumbouillon enthält, aufgeschwemmt. Je 0,5 ccm der Emulsion werden in die Röhren als Testobjekte gebracht, dann die entsprechende Menge physiol. Kochsalz-

lösung als Auffüllungsflüssigkeit zugesetzt und zuletzt 0,1—0,5 ccm einer 1prozentigen Zinksulfatlösung hinzugemischt. Sofort, nachdem letzteres geschehen ist, wird der Inhalt der grossen Öse auf Löfflerserum ausgestrichen. Nach 11, 20, 40, 60 Minuten und 16 Stunden werden weitere Proben der Röhrechen mit der grossen Öse entnommen und diese teils auf Löfflerserum ausgestrichen, teils in 5prozentige Pferdeserumbouillon verteilt. Bei der Übertragung der entnommenen Proben in Pferdeserumbouillon — nach 11 und 40 Minuten — wird aus den erst beschickten Bouillonröhrechen — 1 und 2 — wieder eine grosse Öse in ein zweites — 1a und 2a — eingesät.

Röhre	Diplobacill.- Emulsion	phys. NaCl- Lösung	1% ZnSO ₄ - Lösung	Koloniezahl oder Wachstum							
				sofort	nach 11 Min.		nach 20 Min.	nach 40 Min.		nach 60 Min.	nach 16 Stdn.
					1	1 a		2	2 a		
I	ccm	ccm	ccm	404	+	+	424	+	+	402	362
II	0,5	0,5	—	386	+	+	193	+	0	32	0
III	0,5	0,4	0,1	390	+	+	71	+	0	5	0
IV	0,5	0,3	0,2	374	+	0	34	+	+	1	0
V	0,5	0,2	0,3	396	+	0	29	+	0	0	0
VI	0,5	0,1	0,4	351	+	0	20	+	0	0	0
	0,5	—	0,5		+	+		0	0	0	0

Demnach ist selbst die Wirkung des Zinksulfates auf den Diplobacillus eine recht bescheidene zu nennen, wenn wir sehen, dass die $\frac{1}{10}$ prozentige Lösung nach 60 Minuten noch nicht und die $\frac{1}{2}$ prozentige erst nach 40 Minuten die relativ kleine Anzahl Keime abtötet.

Können wir daher dem Zinksulfat in der therapeutisch verwendeten Konzentration eine gewisse desinfizierende Kraft unter den günstigen Bedingungen des Invitroversuches auch nicht absprechen, so wird sie am Auge kaum eine Rolle spielen. Denn die instillierte Zinklösung wird sich rasch über die gesamte Oberfläche der Conjunctiva verteilen, durch Tränenflüssigkeit verdünnt und zur Nase abgeleitet werden, ehe sie Zeit gehabt hat, mit einer nennenswerten Zahl von Infektionserregern auch nur in Berührung zu kommen.

Der Leukingehalt der Conjunctivalflüssigkeit nach Zinksulfatinstillation.

Da auch meine Desinfektionsversuche es verbieten, in der einfachen, desinfizierenden und entwicklungshemmenden Wirkung des Zinks die Erklärung für die Erfolge der Zinktherapie zu erblicken, so kann man mit Rücksicht auf ihre tatsächlich bestehende Heilwirkung und auf Grund unserer experimentellen Ergebnisse fast voraussetzen, dass auch das Zincum sulfuricum die Leukinbildung im Bindehautsack anregt.

Es ist von vornherein plausibel, dass entsprechend der geringeren Reizwirkung des Zinkes — ätzt es doch erst in einer Konzentration von ungefähr 5 Prozent — auch der Leukingehalt der Conjunctivalfüssigkeit nach Instillation von $\frac{1}{2}$ prozent. Zinksulfatlösung hinter dem nach Einträufelung von 1—2 prozentiger Höllensteinlösung zurücksteht. Diese Voraussetzungen werden durch meine Versuche bestätigt.

Versuch XXXII.

Nach Einfließenlassen mehrerer Tropfen einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinksulfatlösung werden einem Kaninchen beiderseits in den Conjunctivalsack Wattebäusche gelegt, diese nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wieder entfernt und die in ihnen enthaltene Flüssigkeit in der üblichen Weise gewonnen und zentrifugiert; es werden so nicht ganz 2,0 ccm einer blassgelblichen Flüssigkeit gewonnen. Ausserdem wird dem Tier behufs Serumgewinnung Blut entzogen. Von dem Serum und der Conjunctivalfüssigkeit wird je eine Probe von 0,3 ccm 50 Minuten auf $55,5^0$ erhitzt.

Baktericider Versuch. Diplobacillen, Staphylokokken und Streptokokken.

Inhalt der Röhrechen je 0,35 ccm; davon ist 0,05 ccm Bakterienaufschwemmung und zwar wurden in Röhre 1—5 Diplobacillen, in Röhre 5—6 Staphylokokken und in Röhre 9—11 Streptokokken eingesät. Aussaaten werden mit grosser Öse sofort, nach 1, $3\frac{1}{2}$, $7\frac{1}{2}$ und 24 Stunden gemacht. Dabei werden die Diplobacillen- und Streptokokkenproben auf Löfflerserum, die Staphylokokkenproben auf Agar ausgestrichen.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Test-objekt	Koloniezahl				
			sofort	nach 1 Stde.	nach $3\frac{1}{2}$ Stdn.	nach $7\frac{1}{2}$ Stdn.	nach 24 Stdn.
1	0,3 ccm akt. Kaninchenserum	Diplobac.	135	0	0	0	0
2	0,3 „ inakt. „	„	156	180	400	500	8
3	0,3 „ akt. Zink.-Sekret	„	168	28	0	0	0
4	0,3 „ inakt. „	„	162	116	20	0	0
5	0,3 „ phys. NaCl-Lösung	„	160	196	reichl.	reichl.	8
6	0,3 „ akt. Kaninchenserum	Staphyl.	98	50	2	0	0
7	0,3 „ „ Zink.-Sekret	„	96	51	0	0	0
8	0,3 „ phys. NaCl-Lösung	„	94	135	340	reichl.	8
9	0,3 „ akt. Kaninchenserum	Streptok.	81	92	reichl.	∞	8
10	0,3 „ „ Zink.-Sekret	„	85	81	23	0	0
11	0,3 „ phys. NaCl-Lösung	„	80	83	111	140	—

Wir konstatieren hieraus eine kräftige baktericide Wirkung des Kaninchenserums auf Diplobacillen, die im Gegensatz zu der des Conjunctivalsekretes thermolabil ist, also als Alexinwirkung zu gelten hat. Die Staphylokokken, denen gegenüber das Serum in diesem Falle ausnahmsweise auch einige abtötende Kraft hat, werden ebenfalls, aber weniger prompt als die Diplobacillen, vernichtet. In noch geringerem

Grade geschieht dies mit den Streptokokken, die sich in dem Serum des Tieres reichlich vermehren.

Dass die Wirkung des Conjunctivalsekretes nach Zinkeinträufelung auch gegen Diphtheriebacillen gerichtet ist, und dass sie gegenüber diesen Keimen, wie auch gegen die Diplobacillen hinter der des Höllensteinsekretes deutlich zurücksteht, zeigt der nächste Versuch.

Versuch XXXIII.

Einem Kaninchen wird in das eine Auge $\frac{1}{2}$ proz. Zinklösung, in das andere 1proz. Silbernitratlösung eingeträufelt und danach Watte eingelegt; mit einem zweiten Tier wird dasselbe gemacht, ohne vorhergehende Instillation. Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden werden die Bäusche herausgenommen und abgessaugt.

Baktericider Versuch. Diplo- und Diphtheriebacillen.

In physiologischer Kochsalzlösung, der 10 Prozent Pferdeserumbouillon zugesetzt ist, werden Diplo- und Diphtheriebacillen von einer 12 stündigen Serumkultur emulgiert und von der Aufschwemmung wird je 0,05 ccm zu den Röhren, die ausserdem noch 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten, hinzugegeben. Aussaaten mit grosser Öse sofort, nach 1, $3\frac{1}{4}$ und 8 Stunden auf Löfflerserum.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Test-objekt	Koloniezahl			
		sofort	nach 1 Stde.	nach $3\frac{1}{4}$ Stdn.	nach 8 Stdn.
0,3 ccm akt. Kaninchenserum	Diplobac.	118	0	0	0
0,3 „ „ $AgNO_3$ -Sekret	„	104	0	0	0
0,3 „ „ $ZnSO_4$	„	106	26	10	1
0,3 „ „ norm. Sekret	„	113	118	310	∞
0,3 „ „ Kaninchenserum	Diphth.-B.	171	160	212	∞
0,3 „ „ $AgNO_3$ -Sekret	„	200	0	0	0
0,3 „ „ $ZnSO_4$	„	202	6	0	0
0,3 „ „ norm. Sekret	„	200	227	242	reichl.

Die Überlegenheit des Silbernitrates in bezug auf die Leukinbildung und der durch diese bedingten Baktericidie auch gegenüber dem Diphtheriebacillus geht aus vorstehenden Zahlen deutlich hervor.

Dasselbe erhellt auch aus dem folgenden Experiment.

Versuch XXXIV.

In das eine Auge wird $\frac{1}{2}$ prozentige Zinklösung, in das andere 1prozentige Höllensteinlösung eingeträufelt. Die hierauf eingelegten Wattebäusche bleiben nur $\frac{1}{2}$ Stunde liegen und werden dann ihrer Flüssigkeit beraubt.

Baktericider Versuch. Diplobacillen.

Inhalt der Röhren 0,4 ccm, davon 0,05 ccm Aufschwemmung von Diplobacillen. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden auf Löfflerserum.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,35 cem akt. $\frac{1}{2}$ h $ZnSO_4$ -Sokr.	256	133	29	0	0
0,35 „ „ $\frac{1}{2}$ „ $AgNO_3$ - „	260	0	0	0	0

Die Baktericidie der Conjunctivalflüssigkeit, welche nach Zinkinstillation und verschieden langem Liegenlassen der Watte gewonnen ist, gegenüber Pneumokokken, kann man im nächsten Versuch verfolgen.

Versuch XXXV.

Von 2 Kaninchen wird dem einen rechts $\frac{1}{2}$ prozentige Zinklösung, links 1 prozentige Höllensteinlösung eingeträufelt und Watte auf $\frac{1}{2}$ Stunde in den Bindehautsack eingelegt. Dem andern Tier wird beiderseits $\frac{1}{2}$ $\frac{0}{10}$ Zinklösung instilliert, die Wattebäusche des einen Auges bleiben 1 Stunde, die des andern 2 Stunden liegen. Die Gewinnung der Conjunctivalfüssigkeiten geht wie gewöhnlich vor sich.

Baktericider Versuch. Pneumokokken.

Zu den 4 je 0,35 cem des betreffenden Conjunctivalsekretes enthaltenen Röhrechen wird je 0,05 cem Pneumokokkenemulsion hinzugefügt, und aus ihnen sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden mit grosser Öse auf Löfflerserum Aussaaten gemacht.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,35 cem akt. $\frac{1}{2}$ h $ZnSO_4$ -Sokr.	198	159	0	3	0
0,35 „ „ 1 „ „	194	123	0	0	0
0,35 „ „ 2 „ „	197	108	0	0	0
0,35 „ „ $\frac{1}{2}$ „ $AgNO_3$ - „	175	0	0	0	0

Mit den übriggebliebenen $\frac{1}{2}$ - und 2stündigen Sekreten und dem Serum desselben Tieres wurde noch ein baktericider Versuch gegenüber Meningokokken als Testobjekten angestellt.

Baktericider Versuch. Meningokokken.

Von dem 0,35 cem betragenden Inhalt der Röhrechen ist 0,05 cem eine Aufschwemmung von Meningokokken in physiologischer $NaCl$ -Lösung mit 10 $\frac{0}{10}$ Pferdeserumbouillonzusatz. Aussaaten sofort, nach 1, 3 und 8 Stunden mit grosser Öse auf Löfflerserum.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.
0,3 cem akt. Kaninchenserum	116	1	0	0
0,3 „ inakt. „	113	125	210	370
0,3 „ $\frac{1}{2}$ h $ZnSO_4$ -Sokr.	118	9	0	0
0,3 „ 2 „ „	115	0	0	0

Um den Einfluss, den die Konzentration der Zinklösung auf die Leukinbildung ausübt, festzustellen, wurde folgender Versuch gemacht.

Versuch XXXVI.

Von 2 Kaninchen wird dem einen in das rechte Auge 0,5 ccm einer 1 prozentigen Zinklösung, in das linke 0,5 ccm einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinklösung, dem andern Tiere in das rechte Auge 0,5 ccm einer $\frac{1}{5}$ prozentigen Zinklösung und in das linke 0,5 ccm einer $\frac{1}{10}$ prozentigen Zinklösung eingeträufelt und möglichst über die ganze Bindehautoberfläche verteilt. Nach Austrocknung des Conjunctivalsackes werden Wattebäusche eingelegt, die $1\frac{1}{2}$ Stunden liegen bleiben; die aus ihnen entzogenen Flüssigkeiten seien $1-\frac{1}{10}\frac{0}{0}$ $ZnSO_4$ -Sekret I bezeichnet. Darauf wird eine 2. Serie Bäusche unter die Lider geschoben und ebenfalls $1\frac{1}{2}$ Stunden liegen gelassen; die aus diesen Bäuschen abgesaugte Flüssigkeit heisse $1-\frac{1}{10}\frac{0}{0}$ $ZnSO_4$ -Sekret II.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Die Röhren enthalten 0,35 ccm, davon 0,05 ccm Aufschwemmung von 12stündiger Agarkultur des *Staphylococcus pyogenes aureus* in physiologischer Kochsalzlösung mit einigen Tropfen Bouillonzusatz. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 1, 3 und 8 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.
0,3 ccm akt. $1\frac{0}{0}$ $ZnSO_4$ -Sokr. I	135	113	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{2}\frac{0}{0}$ „ I	130	113	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{5}\frac{0}{0}$ „ I	131	116	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{10}\frac{0}{0}$ „ I	130	124	10	0
0,3 „ „ $1\frac{0}{0}$ „ II	132	96	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{2}\frac{0}{0}$ „ II	116	73	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{5}\frac{0}{0}$ „ II	95	72	0	0
0,3 „ „ $\frac{1}{10}\frac{0}{0}$ „ II	95	73	0	0

Es zeigt also das Zinksulfat, wenn es auf normale Kaninchenconjunctiva einwirkt, bis zu einer Konzentration von $\frac{1}{5}\frac{0}{0}$ ungeschwächt seine leukinbildende Funktion. Dies ist ebenso beachtenswert wie der anhaltende Erfolg des Zinks, der sich darin ausdrückt, dass die Conjunctivalfüssigkeiten aus der zweiten Wattebauschserie die aus der ersten Serie an Wirksamkeit sogar etwas übertreffen. Wie aus einem Vergleiche des vorstehenden Versuches mit dem ihm entsprechenden Silbernitratversuch zu entnehmen ist, steht an Gleichmässigkeit die Wirkung des Zinks der des Höllensteins nicht nach, wenngleich sie weniger drastisch als letztere ist.

Die geringere Intensität des Reizes, den das Zinksulfat bei Ver-

wendung der therapeutischen Konzentration auf die Bindehaut im Vergleich zu dem Silbernitrat ausübt, prägt sich auch in dem Grade aus, in dem es zur Transsudation gelöster Blutsubstanzen nach Applikation der beiden Mittel kommt. An sich ist, wie wir ja gesehen, der Gehalt an hämolytischem Alexin, das nur aus der Blutbahn ausgetreten sein kann, schon bei den Höllenstein-Conjunctivalsekreten recht gering; wie die folgenden zwei hämolytischen Versuche illustrieren sollen, geht in die Zink-Bindehautsekrete noch weniger globulicides Alexin aus den Blutgefäßen über.

Versuch XXXVII.

Einem Kaninchen wird das eine Auge mit 0,5 ccm einer $\frac{1}{2}$ prozentigen Zinksulfatlösung, das andere mit 0,5 ccm einer 1 prozentigen Höllensteinlösung, und dann beide mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Dann werden beiderseits auf 1 Stunde Wattebäusche in den Conjunctivalsack eingelegt und aus ihnen in der üblichen Weise die aufgesaugten Flüssigkeiten gewonnen.

Hämolytischer Versuch.

Als Testobjekt enthalten die Röhrechen je 1 ccm einer 5 prozentigen Aufschwemmung präparierter Ziegenbluterythrocyten. Auffüllungsflüssigkeit: physiologische NaCl-Lösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn. 38°
0,2 ccm akt. Kaninchenserum	vollständig
0,1 " " "	fast "
0,05 " " "	fast vollständig
0,5 " " Zinksekret	Spur
0,2 " " "	geringe Spur (?)
0,5 " " Silbersekret	teilweise
0,2 " " "	deutliche Spur
0,1 " " "	Spur
1,0 " phys. Kochsalzlösung	keine

Versuch XXXVIII.

$1\frac{1}{2}$ Stunden bleiben die Wattebäusche nach Instillation von $\frac{1}{2}$ prozentiger Zinklösung und 1 prozentiger Silbernitratlösung in dem betreffenden Auge liegen und werden dann behufs Gewinnung der von ihnen aufgenommenen Flüssigkeit abgesaugt.

Hämolytischer Versuch.

Als Testobjekt werden wieder präparierte Ziegenblutkörperchen in 5 prozentiger Aufschwemmung den Röhrechen zugesetzt. Auffüllungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn. 38°
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	vollständig
0,2 „ „ „	„
0,1 „ „ „	„
0,05 „ „ „	fast vollständig
0,01 „ „ „	deutliche Spur
0,4 „ „ $AgNO_3$ -Sekret	teilweise
0,2 „ „ „	deutliche Spur
0,1 „ „ „	keine
0,2 „ „ $ZnSO_4$ -Sekret	deutliche Spur
0,1 „ „ „	keine
0,5 „ „ phys. $NaCl$ -Lösung	„

Aus alledem ersieht man, dass das Zincum sulfuricum ein in jeder Hinsicht viel milder wirkendes Mittel als das Argentum nitricum ist.

Ist auch seine desinfizierende Kraft praktisch fast gleich Null zu erachten, so besitzen wir in ihm ein Mittel, das ebenfalls Leukinbildung im Bindehautsack in sicherer und nachhaltiger Weise hervorruft; nur ein einziges Mal versagte es bei meinen Versuchen. Dem schwächeren Grad dieser seiner Fähigkeit steht als Vorteil die geringere Reizung der Bindehaut gegenüber.

Seine vorzügliche Heilwirkung auf die Diplobacillenconjunctivitis dürfte nicht als eine spezifische zu deuten sein und mehr in der Labilität des Diplobacillus liegen; es sei darauf aufmerksam gemacht, dass er der einzige von den hauptsächlich als Erreger von Conjunctividen in Betracht kommenden Keimen ist, der auch durch das Blutalexin abgetötet wird. Vielleicht spielt auch dieses Moment bei seiner raschen Vernichtung bei der Zinktherapie noch mit.

Da sich die Conjunctivalsekrete nach den Zinkinstillationen auch auf andere Mikroorganismen wirksam gezeigt haben, so ist damit auch bewiesen, warum das Zinksulfat durch seine leukinbildende Fähigkeit auch auf ätiologisch andersartige Entzündungen heilend einwirken kann.

Antiseptica.

Der Gebrauch der Antiseptica in der Augenheilkunde ist bedeutend zurückgegangen und zwar mit Recht. Alle Versuche durch Desinfektion des Bindehautsackes ein keimfreies Operationsfeld zu schaffen sind gescheitert. Es sei hier nur an die experimentellen Arbeiten von Gayet (64), Hildebrandt (65), Bernheim (loc. cit.), Marthen (loc. cit.), Bach (loc. cit. u. 66—68), Morax (69), Dalén (70), Randolph (71), Kalt (72) u. A. erinnert, nach denen eine völlige Keimfreiheit der Bindehaut mit Antiseptics unmöglich zu erzielen ist.

Und dennoch hat es lange gedauert, bis die von Steffan (73) und Eversbusch (74) schon vor 20 Jahren empfohlene aseptische Reinigung des Bindehautsackes mit physiologischer Kochsalzlösung über die antiseptische mit Sublimat usw., die in A. v. Graefe (75) einen mächtigen Verteidiger gefunden hatte, den Sieg davongetragen hat. Wenn man heute die grossen infektionsfreien Serien von Bulbusoperationen betrachtet, wie sie z. B. Hauenschild (76) aus der Klinik v. Michels zusammengestellt hat und bei denen nur physiologische Kochsalzlösung zur Reinigung des Bindehautsackes verwendet wurde, so hat man den besten Beweis für die Richtigkeit der Anschauungen, die damals schon Steffan und Eversbusch über den geringen Wert der Antiseptica in der Ophthalmiatrik ausgesprochen haben.

Wegen ihrer das Gewebe schädigenden Eigenschaften sind die Antiseptica nur in schwachen Lösungen gestattet, und von der Wirkung dieser gilt das schon bei Erörterung der antiseptischen Kraft der Adstringentia Gesagte, dass sie nämlich zu oberflächlich und zu kurz einwirkt, um alle Keime treffen zu können.

Trotzdem finden das Sublimat und noch mehr das Quecksilberoxycyanat bei der Behandlung infektiöser stark secernierender Bindehautaffektion in einer Konzentration von 1:2000—3000 und in der Gestalt ausgiebiger Spülungen, den sogenannten „grands lavages“ noch ziemlich viel Anwendung. Mit Rücksicht hierauf prüfte ich in einigen Versuchen, ob das Conjunctivalsekret nach Applikation von Quecksilberoxycyanat baktericide Substanzen enthält.

Versuch XXXIX.

Einem Kaninchen wird 1,0 ccm einer Quecksilberoxycyanatlösung in den Bindehautsack eingegossen und 1 Minute darin gelassen. Durch Streichen und Ausdrücken der Lider gegen den Bulbus wird die Flüssigkeit wieder entfernt. Dann werden Wattebäusche eingelegt und nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wieder entfernt. Die Ausbeute aus den Bäuschen des Auges beträgt nur 0,4 ccm Flüssigkeit.

Baktericider Versuch.

Diphtheriebacillen werden in physiologische Kochsalzlösung mit 10 % Pferdeserum versetzt, aufgeschwemmt und dienen als Testobjekt. Wie gewöhnlich wird 0,05 ccm Emulsion den Röhrchen zugesetzt, das ausserdem noch 0,4 ccm Quecksilberoxycyanatsekret enthält. Aussaat sofort, nach 1, 3 und 9 Stunden auf Löfflerserum mit grosser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 9 Stdn.
0,4 ccm akt. Oxycyanatsekret	183	182	180	163

Obleich also das Quecksilberoxycyanat — wie auch meine Desinfektionsversuche ergeben haben — das Zinksulfat und Argentum nitricum an antiseptischer Kraft weit überflügelt, ist in diesem Versuche das $2\frac{1}{2}$ stündige Conjunctivalsekret wirkungslos. Das ist ein Beweis dafür, dass nach den angegebenen Manipulationen die Instillationsflüssigkeit aus dem Conjunctivalsack gründlich entfernt wird und dass das Quecksilbersalz in der Konzentration von 1:1500 auf die Bindehaut nicht den Reiz auszuüben vermag, der zur Leukinbildung notwendig ist.

Dass die Oxycyanatlösung (1:1500) quoad Leukinbildung nicht anders als physiologische Kochsalzlösung zu wirken scheint, kann man aus dem nächsten Versuch schliessen.

Versuch XL.

Einem Kaninchen werden in ein Auge in kleineren Portionen im ganzen nach und nach 3,0 ccm einer Oxycyanatlösung 1:1500 in den Bindehautsack eingefüllt, so dass die Conjunctiva 2—3 Minuten von dieser Flüssigkeit benetzt wird. Dann wird letztere mit den Lidern möglichst ausgestrichen und der Bindehautsack mit ungefähr 30 ccm physiologischer Kochsalzlösung von Zimmertemperatur ausgespült. Das andere Auge wird zur Kontrolle nur mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung beirieselt; darauf wird beiderseits Watte eingelegt, die $1\frac{3}{4}$ Stunden liegen bleibt und sofort abgesaugt wird; die gewonnenen Flüssigkeiten werden mit Normalsekret I und Hg-Sekret I bezeichnet. Dann werden nochmals Bäusche eingelegt, die $1\frac{1}{4}$ Stunde in den Augen verweilen und dann abgesaugt werden: ihre Flüssigkeiten mögen Normalsekret II und Hg-Sekret heissen; ihre Mengen betragen nur die Hälfte der ersten Sekrete, d. h. nur je 0,4 ccm.

Baktericider Versuch.

Inhalt der Röhren je 0,45 ccm; davon je 0,05 ccm Bakterienemulsion in physiologischer Kochsalzlösung mit 10 % Pferdeserumbouillonzusatz;

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	Koloniezahl			
			sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.
1	0,4 ccm akt. Kaninchenserum	Pneumokokk.	42	69	reichl.	∞
2	0,4 „ „ Norm.-Sekret	„	41	37	18	0
3	0,4 „ „ Hg-Sekret I	„	45	41	18	0
4	0,4 „ „ Norm.-Sekret II	„	43	40	9	0
5	0,4 „ „ Hg-Sekret II	„	44	42	10	0
6	0,4 „ phys. NaCl-Lösung + 10% Serumbouillon	„	39	110	207	reichl.
7	0,4 „ akt. Kaninchenserum	Staphylokokk.	33	6	0	ca. 500
8	0,4 „ „ Norm.-Sekret	„	30	11	1	0
9	0,4 „ „ Hg-Sekret I	„	34	15	0	0
10	0,4 „ phys. NaCl-Lösung + 10% Serumbouillon	„	33	51	346	reichl.

und zwar werden in Röhren 1—6 Pneumokokken und in Röhren 7—10 Staphylokokken eingesät. Aus den ersteren Röhren werden auf Löffler-serum, aus den letzteren auf Agar mit der grossen Öse sofort, nach 1, 3 und 8 Stunden Aussaaten gemacht.

Wie immer ist im aktiven Kaninchenserum der *Pneumococcus* sehr gut gewachsen, während die *Staphylokokken* erst eine teilweise Abtötung erfahren, um sich dann zu vermehren. Alle Sekrete sind schwach wirksam; die zweiten sogar etwas stärker als die ersten. Kein Unterschied ist jedoch zwischen dem sogenannten Normal- und dem *Hg*-Sekret; die vorherige Bepflanzung mit Quecksilberoxycyanat hat also keinen Effekt gehabt. Dagegen hat der milde Reiz, der durch die Benetzung mit den 30 ccm physiologischer Kochsalzlösung von Zimmertemperatur gesetzt wurde, genügt, eine schwache Baktericidie der Conjunctivalflüssigkeit hervorzurufen.

Dieser Befund ist von praktischem Wert und bestätigt klinische Erfahrungen. Einmal lässt er den Gebrauch von Antiseptics noch weiter entbehrlich erscheinen. Dann spricht er für die Spülungen mit indifferenten Lösungen, indem durch sie ohne Schädigung des Gewebes nicht nur das pathologische Sekret mit den Infektionserregern und ihren toxischen Produkten entfernt, sondern auch gleichzeitig infolge des mechanischen, sowie Kälte- oder Wärmereizes der Spülflüssigkeit eine heilende Reaktion von seiten des Gewebes ausgelöst wird.

Pyocyanase.

Aus den vielfach erörterten Gründen dürfte es wohl als ausgeschlossen gelten, dass man eine nur einigermassen von Bakterien besiedelte Conjunctiva absolut keimfrei machen kann. Immerhin wäre ein Mittel sehr wertvoll, mit dem rasch und ohne Ätzwirkung eine relative Sterilisierung des Bindehautsackes erreicht werden könnte. Als ein solches Mittel dürfte die von Emmerich und Loew (77—78) entdeckte Pyocyanase noch mehr, als es bisher geschehen ist, in der Augenheilkunde zu versuchen sein. Ihre ausserordentlich prompte, bakterientötende Eigenschaft *in vitro* ist von den Entdeckern, Schapiro (79) u. A. zur Evidenz dargetan, und auch die Erfolge bei den verschiedensten Schleimhautaffektionen scheinen ausgezeichnete zu sein. Am Auge hat Loewenstein (80) zuerst den Einfluss der Pyocyanase auf den Keimgehalt des Bindehautsackes untersucht. Auf Grund seiner Resultate hält er sich für berechtigt, die Pyocyanase als das Desinficiens zu bezeichnen, das die Forderung Behrings erfülle, „pflanzliche Zellen zu zerstören, ohne tierische Schleimhäute zu zerstören“.

Inwieweit dieses Urteil zutrifft, bleibe dahingestellt, mich regte es zu folgenden Versuchen an, die sich nur auf die etwaige leukinbildende Fähigkeit der Pyocyanase erstrecken sollten.

Versuch XLI.

In den Bindehautsack des rechten Auges eines Kaninchens wird 0,2 ccm unverdünnter käuflicher Pyocyanase eingeträufelt. Nach 2 — 3 Minuten langer Einwirkung wird letztere durch Streichen und Abheben der Lider wieder entfernt. Danach werden in dieses Auge und in das linke Kontrollauge auf 2 Stunden Wattebäusche eingelegt. Bei ihrer Herausnahme ist die Conjunctiva des rechten Auges glatt, stark injiziert, aber ohne Ätزشorfe.

Baktericider Versuch. Typhusbacillus „Gabersee“.

Inhalt der Röhrchen je 0,45 ccm; davon 0,05 ccm Typhusbacillenaufschwemmung. Aussaaten mit grosser Öse auf Agar, sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,4 ccm akt. Norm.-Conjunctivalsekr.	146	137	275	reichl.
0,4 „ „ Pyocyanasesekret	147	140	290	„

Da die gewöhnliche Pyocyanase reich an verschiedenen Salzen ist, die auf die Conjunctiva reizend einwirken können, wurde das nächste Mal die käufliche Pyocyanase in Eiskochsalzgemisch abgekühlt. Hierdurch krystallisieren die Salze in grossen Massen aus und lassen sich dann bequem von der salzarmen Pyocyanaseflüssigkeit abgiessen.

Versuch XLII.

In das rechte Auge wird 0,75 ccm gewöhnliche, in das linke ebenso viel salzarme Pyocyanase eingeträufelt. Die beiderseits eingelegten Wattebäusche werden nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden herausgenommen. Auch diesmal sind die Conjunctiven stark injiziert, rechts allerdings mehr als links; die gewonnene Flüssigkeit beträgt hier 0,8 ccm, dort 1,2 ccm. Der Bodensatz der rechtsseitigen Flüssigkeit besteht aus Erythrocyten und wenigen Leukocyten, derjenigen der linksseitigen enthält etwas mehr Leukocyten.

Baktericider Versuch. Diplo- und Diphtheriebacillen.

Inhalt der Röhrchen je 0,45 ccm; davon in Röhre 1 und 2 je 0,05 ccm Diplobacillenaufschwemmung, in Röhre 3 und 4 je 0,05 ccm Diphtheriebacillenemulsion. Aufschwemmungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung mit 10‰ Pferdeserumbouillonzusatz. Aussaaten mit grosser Öse auf Löffler-serum sofort, nach 1, 3, 7 und 24 Stunden.

Röhre	Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	Koloniezahl				
			sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
1	0,4 ccm akt. gewöhl. Pyocyan.-Sekret	Diplobac.	160	226	370	∞	∞
2	0,4 „ „ entsalz. Pyocyan.-Sekret	„	150	173	206	reichl.	∞
3	0,4 „ „ gewöhl. Pyocyan.-Sekret	Diphth.-Bac.	287	256	41	5	0
4	0,4 „ „ entsalz. Pyocyan.-Sekret	„	260	196	25	0	0

Die Instillation von gewöhnlicher und entsalzter Pyocyanase hat also ein Wirksamwerden der darauf gebildeten Conjunctivalflüssigkeit nicht zur Folge.

Versuche am Menschen.

Nachdem gezeigt war, dass das Leukin eine wertvolle Schutz-
waffe des Kaninchens ist, war es von grossem Interesse, zu unter-
suchen, ob das Gleiche auch bei dem Menschen der Fall ist. Denn
sollten die beim Tierexperimente gemachten Beobachtungen Berück-
sichtigung und Verwendung beim Menschen finden, so müsste vor
allem gezeigt werden, dass auch in der menschlichen Conjunctiva nach
Instillation von *Argentum nitricum* und *Zincum sulfuricum* Leukine
in wirksamer Weise auftreten. Ganz leicht war die Gewinnung des
notwendigen Materials nicht; immerhin waren mehrere Personen bereit,
mir als Versuchsobjekte zu dienen, und die bei ihnen erzielten Resul-
tate waren eindeutig genug, um unsere Frage als im bejahenden Sinne
gelöst erachten zu dürfen.

Die ersten Versuche wurden an phthisischen Augen mit normaler
Conjunctiva ausgeführt. Als es sich herausgestellt hatte, dass bei ent-
sprechender Vorsicht mit dem Experiment keine Gefahr für die Augen
verknüpft ist, wurden auch völlig normale Augen benutzt. Nach Ko-
kainisierung wurde das 1% ige Silbernitrat auf die Conjunctiva der
evertierten Lider aufgeträufelt und sogleich mit physiologischer Kochsalz-
lösung neutralisiert. Dass die Cornea vor jeder Benetzung mit der
Höllensteinlösung geschützt wurde, ist selbstverständlich. Das *Zincum*
sulfuricum wurde in $\frac{1}{2}$ prozentiger Lösung ohne besondere Schutzmass-
regeln in das Auge ausgiebig eingeträufelt. Die Wattebäusche wurden
nur in den unteren Bindehautsack eingelegt und bis zu 35 Minuten
darin gelassen. Die nach dem Versuch vorhandenen Beschwerden

konnten mit Kokainsalbe und kühlen Kompressen leicht unterdrückt werden. Nach einigen Tagen hatte die Conjunctiva wieder normales Aussehen.

Folgende Beispiele mögen zur Illustration des Gesagten dienen.

Versuch XLIII.

Einem jungen Manne wird in das eine Auge 0,1 ccm einer 1⁰/₁₀igen Silbernitratlösung in den unteren Bindehautsack unter Eversion des Lides eingeträufelt und mit physiologischer *NaCl*-Lösung neutralisiert. Die sodann in beide Augen eingelegte Watte bleibt 20 Minuten liegen, ist bei ihrer Herausnahme vollkommen durchfeuchtet und gibt 0,3 ccm Normal-Sekret und 0,4 ccm *AgNO₃*-Flüssigkeit. Von dieser sowie von dem Blutserum der Versuchsperson wird eine Probe auf 56° ¹/₂ Stunde erhitzt. Zur Kontrolle wird auch eine Probe mit physiologischer Kochsalzlösung und eine mit Kochsalzlösung, die in Wattebäusche aufgesaugt eine halbe Stunde bei 38° gehalten war, mit herangezogen.

Bakterieider Versuch. Typhusbacillen.

Inhalt der Röhren je 0,35 ccm, davon 0,5 ccm Typhusbacillen-emulsion in Kochsalzlösung mit 10⁰/₁₀ Pferdeserumbouillonzusatz. Auffüllungsflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 3, 7 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,2 ccm akt. Menschenserum	53	0	0	0
0,2 „ inakt. (¹ / ₂ St. 56°) Menschenser.	50	67	261	—
0,2 „ akt. Normalsekret	53	39	35	21
0,2 „ „ <i>AgNO₃</i> -Sekret	59	0	0	0
0,2 „ inakt. (¹ / ₂ St. 56°) <i>AgNO₃</i> -Sokr.	52	0	0	0
0,3 „ phys. <i>NaCl</i> -Lösung	58	71	356	—
0,3 „ Watte <i>NaCl</i> -Lösung	57	76	325	—

Versuch XLIV.

Einem 14 jährigen Mädchen wird in das linke Auge, dessen Bulbus infolge Blennorrhoea neonatorum phthisisch geworden war, auf die Conjunctiva des Unterlides 0,1 ccm 1prozentiger Höllensteinlösung aufgeträufelt. Die in den unteren Bindehautsack eingelegte Watte bleibt nur ¹/₂ Stunde liegen und enthält 0,2 ccm Flüssigkeit. Von letzterer und dem Serum des Mädchens wird je 0,1 ccm ¹/₂ Stunde auf 56° erhitzt.

Bakterieider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhren je 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Emulsion von 12stündiger Agarkultur des *Staphylococcus pyogenes aureus* in physiologischer Kochsalzlösung, der einige Tropfen Bouillon zugesetzt sind. Aussaat mit grosser Öse auf Agar sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.
0,1 ccm akt. Menschenserum	126	128	152	reichl.
0,1 „ inakt. ($\frac{1}{2}$ St. 56°) Menschenser.	135	169	—	„
0,1 „ akt. $AgNO_3$ -Sekret	150	92	45	13
0,1 „ inakt. ($\frac{1}{2}$ St. 56°) $AgNO_3$ -Sokr.	145	93	62	28
0,1 „ phys. $NaCl$ -Lösung	156	155	301	reichl.

Versuch XLV.

Einem 30jährigen Manne wird nach Kokainisierung beider Augen links $\frac{1}{2}$ %ige Zinksulfatlösung eingeträufelt und rechts die Conjunctiva des evvertierten Ober- und Unterlides mit 1prozentigem Argentum nitricum benetzt. Nach Neutralisation mit Kochsalzlösung werden beiderseits auf $\frac{1}{2}$ Stunde Wattebäusche in den unteren Bindehautsack eingelegt. Bei ihrer Herausnahme sind sie sehr gut durchfeuchtet und ergeben 0,5 bzw. 0,6 ccm Flüssigkeit. Durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 56° wird von den Conjunctivalfüssigkeiten je eine Probe inaktiviert.

Baktericider Versuch. Pneumokokken.

Inhalt der Röhren je 0,35 ccm; davon je 0,05 ccm Pneumokokkenemulsion in physiologischer Kochsalzlösung mit 10% Zusatz von Pferdeserumbouillon. Aussaat mit grosser Öse auf Löffler Serum, sofort, nach 1, 3, $8\frac{1}{2}$ und 20 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl				
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach $8\frac{1}{2}$ Stdn.	nach 20 Stdn.
0,3 ccm akt. Menschenserum	70	87	185	312	verunrein.
0,3 „ „ $AgNO_3$ -Sekret	70	0	0	0	0
0,3 „ inakt. „	75	0	0	0	0
0,3 „ akt. $ZnSO_4$ -Sekret	77	24	0	0	0
0,3 „ inakt. „	74	27	0	0	0

Versuch XLVI.

Der Versuchsperson wird in das linke Auge $\frac{1}{2}$ prozentiges Zinksulfat eingeträufelt und auf dem rechten die Conjunctiva des Ober- und Unterlides mit 1prozentigem Argentum nitricum befeuchtet. Nach Neutralisation des Höllensteins bleiben Wattebäusche beiderseits in den unteren Bindehautsäcken 25 Minuten liegen und werden in gewohnter Weise der in ihnen aufgesaugten Flüssigkeit beraubt und zwar wird 0,35 ccm $AgNO_3$ -Sekret und 0,3 ccm $ZnSO_4$ -Sekret erhalten. Die Hälfte letzterer Flüssigkeiten wird ebenso wie eine Blutserumprobe 25 Minuten auf 56° erwärmt.

Baktericider Versuch. Staphylokokken.

Inhalt der Röhren 0,35 ccm; davon 0,05 ccm Staphylokokkenemulsion in Kochsalzlösung mit 10% Zusatz einiger Tropfen Bouillon. Auffüllungs-

flüssigkeit physiologischer Kochsalzlösung. Aussaat mit grosser Öse sofort, nach 1, 3, und 9 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl			
	sofort	nach 1 Stde.	nach 3 Stdn.	nach 9 Stdn.
0,2 ccm akt. Menschenserum	144	145	174	reichl.
0,2 „ inakt. „	140	233	ca. 600	—
0,15 „ akt. $AgNO_3$ -Sekret	136	8	1	0
0,15 „ inakt. „	139	21	5	0
0,15 „ akt. $ZnSO_4$ -Sekret	141	102	91	18
0,15 „ inakt. „	137	99	84	31
0,3 „ phys. $NaCl$ -Lösung	131	158	160	reichl.

Wir sehen also aus den vorstehenden Versuchen, dass auch beim Menschen durch das Silbernitrat und das Zinksulfat die Conjunctivalflüssigkeit baktericide Eigenschaften erhält. Diese werden durch Erhitzen nicht abgeschwächt und betätigen sich auch Bakterien gegenüber, die vom Serum nicht abgetötet werden. Unter Berücksichtigung und in Übereinstimmung mit den am Kaninchen gemachten Beobachtungen schreibe ich daher die antibakterielle Wirkung der Conjunctivalflüssigkeiten dem in ihnen enthaltenen Leukin zu. Letzteres ist somit auch für den Menschen ein wirksames Verteidigungsmittel gegen die verschiedenen Mikroorganismen.

Zusammenfassung und Schluss.

Da in den einzelnen Abschnitten der Arbeit den Ergebnissen der Versuche unmittelbar eine Würdigung ihrer theoretischen und praktischen Bedeutung angeschlossen worden ist, sollen hier nur ganz kurz die wichtigsten Resultate zusammengefasst werden.

Das normale Sekret der Tränendrüse und der Conjunctiva enthält keine baktericiden, hämolytischen und opsonisierenden Substanzen.

Nach Instillation von Silbernitrat-, Protargol- und Zinksulfatlösung wandern Leukocyten in den Bindehautsack aus und geben unter dem Einflusse jener Mittel ihre baktericiden Stoffe, die „Leukine“, ab.

Die Heilwirkung der „Adstringentien“ beruht nicht so sehr auf der durch sie verursachten Schorf- oder Häutchenbildung und ihrer desinfizierenden Kraft, als vor allem auf ihrer Fähigkeit, die Leukinbildung hervorzurufen.

Die Vernichtung der Infektionskeime erfolgt vorwiegend extracellulär im Conjunctivalsekret dank des in ihm enthaltenen Leukines und nicht durch Alexin, das gegenüber den meisten Conjunctivitis-

erregern unwirksam ist und nur in geringer Menge nach der Applikation der Silber- und Zinksalze aus dem Blute austritt.

Ist auch nach meiner Ansicht das Auftreten des Leukines in der Conjunctivalfüssigkeit das wesentlichste Moment, auf dem die heilende Wirkung des *Argentum nitricum* und des *Zincum sulfuricum* beruht, so soll damit nicht gesagt sein, dass die therapeutischen Leistungen dieser Metallsalze mit der Leukin- und Schorfbildung sowie ihrer geringen Desinfektionswirkung erschöpft sind. Denn da neben den bekannten Abwehrvorrichtungen des Organismus noch solche unbekannter Art existieren dürften, so ist es sehr wohl möglich, dass von dem Silbernitrat und Zinksulfat noch andere das Gewebe „umstimmende“ Einflüsse ausgehen.

Die Tatsache, dass die lokale resistenzsteigernde und heilende Wirkung der „Adstringentien“ am Auge hauptsächlich in der Bildung des Leukines zum Ausdruck kommt, ist ein Beweis dafür, dass mit Recht das Leukin dem Blutalexin und der Phagocytose als Hauptwaffen der natürlichen Resistenz an die Seite gestellt wird.

Für die Therapie der infektiösen Bindehautentzündungen ergibt sich daraus die Indikation, zur Bekämpfung der Infektionserreger auf eine ausgiebige Erzeugung des Leukines bedacht zu sein.

Literaturverzeichnis.

- 1) Sauerbeck, E., Die Krisis in der Immunitätsforschung. *Folia serologica*. Bd. II, 1. 1909.
- 2) Gruber und Futaki, Über die Resistenz gegen Milzbrand und über die Herkunft der milzbrandfeindlichen Stoffe. *Münch. med. Wochenschr.* Nr. 6. 1907.
- 3) — — Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. *Deutsche med. Wochenschr.* Nr. 39. 1907.
- 4) Schneider, R., Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. München 1906.
- 5) — Über die Präexistenz des Alexins im zirkulierenden Blut. *Arch. f. Hyg.* Bd. LXV. S. 305. 1907.
- 6) — Über die baktericide und hämolytische Wirksamkeit der Leukocyten- und Plättchenstoffe sowie der Ödem- und Gefäßlymphe. *Münch. med. Wochenschr.* Nr. 10. 1908.
- 7) — Die baktericide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leukocyten. *Arch. f. Hyg.* Bd. LXX. S. 40. 1909.
- 8) Gruber-Ohtaki. Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. München 1908.
- 9) Römer, P., Experimentelle Untersuchungen über Infektionen vom Conjunctivalsack aus. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* Bd. XXXII. S. 295. 1899.
- 10) Horner. *Gerhards Handbuch der Kinderkrankheiten*. 1882. V, 2. S. 335. Ref. *Zentralbl. f. Bakteriöl.* 1887 I. S. 178.
- 11) John. Baumgarten, Jahresbericht 1888. S. 179.

- 12) Widmark, Beitr. z. Ophth. 1890. S. 179 citiert nach Axenfeld: „Die Bakteriologie in der Augenheilkunde“.
- 13) Michel, J., Lehrb. d. Augenheilk. 1890.
- 14) Gombert, V., Recherches expérimentales sur les microbes des conjunctives à l'état normal (Travail du laboratoire de physiologie de Montpellier). Paris, Masson 1889.
- 15) Leber, Th., Die Entstehung der Entzündung. 1891. S. 185.
- 16) Van Genderen Stort, A. G. H., Über die mechanische Bedeutung der natürlichen Irrigation des Auges. Arch. f. Hyg. Bd. XIII. S. 395. 1891.
- 17) Bernheim, J., Über die Antisepsis des Bindehautsackes und die bakterienfeindliche Eigenschaft der Tränen. Deutschmanns Beitr. Heft VIII. S. 61.
- 18) Nuttall, Die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. Zeitschr. f. Hyg. 1888. S. 353.
- 19) Nissen, Zur Kenntnis der bakterienfeindlichen Eigenschaft des Blutes. Zeitschr. f. Hyg. 1889. S. 487.
- 20) Marthen, Experimentelle Untersuchungen über Antisepsis bei Augenoperationen und die Bakteriologie des Conjunctivalsackes. Deutschmanns Beitr. Heft XII. S. 1. 1893.
- 21) Bach, L., Über den Keimgehalt des Bindehautsackes, dessen natürliche und künstliche Beeinflussung usw. Arch. f. Ophth. Bd. XL. S. 130. 1894.
- 22) — Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXIII. S. 102. 1898.
- 23) — Die Bedeutung der bakteriologischen Forschung für die operative Augenheilkunde. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XI. S. 1. 1903.
- 24) Schirmer, O., Über Lidschlaglähmung und Lidschlusslähmung; zugleich ein Beitrag zur Lehre von der Tränenabfuhr. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XI. S. 97. 1904.
- 25) Ahlstroem, G., Über die antiseptische Wirkung der Tränen. Zentralbl. f. prakt. Augenheilk. 1895. S. 193.
- 26) Goufrein, Etude expérimentale sur la tuberculose des voies lacrymales. Annal. d'Ocul. Tome CXXI. p. 363. 1899.
- 27) Valude, E., Essais de la tuberculisation expérimental du sac lacrymal. Arch. d'opht. de Paris 1889, cit. nach Goufrein.
- 28) — Action bactéricide des larmes. Annal. d'Ocul. CXXII. p. 168. 1899.
- 29) De Bono, E. P., e Frisco, B., Sul comportamento della glandula lacrimale e del suo secreto. Annal. d'ig. sperim. XI. p. 418. 1899.
- 30) Helleberg. Windmarks Mitteilungen (Fischer, Jena). III. S. 39. 1901, citiert nach Axenfeld, Die Bakteriologie usw.
- 31) Plaut und von Zelewski, Über den Keimgehalt der Bindehaut nach der Tränensackexstirpation. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1901. S. 369.
- 32) Axenfeld, Th., Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. 1907. S. 73.
- 33) zur Nedden, Untersuchungen über das Vorkommen baktericider Substanzen im Bindehautsekret usw. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XVIII. S. 300. 1907.
- 33a) — Über das Vorkommen baktericider Substanzen im Bindehautsekret. Ber. üb. d. 34. Vers. d. Ophth. Gesellsch. Heidelberg 1907. S. 36.
- 34) — Über die Bedeutung der Opsonine für das Auge. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XIX. S. 314. 1908.
- 35) Lindahl, Beitrag zur Kenntnis von der baktericiden Wirkung der Tränenflüssigkeit. Hyg. 1907. p. 353. Ref. d. Ber. d. Arch. f. Augenheilk. Bd. LXI. S. 282. 1908.
- 36) Saemisch, Th., Die Krankheiten der Conjunctiva usw. Graefe-Saemisch, Handb. d. ges. Augenheilk. Bd. V. Abt. I. 1904.
- 37) Snellen, H. jr., Die augenärztlichen Heilmittel. Graefe-Saemisch, Handb. d. ges. Augenheilk. Bd. IV. Kap. III. 1905.
- 38) zur Nedden, Über die natürlichen Heilfaktoren bei infektiösen Augenkrankungen usw. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 47. 1909.
- 39) v. Graefe, A., Vergleichende Therapie der Blennorrhöe und Diphtheritis, und Normen für die Anwendung des Causticum. Arch. f. Ophth. Bd. I, 1. S. 199.
- 40) Fuchs. Lehrb. d. Augenheilk. 1908. S. 62.
- 41) Axenfeld. Lehrb. d. Augenheilk. 1909. S. 286.

- 42) Kalt, Trait. de l'opht. Arch. d'Opht. 1894. Décemb.
- 43) — Nouvelles observations sur le traitement de l'ophtalmie purulente par les grandes irrigations. Ber. üb. d. 24. Vers. d. ophth. Gesellsch. z. Heidelberg. S. 208.
- 44) v. Ammon, Zur Diagnose und Therapie der Augeneiterung der Neugeborenen. Münchn. med. Wochenschr. 1900. Nr. 1. S. 12.
- 45) v. Sicherer, Quecksilberoxycyanid zur Behandlung der Blennorrhoea neonatorum. Münchn. med. Wochenschr. 1895. Nr. 49.
- 46) Gilbert, Über die Behandlung der Blennorrhoea neonatorum. Münchn. med. Wochenschr. 1908. Nr. 30.
- 47) Burchardt, O., Über die Behandlung der Blennorrhöe. Inaug.-Diss. Berlin. 1894.
- 48) Greeff, Über gonorrhöische Augenerkrankungen. Berlin. klin. Wochenschr. 1901. Nr. 6.
- 49) Cramer, Der Argentumkatarrh. Zentralbl. f. Gynäkol. 1899. Nr. 9.
- 50) Bischoff, Zur Frage des Argentumkatarrhs in Bonn. Zentralbl. f. Gynäkol. 1903. Nr. 10.
- 50a) Scipiadès, E., Die Ophthalmoblennorrhöe und das Argentum aceticum. Zentralbl. f. Gynäkol. 1909. Nr. 3. S. 89.
- 51) Heile, Über intravitale Beeinflussung autolytischer Vorgänge im Körper. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LV. S. 508. 1904.
- 52) Morax, Note sur un diplobacille pathogène pour la conjonctive humaine. Annal. de l'inst. Pasteur. 1896. Juin.
- 53) Axenfeld, Ber. über d. 25. Vers. d. ophth. Gesellsch. z. Heidelberg. S. 155.
- 54) Uhthoff und Axenfeld, Beiträge zur pathologischen Anatomie und Bakteriologie der eitrigen Keratitis des Menschen. Arch. f. Ophth. Bd. XLII, 1. S. 1.
- 55) — — Weitere Beiträge zur Ätiologie der Keratitis des Menschen, besonders der eitrigen. Arch. f. Ophth. Bd. XLIV.
- 56) Peters, Über die chronische Diplobacillenconjunctivitis. Arch. f. Ophth. Bd. XLVIII. S. 638.
- 57) zur Nedden, Beobachtungen über die Diplobacillenconjunctivitis in der Kgl. Universitäts-Augenklinik zu Bonn. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. XXXIX. 1897.
- 58) Petit, Recherches cliniques et bactériologiques sur les infections aiguës de la cornée. Paris 1900.
- 59) Paul, Über Hornhautulcerationen durch Diplobacillen. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 43. S. 154. 1905.
- 60) Erdmann, Ein Beitrag zur Kenntnis der Diplobacillengeschwüre der Cornea usw. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 43. I. Bd. S. 561. 1905.
- 61) Stoewer, Über das Diplobacillengeschwür der Hornhaut. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 43. II. Bd. S. 142. 1905.
- 62) Agricola, Über eitrige Diplobacillenkeratitis, besonders ihre Therapie. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 44. Beilageheft S. 160. 1906.
- 62a) Zade, Beitrag zur Kenntnis des Diplobacillengeschwürs der Hornhaut. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 46. Jahrg. S. 153. Juli-Dezember 1908.
- 63) Silva, Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung von Zink auf den Morax-Axenfeldschen und Petitschen Diplobacillus. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 44. Beilageheft S. 182. 1906.
- 64) Gayet, Recherches expérimentales sur l'antiseptie et l'asepsie oculaires. Arch. f. Opht. T. VII. No. 5. p. 385. 1887.
- 65) Hildebrandt, Experimentelle Untersuchungen über Antisepsis bei der Staroperation. Deutschmanns Beitr. z. Augenheilk. Heft VIII. S. 33. 1892.
- 66) Bach, L., Bakteriologische Untersuchungen über den Wert von verschiedenen, speziell antiseptischen Verbänden auf den Keimgehalt des Lidrandes und Bindehautsackes. Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXII. S. 181. 1895.
- 67) — Antisepsis oder Asepsis bei Bulbusoperationen? Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXIII. 1896.
- 68) — Bakteriologische Untersuchungen über den Einfluss antiseptischer Über-

- schläge auf den Keimgehalt des Lidrandes und der Bindehaut. Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXIV. 1897.
- 69) Morax, Recherches bactériologique sur l'étiologie des conjunctivites. Thèse de Paris. 1894.
- 70) Dalén, Experimentelle Untersuchungen über die Desinfektion des Bindehautsackes. Aus Widmark, Mitteil. aus der Augenklinik d. Carol. Med. Chirurg. Instituts zu Stockholm. Jena, G. Fischer. 1898.
- 71) Randolph, Bakterien in der normalen Bindehaut und ihre Beeinflussung durch aseptische und antiseptische Irrigation. Journ. Americ. Med. Assoc. 1898. Jan. 8.
- 72) Kalt, Antisepsie préparatoire de la conjunctive. Société franç. d'Ophth. Rec. d'Ophth. 1897. p. 350.
- 73) Steffan, Th., Weitere Erfahrungen und Studien über die Kataraktoperation 1882—1886; Antisepsis und Technik. Arch. f. Ophth. Bd. XXXV, 2. S. 171. 1889.
- 74) Eversbusch, Über die Anwendung der Antimycotica in der Augenheilkunde. Zentralbl. f. prakt. Augenheilk. Jahrg. XIV. S. 65. 1890.
- 75) v. Graefe, Fortgesetzter Bericht über die mittels antiseptischer Wundbehandlung erzielten Erfolge der Staroperationen. Arch. f. Ophth. Bd. XXXV, 3. S. 248. 1889.
- 76) Hauenschild, Über Antisepsis bei Bulbusoperationen. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. I. S. 227. 1899.
- 77) Emmerich und Loew, Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXI.
- 78) — — Die künstliche Darstellung der immunisierenden Substanzen (Nucleasen-Immunproteidine) und ihre Verwendung zur Therapie der Infektionskrankheiten und zur Schutzimpfung an Stelle des Heilserums. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI.
- 79) Schapiro, Über das baktericide Verhalten der Pyocyanase und ihre Wirkung auf Versuchstiere. Hyg. Rundschau 1908. Nr. 8. S. 453.
- 80) Loewenstein, Die Einwirkung der Pyocyanase auf Bakterien des Bindehautsackes. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1908. Juliheft S. 52.