(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.)

Morphologische Studien an Influenzabacillen und das ätiologische Grippeproblem¹⁾.

Von

Walter Levinthal und Hans Fernbach,
Assistenten am Institut. •

Mit 6 Textabbildungen.

Wenn unter den aktuellen Fragen der zeitgenössischen Medizin das *Influenzaproblem*, vielseitig bearbeitet und jahrelang diskutiert, noch immer seinen Platz im Vordergrund des allgemeinen Interesses behauptet, so wirken dafür offenbar zwei Gründe: einmal ist die Grippe in ihrer pandemischen Form die einzige, sagen wir kühn, die letzte akute Seuche von weltumspannenden Ausmaßen in neuer Zeit, moderner Erbe mittelalterlicher Völkerplagen, gleich jenen, gleich der Pest oder Lepra, die Länder der Erde verwüstend und mehr Opfer fordernd als Weltkrieg und Hungerkatastrophen; so erfüllt sie stets von neuem die Ärzteswelt mit Sorge und weckt in Wissenschaft und Praxis die Initiative aller Berufenen zum Abwehrkampfe, eine Aufgabe, zu der unter vielen anderen *Simon Flexner*²⁾ auf dem 10. Ärztekongreß in New York mit eindringlichem Ernste aufrief und *F. Neufeld*³⁾ zu wiederholten Malen das Wort ergriff. Zweitens aber birgt die Influenza in ihren epidemiologischen Ablaufgesetzen, in Ätiologie und Kasuistik so viel des Rätselhaften, Umstrittenen, Problematischen, das den Reiz, den sie allenthalben auf die Wissenschaft ausübt, leicht begreiflich macht.

Es wird notwendig sein, zuerst einmal die Grundlagen der heutigen Grippeforschung, das, was als gesicherter Boden gelten darf, fest-

¹⁾ Aus dieser Arbeit wurden Teile auf der 9. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Würzburg durch den einen von uns (L.) am 9. VI. 1922 vorgebracht. Das Manuskript ist am 1. VI. 1922 abgeschlossen worden; bis auf geringe stilistische Korrekturen wurden Änderungen nicht mehr vorgenommen.

²⁾ *Simon Flexner* (New York), *Epidemiology and recent epidemics*. Journ. of the Americ. med. assoc. **73**, 949. 1919.

³⁾ a) *F. Neufeld* und *P. Papamarku* (Berlin), *Zur Ätiologie und Epidemiologie der Grippe*. Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 1. — b) *Neufeld*, *Zur Frage des Influenzaerregers*. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 35. — c) *Neufeld*, *Zum jetzigen Stand der Influenzafrage*. Med. Klinik 1921, Nr. 19.

zustellen, um von hier aus zu präziser Fragestellung zu gelangen, sich Schritt für Schritt weiter vorzutasten.

So seien an die Spitze dieser Mitteilung und Betrachtung zwei Thesen gestellt, von denen wir bei unseren Studien ausgegangen sind. Wie in einem ausführlichen kritischen *Referat*¹⁾ gezeigt werden konnte, ist die Influenza eine in allen Erdteilen mit gemäßigttem Klima *endemische* Infektionskrankheit von periodischem Charakter, die nur in Abständen von einigen Jahrzehnten weite epidemische oder gar pandemische Ausbreitung gewinnt. Und weiter sehen wir den greifbarsten Ertrag der ganzen internationalen Untersuchung seit 1918 in der Erkenntnis des regelmäßigen Vorkommens der *Pfeifferschen* Bacillen bei der Grippe. Auch hierüber gibt die ebenzitierte Abhandlung die ganze Fülle des von Forschern aller Sprachen zusammengetragenen Materials. Ob diese Erkenntnis für die Frage der Ätiologie und Epidemiologie der Seuche ausreicht, oder ob für das Verständnis noch weitere Momente herangezogen werden müssen, bleibe vorerst dahingestellt.

Zunächst sei uns gestattet, über das in dem erwähnten Referat gesammelte und kritisch gesichtete Material hinaus zuerst eigene Ergebnisse diagnostischer Untersuchungen aus den Jahren 1918—1922 zusammengefaßt zu berichten und in diesem Zusammenhange über die Methodik des Nachweises, Nährböden und Technik einiges zu sagen.

I. Eigene Befunde von Influenzabacillen bei Grippefällen in den Jahren 1918 bis 1922.

Die allmähliche Zunahme von Influenzafällen in den verschiedensten Teilen des deutschen und österreichischen Heeresgebietes in den letzten Jahren vor 1918, wie sie von vielen Seiten²⁾ geschildert worden ist, führte im flandrischen Etappengebiet der 4. Armee bereits im Frühling 1916 und dann wieder im folgenden Herbst und Winter zu typischen Endemien. An dem Material dieser zahlreichen Fälle konnte der eine von uns (L.) als Assistent des Armeehygienikers *Riemer*, beraten und gefördert durch seinen Chef, unterstützt von den Klinikern, Erfahrung und Technik der bakteriologischen Influenzadiagnose schulen. Nachdem aus diesen Studien schließlich noch die Darstellung eines optimalen Influenzanährbodens, des *Kochblutagars*, hervorgegangen, fanden bereits die allerersten Krankheitsfälle der großen

¹⁾ *Walter Levinthal* (Berlin), Epidemiologie und Bakteriologie der Influenzapandemie von 1918. Lubarsch-Ostertag 1921, Jahrg. 19, Abt. 2, S. 848. — Dasselbe: *W. Levinthal*, *M. H. Kuczynski* und *E. Wolff*, Die Grippepandemie von 1918, als Buch bei Bergmann, München 1921.

²⁾ Auf die Angabe der Literatur bis 1920 wird in dieser Mitteilung im allgemeinen verzichtet, vielmehr erneut auf das erwähnte Referat von *Levinthal* verwiesen, das die gesamte Grippepublikation beibringt und bespricht.

Pandemie Ende April 1918 in unserem Laboratorium im Hygienischen Institut der Universität Gent mit der Untersuchung von Grippeputen wohlvertraute Untersucher. So konnte bereits am ersten Tage, als die explosionsartig in einem Rekrutendepot ausbrechende Epidemie neben dem Hygieniker auch den beratenden inneren Mediziner *Stintzing*-Jena alarmierte, der kulturelle Nachweis der Grippestäbchen in 4 von 6 Sputen geführt werden. Immer wieder sei betont: Also von allem Anfang der Seuche an waren die Bacillen in unserem Untersuchungsgebiet nachweisbar, nur selten spärlich, meist in zahlreichen Kolonien, oft fast in Reinkulturen bei zweckmäßiger Technik, auf die noch kurz zurückzukommen sein wird. Der Verlauf dieser ganzen Seuchewelle brachte uns dann vom 1. Mai bis 31. August 1918 zur Diagnose 348 Sputa, auf die damals noch die bakteriologische Untersuchung beschränkt blieb. Die Ausbeute an positiven Befunden in diesem Material für die ganze Zeit und die einzelnen Monate gibt die *Tabelle I* wieder. Wie es die Aufgaben einer zentralen Untersuchungsstelle mit sich brachten, handelte es sich hier nicht um wissenschaftlich gesichtetes Material, sondern um die ganze bunte Menge aller verdächtigen und differenzialdiagnostisch in Betracht kommenden Fälle, unter denen sich weiterhin oft genug Tuberkulosen, Paratyphen und anderes entpuppten.

Tabelle I.

Kultureller Nachweis von Influenzabacillen im Sputum,
Sommer 1918 in Gent (Belgien).

1918	Gesamtzahl der unter- sucht. Sputen	Davon I.-B. positiv	In Prozenten
Mai	58	20	34,5
Juni	81	20	24,7
Juli	121	42	34,7
August	88	39	44,3
1. Mai bis 31. Aug.	348	121	34,8

Wie sehr diese positive Gesamtausbeute von nur 35% von der Mannigfaltigkeit des Krankenmaterials abhängt, konnte sofort an einem bestimmten Teil der untersuchten Sputen demonstriert werden. Der eine der Einsender, *W. Hildebrandt*-Freiburg, wurde gebeten, seine 31 Fälle vom Juni bis Juli anamnestisch auf ihren Zusammenhang mit der „spanischen Grippe“ zu analysieren, und stellte mit lebenswürdiger und verständnisvoller Bereitwilligkeit fest:

Von den 31 Patienten war der Zusammenhang mit der Epidemie nachweisbar bei 17; ohne nachweisbaren Zusammenhang blieben also 14. Der bakteriologische Befund war positiv:

von den 31 Sputen insgesamt bei 13	= 42,0%
von den 14 sporadisch erkrankten bei 3	= 21,4%
von den 17 epidemisch erkrankten bei 10	= 58,8%

Und noch günstiger stellten sich die Ergebnisse in einem Lager englischer Kriegsgefangener, das bis zum Hochsommer seuchefrei geblieben war und erst im August plötzlich in erheblichem Umfange von der Epidemie ergriffen wurde. Da die Erkrankung bei der großen Mehrzahl der Patienten äußerst leicht verlief, mußten nur etwa 50 von ihnen in Lazarettbehandlung genommen werden. Unter diesen wurde der Auswurf von 40 Mann zur Untersuchung eingesandt, ausnahmslos von Erkrankungen ohne jede Komplikation, also reinen Influenzafällen. Diese erste Untersuchung ergab 20 positive Fälle, also 50%. Von den 20 negativen Einsendungen konnten wenigstens 5 noch einmal wiederholt werden und erlaubten den Nachweis noch in zwei Fällen. So waren also von 40 Patienten 22 positiv = 55%. Alle positiven Proben enthielten Eiter, bestanden also wirklich aus Lungen- und Bronchialsputum. Dagegen enthielten von den 18 negativen Proben nicht weniger als 8 ausschließlich Speichel, 3 weitere Speichel und Schleim ohne jede Beimengung eitriger Teile, wie in allen Fällen sorgfältig beim Eingang des Materials, also vor der Untersuchung, notiert wurde. So gewinnt das Gesamtergebnis ein ganz anderes Aussehen: von den 40 eingesandten Untersuchungssproben waren also nur 29 wirklich Sputen. Und diese ergaben ein positives Resultat in 22 Fällen, d. h. in 75,9%.

Dies bakteriologische Material aus der ersten Periode der Pandemie beweist also zweierlei: es zeigt, daß schon die Untersuchung des Sputums allein, ohne Zuhilfenahme anderer ergänzender Methoden, wie der Hustenplatte und des Abstriches aus dem hinteren Nasenrachenraum, in klinisch und epidemiologisch reinen Fällen den Nachweis der Influenzabacillen in 59–76% erlaubt. Ein allgemeineres, nicht gesichtetes Material oder die Untersuchung von grippeverdächtigen, sporadischen Fällen dagegen drückt diese Ziffer sofort auf 35–21% herab, ein Beweis, wie eng das Vorkommen der Erreger in jener Anfangsperiode der Epidemie an den Weg der Seuche gebunden war und keineswegs als ubiquitär angesehen werden kann.

Die wichtigen Feststellungen, die unser Genter Laboratorium in den Jahren 1916 und 1917 mit dem Nachweis *agglutinierender* Antikörper im Serum Influenzakranker bei geeigneter Auswahl des Antigens gemacht hatte [*Levinthal*¹⁾], fanden auch im Sommer 1918 am Material der großen Epidemie ihre Bestätigung, wobei die starke Zunahme

¹⁾ W. Levinthal (Gent), Bakteriologische und serologische Influenzastudien. Diese Zeitschr. 86, 1. 1918.

der positiven Fälle innerhalb von zwei Untersuchungsmonaten bemerkenswert ist. Der *Widal* wurde angestellt:

In der Zeit vom	Gesamtzahl	Davon pos.	In %
1. bis 30. Juni . .	15	8	53,3
1. bis 15. Juli . .	14	12	85,7
Summe	29	20	69,0

Als positiv wurden starke Agglutinationen in den Verdünnungen 1 : 25 und darüber gerechnet.

Unter diesen Fällen befand sich ein Pat., der wegen einer genuinen Pneumonie am 9. VII. in Lazarettbehandlung gekommen war. Am 17. VII. zeigte sein Sputum eine Reinkultur von Pneumokokken; der Influenzawidal war am gleichen Tage vollständig negativ. Offenbar wurde der Kranke während seines Lazarettaufenthaltes mit Influenza infiziert, die zu einer lange dauernden eitrigen Bronchitis mit Fieber führte. So zeigte denn eine zweite Sputumuntersuchung am 29. VII. fast eine Reinkultur von Influenzabacillen; der Grippewidal aber war am 1. VIII. stark positiv geworden.

Während in diesem Falle die heftige und lange dauernde Erkrankung, der harte Kampf des Organismus mit dem Virus, unter den Augen der Untersucher zu der Entstehung starker Agglutinine geführt hatte, war von vornherein bei der hoch akuten und schnell abklingenden Form des einmaligen Influenzaanfalles eine kräftige Reaktion viel weniger zu erwarten, eine Vermutung, der z. B. auch *Oeller*¹⁾ von den gleichen Erwägungen her Ausdruck gegeben hat. Und dieser Erwartung entsprachen Resultate, wie sie an den erwähnten Engländern erhoben werden konnten. Eingesandt wurden in den ersten Tagen der Erkrankung Blutproben von 44 Patienten (darunter 4 unbrauchbare), und zwar einerseits von den 40 Kranken, deren Auswurf in 55% positiven Bazillenbefund zeigte, und andererseits von 4 weiteren völlig sputumfreien. Der größere Teil dieser serologischen Untersuchungen wurde 2—3 Wochen später wiederholt. *Tabelle II* gibt Auskunft über die Stärke des Widal mit dem zugehörigen Bakterienbefund des Sputums und dem Ausfall der Reaktion nach der Genesung.

Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß auch unter den 22 serologisch negativen Fällen sich 9 = 41% bacillenpositive befinden; das spricht gegen den Einwand, der mehrfach gegen die Bedeutung des Widal erhoben worden ist, daß schon das Vorhandensein der Bacillen auch ohne ihre pathogene Rolle die serologische Reaktion erwarten ließe, und ihr daher jede Beweiskraft im Sinne der *Pfeiffer*-schen Lehre abgehe. Andererseits konnte die Diagnose noch in 7 bakteriologisch negativ gebliebenen Fällen serologisch gesichert, also rein

¹⁾ *Hans Oeller* (Leipzig), Kritische Studien zum Influenzaproblem. Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 44.

Tabelle II.

Widal bei 44 hochakut und leicht erkrankten englischen Kriegsgefangenen im August 1918 in Belgien.

Stärke des Widal	Zahl	Davon I.-B. im Sputum	Widal wiederholt nach 2½ Wochen	Resultat des 2. Widal
++	2	2 = 100%	1	++
+ bis ++ . . .	2	2 = 100%	2	±, (+)
+	7	4 = 57,1%	3	±, ±, —
±	7	3 = 42,9%	6	2 ±, 4 —
—	22	9 = 40,9%	18	alle —
Unbrauchbar .	4	2		

++ stark positiv 1:25 bis 1:100

+ positiv 1:25 bis 1:50

(+) positiv 1:25

± angedeutet 1:25

— negativ 1:25.

diagnostisch gesehen, von 55 auf 66% gesteigert werden. Darin mußte, wie mehrfach betont, in jener Frühzeit der Epidemie der Wert des Widal gesehen werden, während freilich heute seine diagnostische Verwendbarkeit nach der maximalen Durchseuchung aller Länder erheblich einzuschränken sein dürfte.

Nebenher sei erwähnt, daß auch einige Versuche der Komplementbindung zum Vergleich mit dem Widal im Sommer 1918 angestellt wurden. Bei Verwendung geeigneter Bakteriensuspensionen als Antigen konnte eine Übereinstimmung beider Reaktionen, qualitativ und quantitativ, in 43 von 54 Seren, davon 29 positiven und 14 negativen, also in 80%, erwiesen werden, während 5mal die Komplementbindung den Widal, und 6mal der Widal den Bindungsversuch an Schärfe übertraf.

Die bakteriologischen Untersuchungen an Patienten der späteren Seuchenschübe wurden in Berlin am Institut „Robert Koch“ unter der Ägide von *F. Neufeld* mit dem Material der Infektionsabteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses (*U. Friedemann*) und an gelegentlichen Fällen aus der Stadt fortgesetzt. Und zwar wurde mehr und mehr regelmäßig die Bearbeitung von Sputum ergänzt durch die von *Chievitz* und *Meyer*¹⁾ für die Keuchhustendiagnose inaugurierte Hustenplatte und später noch durch Abstriche aus dem hinteren Nasenrachenraum.

Während der größte Teil des Jahres 1919 mit seinem unbestimmten Epidemieverlauf wenig geeignetes Material zu wissenschaftlicher Forschung an Influenzakranken bot und zum Studium des bakteriologischen Bildes bei Keuchhusten, Masern u. a. (s. unten) benutzt

¹⁾ *Ingeborg Chievitz* und *Adolph H. Meyer* (Kopenhagen), Eine Methode zur Frühdiagnose des Keuchhustens (die Hustenaussaatmethode). Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 27, und Ann. Pasteur 30, 503. 1916.

wurde, brachte der Januar 1920 jene plötzliche und heftige Seuchewelle, die Mitte März ebenso unvermittelt abbrach. In dieser Zeit kam einmal klinisches Material, und zwar 30 Fälle, zur Untersuchung, und ferner wurden 9 Influenzasektionen genauer bakteriologischer Bearbeitung unterzogen. Das Resultat der ersten Gruppe gibt *Tabelle III*.

Tabelle III.

Kultureller Nachweis der Influenzabacillen in Sputum und Hustenplatte Anfang Januar bis Mitte März 1920 in Berlin.

Es wurde untersucht	Zahl	Positiv	In %	Negativ	In %	Fraglich	In %
Nur Sputum	11	8	72,7	3	.	—	.
Nur Hustenplatte .	2	1	.	—	.	1	.
Beides	17	14	82,4	3	.	—	.
Insgesamt	30	23	76,7	6	20,0	1	3,3

Die Hinzunahme der Hustenplatte konnte also die Ausbeute auf 82,4% gegen 72,7% bei Sputumuntersuchungen allein steigern. Denn von den 14 *positiven* Fällen, die beide Methoden zur Diagnose heranzogen, waren:

Sputum +, Hustenplatte + = 6,
 „ +, „ — = 3,
 „ —, „ + = 5.

Unter den 23 *positiven* Fällen waren 3 völlig unkomplizierte Grippe im Stadium des frühesten Krankheitsbeginnes; 14 Fälle dagegen zeigten mehr oder weniger schwere Influenza-Bronchopneumonien. Die 6 *negativen* Fälle stellten dar:

1. eine *Bronchitis*, bei der die Diagnose Influenza vom Kliniker im Krankenblatt als zweifelhaft bezeichnet ist, mit überwiegendem Pneumokokkenbefund;
2. und 3. ganz frische Grippe mit Sitz der Erkrankung im *Halse* ohne klinische Lungenbefunde;
4. eine *Lobärpneumonie* nach Grippe mit zahlreichen Pneumokokken neben *Mikrococcus catarrhalis*;
5. eine *Streptokokkenpneumonie* und
6. ein schweres *Empyem* mit flacher Atmung und minimaler Expektoration eines leicht rostfarbenen Pneumokokkenauswurfs.

Der *fraglich* gebliebene Fall, bei dem eine einzige verdächtige Kolonie auf der Hustenplatte zu finden war, zeigte einen leichten Grippeanfall ohne Auswurf und frei von jedem Brustbefund.

Über die Mengenverhältnisse der gefundenen Influenzabacillen bei den 23 *positiven* Fällen gibt *Tabelle IV* Auskunft.

Tabelle IV.

Zahl der gefundenen Influenzabacillen bei den 23 *positiven* Fällen.

Große Menge I.-B.	in 10 Fällen
Mittlere Menge I.-B.	in 7 „
Geringe Menge oder vereinzelte Kolonien	in 6 „
<hr/> Summe 23 Fälle.	

Während also die Untersuchung dieser 30 klinischen Fälle den Nachweis der Influenzabacillen in 77% erbrachte, waren die 9 Sektionen

derselben Epidemiewelle ohne Ausnahme positiv. Und zwar konnten die Erreger in allen Fällen aus den Lungen, und nicht nur aus den bronchopneumonisch infiltrierten Herden, sondern auch, soweit untersucht, aus den lufthaltigen Partien gezüchtet werden, ja selbst ein septischer Lungeninfarkt mit zahlreichen Streptokokken zeigte noch zwei Influenzazolonien.

Von 7 untersuchten Bronchialdrüsen waren 6 positiv, von 6 untersuchten Milzen 3.

Tabelle V zeigt nicht nur die Beteiligung der untersuchten Organe, sondern auch die Verteilung der Begleitkeime, der mischinfizierenden Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken.

Tabelle V.

Bakteriologische Organbefunde bei 9 Sektionen im Frühjahr 1920 in Berlin.

Organ	Zahl	I.-B. +	in %	I.-B. rein	Mischinfektion mit						
					Pneumokokken	Streptokokken	Staphylokokken	Pneumokokken und Streptokokken	Pneumokokken und Staphylokokken	Streptokokken und Staphylokokken	
<i>Lungen</i> {	Pneumonische Herde	9	9	100,0	—	1	1	3	1	2	1
	Lufthaltige Partien	5	5	100,0	—	—	1	1	3	—	—
	Septischer Infarkt	1	1	.	—	—	1	—	—	—	—
			(2 Kol.)			(+++)					
<i>Bronchial-Drüse</i>	7	6	85,7	1	2	1 (rein)	—	—	3	—	—
<i>Milz</i>	6	3	50,0	2	—	2 (rein)	2 (1 rein)	—	—	—	—
<i>Pia mater</i>	3	2	66,7	—	1	1	—	—	—	—	—
			(1 steril)								
<i>Gesamtzahl der Sektionen</i>	9	9	100,0								

Die Menge der Influenzazolonien aus Lunge und Bronchialdrüse war überall mehr oder minder reichlich, dagegen wuchsen die Erreger aus den Milzaussaaten und dem Gehirn nur in geringen oder vereinzelt Kolonien. Das mikroskopische Präparat der direkten Organausstriche ließ die feinen Bacillen immer nur schwer erkennen, auch bei reichster Kulturausbeute, ein Gegenstück zu dem schwierigen mikroskopischen Nachweis in Sputumpräparaten. Es muß immer wieder, wie der eine von uns (L.) es mehrfach getan hat, betont werden, daß auch in Fällen, in denen die Stäbchen fast in Reinkultur aus sorgfältig aufgeschlossenen Flocken (s. unten) wachsen, der mikroskopische Ausstrich oft im Stiche läßt. Gewiß verfügen auch wir über Präparate aus letzter Zeit, die mit ihren zahllosen in Nestern, Fischzügen und diffus zerstreut erscheinenden, auch intracellulär gelagerten Bacillen die gleichen

Bilder zeigen, wie sie *Pfeiffer* schon 1889—1892 gesehen und beschrieben hat, und wie sie *Neufeld* aus dem Anfang der 1918-Epidemie in seiner Sammlung aufbewahrt. Das bleiben aber Seltenheiten; und Erwägungen, wie sie *v. Angerer*¹⁾ jüngst wieder zum Ausdruck bringt, widerlegt die Praxis.

Ehe wir die diagnostische Ausbeute der letzten Epidemiewelle aus dem Januar des laufenden Jahres 1922 darstellen, sei über ein paar bemerkenswerte Einzelfälle aus der interepidemischen Zeit von 1920 bis 1922 berichtet.

Im Hochsommer 1920 kam eine junge Frau (*Fall 68*) zur Sektion, die an akuter Ruhr in wenigen Tagen zugrundegegangen war.

Außer den charakteristischen hämorrhagischen Blind- und Dickdarmveränderungen, aus denen die echten Ruhrbacillen (*Shiga-Kruse*) gezüchtet wurden (*Dr. Elkeles*), zeigten beide Lungen neben frischen pleuritischen Verwachsungen in den hypostatischen Unterlappen kleine, dunkelrote, chronisch-indurative Herde. Es bestanden also chronisch-grippöse Prozesse, die in der anamnestischen Feststellung eines seit 2 Jahren bestehenden Hustens klinischen Ausdruck gefunden hatten.

In sämtlichen untersuchten Teilen der Lunge wie in der Bronchialdrüse konnten reichlich *Influenzabacillen*, zum Teil neben grün wachsenden Streptokokken, nachgewiesen werden, während die Milzaussaat nur banale Keime (*Coli*) ergab. Es sei an dieser Stelle zum erstenmal auf einen Befund hingewiesen, der später im Zusammenhange mit der morphologischen Darstellung seine Deutung finden soll. Unter den Influenzabacillen ließen sich zwei Gruppen differenzieren, die keinerlei Unterschied in Kolonieform und Wachstum aufweisen, sich vielmehr ausschließlich im mikroskopischen Bild unterscheiden. Der eine Typ zeigt, auf der Kochblutplatte gezüchtet, ganz gleichmäßige, winzige Kokkobacillen, vergleichbar dem mikroskopischen Präparat einer *Melitensiskultur*. *Wir sehen in dieser Form den Haupttyp der Pfeifferschen Stäbchen und bezeichnen ihn als echten Influenzabacillus (Typ I)*. Der zweite Typ, wieder vom optimalen Nährboden stammend, fällt sofort durch einen höheren Grad von Pleomorphie auf; der Gesamthabitus ist deutlich bacillenartiger, und zwischen den schlanken, aber immer noch recht kurzen Stäbchen kommen vereinzelt Scheinfäden vor. Soviel mag einstweilen zur Charakterisierung dieses *Typ II*, für den wir die alte Bezeichnung *Pfeiffers als Pseudoinfluenzabacillus beibehalten*, genügen. Der geschilderte Ruhrfall mit seiner *chronischen Lungeninfluenza* wies also nebeneinander beide Typen auf. Die Agglutination beider Stämme mit einem Influenzaimmunserum vom Kaninchen zeigte ganz die gleichen Werte in Höhe und Intensität der Reak-

¹⁾ *Carl v. Angerer* (Erlangen), Kritische Untersuchung über die Ätiologie der Influenza. Arch. f. Hyg. 90, 254. 1922.

tion. Tabellarisch geordnet kommt die bakteriologische Analyse mit den Mengenverhältnissen am klarsten zum Ausdruck.

Tabelle VI.

Sektion Fall 68. Akute Ruhr; chronische Influenza.

11. VI. 1920	Lunge r. o.	Lunge r. u.	Lunge l. u.	Bronchial- drüse	Milz	Dick- darm
I.-B.	+ } ++	+	++ } ++	+ } +	—	.
Pseudo-I.-B. .	+ } ++	— ?	++ } ++	+ } +	—	.
Grüne Strepto- kokken . . .	—	++	++	+++	—	.
Banale (Coli) .	—	++++	++++	—	++++	.
Shiga-Ruhr . .	.	.	.	.	.	+

Fall 74 ist ein hochakuter Grippeanfall eines 15jährigen Burschen mit allgemeiner Streptokokkenmischinfektion, die in den letzten Tagen vor dem Tode zu einer hämorrhagischen Pleuritis auf beiden Seiten, Endokarditis und cerebralen Erscheinungen, wie Benommenheit und Krampfanfällen, geführt hatte.

Die Sektion zeigte neben frischen pleuritischen Adhäsionen an den Lungenspitzen hämorrhagisches Pleuraexsudat und fibrinöse Beläge; faustgroße bronchopneumonische Herde im rechten Ober- und linken Unterlappen, hochrote Bronchialschleimhaut, eine frische Endocarditis verrucosa und große septische Milz. Gehirn o. B.

Das bakteriologische Bild gibt *Tabelle VII.*

Tabelle VII.

Sektion Fall 74. Grippe-Bronchopneumonie.

29. XI. 1920	Lunge r. o.	Lunge l. u.	Bronchial- drüse	Milz	Gehirn	
					Konvexität	Höhlengrau
I.-B.	—	+	—	—	—	—
Streptococcus haemolyticus .	+++	++++	++++	++++	++++	++++
Staphylococcus aureus . . .	++++	+(2 Kol.)	+(20 Kol.)	—	—	—

Die Mikroskopie beider Atrioventrikularklappen läßt in den fibrinös belegten Klappen sowohl wie in der Herzmuskulatur die Streptokokken erkennen.

Hier hat also die Streptokokkenmischinfektion den primären Erreger fast völlig verdrängt und nur noch an einer Stelle den Nachweis weniger Influenzabacillen gestattet.

Eine Kombination von auch klinisch diagnostizierter akuter Grippe-bronchopneumonie und Miliartuberkulose zeigte die Sektion eines 44jährigen Mannes (*Fall 81*) im Januar 1921.

Zwischen den zahllosen Tuberkeln der Lunge fanden sich, auch mikroskopisch, bronchopneumonische Herde; Trachea und Bronchien waren rot, geschwollen und schleimbedeckt; die Bronchialdrüsen weich und geschwollen.

Während beide Unterlappen der Lunge bei maximalem Tuberkelbacillenbefund kulturell steril blieben, wurden in der Bronchialdrüse spärlich und im Trachealschleim massenhaft *Influenzabacillen* neben Pneumokokken kulturell nachgewiesen. Die Milzaussaat war steril.

Nur außerordentlich spärlich sind die Fälle von *Encephalitis lethargica*, die bakteriologisch von uns studiert werden konnten. Diese Studien waren nicht ätiologisch orientiert; jede Stellungnahme zum spezifischen Virus der Affektion bleibe hier ausgeschaltet. Uns lag daran, auch bakteriologisch den auffälligen Zusammenhängen der Krankheit mit der Influenza, die Klinik und Epidemiologie feststellen, nachzugehen. Der erste von 3 Fällen (*Fall 76*) bot klinisch das charakteristische Bild der Schlafkrankheit, die mit hohem Fieber ohne jede Komplikation von seiten der Lungen in etwa 14 Tagen zum Tode führte.

Die Sektion, die leider die histologische Untersuchung des Gehirns vermissen läßt, ergab, abgesehen von alten Pleuraadhäsionen, nur starkes Lungenödem, schleimig-eiterige Entzündung der Bronchialschleimhaut, Stauungen in Leber, Milz und Niere, Rötung der Pia mater.

Tabelle VIII zeigt das bakteriologische Sektionsprotokoll.

Tabelle VIII.
Fall 76. *Encephalitis lethargica*.

18. XII. 1920	Trachea	Lungen	Bronchialdrüse	Milz	Gehirn subarachnoideal
I.-B.	—	+++	+	—	+
Streptococcus anhaemolyticus .	++++	—	++	+	—
Pneumokokkus .	++	+++	+	—	—
Banale	++	—	+	++	Staphylococc. alb. + „ citreus ++

Hier wurden also *Influenzabacillen* in Lunge, Bronchialdrüse und weicher Hirnhaut nachgewiesen, an letzter Stelle, abgesehen von saprophytischen Staphylokokken, rein, wenn auch spärlich.

Nicht so einwandfrei war die klinische Diagnose der *Encephalitis* in einem zweiten Sektionsfalle aus dem Januar 1921, der außer starker Hyperämie des Gehirns eine Phthisis pulmonum mit Tuberkeln, Knoten und Kavernen zeigte. Während aus der Milz nur hämolytische Streptokokken gezüchtet wurden, wies die Lunge diese Streptokokken und *Influenzabacillen* in größter Menge auf. Von den untersuchten Teilen des Gehirns war die Oberfläche subarachnoideal und die graue Substanz am Boden des 4. Ventrikels steril. Dagegen wuchsen aus dem Liquor

des 3. Ventrikels Streptokokken und aus dem Seitenventrikel wenige Streptokokken neben einer einzigen Kolonie von *Influenzabacillen*.

Und schließlich wurde uns im April 1921 ein junger Mann zugeführt, der vom 6. I. bis 20. II., zeitweise schwer somnolent, wegen Encephalitis im Krankenhause gelegen hatte. Seit seiner Entlassung litt er an Husten mit Auswurf, und in der Tat ließen sich sowohl aus dem Rachen wie mit der Hustenplatte, und besonders reichlich aus dem eitrigen Sputum, neben wenigen Pneumokokken und grün wachsenden Streptokokken die *Influenzabacillen* nachweisen. Der langen Dauer der Infektion entsprach hier ein stark positiver Influenzawidal; bemerkenswerterweise jedoch wurde der Eigenstamm des Patienten vom Serum nicht beeinflusst, wie auch die Prüfung mit unserem agglutinierenden Immunserum vom Kaninchen die Inagglutinabilität dieses Stammes ergab.

Über die Verwendung des Influenzawidals in unserem Laboratorium zur Sicherung der Diagnose in einem der so überaus seltenen Fälle von Influenza-Myositis hat *Vormann*¹⁾ jüngst berichtet.

Dagegen war der Widal nur schwach positiv in einem interessanten Fall aus dem Dezember 1921, einer doppelseitigen schweren und langdauernden Lungentuberkulose eines Kindes, von dem uns ein etwas blutig verfärbter Empyemeiter zur Untersuchung eingesandt wurde. In diesem Eiter fanden sich in Reinkultur die *echten Pfeifferschen* Stäbchen, während das Sputum selbst ein paar Tage später nur Tuberkelbacillen enthielt. Im Verlaufe der Krankheit, in der hochfieberhafte Perioden mit völlig fieberfreien Tagen abwechselten, wurde uns das eitrige Punktat noch zweimal geschickt, und immer ließen sich in Reinkultur große Mengen von Influenzabacillen züchten. Während diese aber das erstemal den echten Typ gezeigt hatten, trugen sie mit Formvergrößerung und Scheinfäden bei den späteren Züchtungen die Merkmale des Typus II, der Pseudoform, die uns oben schon einmal als Mutante des Grundtypus begegnet war.

Es kann nicht überraschen, daß unsere Anschauungen über die Bedeutung der *Pfeifferbacillen* auch durch die Grippeepidemie des letzten Frühjahrs 1922 ihre volle Bestätigung fanden. In 13 klinischen Fällen mißlang der Nachweis des Mikroben nur ein einziges Mal, einem 14 Tage dauernden, aber leichten Infekt ohne Organbefund. Dagegen war der Influenzawidal hier noch in einer Konzentration von 1:100 positiv. In einem zweiten Fall, einer längere Zeit dauernden doppelseitigen Lungentuberkulose mit linksseitigem künstlichen Pneumothorax, führte zwar die Untersuchung am zwölften Tage eines Influenzaanfalles nicht zum Nachweis der charakteristischen Grippestäbchen, doch wurde aus

¹⁾ *Vormann* (Angermünde), Über einen an mir selbst beobachteten serologisch festgestellten Fall von Influenza-Myositis. Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 5.

dem hinteren Nasenrachenraum ein Bacillus in großer Menge gezüchtet, den wir *als Typ IV* unten ausführlich zu beschreiben haben werden. Der Influenzawidal war auch hier kräftig positiv.

Die anderen 11 Fälle, davon 4 unkomplizierte Anfälle, 5 Grippe mit Pneumonien und 2 Influenzen bei bestehender Tuberkulose, waren *sämtlich* positiv, also insgesamt zu 84,6%.

Dieser bakteriologische Befund steht in striktem Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen, die *Curschmann*¹⁾-Rostock jüngst veröffentlicht hat. Nach dieser Mitteilung konnten weder bei den reinen, noch bei den pneumonisch komplizierten Fällen diesmal Influenzabacillen gefunden werden, auch Streptokokken fehlten ganz, während die Pneumokokken das Feld beherrschten. Dem entspricht das Überwiegen der lobären Form (25 Fälle) mit guter Prognose über die außerordentlich infausten Bronchopneumonien (7 Fälle).

Auch unter unseren 5 Lungenentzündungen waren 3 Lobärpneumonien mit Pneumokokken neben den Influenzabacillen, 1 Streptokokkenpneumonie als Herd im rechten Unterlappen, während der letzte Fall, zwar anfangs als einseitige Unterlappenbronchopneumonie diagnostiziert, nach seinem Verlauf, dem Hinzutritt eines Pneumokokkenempyems, wohl doch in die erste Gruppe einzureihen sein dürfte; auch hier waren die Pneumokokken neben den Influenzabacillen schon frühzeitig in Sputum und Hustenkultur, allerdings zusammen mit Streptokokken, nachzuweisen.

Bemerkenswerterweise fand sich in unseren 11 influenzapositiven Fällen 6 mal ausschließlich der Typ I, 3 mal der Typ II, während 2 mal neben den echten Influenzabacillen die Pseudoform nachgewiesen wurde. Wir sind davon überzeugt, daß diese Zunahme von Pseudoformen nicht zufällig ist, sondern in Immunitätsvorgängen mit dem Altern der Epidemie begründet liegt. Denn daß diese Pseudovarietät keine „Dauermodifikation“, sondern nur eine sehr labile Variante darstellt, werden wir später beweisen können.

Bei diesen 11 positiven Fällen wurde zur Untersuchung verwandt:

nur Sputum	4 mal
nur Hustenplatte	1 mal
Rachenabstrich und Hustenplatte	1 mal
Sputum, Rachenabstrich und Hustenplatte. . .	5 mal

Und diese letzte Gruppe ließ die Bacillen gewinnen:

aus allen drei Kulturen in 3 Fällen,
nur aus Rachen und Husten in 1 Fall,
aus dem Rachen allein in 1 Fall.

Von *Sektionen* konnte in dieser Zeit 3 mal Material zur Verwendung gelangen, wiederum ohne Ausnahme mit positivem Befunde. Das

¹⁾ *Hans Curschmann* (Rostock), Klinisches über die derzeitige Grippe. Med. Klinik 1922, Nr. 16.

eine Mal handelte es sich um eine doppelseitige Grippepneumonie, links von croupösem, rechts von eitrigem Charakter, bei einem 65 Jahre alten Manne (*Fall 2/22*). Die stark hyperämische Trachealschleimhaut bedeckte schmieriger Eiter, die Milz war septisch.

Das bakteriologische Sektionsprotokoll gibt Tabelle IX.

Tabelle IX.

Fall 2/22. Grippepneumonie, links croupös, rechts eitrig.

4. I. 1922	Lunge l. o. (hepatisiert)	Lunge r. u.	Eiter aus r. Lunge	Trachea	Bronchial- drüse	Milz
I.-B.	+++	++	+++	++	—	—
Pneumokokken.	++	++	++	++	—	—
Pneumococcus	+++	++	+	++	+	+
mucosus . .						
Streptococcus	+++	+++	+	++	—	+ (2 Kol.)
haemolyticus.						
Banale	+	—	+	++	—	—

Es darf darauf hingewiesen werden, daß auch aus den lobärpneumonisch affizierten, also hepatisierten Lungenbezirken große Mengen von Grippestäbchen zu züchten waren.

In dem zweiten Fall (*10/22*) war zu einem plötzlichen Influenzafall mit Bronchitis unter den Augen der Kliniker eine doppelseitige Pneumonie getreten. Die Obduktion zeigte im linken Oberlappen graue Hepatisation mit nekrotischen Herden, rechts oben das Bild der Bronchopneumonie. Daneben bestand Pericarditis exsudativa und linksseitige Pleuritis sicca. Zur Untersuchung kam Material aus einem nekrotischen Herde des linken Oberlappens und ergab reichlich *Influenzabacillen* und Pneumokokken.

Die interessanteste Krankengeschichte hat schließlich ein Fall aus dem Hedwigs-Krankenhaus (*930*), von dem uns ein Stück der Hirnoberfläche mit dickem, eitrigem Belag zur Untersuchung geschickt wurde.

Der Einsender teilte mit: vor 4 Wochen Grippe, nach 14 Tagen wieder arbeitsfähig. Aber schon am nächsten Tage erneute Krankmeldung wegen heftiger Bruststiche. Nach 14 tägigem Krankenlager zu Hause Aufnahme im Krankenhaus: Sensorium leicht benommen, Temperatur subfebril. Keine Nackensteifigkeit, kein Kernig. Über der ganzen rechten Lunge massenhaft pleuritische Reibegeräusche. Nach 2 Tagen heftige Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit und Kernig positiv. Liquor cerebrospinalis sehr trüb, erhöhter Druck. Exitus letalis 2 Tage darauf. Sektionsbefund: Pleuritis sicca dextra acuta; Bronchitis; beiderseits Lungenödem.

Eitrige Meningitis an Gehirnbasis und Konvexität.

Aus den eitrigen Belägen der Hirnhäute wuchsen sehr reichlich die schon im direkten Ausstrichpräparat erkennbaren Pneumokokken, daneben aber einige Kolonien von *Influenzabacillen*.

Allen drei Sektionsfällen gemeinsam ist also die Mischinfektion mit Pneumokokken, die ganz offensichtlich auch in Berlin in Übereinstimmung mit den Rostocker Beobachtungen *Curschmanns* die Grippekomplikationen der letzten Epidemie beherrschten.

Das klinische und Sektionsmaterial der Epidemie vom Frühjahr 1922, zusammengezählt unter Einrechnung des Typ IV (s. unten), ergibt also bei 16 Fällen 15 positive = 93,75%.

Der *Influenzawidal* wurde in dieser Zeit in 9 Fällen angesetzt; von diesen gehörten 5 zu der Gruppe von Patienten des Virchow-Krankenhauses, bei denen auch bakteriologisch die Diagnose von uns gesichert war; dazu kamen die beiden oben schon angeführten Patienten, die von unseren 13 klinischen Fällen die einzigen ohne den typischen Influenzabacillenbefund darstellen; ferner eine foudroyant verlaufende, in 3 Tagen zum Tode mit Pneumonie und Sepsis führende, „galoppierende“ Influenza (Fall 11/22), bei der in vivo nur Blut als Untersuchungsmaterial zu erhalten war. Und schließlich war uns ein Blut zum Widal wegen der Differentialdiagnose Typhus oder Encephalitis nach Grippe eingesandt worden, bei dem im Gegensatz zu der sehr starken Influenzaagglutination die Reaktionen mit Typhus- und Paratyphusbacillen völlig negativ waren.

Alle diese 9 Fälle ergaben mehr oder weniger stark positiven Influenzawidal, also zu 100%, und zwar war die Reaktion

positiv, d. i. 1 : 50 bis 1 : 100, in 3 Fällen

stark positiv, d. i. 1 : 25 komplett, 1 : 100 bis 1 : 200 schwach, in 3 Fällen, darunter die galoppierende Grippe (11/22), und

sehr stark positiv, d. i. 1 : 25 bis 1 : 50 komplett, 1 : 200 kräftig, 1 : 400 schwach, in 3 Fällen,

darunter der zuletzt aufgeführte differentialdiagnostische Fall.

Zu diesem Material aus der letzten Epidemiewelle gehört nun endlich noch eine Gruppe von Erkrankungen bei Säuglingen und Kleinkindern, die von Dr. *Henschel-Lichterfelde* beobachtet und uns generell etwa folgendermaßen geschildert wurde: Beginn der Erkrankung mit Fieber, Schnupfen, Bronchitis, akuter Laryngitis, auch Pharyngitis. Dann Entzündung beider *Conjunctiven*; manchmal auch sofort diese *Bindehautentzündung*, die eitrig ist und die Augenlider verklebt wie bei einer Blennorrhoea neonatorum. Nach Abklingen der akuten Entzündungserscheinungen Heilung. Von 9 solcher Fälle wurden uns Conjunctivalabstriche, von einem Fall ein Rachenabstrich zur Untersuchung eingesandt, und trotz der ungünstigen Bedingungen durch Transport und Eintrocknung, deren bedenklichen Einfluß auch *Loewenhardt*¹⁾

¹⁾ *Felix E. R. Loewenhardt* (Breslau), Bakteriologische Befunde bei Influenza. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 29.

an Rachenabstrichen überzeugend dargetan hat, konnten noch aus 4 der Bindehautabstriche, darunter 2 mal rein, Influenzabacillen gezüchtet werden. Ebenfalls sehr stark positiv war der Rachenabstrich des zehnten Falles (Fall 42); hier wiesen die Mikroben den Typ der extremen Pseudoform (s. unten) auf.

Zum Unterschied von den Influenzabacillen, wie sie als echte oder als Pseudoform in den Grippefällen bei Erwachsenen isoliert wurden, und die alle, wenn auch in sehr verschiedenem Grade, durch Immunsérum agglutiniert wurden, fanden sich unter den Conjunctivalstämmen zwei völlig inagglutinable. Die interessanten serologischen Beziehungen des extremen Pseudostammes 42 aus dem Rachenabstrich werden uns später noch zu beschäftigen haben.

Außerdem fanden sich in den Conjunctivalkulturen 2 mal Pseudodiphtheriebacillen rein, einmal avirulente Diphtheriebacillen neben den Grippestäbchen, einmal Pneumokokken, einmal Streptokokken neben Friedländerbacillen, einmal eine Reinkultur von gelben Staphylokokken.

Endlich sei als Rarität und zu dem Kapitel des Influenzabacillus als Eitererregers ein Fall chirurgischer Grippe berichtet (12/22): Die Krankengeschichte enthält die anamnestische Angabe eines kurz dauernden Grippeanfalles Ende Dezember 1921. Anfang März 1922 traten Schmerzen in der rechten Gesäßbacke auf; erst am 17. III. Überweisung ins Krankenhaus, wo ein Absceß diagnostiziert wird. Es scheint sich also um eine abscedierende Muskelentzündung gehandelt zu haben. Bei Incision am 18. III. entleerte sich reichlich Eiter, und aus diesem wuchs eine Reinkultur echter, auch durch starke Agglutination mit Immunsérum identifizierter Influenzabacillen.

Wie also unsere bakteriologische Ausbeute im Verlauf und im Anschlusse an die letzte Frühjahrsepidemie eindeutiges Material im Sinne der Pfeifferschen Lehre sowohl aus wissenschaftlich gesichteten und studierten wie auch aus rein diagnostischen Fällen darstellt, so ließ sich die ungeheure Zunahme von Influenzabacillen in dieser Zeit auch in Sputumausstrichen erkennen, die wegen Tuberkulose oder Tuberkuloseverdachts zum mikroskopischen Nachweise von Tuberkelbacillen eingesandt waren. Auch unerfahrenen Hilfskräften fiel in unserem Untersuchungsamt die Häufung von dicht mit Grippestäbchen besäten Präparaten auf, Bilder, die mit einem Schlage nach dem Abklingen der Epidemie wieder verschwunden waren.

Als Schlußstein auf dem ganzen Gebäude, das aus einem reichen, vier Epidemiejahren entstammenden Material aufgeführt werden konnte, sei ein letzter Grippefall aus unserer eigenen Umgebung mit seinem schlagenden Untersuchungsergebnis hierher gestellt. Der 80jährige Professor Z. erkrankte am 28. IV. ganz plötzlich aus vollem Wohlbefinden und seiner bewunderungswürdigen Rüstigkeit heraus mit

großer Abgeschlagenheit und Frostgefühl an heftigem Husten und Nasenkatarrh. Die Temperatur war und blieb subfebril, nur gelegentlich 38° erreichend. Die gesamten Krankheitserscheinungen blieben auf Nase, Rachen, Kehlkopf und Trachea beschränkt. Die Nasennebenhöhlen waren offenbar frei. Auswurf sehr gering, dagegen wurde ein paarmal am Tage aus der Nase ein fast rein eitriges, dem Rhinopharynx entstammendes Sekret entleert, das am fünften Krankheitstage zur bakteriologischen Untersuchung gelangte. Schon das direkte Ausstrichpräparat wimmelte von den feinen, ganz gleichmäßigen Grippestäbchen, die in Haufen und Zügen zwischen den Eiterzellen, nicht selten auch intracellulär, gelagert erschienen. Die Kultur ergab *Influenzabacillen* in dichtem Rasen und absolut rein¹⁾.

Wir glauben überzeugend dargetan zu haben, wie uns von allem Anfang der Pandemie an bis zum letzten Seuchenschub der vergangenen Monate in verschiedenen Untersuchungsgebieten der regelmäßige Nachweis der *Pfeifferschen* Influenzabacillen geglückt ist, und sehen in diesem Ergebnis die Frucht langjähriger spezieller Schulung und zweckmäßiger Technik bei Verwendung optimaler Nährböden. Es sei daher erlaubt, von diesen Nährböden und der Züchtungsmethode noch einmal die Grundzüge hervorzuheben.

II. Influenzanährböden und Untersuchungstechnik.

Wenn es auch gar keinem Zweifel unterliegt, daß zur Züchtung von Influenzabacillen die gewöhnliche Blutmischplatte in der Hand des Erfahrenen ausreichende Dienste zu leisten vermag, so besteht heute kein Streit mehr über die Überlegenheit moderner Spezialnährböden, auf denen die Grippestäbchen in großen Kolonien und üppigem Rasen, statt der klassischen Tautröpfchenform, gedeihen. Wenn wir gleichwohl eine Besprechung der Mischblutplatte hier an den Anfang stellen, so deshalb, weil für die *Differenzierung* der verschiedenen Influenzabacillentypen, vor allem des vierten hämolysierenden (s. unten), ihre Verwendung unentbehrlich ist. So wird von uns jeder auf den optimalen Spezialplatten isolierte Stamm in Reinkultur auf seine mikroskopischen und Wachstumsmerkmale auch auf der 5 proz. Blutmischplatte geprüft.

Die Verwendbarkeit dieses Blutagars ist an eine Reihe von Vorbedingungen geknüpft; nicht jede Blutart eignet sich für unsere Zwecke; Menschen- und Kaninchenblut erweisen bei jeder Nachprüfung immer wieder ihre Überlegenheit; weit zurück steht Pferdeblut; Ziegenblut

¹⁾ *Nachtrag bei der Korrektur:* Eine Untersuchung des eitrigen Nasensekretes nach der Genesung am 20. VI. zeigte übereinstimmend im mikroskopischen Ausstrich wie kulturell mäßig viel *Micrococcus catarrhalis*, fast sämtlich phagocytiert, und wenige *Pseudodiphtheriebacillen*, dagegen keine Influenzabacillen mehr.

ist vollends ungeeignet. Wie *Olsen*¹⁾ es neuerdings wieder betont hat, ist nicht nur die Konzentration des Agars, die 2% nicht überschreiten soll, sondern auch sorgfältigste Einstellung des Alkaleszenzgrades von größter Bedeutung. Leichte Bläuung von Lackmuspapier (*Merck*) wird verlangt; modern ausgedrückt, die Wasserstoffionenkonzentration soll p_H 7,3—7,5 betragen. Blutplatten, die mit frischem Blut hergestellt werden, müssen vor Verwendung ein bis mehrere Tage lagern, gleichsam reifen, da die frischen Platten kein Wachstum der hämoglobinophilen Bakterien gestatten. Der Grund dafür ist der, daß der Blutfarbstoff noch nicht in genügender Menge in den Agar diffundiert ist; er steckt, den Bakterien unerreichbar, in den intakten Blutkörperchen eingeschlossen. Diese Wartezeit wird daher überflüssig, wenn das Blut defibriniert, also mit Glasperlen kräftig geschüttelt, dem Agar zugesetzt wird. Noch besseres, wahrhaft üppiges Wachstum, selbst bei Verwendung von Pferdeblut, wird erreicht, wenn man das Blut vor seiner Mischung mit dem Agar in destilliertem Wasser — etwa zu gleichen Mengen — hämolysiert, wie wir jüngst feststellen konnten. Freilich ist dieser ausgezeichnete Influenzanährboden — *hämolysierter Blutagar* — nicht mehr zur Differenzierung der vier Typen zu verwenden. So lautet also die Vorschrift für den gewöhnlichen *Blutmischagar*:

Gründlich defibriniertes Kaninchenblut wird verflüssigtem, auf ca. 50° abgekühltem 2proz. Nähragar von p_H 7,3—7,5 in einer Menge von 5% zugesetzt, gleichmäßig vermischt und ausgegossen.

Von den im Verlaufe der modernen Influenzaforschung angegebenen Spezialnährböden haben sich im wesentlichen nur drei durchgesetzt und Bürgerrecht in bakteriologischen Laboratorien erworben: der *Kochblutagar* von *Levinthal*, der *Oleathämoglobinagar* von *Avery* und der „*Schokoladenblutagar*“ der Amerikaner.

Wie *Olsen* (l. c.) hervorhebt, ist im Gegensatz zu den Verhältnissen auf der gewöhnlichen Blutplatte die Toleranz der Influenzabacillen gegen Alkaleszenzschwankungen auf *Kochblutagar*²⁾ eine viel größere; wir konnten neuerdings feststellen, daß erst bei p_H 7,9 und darüber geringe Beeinträchtigung des maximalen Wachstums bemerkbar wird, andererseits schon bei p_H 7,0—7,1 üppiges Gedeihen zu erzielen ist. Doch empfiehlt sich auch hier die Einstellung des Ausgangsagars auf p_H 7,3—7,5. So sei noch einmal die mehrfach publizierte Vorschrift nach unserer eigenen jahrelang erprobten Methode wiederholt:

¹⁾ *Otto Olsen* (Freiburg i. Br.), Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabacillus während der Grippepandemie 1918—1920. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I. Orig., 84, 497 u. 85, 12. 1920.

²⁾ *W. Levinthal* (Gent, Belgien), a) Diese Zeitschr. vgl. Fußnote S. 459 und b) Neue bakteriologische und serologische Untersuchungsmethoden bei Influenza. Berl. klin. Wochenschr. 1918, Nr. 30.

2proz. Nähragar, p_H 7,3–7,5, verflüssigt und auf etwa 60° C abgekühlt, wird im Kolben langsam und unter Schütteln zu etwa 5% mit Blut versetzt und gut gemischt. Man verwendet frisches oder defibriniertes Blut vom Menschen oder jeder beliebigen Tierart, am bequemsten defibriniertes Pferdeblut, natürlich steril entnommen. Das Gemisch wird im Dampftopf gekocht; diese Prozedur darf unter keinen Umständen die Dauer von 5 Minuten bei ca. 1 l, von 8–10 Minuten bei 2 l überschreiten, da „überkochter“ Agar (*Pringsheim*) unbrauchbar wird. Das so erhitzte Blutagargemisch enthält Serum und Hämoglobin in groben schokoladebraunen Gerinnseln zusammengeballt und wird nun durch Wattefilter auf Glasstrichtern, die vorher im Heißluftschrank sorgfältig sterilisiert worden, unter aseptischen Kautelen im 60°-Schränk filtriert. Der völlig klare und farblose Agar wird ohne weiteres in hochgefüllte Reagensgläser verteilt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Erst bei Bedarf stellt man die Röhren zur Verflüssigung höchstens 2 Minuten lang in ein bereits vorher kochendes Wasserbad und gießt sofort noch heiß zu Schrägröhrchen oder in Petrischalen aus.

Die Überlegenheit dieses Nährbodens beruht nicht allein darauf, „daß aus der Menge der verschiedensten Bakterienarten die üppigen Influenzokolonien leicht herausgefunden werden können, sondern vor allem in den quantitativen Verhältnissen; da die Influenzabacillen etwa die gleiche Koloniegröße wie Staphylokokken (oder Colibacillen) erreichen, Streptokokken und Pneumokokken jedoch dasselbe bescheidene Wachstum wie auf Blutplatten aufweisen, so würde aus einem Bakteriengemisch, das die Grippestäbchen nur in geringer Menge enthält, die Wachstumschance auch dieser spärlichen Keime eine ungleich höhere sein als auf den alten Nährböden, auf denen sie von der Begleitflora verdrängt würden“ [*Levinthal*, Referat]. Die Influenzabacillen wachsen auf dem Kochblutagar in großen farblosen, transparenten, stark erhabenen Kolonien, die nur mit ähnlich, aber etwas opaker erscheinenden Meningokokken verwechselt werden können¹). Bei einiger Übung wird der Untersucher auch die kleinen, trüben, runden und konvexen Kolonien der Streptokokken und die flachen oder gedellt wachsenden Pneumokokken mit Sicherheit schon makroskopisch diagnostizieren.

Nach ganz dem gleichen Rezept wird eine *Kochblutbouillon* bereitet, für die nach der Filtration eine Sterilisation durch einmaliges ganz kurzes Aufkochen über der Flamme oder im Wasserbad (1–2 Minuten)

¹) Über das Wachstum von Gonokokken, Diphtheriebacillen usw. vgl.: *B. Galli-Valerio et M. Bornand* (Lausanne), L'agar de Levinthal comme milieu de culture de différentes bactéries et surtout du Micrococcus Gonorrhoeae. Schweiz. med. Wochenschr. 1920, Nr. 52.

unerlässlich ist. In ihr wachsen Influenzabacillen als üppiger Bodensatz und lassen die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar. Nur bei sehr hochgefüllten Röhrchen kann anfangs ein zartes Kahmhäutchen, das später ebenfalls zu Boden sinkt, wachsen, ein Ausdruck für das hohe Sauerstoffbedürfnis der Mikroben.

Während die Überlegenheit des Kochblutagars nur auf den geschilderten quantitativen Verhältnissen beruht, stellt der in Deutschland leider noch viel zu unbekannt gebliebene *Avery-Agar*¹⁾ einen ausgesprochen elektiv wirkenden Nährboden dar. Die Verwendung von oleinsäurem Natrium unterdrückt gewisse grampositive Kokken, vor allem Streptokokken und Pneumokokken, vollständig, während Katarhalis, Staphylokokken und Diphtheroide, besonders üppig aber die Bacillen der Influenzagruppe gedeihen; Meningokokken wieder bleiben gehemmt. Die Originalvorschrift für die Herstellung lautet: Benötigt wird:

1. 2proz. Nähragar von p_H 7,3—7,5.

2. 2proz. Lösung von neutralem Natrium oleinicum (z. B. *Kahlbaum*) in destilliertem Wasser, autoklaviert als Standardlösung. Nach unseren Erfahrungen ist die Lösung nur beschränkte Zeit haltbar, wird daher am besten frisch bereitet und noch heiß dem gleichfalls heißen Agar zugesetzt. Nur dann bleibt das Gemisch völlig ungetrübt. Der Zusatz beträgt 5,0 ccm auf je 100,0 ccm Agar, so daß also eine Konzentration von 1 : 1000 resultiert.

3. Aufschwemmung von roten Blutkörperchen in Bouillon. Steriles defibriniertes Menschen- oder Kaninchenblut wird zentrifugiert, das überstehende Serum abpipettiert und durch Bouillon bis zum ursprünglichen Volumen ersetzt, da Serum „bekanntermaßen“ die Wirkung des Oleates aufhebt. Von dieser Aufschwemmung wird je 1,0 ccm auf 100,0 ccm des Oleatagars, und zwar wieder solange der Agar noch heiß ist, und kurz vor Gebrauch gegeben, umgeschüttelt und in Platten ausgegossen.

Also das Rezept heißt:

2proz. Nähragar	94,0 ccm	} heiß gemischt.
2proz. Natriumoleatlösung . .	5,0 ccm	
Blutkörperchenaufschwemmung	1,0 ccm	

Avery verlangt 48stündige Bebrütung der Platten.

Auch hier läßt sich nach demselben Rezept eine Oleathämoglobinbouillon herstellen.

Da die bemerkenswerte und frappante Elektivwirkung des *Avery-Agars* interessant genug erschien, hat der eine von uns (*F.*) den Desinfektionseffekt des Natriumoleats auf Staphylokokken, Streptokokken,

¹⁾ *O. T. Avery* (New York), A selective medium for *B. Influenzae*. Oleate-hemoglobin agar. Journ. of the Americ. med. assoc. **71**, 2050. 1918.

Pneumokokken und Influenzabacillen ohne und in Gegenwart von verschiedenen Mengen Serum in vitro geprüft.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

Es wurden zwei Reihen von Reagensröhrchen mit optimalen flüssigen Nährböden angesetzt und beiden Reihen Natriumoleat in fallenden Mengen hinzugefügt, so daß das Desinfektionsmittel in den Lösungen in Konzentrationen von 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 4000 und 1 : 8000 enthalten war; außerdem kam zu jeder Reihe noch ein Kontrollröhrchen; der zweiten Reihe wurde außer dem Natriumoleat noch Rinderserum zugesetzt in der Menge von 10%. Nur im ersten Versuch mit Staphylokokken wurden drei Reihen angesetzt, deren erste kein Serum, die zweite einen Zusatz von 50%, die dritte von 25% Serum enthielt. Alle Versuche wurden in einer Gesamtmenge von 2 ccm angesetzt.

Um eine möglichst gleiche Einsaat von Keimen in jedes Röhrchen zu gewährleisten, wurden die Kulturen nicht ösenweise, sondern als dichte Aufschwemmung in NaCl-Lösung in Menge von je einem Tropfen zugesetzt; die Aufschwemmung wurde von 24stündigen auf optimalen Nährböden gezüchteten Kulturen unmittelbar vor der Einsaat hergestellt. Vor der Hinzufügung der Bakterien kamen die Röhrchen zur Sicherstellung der Sterilität auf $\frac{1}{2}$ Stunde ins Wasserbad von 58–60° C.

Als Nährflüssigkeit verwandten wir für den Staphylokokkenversuch gewöhnliche Bouillon, für den Streptokokken- und Pneumokokkenversuch 2–3 proz. Traubenzuckerbouillon und für den Versuch mit Influenzabacillen Influenzabouillon.

Um die Desinfektionswirkung des Oleates einerseits, die hemmende Wirkung des Serums andererseits nachzuweisen, wurden in der üblichen Weise Abimpfungen auf Platten vorgenommen, und zwar nach 15 Minuten, $\frac{1}{2}$ Stunde, 1, 2, 4 und 24 Stunden.

Bei der geringen bzw. völlig fehlenden Wirkung auf Influenzabacillen und Staphylokokken wurden für diese Bakterien noch ergänzende Versuche mit den Konzentrationen 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 400 angestellt bei sonst gleichen Versuchsbedingungen, sowie Abtötungsversuche in physiologischer NaCl-Lösung mit Zusatz von 2% Natriumoleat.

Die Resultate der Versuche sind kurz zusammengefaßt folgende: Staphylokokken werden in Nährmedien selbst in Konzentrationen von 1 : 100 absolut nicht beeinflußt, in NaCl-Lösung sterben sie bei Zusatz von 2% Natriumoleat schneller ab als ohne diesen, und zwar so, daß nach 1 Stunde beginnende Verminderung der Keime gegenüber der Kontrolle zu beobachten ist, nach 24 Stunden eine völlige Abtötung erfolgt, während in der Kontrolle die Keime nur auf die Hälfte vermindert sind.

Die Wirkung auf Pneumokokken ist am stärksten ausgeprägt. In der Verdünnung 1 : 500 tritt eine fast augenblickliche Verminderung der Keime ein, nach 30 Minuten völlige Abtötung, nach 1 Stunde erreicht die Konzentration 1 : 1000, nach 2 Stunden 1 : 4000 die gleiche sterilisierende Wirkung.

Hämolytische Streptokokken werden langsamer gehemmt bzw. abgetötet, bei ihnen wird völlige Abtötung in der Verdünnung 1 : 500 erst nach 1 Stunde, bei 1 : 1000 erst nach 2 Stunden erreicht, nach 24 Stunden jedoch wie bei Pneumokokken noch in der Verdünnung 1 : 8000.

Bei der Prüfung gegenüber Influenzabacillen wurden zwei Stämme benutzt, ein seit vielen Monaten fortgezuchteter polyvalenter Stamm (77) und ein frisch isolierter aus einem Tbc-Sputum. Während dieser letztere auf dem Averyagar typisch gedieh, ging der Stamm 77 nicht an, wie uns auch früher schon gelegentlich für einzelne Influenzastämme der Oleatnährboden versagt hatte (s. unten!). Trotzdem zeigten beide Stämme keine oder kaum eine Beeinflussung durch das Mittel.

Die Konzentration von 1 : 1000 erwies sich als völlig, die von 1 : 500 als fast wirkungslos, eine Verdünnung von 1 : 100 ergab nach 30 Minuten völlige Sterilisation.

In allen diesen Versuchen hob der 10proz. Zusatz von Rinder-, in einigen Versuchen Menschenserum die Wirkung des oleinsäuren Natriums völlig auf.

Bei der großen Differenz der von uns gewählten Serumkonzentration und der im *Avery*-Nährboden bei einem Blutzusatz von 1% tatsächlich vorhandenen stand noch die Feststellung der eben auf Natriumoleat hemmend wirkenden Serummengende aus. Diese wurde in zwei weiteren Versuchen gegenüber Streptokokken und Pneumokokken ausgewertet.

Es wurde einer in allen Röhrchen gleichen und durch die obengeschilderten Versuche als sicher wirksam festgestellten Konzentration des Natriumoleats von 1 : 500 Serum zu 10, 5, 1, 0,5 und 0,1% zugesetzt, dazu drei Kontrollen:

1. Die Bakterien in reiner 2–3proz. Traubenzuckerbouillon;
2. in Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 10% Rinderserum, um die Wirkung des Serums als wachstumsfördernden Faktors auszuschließen; und
3. Traubenzuckerbouillon ohne Serum mit Zusatz von Natriumoleat, in der Konzentration von 1 : 500.

Während nun Kontrolle 3 bei Streptokokken bereits nach 15 Minuten starke Verminderung, nach 1 Stunde völlige Abtötung zeigte und bei Pneumokokken bereits nach 15 Minuten völlige Sterilisation erreicht

wurde, hemmte die Serumbeigabe derart gering, daß die Einwirkung des Desinfektionsmittels noch bei 1,0% Serum nach 30 Minuten bis 1 Stunde eintrat. Nach 2 Stunden zeigten nur noch 5% Serum hemmende Wirkung, nach 24 Stunden bestand diese auch bei 10% Serum nicht mehr.

Bei dem gleichen Versuch mit Pneumokokken war ein Serumzusatz bis 5% von gar keiner, von 10% nur von geringer hemmender Wirkung auf das Desinfiziens.

Aus diesen Versuchen geht hervor: Natriumoleat ist für *Pneumokokken* ein gutes Abtötungsmittel in Konzentrationen von 1 : 1000 bis 1 : 4000; die Verdünnung 1 : 500 tötet sie fast sofort. Etwas schwächer ist die Wirkung auf *Streptokokken*, die durch die Verdünnung 1 : 500 erst nach 1 Stunde, durch 1 : 1000 erst nach 2 Stunden, 1 : 2000 und darunter erst nach 24 Stunden abgetötet werden. *Influenzabacillen* dagegen bleiben durch das Mittel in einer Verdünnung von 1 : 1000 völlig, durch 1 : 500 fast völlig unbeeinflusst und werden erst durch eine Konzentration von 1 : 100 in $\frac{1}{2}$ Stunde abgetötet. Den *Staphylokokken* schadet nicht einmal diese hohe Konzentration innerhalb von 24 Stunden. So ist in der Tat die von *Avery* vorgeschriebene Konzentration von 1 : 1000 das Optimum für die gewünschte Elektivwirkung des Nährbodens. Dagegen müßte der Ersatz des Serums in dem 1proz. Blutzusatz durch Bouillon unnötig sein, da nach den Reagensglasversuchen bei Streptokokken ein Serumzusatz bis zu 1%, bei Pneumokokken sogar bis zu 5% die Oleatwirkung unbeeinträchtigt läßt.

Und diesem Resultat entspricht die Prüfung eines mit Vollblut hergestellten Oleathämoglobinagars vollkommen. Influenzabacillen und Staphylokokken wachsen ungehemmt, Pneumokokken und Streptokokken werden in gleicher Weise wie auf dem nach *Averys* Originalvorschrift angefertigten Agar völlig unterdrückt. Der Ersatz des Serums durch Bouillon erweist sich demnach auch durch den Plattenversuch mit Vollblutoleatagar als überflüssig.

Es blieb noch übrig, neben den von dem amerikanischen Autor vorgeschriebenen Blutarten einige andere auf ihre Verwendbarkeit zu Oleatagar zu untersuchen. So wurde mit Kaninchenblut noch Ziegen- und Pferdeblut als die in Laboratorien beliebtesten Hämoglobinspender verglichen, und zwar wieder einmal unter Ersatz des Serums durch Bouillon nach der Originalvorschrift, und daneben als Vollblut zugesetzt.

Während auch hier wie für die gewöhnliche Blutmischplatte das Ziegenblut sich als völlig unbrauchbar erwies, da die hämoglobiphilen Bacillen kaum oder gar nicht angingen, übertraf der Pferdeblutagar noch den mit Kaninchenblut hergestellten im Wachstum der Influenzabacillen, besonders bei Verwendung von Vollblut, da hier

bei völliger Hemmung von Pneumokokken und Streptokokken — übrigens auch Meningokokken — die Influenzabacillen, einschließlich des auf der Original-Avery-Platte nicht wachsenden Stammes 77, üppig gediehen.

Danach wäre die Vorschrift *Averys* zu ergänzen: Als Blutspender eignet sich neben dem Kaninchen mindestens gleich gut das Pferd, und zu empfehlen ist die Verwendung von defibriertem Vollblut — also ohne den umständlichen und überflüssigen Ersatz des Serums durch Bouillon — in der Menge von 1%.

Die Vorzüge dieses Oleathämoglobinagars bestehen in ungeheurer Erleichterung des Nachweises von Influenzabacillen, deren wichtigste Konkurrenten auf der Kulturplatte völlig unterdrückt bleiben. Diese Vorzüge stecken aber auch die Grenzen seiner Verwendbarkeit ab. Wo die Untersuchung ausschließlich auf den Nachweis der hämoglobinophilen Bakterien abgestellt ist, feiert der Nährboden seine Triumphe. Wo aber der Untersucher mit seinen bakteriologischen Studien an Sputum oder Sektionsmaterial analytisch ein *Gesamtbild* der Flora mit ihren quantitativen Beziehungen, differenziert in Hauptbakterien und Begleitkeime, gewinnen will, wie wir es uns zum Prinzip gemacht haben, ist er fehl am Ort. Wir haben in einer größeren Versuchsreihe parallel am gleichen Material Kochblutagar und Oleathämoglobinagar geprüft und die Gleichwertigkeit beider Nährböden festgestellt; fast immer führten beide Platten zu den gleichen positiven oder negativen Resultaten; nur ausnahmsweise versagte einmal die eine, einmal die andere gegenüber dem positiven Rivalen. Doch fanden wir, wie erwähnt, mehrmals Stämme, und besitzen auch zur Zeit in unserer Sammlung den besonders gut agglutinierenden Widaltteststamm 77, die auch bei großer Aussaat von Reinkultur auf der *Avery*-Platte fast völlig gehemmt bleiben; solche Beobachtungen sind ein Gegenstück zu Befunden von Choleravibrionenstämmen, die auf Dieudonné-Agar nicht wachsen, wie während des Krieges auch im Institut gelegentlich festgestellt wurde. Noch in zwei Punkten fällt der Vergleich der beiden Spezialnährböden zuungunsten des Oleatagars aus; während sich in der obengeschilderten Weise von Kochblutagar Vorräte für viele Wochen, ja für Monate ohne Beeinträchtigung der Qualität herstellen lassen, kann der Oleatagar, der immer gleich fertig ausgegossen werden muß, nur in kleinsten Mengen vorrätig gehalten werden, um den schädigenden Einfluß der Austrocknung zu vermeiden. Dazu stört vom zweiten Tage an ein fettiger, in grauen Flecken auf der Oberfläche sich bildender Belag, offenbar von Oleat, der bei der Aussaat von der Öse zu einem schmierigen, oft recht erheblichen Haufen zusammengekehrt wird. Und zweitens ist die Kultur der hämoglobinophilen Stäbchen auf dem *Avery*-Agar mehr oder weniger stark schleimig,

eine Verreibung zur Herstellung homogener Kochsalzaufschwemmungen daher unmöglich. Das mikroskopische Bild der echten Influenzabacillen ist in diesen schleimigen Kolonien stets nicht unerheblich größer und pleomorpher als auf Kochblutagar.

Freilich werden für die Aussaatplatte bei der primären Züchtung aus Untersuchungsmaterial alle diese Nachteile und Mängel hinter der frappanten Elektivwirkung, die besonders dem Ungeübteren den Nachweis der gesuchten Mikroben erheblich erleichtert, zurückstehen dürfen.

Der dritte der modernen Influenzanährböden ist das von den Amerikanern zur Fortzüchtung der Reinkultur viel verwandte „Chocolate-blood“-Medium: Agar oder Bouillon von p_H 7,4–7,6, mit defibriniertem Pferde- oder Kaninchenblut wie üblich versetzt, wird im Wasserbad kurze Zeit auf 70° C erhitzt, bis Farbumschlag in Schokoladenbraun erreicht ist, und ausgegossen. Auch dieser *Schokoladenblutagar* gibt prachtvoll üppige Ausbeute der Kulturen, als Nachteil erscheint uns einmal wieder die Unmöglichkeit, Vorräte zu halten, und zweitens die Undurchsichtigkeit. Diesen Mißstand zu bessern, haben wir das Blut vor dem Zusatz zum Agar durch destilliertes Wasser lysiert, doch kann auch so der Nährboden an Klarheit nicht mit filtriertem Kochblutagar konkurrieren.

Es ist begreiflich, daß das Phänomen der Hämophilie die Forschung stets von neuem anzieht. So haben auch in den letzten Jahren Untersucher das Problem von verschiedenen Seiten in Angriff genommen. Zwar konnten, wie zu erwarten, die Angaben *Tocunagas*¹⁾, das für hämoglobinophile Bakterien notwendige Nährsubstrat des Blutes stecke nicht im eisenhaltigen Hämatin, sondern in der eisenfreien Eiweißkomponente, dem Globin, von *Jacoby* und *Frankenthal*²⁾ nicht bestätigt werden; doch fanden diese Autoren in gewissen Spaltprodukten des Hämoglobins, in Histidin und Leucin, Körper, die ein, wenn auch dürftiges, Wachstum von Influenzabacillen gestatten.

Erheblich weiter in der Erforschung des interessanten Problems sind amerikanische Untersucher unabhängig voneinander und gleichzeitig gekommen. Sie konnten zwei Substanzen nachweisen, die beide für sich allein Wachstum von Influenzabacillen nicht erlauben, deren gemeinsames Wirken jedoch üppiges Gedeihen zur Folge hat. *Davis*³⁾

¹⁾ *H. Tocunaga* (Jamaguti, Japan), Über die Biologie der Influenzabacillen. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 49.

²⁾ *Martin Jacoby* und *Käte Frankenthal* (Berlin), Die Bedeutung der Hämoglobinaminosäuren für die Züchtung der Influenzabacillen. Biochem. Zeitschr. 122, 100. 1921.

³⁾ *David J. Davis* (Chicago), Food accessory factors in bacterial growth. III. Further observations on the growth of Pfeiffer's bacillus (*B. influenzae*). Journ. of inf. diseases. 29, 171. 1921.

find, daß kurzdauerndes Erhitzen von Blut auf 60—100° das dürftige Wachstum auf unerhitztem Blut verbessert, höhere Temperaturen des Autoklaven jedoch in kürzester Zeit die Wirksamkeit des Blutes restlos zerstören. So zerstörtes Blut kann aber durch völlig hämoglobinfreien Extrakt tierischer oder pflanzlicher Gewebe, Bakterien oder deren Filtrate, die für sich allein wirkungslos sind, vollständig restauriert werden. Autoklavieren solcher Extrakte wiederum hebt jede Wachstumsmöglichkeit von neuem auf. Er erschließt also aus diesen Versuchen erstens einen nur im Blut vorkommenden, thermostabilen Körper — vermutlich Hämatin —, und zweitens einen ebenfalls im Blut, aber auch in anderen blutfreien tierischen und pflanzlichen Zellen vorhandenen, thermolabileren, wasserlöslichen Körper von vitaminösen Eigenschaften. Und in dieser selben Substanz konnte Davis¹⁾ weiterhin den Träger jenes Phänomens, das in dem Auftreten von Riesenkolonien durch fördernde „Ammenbakterien“ oder Zellextrakte als „Satellitismus“ der Influenzabacillen seit langem bekannt ist, nachweisen.

Zu gleichen Ergebnissen wie Davis gelangten in mehreren Arbeiten Thjötta und Avery²⁾. Die bedeutungsvolle Rolle vitaminähnlicher Substanzen aus gewissen Bakterien — Kapselbacillen und Proteus — hatte Thjötta³⁾ schon in einer ersten Studie erkannt. Nun ließ sich die gleiche Substanz mit den auch von Davis festgestellten Merkmalen der Thermolabilität und Wasserlöslichkeit aus *Hefe* und anderen pflanzlichen und tierischen Geweben gewinnen. Die Autoren nennen diesen Körper V (von Vitamin). Stets aber ist seine Wirksamkeit, auch wenn er in großer Menge vorhanden ist, gebunden an gleichzeitige Anwesenheit einer zweiten Substanz X, die in roten Blutzellen und krystallinischem Hämoglobin hochkonzentriert steckt, thermostabil ist und noch in minimalsten Mengen (krystallinisches Hämoglobin 1 : 2 000 000) ausreicht. Die Autoren schreiben diesem Körper X daher katalytische Wirkung zu. Sie konnten ihn schließlich von allen untersuchten Eiweiß- und Lipoidsubstanzen nur noch in der *Kartoffel* auffinden und stellten fest, daß seiner Wirksamkeit stets die *Benzidinprobe* parallel geht. Diese Feststellung bezüglich der Benzidinprobe und eine ähnliche Anschauung über die Wirkungsweise eines so nachweisbaren, aus Blut stammenden, für Influenzabacillen unerläßlichen Substrates als Kataly-

¹⁾ David J. Davis (Chicago), IV. The „satellite“ or symbiosis phenomenon of Pfeiffer's bacillus (*B. influenzae*). Ebenda, S. 178.

²⁾ Theodor Thjötta and O. T. Avery (Rockef. Inst.), II. Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. Journ. of exp. med. **34**, 97. 1921. — Dieselben, III. Plant tissue, as a source of growth accessory substances, in the cultivation of bac. influenzae. Ebenda S. 455.

³⁾ Theodor Thjötta, Studies on bacterial nutrition. I. Growth of bacillus influenzae in hemoglobin-free media. Ebenda **33**, 763. 1921.

sators findet sich schon bei *Olsen*¹⁾, den die amerikanischen Forscher zitieren.

Der Natur und Wirkungsweise des Körpers X werden weitere Studien gelten müssen.

Doch liegt bereits in den geschilderten Feststellungen die Erklärung für das Geheimnis des *Kochblutagars*; die Erhitzung des Blutes im Agar führt einerseits zur Abspaltung aus den roten Blutzellen und offenbar optimalen Lösung der Substanz X; fortgesetzte oder zu starke Erhitzung andererseits zerstört den vitaminösen Körper V. Nach den Untersuchungen von *Thjötta* und *Avery* müßte jedoch solch überhitzter Nährboden durch erneute Zufuhr von V, also etwa eines Hefenextraktes, vollständig wieder herzustellen sein.

Neben der Verwendung von Spezialnährböden kann für den kulturellen Nachweis der Influenzabacillen, vor allem aber für die bakteriologische Analyse der gesamten, für den einzelnen Krankheitsprozeß charakteristischen Flora Auswahl und Bearbeitung des Untersuchungsmaterials von entscheidender Bedeutung sein. Hat man bei Sektionen Organe oder Organteile mit ihren anatomischen Veränderungen selbst an der Hand, so wird Entzündungsekret, Eiter, Organsaft, Schleim ohne Verunreinigung von der Außenfläche her stets leicht mit der Platinöse zu entnehmen und direkt auszusäen sein. Wir verzichten ausnahmslos auf die Zuhilfenahme des Spatels und kommen immer mit einer hinreichenden Zahl ganz gleichmäßiger Striche zu restloser Aufspaltung des Bakteriengehaltes in isolierten Kolonien. Auswurf aber, der mit dem Schleim des Mundes oder mit Speichel vermischt ist, muß durch die klassische Waschmethode *Kochs* von allen Beimengungen befreit, gleichsam aufgeschlossen werden. Dabei hat es sich uns besonders bewährt, nach Abspülung in Kochsalzlösung die Sputumflocke noch in einer trocknen Schale auszubreiten und so bis zum innersten Kern, reinem Lungensputum, vorzudringen. Erst die sorgfältig ausgesuchte und so vorbehandelte eitrige Flocke, der Kern eines Sputumballens, kommt in der angegebenen Weise zur Aussaat.

Die *Hustenplatte*, deren Ausbeute an Kolonien im allgemeinen hinter der Erwartung zurückbleibt, muß daher mit einer ganzen Anzahl kräftiger Hustenstöße bei weit geöffnetem Munde in kleinstem Abstände von den Lippen beschickt werden. Die *Rachenabstriche* wurden fast ausnahmslos von uns selbst aus dem hinteren Nasenrachenraum der Untersuchungsperson entnommen; eine leicht gebogene große Öse wird hinter den weichen Gaumen über Vorder- und Hinterwand des Rhinopharynx geführt und der so gefaßte Schleim direkt ausgestrichen.

¹⁾ S. Fußnote 1 S. 473.

Die 24 Stunden bebrüteten Platten werden durch Identifizierung jeder Kolonieart restlos durchanalysiert, das numerische Verhältnis der einzelnen Bakterienarten zu einander durch 1—4 Kreuze festgelegt. Dabei verzichten wir prinzipiell auf die Anfertigung von Präparaten der Kolonien auf der Ausgangsplatte, sondern impfen stets erst auf Subkulturen, hauptsächlich Blutplatten und Influenzaagar, ab und mikroskopieren die gramgefärbten Reinkulturen. Für die makroskopisch influenzaverdächtigen Kolonien wird diese Abimpfung auf Kochblut- und gewöhnlichem Agar in abwechselnden Strichen mit dem gleichen Material zum Nachweis der obligaten Hämoglobinophilie vorgenommen; die Reinkultur wird mit Immuns Serum agglutiniert.

Die Methodik dieser *Agglutination* sowohl wie des *Widals* ist stets die folgende: Mit großer Öse wird möglichst viel Material von 24stündiger Plattenkultur abgenommen und „sorgfältigst an der Glaswand eines Kochsalzröhrchens, zuerst mit geringsten Flüssigkeitsmengen, dann unter vorsichtigstem allmählichen Abspülen verrieben“ [*Levinthal*¹⁾], Die völlig homogene Suspension wird zu gleichen Teilen den jeweiligen Serumverdünnungen 2 : x zugesetzt, so daß die Verdünnung 1 : x resultiert. Alle Röhrchen kommen für 24 Stunden in den 37°-Schrank; am nächsten Tage wird die Sedimentation beobachtet und notiert, dann nach Aufschütteln mit schwacher Lupe die Zusammenballung abgelesen. Wenn auch im wesentlichen Sedimentation und Agglutination einander entsprechen, die erstere nur etwas weiter zu gehen pflegt, scheint uns doch die Agglutination einwandfreier und liegt unseren Angaben ausschließlich zugrunde.

III. Eigene Befunde von Influenzabacillen bei Nicht-Influenzakranken aus den Jahren 1919 bis 1922 in Berlin.

Fassen wir unsere oben mitgeteilten Untersuchungsergebnisse an Influenzakranken in einem Satz zusammen, so dürfen wir sagen: „Wo Influenza, da Influenzabacillen.“ Diese These ist die Umkehrung des Wortes *Wassermanns* aus dem Jahre 1893, „wo Influenzabacillen, da Influenza“. Es ist seit langem bekannt, daß dieser Satz *Wassermanns* keine Gültigkeit mehr hat, nachdem bei einer ganzen Reihe von Krankheitsprozessen der Atemwege die *Pfeifferschen* Stäbchen oft genug gefunden werden konnten. So kennen wir seit Jahrzehnten das Vorkommen des Mikroben bei Masern und Keuchhusten einerseits, bei Tuberkulose und ähnlichem andererseits. Die älteren Befunde bei akuten Infektionskrankheiten des Respirationstractus, besonders im Kindesalter, faßt folgender epidemiologischer Hinweis *Levinthals* (Referat; dort Literaturnachweis) zusammen: „Im Jahre 1900, also zur Zeit einer pandemischen Influenzawelle, fanden *Jochmann* und

¹⁾ S. Fußnote S. 459.

Krause, etwas später *Jochmann* und *Moltrecht*, in der Mehrzahl von Keuchhustenfällen ihren *Bacillus pertussis* Eppendorf, d. h. offenbar das *Pfeiffersche* Stäbchen; im Jahre 1901 stellte *Süsswein* in fast 50% bei Masern Influenzabacillen fest; im selben Jahr fand *Jehle* bei Sektionen von Masern, Windpocken und Keuchhusten in fast 100%, bei Scharlach in ca. 45% Influenzabacillen. In den Jahren 1902 und 1903 beschrieb *Auerbach* von mehr als 700 Fällen auf den Tonsillen von Diphtherie- und Scharlachkranken Influenzabacillen in 5,4%. Dagegen im Jahre 1912 traf *Odaira* in Breslau im *Pfeifferschen* Laboratorium die Influenzabacillen bei 42 Keuchhustenfällen nur noch 4 mal.“

Und ganz ähnlich hat *Scheller* für das Auftreten von Influenzabacillen bei Tuberkulösen und Gesunden die Abhängigkeit von Grippeepidemien in seiner viel zitierten Statistik aus Königsberg aus dem Jahre 1906/07 bis 1908/09 nachgewiesen.

Auch in dieser Beziehung durfte eine weitere Aufklärung von der neuen Pandemie erhofft werden. Wir haben an einer ganzen Reihe von Krankheiten und an Gesunden seit 1919 das Vorkommen von Influenzabacillen und ihre Rolle im Organismus der Infizierten studiert und an diesem Material unsere morphologischen Feststellungen und Varietätsstudien machen können. Doch wird es hier unerlässlich sein, einige Arbeiten anderer Untersucher mit heranzuziehen, wobei wir uns auf die erfahrensten Kenner der Materie, die mit einwandfreien Methoden gearbeitet haben, beschränken.

Aus dem Beginn der Pandemie besitzen wir das Zeugnis *Uhlenhuths*¹⁾, der ja positive Befunde bei Influenzakranken als einer der ersten gemeldet hat; er fand die Bacillen in Rachenabstrichen bei 100 gesunden Soldaten nicht ein einziges Mal. Gleichfalls aus dem Jahre 1918 stammt die Untersuchung von *Neufeld* und *Papamarku*²⁾, die in Tonsillenabstrichen von 25 gesunden Institutsangehörigen die Stäbchen in spärlicher Menge immerhin in 2 Fällen (von denen der eine unmittelbar neben einem an typischer Grippe Erkrankten arbeitete) fanden.

Pfeiffer selbst hat mit *Loewenhardt*³⁾ festgestellt, daß von 61 Gesunden nur die Rachenabstriche von zwei Personen Grippestäbchen aufwiesen, die beide am nächsten Tage an typischer Influenza erkrankten. Seitdem ist *Pfeiffer*, wie er in seiner letzten Publikation⁴⁾ mitteilt, mit seinen Mitarbeitern *Loewenhardt*, später *Preuss*, der Verbreitung der Influenzabacillen bei Nichtgrippekranken unablässig nachgegangen und hat seine Aufmerksamkeit besonders auf Tuberku-

¹⁾ *Uhlenhuth* (Straßburg, Elsaß), Zur Bakteriologie der Influenza 1918. Med. Klinik 1918, Nr. 32.

²⁾ S. Fußnote 3a) S. 456.

³⁾ S. Fußnote S. 470.

⁴⁾ *R. Pfeiffer* (Breslau), Das Influenzaproblem. Weichardts Ergebn. d. Hyg., Bakteriол., Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 5, 1. 1922.

losen und andere Erkrankungen des Respirationstractus (Rachenabstriche und Sputum) gerichtet. Während in der Zeit der großen Epidemiewellen bis zum März 1919 Bacillenträger zu 26% festgestellt wurden, sank diese Zahl in der Zeit vom April 1919 bis März 1920 auf 7%. Die Untersuchung vom April 1920 bis zum März 1921, jener interepidemischen Periode also, die sich an die heftige Frühjahrseruption von 1920 anschloß, ergab diese Befunde: erstes Halbjahr bei 116 Personen 7% positive, bei 108 früher Grippekranken 15,7%; zweites Halbjahr: bei 42 Personen 0 positive, bei 60 früher Grippekranken 5%. Von Scharlachfällen verfügt Pfeiffer nur über ein kleines Material; bei 5 Kranken fand er niemals Influenzabacillen. Seine Masernfälle teilt er in zwei Gruppen; 24 Patienten eines Krankenhauses waren samt und sonders negativ, von 13 Masernkranken der Universitätsklinik wiesen 3 die Bacillen auf.

Das gleiche völlig negative Resultat bei 31 Scharlachkranken aus dem Sommer 1919, relativ grippefreier Zeit also, aber immerhin „im Streukegel der großen Epidemie“, hatten bei Verwendung von Sputumaussaaten und Hustenplatten Seligmann und Georg Wolff¹⁾; auch 16 Gesunde waren bei ihnen in dieser Zeit ausnahmslos negativ, während ihre Ergebnisse bei Tuberkulose und Tuberkuloseverdacht, bei Diphtherie, Masern und Keuchhusten die folgenden waren:

Tuberkulose:	von 24 Fällen	3 positive	= 12,5%	} 19,3%
Tuberkuloseverdacht:	„ 38 „	9 „	= 23,7%	
Diphtherie:	„ 21 „	2 „	= 9,5%	
Masern:	„ 57 „	22 „	= 38,6%	
Keuchhusten	„ 44 „	20 „	= 45,5%	

Während also übereinstimmend von diesen Untersuchern bei Gesunden auch während der Epidemie Influenzabacillen nicht oder nur selten gefunden wurden, ist Stillman in New York mit seinen Mitarbeiterinnen zu ganz anderen Resultaten gelangt. Schon während der ersten Seuchenwellen des Jahres 1918 stellte er mit Ida Pritchett²⁾ Parallelität zwischen dem Vorkommen von Influenzabacillen im Rachen gesunden Pflegepersonals und der Epidemiekurve fest; neben einer Ausbeute von 83 resp. 93% bei 49 unkomplizierten resp. 43 bronchopneumonisch komplizierten Influenzen und 46% bei 54 Rekonvaleszenten fanden die Autoren unter 177 Gesunden 42% Bacillenträger. Agnes Winchell und Stillman³⁾ konnten in Fortsetzung dieser Untersuchungen bei 150 gesunden Personen aus Laboratorium und Hospital des Rockefeller-Instituts in den Monaten November 1918 bis Mai 1919 Bacillenträger

¹⁾ E. Seligmann und Georg Wolff (Berlin), Influenzabacillen und Influenza. Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 29.

²⁾ Ida W. Pritchett and Ernest G. Stillman (New York), The occurrence of bacillus influenzae in throats and saliva. Journ. of exp. med. 29, 259. 1919.

³⁾ Agnes, I. Winchell and E. G. Stillman, The occurrence of bacillus influenzae in the normal throat. Ebenda 30, 497. 1919.

in wechselnder Menge, von 11—43% im Monat, nachweisen, während Patienten mit akuten Krankheiten des Respirationstractus von Februar bis April zu 70% positiv waren. Selbst in einer Abteilung eines Mädchenpensionats mit 20 Insassinnen und in einem Waisenhaus, die von der Epidemie verschont geblieben waren, trafen sie 25 resp. 39% Keimträger an. Die Autoren zitieren Untersuchungen an sämtlichen Gesunden des Camp Funston mit einer Ausbeute von 35,1%. Nach Fortführung dieser Studien blickt *Stillman*¹⁾ jetzt auf ein stattliches Material von 1077 gesunden Untersuchungspersonen mit 31% Influenzabacillenträgern, ohne Berücksichtigung des *Bacillus X* (siehe unten), zurück, und zwar wurden gefunden:

im Winter 1918/19	unter	717	Gesunden	35%	Träger
„ „	1919/20	253	„	17%	„
„ „	1920/21	107	„	29%	„
Also insgesamt	„	1077	„	31%	„

Dieser Nachweis wurde stets im Rachenschleim geführt; Nasensekret dagegen war bei Gesunden frei von den Bacillen. Dagegen wurden bei 35 Lobärpneumonien Influenzabacillen nachgewiesen: im Rachen zu 58%, in der Nase zu 23%, in Rachen, Nase und Sputum zusammen in 85% der Fälle²⁾.

Interessante Studien bei Kindern haben letzthin *Pilot* und *Pearlman*³⁾ aus Chicago publiziert. Nach einem Hinweis auf *Martha Wollstein* und *Spence* (*Americ. Journ. of dis. of childr.* 19, 459. 1920), die bei 266 gesunden Kleinkindern im Rachen *Pfeifferstäbchen* zu 10% nachwiesen, teilen sie ihre Befunde im Rhinopharynx von 25 Kindern mit 40% positiver Ausbeute und an je 115 exstirpierten Rachenmandeln und Tonsillen mit:

Adenoide	40,9%,
Tonsillen	53,9%.

Auch wir sind seit Anfang 1919 der Verbreitung der Influenzabacillen bei Erkrankungen der Atemorgane und bei Gesunden nachgegangen. Und zwar verteilen sich unsere Untersuchungen der ver-

¹⁾ *Ernest G. Stillman*, The frequency of bacillus influenzae in the nose and throat in acute lobar pneumonia. *Ebenda* 35, 7. 1922.

²⁾ *Nachtrag bei der Korrektur*: Ganz ähnliche Werte teilt soeben *Scott-London* (*Reports on publ. health a. med. subj.* Nr. 13, 76, 1922) mit, der durch Rachenabstriche unter 186 Gesunden aus dem November 1918, 19 und 20 etwa 40% und durch Nasenabstriche unter 120 gesunden Schulkindern im Januar 1922 etwa 36% Träger feststellte, während er 1920—21 im Sputum der Lunge bei Lobärpneumonie die Bacillen zu 60%, bei einfacher Bronchopneumonie und Bronchitis zu 88%, bei Influenza und Influenzapneumonie während der Januar-epidemie von 1922 dagegen nur zu 65%, wie er selbst betont, aus technischen Gründen in zu geringer Ausbeute, nachwies.

³⁾ *I. Pilot* and *S. J. Pearlman* (Chicago), Bacteriologic studies of the upper respiratory passages. III. The influenza bacilli (*Pfeiffer*) of the adenoids and tonsils. *Journ. of inf. diseases.* 29, 55. 1921.

schiedenen Infektionskrankheiten folgendermaßen auf die einzelnen Perioden, wobei wieder unser Material größtenteils der Infektionsabteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses (*U. Friedemann*), ein kleiner Teil der Masernfälle und die 10 Kontrolluntersuchungen an Conjunctiven bei Kindern dem Kaiser und Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhaus (*Finkelstein*) entstammen; von Gesunden wurden dagegen fast ausschließlich Angehörige unseres Instituts oder daselbst tätige Kursisten herangezogen:

Masern: 1919 im ganzen 17 Fälle, darunter 3 Sektionen; 1920 nur 6 klinische Fälle und 1921 bis Ende Mai 6 Sektionen und 1 klinischer Fall.

Keuchhusten: 1919 im ganzen 12 Fälle, darunter 2 Sektionen; 1920 nur 7 klinische Fälle und 1921 bis Mitte März 7 Sektionen und 1 klinischer Fall.

Scharlach: 1919 nur 2 Fälle; dann erst Ende Mai bis Mitte Dezember 1921 18 klinische Fälle.

Diphtherie und diphtherieverdächtige Anginen: 1921 im März 1 Sektion; dann Juni bis Oktober 20 klinische Fälle.

Tuberkulose: 1919 im Mai 13 Fälle einer Tuberkulosestation und 1922 von derselben Station 12 Fälle.

Gesunde: 1921 Mai bis Juli 28 Fälle; im November Nachuntersuchung von 5 Personen der ersten Gruppe und im April 1922 wieder 6 Nachuntersuchungen.

Masern.

Die schon an anderer Stelle [*Levinthal*¹⁾, Referat] teilweise mitgeteilten Untersuchungen an Masernkranken wurden, soweit es sich um rein klinisches Material handelte, durch Hustenplatten, Ausstriche von den entzündeten Bindehäuten und vom Rachen, seltener an Sputumaussaaten, angestellt.

Die Beobachtungen des Jahres 1919 an klinischem Material verteilen sich über das ganze Jahr derart, daß ein Teil der Fälle zu Beginn, ein zweiter etwa um die Mitte, der dritte in den letzten Monaten untersucht wurde. Dabei zeigt sich, vom Beginn des Jahres bis zum Ende hin, ein stetiges Absinken der positiven Influenzabacillenbefunde. Von den 3 Sektionen im Dezember des Jahres, pneumonischen Komplikationen, zeigten 2 die Bacillen in den Lungen, 1 war negativ. Insgesamt waren von den 17 Fällen 8 positiv = 47,1%, von den 14 klinischen also positiv 6 = 42,9%.

Der positive Nachweis der Influenzabacillen wurde geführt:

von 13 Hustenplatten 6 mal,
von 14 Conjunctivalausstrichen 5 mal,
von 9 Rachenausstrichen 3 mal.

Die 6 klinischen Fälle des Jahres 1920 drücken mit 2 positiven Befunden den Prozentsatz auf 33,3 herab, und zwar war von 4 Fällen im Juli nur 1 positiv (Sputum), von 2 Fällen im Dezember zeigte nur

¹⁾ S. Fußnote 1 S. 457.

der eine ausschließlich auf einer Conjunctiva reichliche Influenzabacillen.

Während in diesem Jahre 1920 Sektionsmaterial nicht zur Verfügung stand, brachte uns April und Mai 1921 neben 1 klinischen Fall, der positiv war, 6 Obduktionen zur Untersuchung. In allen diesen Fällen handelte es sich um Bronchopneumonien, und das bakteriologische Ergebnis, das für die *Pfeiffer*stäbchen nur bei einer Sektion negativ war, zeigt in dem Influenzabacillus den gefährlichsten Infizienten bei Masern. Wir werden bei Keuchhusten ganz entsprechende Verhältnisse antreffen und müssen uns vorstellen, daß die Masern- und Keuchhusteninfektion in den Organen des Respirationstractus einen bedenklichen Locus minoris resistentiae für den zu Zeiten epidemischer Influenza weitest verbreiteten Grippebacillus setzt.

Die bakteriologische Analyse der 6 Masernsektionen gestattet ferner Feststellungen, die ihr Gegenstück bei der Influenza selbst finden. Die Untersuchung wurde nicht auf die erkrankten Lungen und Atemwege beschränkt, sondern umfaßte auch neben der Bronchialdrüse die Milz und das Knochenmark der oft rhachitischen Rippen, einige Male auch des Femur.

Wie in dem I.-B.-negativen Falle mit Ausnahme des sterilen Rippenmarks aus allen Organen hämolytische Streptokokken in mehr oder weniger großen Mengen zu züchten waren, erwies dieser Keim auch in der Mehrzahl der I.-B.-positiven Fälle seine beherrschende Rolle für den tödlichen Verlauf. In 3 von 5 Fällen wuchs er, in Milz und Knochenmark mehrmals rein, in ungeheuren Mengen aus allen Organen, während die Pneumokokken nur einmal zu einer Sepsis mit Infektion des Rippenmarkes geführt hatten. Dieser letzte Fall (K. 24) war 2 Monate vor der Maserninfektion als Keuchhustenpatient zur bakteriologischen Untersuchung gekommen, und schon damals waren die Influenzabacillen fast rein aus Sputum gewachsen. Dagegen zeigte eine gleiche Doppeluntersuchung eines anderen Masernsektionsfalles (K. 21) mit Reinkultur massenhafter hämolytischer Streptokokken in Milz und Knochenmark und Influenzabacillen neben den Streptokokken in Lungen und Trachea einen bemerkenswerten Gegensatz zu der Untersuchung während des Keuchhustens 3 Monate vorher. Damals waren im Sputum neben zahlreichen *Bordet*bacillen nur ein paar Influenzabacillen, aber vom Typ II, der Pseudoform, gewachsen. Offenbar haben diese sich während der Maserninfektion in den virulenten echten Typ reaktiviert.

Der I.-B.-Befund bei den 5 positiven Sektionen war:

- in den Lungen positiv 5 mal, negativ — mal,
- in Trachea oder Bronchien positiv 3 mal, negativ 2 mal,
- in Bronchialdrüsen positiv — mal, negativ 5 mal,
- in Milz positiv 1 mal, negativ 4 mal,
- in Rippenmark positiv — mal, negativ 5 mal.

Das gesamte Ergebnis unseres Masernmaterials gibt *Tabelle X.*

Tabelle X.

Influenzabacillenbefunde bei *Masern* 1919 bis Mai 1921 in Berlin.

Jahr	Klinisch		Sektionen		Zusammen	
	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +
1919	14	6 = 42,9%	3	2	17	8 = 47,1%
1920	6	2	—	—	6	2 = 33,3%
1921	1	1	6	5	7	6 = 85,7%
1919—1921	21	9 = 42,9%	9	7 = 77,8%	30	16 = 53,3%

Als Kontrolluntersuchung wurden im Juli 1919 die *Conjunctiven* von 10 Kindern auf ihren Keimgehalt geprüft, und zwar bei 6 akuten Erkrankungen wie Angina, Pneumonie und Otitis media und 4 chronischen Prozessen wie Ascites, Nephritis und Lungentuberkulose. Nur bei einem Säugling mit Cystitis, abgeheilter Augendiphtherie und Otitis media fanden sich auf beiden Bindehäuten neben Pseudodiphtheriebacillen spärliche Mengen von Influenzabacillen.

Sonst wurden aus den Bindehäuten gezüchtet: Pneumokokken 5 mal, Katarrhalis 1 mal; frei von Krankheitserregern waren 3 Fälle.

Keuchhusten.

Hier wurde die Untersuchung der klinischen Fälle auf Sputum und Hustenplatte beschränkt.

Im Jahre 1919 kamen 12 Fälle zur Untersuchung, darunter 3 Sektionen, von denen die eine nur auf dem Obduktionstisch, die beiden anderen nach vorheriger klinischer Untersuchung studiert werden konnten. Von diesen wieder war ein Fall mit Masern akut kompliziert und zeigte eine Lobärpneumonie mit reichlichen Pneumokokkenmengen ohne Influenzabacillen und mit gleichfalls negativem *Bordet*befund. Der andere klinisch und bei der Sektion studierte Fall wies neben großen Mengen von *Bordet*bacillen, die schon im Sputum gefunden worden waren, in Lungen- und im Bronchialeiter nebeneinander, wie gleichfalls bereits im Auswurf, *echte* und *Pseudoinfluenzabacillen* auf. Der nur obduziert studierte Fall endlich, eine lobärpneumonische Komplikation, war für Influenzabacillen negativ, während bei steriler Milz aus Trachea und Lunge neben Pneumokokken die *Bordetschen* Keuchhustenbacillen stellenweise in Reinkultur gezüchtet wurden.

Von den 9 klinischen Fällen waren 3 influenzapositiv, zwei mit dem echten Typ übereinstimmend in Sputum und auf der Hustenplatte, der dritte nur im Sputum mit dem Pseudotyp.

So ergab das Jahr 1919 eine für Influenzabacillen positive Ausbeute von 33,3% bei 12 Fällen.

Im Jahre 1920 wurden nur klinisch im April 5 Kinder mit einem einzigen positiven Fall, im August zwei Geschwister, beide mit positivem Sputum, beobachtet.

Viel höher dagegen war die Ausbeute des Jahres 1921, in dem von Januar bis März 3 Fälle klinisch und 5 auf dem Sektionstisch studiert wurden. Von diesen letzteren war der eine klinisch negativ gewesen, die Sektion dagegen 18 Tage später, nachdem das Kind nach Windpocken mit einer Bronchopneumonie ad exitum gekommen war, ergab neben zahlreichen *Bordetbacillen* in den bronchopneumonischen Bezirken der Lungen vereinzelte Influenzabacillen; mischinfizierende hämolytische Streptokokken wuchsen aus Bronchialdrüsen und Milz in Reinkultur. Auch die anderen 4 Sektionsfälle waren positiv, und zwar wurden die Influenzabacillen gefunden: in den Lungen 4 mal, in der Trachea 2 mal, in der Bronchialdrüse 3 mal, in der Milz, die 3 mal steril war, 1 mal, im Rippenmark vereinzelt ebenfalls 1 mal. Auch die 3 klinischen Fälle waren, wenn auch zum Teil nur mit 1 bis 2 Kolonien, positiv; der eine dieser Fälle, der bereits bei der Besprechung der Masern Erwähnung fand, wies im Sputum einige Pseudoinfluenzabacillen auf, während drei Monate später nach einer Masernbronchopneumonie die Sektion den echten Typ finden ließ. Die im Sputum in großen Mengen gefundenen *Bordetbacillen* waren bei der Masernsektion, wie zu erwarten, verschwunden.

Das Ergebnis dieser 3 Jahre zeigt *Tabelle XI*.

Tab. XI. Influenzabacillenbefunde bei *Keuchhusten* 1919 bis März 1921 in Berlin.

Jahr	Klinisch		Sektionen		Zusammen	
	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +
1919	9 (2)	3 (1)	3	1	12	4 = 33,3%
1920	7	3	—	—	7	3 = 42,9%
1921	3 (1)	3 (—)	5	5	8	8 = 100,0%
1919—1921	19	9 = 47,4%	8	6 = 75%	27	15 = 55,6%

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Untersuchung von Sektionsfällen vor dem Tode.

So läßt sich also eine mit den Grippeepidemiejahren immer steigende Mischinfektion der Keuchhusten Kinder mit den *Pfeifferbacillen* feststellen, eine Zunahme, die auch bei den Masern deutlich geworden war. Zusammen mit den oben aus der Literatur beigebrachten Ergebnissen der Keuchhustenforschung von 1900—1912 zeigt also auch das Studium dieser Kinderkrankheit die Abhängigkeit der Influenzabacillen-Mischinfektion von Grippeepidemien.

Gesunde.

Wenn hier die Schilderung unserer Untersuchungsergebnisse bei Gesunden der Besprechung der übrigen Infektionskrankheiten voran-

gestellt wird, so geschieht das nicht so sehr aus chronologischen Gründen, als weil an diesem Material zuerst das Studium der verschiedenen morphologischen Typen auf breitere Basis gestellt werden konnte. Die systematische Darstellung der vier Typen bleibe dem nächsten Kapitel vorbehalten; unerlässlich wird an dieser Stelle eine vorläufige ergänzende Besprechung der bereits mehrfach erwähnten morphologischen Differenzen an der Hand des Untersuchungsmaterials sein.

In der Zeit von Mitte Mai bis Ende Juli 1921 wurden 28 gesunde Angehörige des Instituts und Teilnehmer eines chemischen Kurses mittels Abstrichen aus dem hinteren Nasenrachenraum untersucht. Unter diesen waren nur 8 vollständig negativ. Die echten, fast ausnahmslos gut agglutinierenden Influenzabacillen wurden 7 mal gefunden, also zu 25%, und zwar überwiegend 3 mal, reichlich 3 mal, vereinzelt 1 mal. Dagegen konnte die Pseudoform nur 3 mal nachgewiesen werden, davon in einem Fall neben dem echten Typ. Die *Pseudoform* (*Typ II*) unterscheidet sich nur durch geringe Vergrößerung der Stäbchen und mäßige Scheinfädenbildung auf der Blutplatte vom Typ I, wie oben schon geschildert. Ausnahmslos gelingt es in meist wenigen Generationen auf optimalen Nährböden den Typ II in die echte Grundform umzuzüchten. Diese Umzüchtung oder Zurückwandlung gelang uns aber in gleicher Weise bei der nächsten Stufe der offenbar im Organismus der Keimträger im Sinne einer Degeneration erfolgten Variierung; diese schon 1916—1917 von dem einen von uns [*Levinthal*¹⁾] beobachtete und abgebildete Form läßt die Merkmale der Pseudobacillen ins *Extreme*, gleichsam ins Groteske gesteigert erscheinen; aus dem kokkoiden Grundtyp sind ungeheuer pleomorphe Bacillen, aus den bescheidenen und zarten Scheinfäden phantastische Schleifen und Knäuel geworden. Stämme dieser Art sind wesentlich hinfälliger als die echten Kulturen, ihre Fortzüchtung verlangt daher häufige Abimpfung. Die Schilderung dieser *extremen* Pseudoform, des *Typs III*, bleibe hier auf diese Andeutungen beschränkt. Unter unsern 28 Fällen zeigten nicht weniger als 7 Personen diesen Typ III, und wieder 1 Person gleichzeitig neben dem Typ II.

Die geschilderten 3 Typen haben alle miteinander die wichtigsten kulturellen Merkmale auf den Nährböden gemeinsam (s. unten). Dagegen unterscheidet den *Typ IV* von allen anderen die Fähigkeit, Blutmischplatten zu hämolysieren. Das mikroskopische Bild dieser hämolytischen Variante entspricht etwa dem der extremen Pseudoform. Auch hier muß die detaillierte Beschreibung dem systematischen nächsten Kapitel vorbehalten bleiben. Diese merkwürdigen Bacillen sind zum erstenmal im Jahre 1918 von *Pritchett* und *Stillman*²⁾ eben-

¹⁾ Siehe Fußnote S. 459.

²⁾ Siehe Fußnote 2 S. 485.

falls aus dem Rachen Gesunder während der Grippeepidemie in New York gezüchtet und als *Bacillus X* bezeichnet worden. Wir fanden diesen Typ bei unseren Untersuchungspersonen 6 mal, wieder 1 mal in Kombination mit echten Grippestäbchen.

Die Gesamtausbeute gibt *Tabelle XII* wieder.

Tabelle XII.

Influenzabacillenbefunde aus dem Rachen *Gesunder* im Sommer 1921 in Berlin.

Echte I.-B.	= Typ I	7 = 25%	} $9 = 32,1\%$ }	} $15 = 53,6\%$ }	} $20 = 71,4\%$ }
Pseudo-I.-B.	= „ II	3 = 10,7%			
Extreme Pseudo-I.-B.	= „ III	7 = 25%			
Bacillus X	= „ IV	6 = 21,4%			
Negativ.		8 = 28,6%			
Summe 28 Fälle.					

Die interessanten Beziehungen dieser vier Typen zueinander und zu Grippeanfällen werden am klarsten, verfolgt man einige der untersuchten Fälle längere Perioden hindurch.

Frl. B. K., bei der am 9. V. 1921 die *echten* Influenzabacillen in mäßiger Menge im Rachen gefunden wurden, hatte etwa 2 Monate vorher eine 14tägige Grippe ohne Husten durchgemacht. Sie wäre also nicht als Keimträgerin, sondern als Dauerausscheiderin anzusehen. Eine Nachuntersuchung im November erwies sie frei von den Mikroben. Im Februar—März 1922 erkrankte sie auf einer Reise wiederum an leichtem Fieber, Conjunctivitis und heftigem Husten mit eitrigem Auswurf. Nach ihrer Rückkehr fanden sich am 20. IV. die Grippestäbchen des Typus I wieder in großen Mengen im Rachen.

Der eine von uns (H. F.) wies im Mai 1921 neben Pneumokokken, Streptokokken und Meningokokken in reichlicher Zahl den *Bacillus X*, unsern Typ IV, auf. F. hat nie Grippe gehabt, leidet aber den ganzen Winter hindurch an Katarrhen mit Husten. Die Nachuntersuchung im November, bei der wieder die Meningokokken gefunden wurden, zeigte nichts mehr vom Typ IV, an dessen Stelle nun *echte* und *Pseudoinfluenzabacillen* in Symbiose wuchsen. Schon von der dritten Subkultur an erschienen auch die Pseudostäbchen in der echten Form. Und dieser Typ I war auch neuerdings im April 1922 wieder, diesmal aber neben dem Typ IV, zu finden. Auch jetzt, also fast 1 Jahr hindurch konstant, wuchsen *Meningokokken* in mäßiger Menge¹⁾.

¹⁾ Befunde von Meningokokken im Rachen *Gesunder* können nach neueren Untersuchungen, besonders von englischen Autoren (*Gordon*), nicht mehr als ungewöhnlich bezeichnet werden. Die Identität dieser saprophytischen Rachenbewohner mit den Erregern der epidemischen Meningitis wurde von den genannten Beobachtern und in einem Teil unserer Fälle nicht nur durch kulturelle und morphologische, sondern auch durch serologische Untersuchungen erwiesen.

Hier hatte also eine dreimalige Untersuchung in Abständen von etwa 6 Monaten drei verschiedene Typen der Pfeifferschen Stäbchen, zum Teil in Kombination miteinander, nachweisen lassen, ohne daß ausgesprochen grippöse Krankheitserscheinungen aufgetreten waren. Doch fiel der erstmalige Nachweis des echten Typs im November gerade in die Zeit der wieder aufflackernden Seuche.

Der andere von uns (W. L.) hatte bereits im November 1916 in Gent eine heftige, aber kurz dauernde Influenza mit positivem Bacillenfund durchgemacht. Wie bereits damals mitgeteilt [Levinthal¹⁾], fanden sich bei andauernder eitrig-er Bronchitis die Erreger noch im April 1917 fast in Reinkultur, während spätere Nachuntersuchungen dann negativen Befund ergaben. Der Widal war in jenem Winter bis 1 : 200 positiv. Als nun im Sommer 1917 nach einer zweitägigen Erkältung bei stärkerer Bronchitis das wieder eitrig gewordene Sputum erneuter Untersuchung unterzogen wurde, konnte mehrmals ein merkwürdig labiler Stamm gezüchtet werden, der vom Habitus des Typs I bis zum Typ III auf den Platten variierte. Schon damals wurde der Eindruck gewonnen und ausgesprochen, daß es sich hier nicht so sehr um Einflüsse des Nährbodens handle, als um „Eigentümlichkeiten der Stämme selbst, die ja im lebenden Organismus in weiten Grenzen wechselnden Lebensbedingungen unterworfen und angepaßt sein werden“.

Auch von L. wurde nun im Mai 1921 bei völligem Wohlbefinden, und ohne daß seit 1916—1917 wieder Grippeerscheinungen aufgetreten waren, ein Rachenabstrich untersucht. Neben Pneumokokken, Streptokokken und einer Unmenge Meningokokken wuchsen reichliche Mengen von Influenzabacillen der *extremen* Pseudoform, des Typs III. Am 3. XII. erkrankte L. nachts mit heftigen Rachenschmerzen, Tracheitis und Bronchitis an einem ganz kurzen Fieberanfall, bei dem das eitrigschleimige Sputum neben einer Unmasse von Pneumokokken, die das direkte Ausstrichpräparat dicht bedeckten, den *hämolytischen* Typ IV aufwies. Bei einem leichten Rückfall im Januar 1922 war der wiederum eitrig gewordene Auswurf zwar frei von Influenzabacillen und enthielt nur zahllose Pneumokokken in Reinkultur, im Rachen aber fanden sich neben diesen immer noch die *X-Bacillen* in großer Menge. Dagegen wuchsen im April dieses Jahres, also 3½ Monate nach der letzten Untersuchung, neben Meningokokken geringe Mengen *echter Pfeifferstäbchen* aus dem Rachenabstrich, während der Typ IV nicht mehr nachweisbar war.

Der Wechsel der Flora in diesem Fall läßt sich etwa auf folgende Formel bringen: Nach einer akuten Influenza mit positivem Bacillen-

¹⁾ S. Fußnote S. 459.

befund (Typ I) und kräftiger Widalreaktion siedeln sich die Mikroben auf den chronisch entzündeten, durch starkes Rauchen gereizten Schleimhäuten der Atemwege an; unter dem Einfluß des Milieus variieren sie durch die ganze Skala der verschiedenen Typen, ohne daß der immun gewordene Organismus auch bei gelegentlichem Rückschlag in die wohl ausschließlich virulente Grundform erkrankt. So dürften auch die Anfälle im Dezember und Januar wohl in erster Linie auf die Pneumokokken als Erreger zu beziehen sein.

Ganz ähnliche Verhältnisse zeigte Fr. L. K. Auch hier berichtet die Anamnese von einem schweren Influenzaanfall, kompliziert durch Pneumonie, während der Frühjahrsepidemie von 1920. Auch hier schloß sich an die akute Erkrankung eine chronische Bronchitis mit häufigen fieberhaften Exacerbationen. Auch hier ergab die Untersuchung des Rachens im Mai 1921 zu relativ beschwerdefreier Zeit *extreme* Pseudoformen von Pfeifferbacillen in reichlicher Menge, während im Januar 1922 bei heftiger Bronchitis die *hämolytischen* X-Bacillen in großer Menge, im April bei Wohlbefinden in wenigen Kolonien gefunden wurden.

Noch konstanteren Befund dieser X-Bacillen bei wechselnder Kombination mit anderen Typen weist Dr. K. W. auf, bei dem im Juli 1921 aus dem Rachen der Typ IV neben Pneumokokken in großer Menge gezüchtet wurde. W. hat mehrfach Grippeanfälle, so den ersten im Sommer 1918, einen zweiten im Winter 1918—1919 durchgemacht. Auch er leidet seitdem an häufigen fieberhaften Bronchitiden, deren letzte mit Temperaturen bis 40°, aber kurzdauernd, der Untersuchung 2—3 Wochen vorausgegangen war. Die Nachuntersuchung im November ergab neben zahlreichen X-Bacillen große Mengen eines Typs, der etwa zwischen dem Typ I und II in der Mitte steht. Die Stäbchen sind gröber und pleomorpher als bei der echten Form, aber Scheinfäden fehlen. Im Januar 1922 dagegen wurden neben dem hämolytischen Typ IV *echte* kokkoide Influenzabacillen nachgewiesen, ein Befund, der wohl mit der damals heftig wütenden Grippe und mit Erkrankungen in der allernächsten Umgebung des selbst gesund bleibenden Dr. W. zu erklären ist. Im April waren diese echten Formen wieder völlig verschwunden und hatten den X-Bacillen die Alleinherrschaft überlassen.

Und schließlich gehören hierher 2 Fälle aus unserer Umgebung, bei denen die Untersuchung im Juni und Juli 1921 zu Zeiten völligen Wohlbefindens negativ ausfiel, obwohl der eine (Dr. G. Bl.) 14 Tage vorher während der Behandlung eines Grippekranken selbst ohne katarrhalische Symptome mit Kopfschmerz und Mattigkeit unapfänglich gewesen war. Ende Dezember, zur Zeit der neuen Influenzaepidemie, erkrankte nun der andere Fall (Fr. G. L.) mit leichten aber typischen

Grippebeschwerden, und in der Tat wuchsen auf Hustenplatten übereinstimmend bei wiederholter Untersuchung *echte* Influenzabacillen. Im April dagegen wuchsen aus dem Rachenabstrich große Mengen von *X-Bacillen* neben einer *einzig* Kolonie des echten Typs I. Auch Dr. Bl. wurde, und zwar Anfang April, trotz wiederholter leichter Grippeanfälle in den Jahren 1918 und 1919, erneut ein Opfer der Seuche mit Fieber, Reizerscheinungen im Halse, Mattigkeit, und zeigte im Rachen nebeneinander den Typ I und den extremen Pseudotyp III, welch letzterer auf der Hustenplatte allein wuchs. Dieser extreme Pseudobacillus (13/22 E), den die Photogramme Nr. 4—6 in den verschiedenen Stadien seiner Umzüchtung zeigen, konnte in wenigen Generationen auf Kochblutschrägröhrchen zu der echten Form umgewandelt werden, wie wir später sehen werden.

Die Schilderung dieser Einzelbeispiele aus unserem Untersuchungsmaterial bei Gesunden mußte etwas breiter sein, da nur so ein Bild von dem Wechsel der verschiedenen Typen und ihrer Beziehung zum Organismus des Trägers zu geben war. Dem Beobachter dieses anfangs überraschenden und doch immer wieder charakteristisch feststellbaren Szenenwechsels drängt sich der Vergleich mit den Diphtheriebacillen, ihrer Umwandlung in Diphtheroide bei gelegentlichem Rückschlag in die pathogene Urform auf.

Scharlach.

Während im Jahre 1919 nur zwei Scharlachkranke, ein 18jähriges Mädchen im Januar, ein 15jähriger Bursche im Juli, untersucht wurden, beide mit negativem Influenzabacillenbefund im Rachen, resp. Rachen, Bindehäuten und Hustenplatte, steht uns aus dem Jahre 1921 größeres Material, nämlich 18 Fälle aus der Zeit von Mitte Mai bis Mitte Dezember, zur Verfügung. Bei sämtlichen dieser Kranken wurden Hustenplatten und — bis auf einen — Rachenausstriche angelegt, Sputum kam nur bei fünf Patienten zur Verarbeitung, die übrigen 13 warfen nicht aus. Der Entnahmetag war in der Mehrzahl der Fälle der dritte Krankheitstag, bei einzelnen Kranken wurde erst später bis zum sechsten Krankheitstag untersucht.

Wie bereits bei den Gesunden und überhaupt bei all unseren Untersuchungen von 1921 ab richteten wir unser Hauptaugenmerk auf die Unterscheidung und das eingehende Studium der obenerwähnten verschiedenen Typen.

Bei den 18 Scharlachfällen fanden wir den echten Typ I des Influenzabacillus zweimal, in zwei weiteren Fällen etwas zu dem Typ II hinneigende, aber doch dem Typ I näherstehende Formen. Einer von diesen vier Kranken bot am Entnahmetag, dem fünften Krankheitstage, das Bild einer voll entwickelten Bronchitis dar; auf der Hustenplatte, im Rachenausstrich und im Sputum wurden überwiegend echte

Influenzabacillen des Typs I gefunden, neben denen, vielleicht mit Ausnahme der Streptokokken, alle anderen Keime bei weitem zurücktraten. — Das direkte Sputumpräparat war mit Influenzabacillen übersät, die zu einem beträchtlichen Teil von den zahlreichen Leukocyten phagocytiert waren. Der II. Typ, der Pseudoinfluenzabacillus, wurde fünfmal, der III. und IV. je einmal gefunden, letzterer bei einem 16jährigen Mädchen (Sc. 10), das 12 Monate vorher an schwerer und langdauernder Grippe erkrankt gewesen war.

Zum Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersucher ist die Zusammenfassung der Typen I und II notwendig, die eine Ausbeute von $9 = 50\%$ ergibt. Nimmt man noch die Typen III und IV hinzu, so steigt die Zahl der positiven Fälle auf $11 = 61,1\%$.

Das Gesamtergebnis der Untersuchungsreihe zeigt *Tab. XIII.*

Tabelle XIII.

Influenzabacillenbefunde bei *Scharlach* im Jahre 1921 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	4 = 22,2%	$\left. \begin{array}{l} 9 = 50\% \\ 10 = 55,6\% \end{array} \right\} 11 = 61,1\%$
Pseudo-I.-B. = Typ II	5 = 27,8%	
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	1 = 5,5%	
Bacillus X = Typ IV	1 = 5,5%	
Negativ	7 = 38,9%	
Summe 18 Fälle.		

Diese Befunde geordnet nach den Entnahmeorten gibt die nächste *Tab. wieder:*

Tabelle XIV.

Die Influenzabacillenbefunde der *Scharlachfälle* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Rachen	17	4	3	1	1	8
Hustenplatte . . .	18	3	4	0	1	10
Sputum	5	2	0	1	0	2

Werden die beiden negativen Fälle aus dem Jahre 1919 mitberücksichtigt, so ergibt sich bei insgesamt 20 Scharlachfällen eine positive Influenzabacillenausbeute von $11 = 55\%$.

Mit dem Serum von 17 der untersuchten Fälle wurden Agglutinationen mit einem polyvalenten Stamm (77) angesetzt, von diesen waren 13 positiv, also $76,5\%$.

Die Stärke des Widal's verteilt sich folgendermaßen:

bis 1:	25 + 1 mal,
„ 1:	50 + 5 mal,
„ 1:	100 + 6 mal,
und schließlich „ 1:	400 + 1 mal,

und zwar bei dem obenerwähnten 16jährigen Mädchen, bei dem 12 Monate nach ihrer schweren Grippe ausschließlich der Typ IV im Rachen gefunden wurde.

Vergleichen wir die Bacillenbefunde mit den Resultaten des Influenzawidals, so ergibt sich:

Unter 10 positiven Bacillenbefunden war der Widal 8 mal positiv, 2 mal negativ (in einem positiven Fall war kein Serum entnommen).

Unter 7 negativen Bacillenbefunden war der Widal 5 mal positiv, 2 mal negativ. In 3 Fällen von positivem Widal bei fehlendem Influenzabacillenbefund wird anamnestic überstandene Grippe, die in einem Fall etwa ein Jahr, in den beiden anderen kürzere Zeit zurückliegt, angegeben; von den beiden anderen Kranken wird eine frühere Grippe negiert.

So zeigt also dies ausschließlich dem vierten Epidemiejahre entstammende Scharlachmaterial, übereinstimmend mit den Ergebnissen bei Masern und Keuchhusten, die weitgehende Durchseuchung mit Influenzabacillen, deren Grad durch den Widal noch von etwa 60% auf 75 % gesteigert enthüllt wird.

Diphtherie.

Unser Material an Diphtherie und diphtherieverdächtigen Anginen stammt insgesamt aus dem Jahre 1921. Mit Ausnahme einer Obduktion im März erstrecken sich unsere Untersuchungen über die Zeit vom Juni bis Oktober und wurden nur an klinischem Material vorgenommen.

Diese Sektion eines an Bronchopneumonie nach Diphtherie verstorbenen Kindes von 10 Monaten zeigte Infiltrationsherde in beiden Unterlappen und im rechten Oberlappen der Lunge, überall subpleuritische Petechien. Sämtliche untersuchten Lungenpartien erwiesen sich frei von Influenzabacillen, dagegen wuchsen Pneumokokken neben banalen Keimen.

Die Untersuchung der 20 klinischen Fälle umfaßt bei allen Kranken Hustenplatten und Rachenausstriche, bei 10 Patienten wurde auch Sputum verarbeitet, und zwar in allen Fällen innerhalb der ersten acht Tage der Krankheit, überwiegend am dritten bis vierten Krankheitstage. Auch hier galt stets der Differenzierung der verschiedenen Typen von Influenzabacillen unsere besondere Aufmerksamkeit.

Den echten Influenzabacillus fanden wir dreimal, ebenso oft die schon bei den Scharlachuntersuchungen geschilderte Übergangsform zum Typ II. Die gleiche Zahl positiver Befunde wiesen je die Typen III und IV auf, während sich der Typ II viermal fand. Sieben Fälle ergaben ein völlig negatives Resultat. Während sonst bei den Fällen mit positivem Diphtheriebacillenbefund der Tonsillen der Erreger sich bei der exakten Entnahme aus dem hinteren Nasenrachenraum niemals nachweisen ließ, wuchsen in einem Fall vom Rachenabstrich neben den fast in jedem Fall züchtbaren Streptokokken überwiegend

Diphtheriebacillen, die sich im Tierversuch als hochtoxisch erwiesen; bei dem Kranken dehnte sich der typische Belag von den Tonsillen und Gaumenbögen bis auf die hintere Rachenwand aus; die Hustenplatte zeigte keine Diphtheriebacillen (vgl. die Untersuchungen von *Strauß* bei Diphtherie, diese Zeitschr. 96, 27), wohl aber den Typ III der hämoglobinophilen Stäbchen, die ihrerseits nicht aus dem Rachenabstrich wuchsen.

In drei Fällen fanden sich schon im direkten Ausstrichpräparat des Auswurfes, der bei allen Kranken mehr oder weniger nur aus dem Sekret des entzündeten Rachens bestand, zweimal vereinzelt, einmal reichlich *Pfeiffersche* Stäbchen. Nur in diesem letzten Fall ließen sich diese aus dem Auswurf züchten, in den ersten beiden Fällen gelang der kulturelle Nachweis nur an den anderen Entnahmeorten.

Fassen wir wieder zum Vergleich mit der Statistik anderer Untersucher Typ I und II zusammen, so erhalten wir, da in einem Fall echte und Pseudoinfluenzabacillen nebeneinander gefunden wurden, 9 Fälle = 45 %; bei Zusammenfassung aller vier Typen ergeben sich wieder infolge des Nebeneinander dreier verschiedener Typen bei einem Kranken 13 Fälle = 65 %. Bei diesem ebenerwähnten bemerkenswerten Fall (Di. 10) konnten Typ I bis III, und zwar Typ I auf der Hustenplatte, Typ II und III aus dem Rachenausstrich isoliert werden.

So stellt sich also das Gesamtergebnis dar, wie *Tab. XV* zeigt:

Tabelle XV.

Influenzabacillenbefunde bei *Diphtherie* und diphtherieverdächtigen Anginen im Jahre 1921 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	6 = 30%	} 9 = 45%	} 11 = 55%	} 13 = 65%
Pseudo-I.-B. = Typ II	4 = 20%			
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	3 = 15%			
Bacillus X = Typ IV	3 = 15%			
Negativ	7 = 35%			
Summe 20 Fälle.				

Wieder nach dem Entnahmeort ordnet diese Befunde *Tab. XVI*:

Tabelle XVI.

Die Influenzabacillenbefunde der *Diphtheriefälle* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Rachen	20	5	3	1	2	9
Hustenplatte . .	20	5	2	2	2	10
Sputum	10	1	0	0	1	8

Bei Hinzunahme des negativen Sektionsfalles aus dem März kommen also auf insgesamt 21 Diphtheriefälle 13 positive = 61,9 %.

Bei der epikritischen Analyse der Fälle ergab sich, daß 11 von den 20 sichere Diphtherien mit positivem Bacillenbefund, 9 z. T. klinische Diphtherien mit negativem bakteriologischem Resultat, zum anderen Teil Anginen waren.

Auf die 11 sicheren Diphtherien entfallen 7 I.-B.-positive = 63,6% gegen 4 negative, auf die 9 anderen 5 I.-B.-positive = 55,6% gegen 4 negative Fälle.

Wie zu erwarten, zeigt dies Ergebnis die Abhängigkeit der Influenzabacillenansiedelung von dem anatomischen Prozeß der Schleimhaut-erkrankung und nicht von dem spezifischen Diphtherieinfekt als solchem.

Auch bei dieser Gruppe von Kranken wurde in 17 Fällen der Widal innerhalb der ersten acht Tage mit dem Stamm 77 angesetzt; es waren positiv 12 = 70,6%, negativ blieben 5.

Unter den 12 positiven betrug die Stärke der Reaktion:

1: 25 + 50	± 3 mal,
1: 50 +	3 mal,
1: 100 +	3 mal,
1: 200 +	2 mal,
und 1: 400 +	1 mal,

Ein Vergleich der Bacillenbefunde mit dem Ausfall des Influenzawidals ergibt:

Unter 10 I.-B.-positiven Fällen war der Widal positiv 7 mal, negativ 3 mal (bei den 3 ersten Fällen mit positivem Bacillenbefund wurde kein Widal angesetzt).

Unter 7 I.-B.-negativen Fällen war der Widal positiv 5 mal, negativ 2 mal. In 4 der 5 I.-B.-negativen, Widal-positiven Fälle wurde in der Vorgeschichte Grippe angegeben.

Es enthüllt also auch hier die Untersuchung mit ihrem bakteriologischen Prozentsatz von 65%, ihrem serologischen von 71% die ungeheure Durchseuchung mit Grippebacillen im vierten Epidemiejahre.

Tuberkulose.

Eine Zunahme der Befunde mit dem Altern der Epidemie wird an unserem Tuberkulosematerial am deutlichsten, da wir hier vom gleichen Monat über je eine Reihe aus dem Jahre 1919 und 1922 verfügen. Dabei darf nicht übersehen werden, daß auch im Mai 1919 die Seuche bereits ein Jahr lang, und zwar in ungebrochener Kraft und intensivster Ausdehnung, grassierte. Damals kamen 13 Fälle einer Tuberkulosestation, im Mai 1922 12 Fälle der gleichen Station zur Untersuchung.

Bei den 13 Kranken des Jahres 1919 wurde nur Sputum in der üblichen Weise verarbeitet, bei den 12 dieses Jahres wurde noch die Untersuchung der Hustenplatte hinzugenommen.

Stellen wir zunächst das Material der ersten Untersuchungsreihe zusammen, so ergibt sich eine positive Ausbeute an Influenzabacillen von 4 Fällen = 30,8%; negativ waren 9 Fälle. Bei 5 Kranken

wurde die Untersuchung nach fünf Tagen wiederholt und zeitigte in einem positiven und vier negativen Fällen das gleiche Ergebnis wie bei der ersten Untersuchung.

Die verarbeiteten Sputa waren in 11, darunter den 4 positiven Fällen eitrig, in einem Fall bestand der Auswurf nur aus Schleim.

Von 3 der 4 I.-B.-positiven Kranken wird anamnestisch Grippe angegeben, unter den 9 I.-B.-negativen hatten 6 früher eine Influenza durchgemacht.

Das Ergebnis der zweiten Untersuchungsreihe aus dem Jahre 1922 von insgesamt zwölf Patienten zeigt *Tab. XVII*. Dabei wurden in einem Fall (Tb. 11/22) zwei verschiedene Typen nachgewiesen, Typ I im Auswurf, Typ IV auf der Hustenplatte.

Tabelle XVII.

Influenzabacillenbefunde bei *Tuberkulose* im Mai 1922 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	3 = 25%	} 5 = 41,7%	} 8 = 66,7%
Pseudo-I.-B. = Typ II	2 = 16,7%		
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	0		
Bacillus X = Typ IV	4 = 33,3%		
Negativ	4 = 33,3%		

Summe 12 Fälle.

Diese Befunde nach dem Entnahmeort getrennt zeigt *Tab. XVIII*.

Tabelle XVIII.

Die Influenzabacillenbefunde bei *Tuberkulose* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Sputum	12	3	2	0	1	6
Hustenplatte . . .	12	1	2	0	3	6

Alle untersuchten Sputa enthielten Eiter, Beimengungen frischen oder alten Blutes 4.

Unter den 12 Fällen befanden sich 5 mit röntgenologisch bestätigten Kavernen, auf sie entfallen 2 der 8 positiven bakteriologischen Befunde. In beiden Fällen zeigte bereits der Ausstrich vom gewaschenen Sputum überaus reichlich Influenzabacillen in Haufen und Zügen, zum Teil auch intracellulär, so daß das Resultat der Aussaat, eine Reinkultur von Influenzabacillen, vorauszusehen war, während von den übrigen 6 durch Züchtung der Bacillen positiv erwiesenen Fällen nur noch eine seit 20 Jahren bestehende Lungentuberkulose, bei der keine Kavernen vorhanden waren, spärlich Influenzabacillen schon im Ausstrichpräparat erkennen ließ.

Von den 8 Pat. mit positivem Influenzabacillenbefund wurde viermal Grippe anamnestisch angegeben, viermal negiert, unter den 4 Negativen hatten 3 nach ihrer Angabe früher Grippe gehabt.

Die beiden Gruppen von Tuberkulösen zusammen ergeben also unter 25 Fällen 12 positive = 48%.

An der Hand der beiden durch einen Zeitraum von drei Jahren getrennten Untersuchungsreihen haben wir besonders exakt die Ver-

gleichsmöglichkeit zwischen verschiedenen Perioden der Influenza-epidemie. Schalten doch die vom gleichen Untersucher mit den gleichen Methoden erhobenen Befunde alle die Fehlerquellen aus, die der Gegenüberstellung von Resultaten verschiedener Untersucher anhaften.

Und so zeigt auch ein Vergleich dieser beiden Reihen, wie wir es bereits bei den akuten Infektionskrankheiten und bei Gesunden gegenüber Statistiken anderer Untersucher dartun konnten, eine merkliche Vermehrung der positiven Influenzabacillenbefunde von 30,8% im zweiten Epidemiejahre auf 41,7% nach der letzten Welle dieses Jahres unter Weglassung des Typ IV; nehmen wir noch die Befunde an Typ IV hinzu, so steigert sich diese Zahl auf 66,7%, d. h. die Durchseuchung ist in den letzten drei Jahren um das Doppelte gestiegen. Den Einwand, daß die Hinzunahme der Hustenplatte zu der Steigerung der Befunde von 30,8 auf 41,7 % Veranlassung gibt, entkräftet ein Blick auf Tab. XVIII, die zeigt, daß bei diesen chronischen eitrigen Entzündungsprozessen der tieferen Atemwege für die Typen I und II der Influenzabacillen beide Methoden zu gleichem Resultat führen. Dagegen bestätigt die erhebliche Steigerung der Befunde an Typ IV durch die Hustenplatte den Eindruck der Untersuchungen von Scharlach und Diphtherie, daß es sich bei dieser hämolytischen Variante um die für den Rachen charakteristische Standortsvarietät des Influenzabacillus handelt.

Zusammenfassung:

Es wurden also in den Jahren 1919 bis 1922 Influenzabacillen von vier verschiedenen Typen insgesamt gefunden:

bei Masern	von 30 Fällen in	16 = 53,3%,
„ Keuchhusten	„ 27 „ „	15 = 55,6%,
„ Scharlach	„ 20 „ „	11 = 55,0%,
„ Diphtherie	„ 21 „ „	13 = 61,9%,
„ Tuberkulose	„ 25 „ „	12 = 48,0%,
„ Gesunden	„ 28 „ „	20 = 71,4%.

Bei ausschließlicher Berücksichtigung der Influenzotypen I und II sind die Prozentzahlen:

bei Masern	53,3,
„ Keuchhusten	55,6,
„ Scharlach	45,0,
„ Diphtherie	42,9,
„ Tuberkulose	36,0,
„ Gesunden	32,1.

Der relativ geringe Wert bei Tuberkulose in der ersten Zusammenstellung liegt zum Teil darin begründet, daß bei der ersten Hälfte der Fälle im Jahre 1919 keine Hustenplatten zum Studium mit heran-

gezogen wurden, ein Teil der *Rachenflora* also ausfiel. Tab. XVIII hat ja gelehrt, welche große Bedeutung wenigstens für den hämolytischen Typ IV gerade diesem Entnahmeort zukommt.

Weiter zeigt der Vergleich der beiden Zusammenstellungen die wichtige Rolle, die Typ III und IV besonders in den beiden Gruppen spielen, die ausschließlich im Jahre 1921 Gegenstand der Untersuchung waren, bei Diphtherie und den Gesunden; bei Diphtherie erhöht die Einrechnung dieser stark von der Grundform abweichenden Varianten die positive Ausbeute von 43 auf 62%, bei den Gesunden gar von 32 auf 71%.

Auch die Beobachtungen bei Masern und Keuchhusten hatten von Jahr zu Jahr steigende Werte, mit dem Fortschreiten der Epidemie von Welle zu Welle zunehmende Durchseuchung mit Influenzabacillen enthüllt.

Die große Zahl gesunder Keimträger einerseits, das regelmäßige Vorkommen des Bacillus am Ort des Krankheitsprozesses bei Fällen epidemischer Influenza anderseits beweist die schwankende Virulenz des Pfeifferbacillus. Dafür, daß seine Ausbreitung bei Nichtinfluenzkranken, also die Häufung von Bacillenträgern, der Seuchenkurve parallel geht, scheinen uns in Übereinstimmung mit den zitierten Ansichten und Untersuchungen von Pritchett und Stillmann¹⁾, von Pfeiffer²⁾ und seinen Mitarbeitern unsere eigenen Beobachtungen z. B. bei Masern, Keuchhusten, Tuberkulose, und der Vergleich unserer Ergebnisse, z. B. bei Gesunden des Jahres 1921, mit Untersuchungen anderer Autoren aus dem Anfange der Epidemie [Uhlenhuth³⁾, Neufeld und Papamarku⁴⁾] zu sprechen. Doch dürfte die weitere notwendige Klärung dieser Beziehungen erst von Jahre lang fortgesetzten Forschungen nach endgültigem Abklingen der Pandemie zu erwarten sein. Interessant, vielleicht von entscheidender Bedeutung, wäre schon heute ein Studium dieser Verhältnisse in bereits jetzt wieder seuchefreien Ländern mit tropischem oder kontinentalem Klima (s. Ende Kapitel V!). So wird die Forschung gerade auf Zeiten des Epidemieintervalls hingedrängt.

Es ist hier der Ort, zuerst einmal die Darstellung der vier Typen von Influenzabacillen zusammenzufassen und zu ergänzen.

IV. Die vier morphologischen Typen des Pfeifferschen Influenzabacillus.

Nicht mehr neu sind heute Versuche, die Gruppe der Pfeifferschen Bacillen, deren heterogenen Charakter alle Untersucher erkannt haben,

¹⁾ S. Fußnote 2 S. 485.

²⁾ S. Fußnote 4 S. 484.

³⁾ S. Fußnote 1 S. 484.

⁴⁾ S. Fußnote 3 a S. 456.

in umrissene und scharf bestimmbare Typen einzuteilen. Zwei Methoden sind für diese Einteilung versucht worden, die *serologische* und die *biologische*. Von deutscher Seite hat vor allem *Bieling*¹⁾, serotherapeutisch orientiert, zwei Hauptgruppen festgestellt, polyvalente und monovalente Stämme, ohne mit seinen interessanten Untersuchungen der Fülle der Gestalten Herr geworden zu sein. Auch den Amerikanern ist der Versuch, zu *serologisch* definierbaren Gruppen zu kommen, nicht geglückt. (Dasselbe berichtet *Scott* [l. c.], vgl. Fußnote 3, S. 486). Daraus hat u. a. *Chesney*²⁾ Folgerungen gegen die ätiologische Bedeutung des Keims für die Pandemie abgeleitet, offenbar ein Trugschluß, wie der Fall von *Anderson* und *Schultz*³⁾ und Beobachtungen von *Bell*⁴⁾ beweisen. Erstere isolierten bei einem Kinde mit Influenzameningitis in vivo nicht weniger als fünf Stämme, je einen aus dem Lumbalpunktat, aus dem Blut, aus Nase, Rhinopharynx und Rachen, die sämtlich serologisch verschieden waren; trotzdem nehmen sie mit Recht gemeinsame Herkunft an und stellen sich vor, daß der Mikrobe, der wahrscheinlich vom Rachen aus zu den Hirnhäuten gewandert und von hier ins Blut gelangt ist, infolge seiner Labilität in verschiedenen Organen umgewandelt wird. Die Einwirkung des Milieus auf infizierende Keime, biologisch und biochemisch, ist ja ein aktuelles Problem der Forschung; man denke an die Streptokokken und die Viridansfrage (*Morgenroth*, *Schnitzer* und Mitarbeiter, *Kuczynski* u. a.). Die Feststellung einer Abhängigkeit auch der serologischen Reaktion vom Standort dürfte auch für andere Bakterienarten bedeutsam sein. Auch *Bell* fand mehrfach im Rachen der gleichen Personen zwei, ja drei im kreuzweisen Agglutinations- und Absättigungsversuch verschiedene Varietäten, ohne daß freilich bei diesem Fundort eine komplexe Infektion mit der gleichen Sicherheit auszuschließen ist wie bei dem Meningitisfall von *Anderson* und *Schultz*.

So haben denn andere Untersucher nach *biologischen* Methoden zu einer Klassifikation zu kommen versucht. *Rivers*⁵⁾ hat vor allem

¹⁾ *R. Bieling* (Höchst a. M.), Immunisierungsversuche mit Influenzabacillen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. Therap., Orig., **29**, 475. 1920. —

²⁾ *Alan M. Chesney* (Washington), An immunologic study of bacillus influenzae. Journ. of inf. diseases, **29**, 132. 1921.

³⁾ *Ruth A. Anderson* and *Oscar T. Schultz* (Chicago), Immunologic study of strains of bacillus Pfeifferi isolated from a case of meningitis. Journ. of exp. med. **33**, 653. 1921.

⁴⁾ *Howard H. Bell* (St. Louis), Relation of different strains of influenza bacilli as shown by cross agglutination and adsorptions tests. Journ. of inf. diseases, **27**, 464. 1920.

⁵⁾ *P. M. Rivers* (Baltimore), The biological classification of influenza bacilli. Bull. of John Hopkins hosp. **31**, 50. 1920. Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol, **3**, 301, 1920.

die Indolreaktion als Maßstab benutzt; *Pritchett* und *Stillman*¹⁾ studierten neben der Indolbildung die Erzeugung von Nitrit, die Produktion von Gas aus Dextrose und die Zuckervergärung, und schließlich hat *Stillman*²⁾ eine biochemische Einteilung auf Grund der drei Merkmale der Indolbildung, Gasproduktion und Saccharosevergärung in sechs Typen A bis F vorgenommen, von denen er den Typ A, der indolpositiv, gas- und saccharosenegativ ist, am häufigsten, den Typ D mit negativer Reaktion in allen drei Beziehungen an zweiter Stelle fand. Auch er stellte oft auf ein und derselben Platte mehr als einen seiner Typen fest und deutet solche Befunde als Folge der Lebensbedingungen im Organismus der Infizierten.

So zeigt das serologische und biologische Verhalten der Influenzabacillen mehr die außerordentliche Labilität als eine Heterogenität des Bakteriums. Und von der Vorstellung ausgehend, daß eine solche Bildsamkeit Rückschlüsse auf eine entsprechende Labilität der Virulenz erlaubt und damit Unterlagen für epidemiologische Folgerungen liefert, haben wir unsere morphologischen Studien ausgebaut. Diese Beobachtungen, die an *Pfeiffers*³⁾ Schilderung der Pseudoinfluenzabacillen in jener inhaltsreichen grundlegenden Arbeit von 1893 anknüpfen, werden neuerdings, so weit wir sehen nur von *Bell* (l. c.), gestreift. So wie wir unsere Feststellungen im vorhergehenden Kapitel an der Hand des Untersuchungsmateriales entwickelt haben, sind wir zu vier Hauptformen gelangt, zwischen denen mannigfaltige Übergänge bestehen. 'Zusammengefaßt' stellen sich unsere Typen I bis IV folgendermaßen dar:

Typ I wird von uns als die Grundform der *Pfeifferschen* Bacillen betrachtet; er erscheint sowohl auf optimalen Nährböden wie in den Tautropfenkolonien der Blutplatte als winziges Kurzstäbchen von großer Gleichmäßigkeit, vergleichbar dem Bilde einer *Melitensiskultur*. Dieser „coccobacille de *Pfeiffer*“ der Franzosen wäre also als der *echte* Influenzabacillus aufzufassen.

Demgegenüber zeigt der *Typ II* bereits die Merkmale der Pleomorphie; zwar überwiegen auf den Kochblutplatten noch die Kurzstäbchenformen, aber schon diese besitzen eine Längsausdehnung, die die Breite merklich übertrifft. Der Stäbchencharakter ist also deutlich ausgeprägt, ja einzelne Exemplare erreichen beträchtliche Länge und wachsen zu schlanken, fädigen Gebilden aus. Noch intensiver wird diese Gesamtvergrößerung auf der gewöhnlichen Blutplatte, noch zahlreichere Scheinfäden steigern hier den Eindruck der Pleomorphie. Von jeher haben diese Scheinfäden als das Characteristicum der *Pseudoinfluenzabacillen* gegolten.

¹⁾ S. Fußnote 2 S. 485. ²⁾ S. Fußnote 2 S. 486.

³⁾ *Richard Pfeiffer* (Berlin), Die Ätiologie der Influenza. Diese Zeitschr. **13**, 357. 1893.

Und diese Vielgestaltigkeit nimmt geradezu groteske Formen bei dem *Typ III* an und rechtfertigt die Bezeichnung als *extreme* Pseudiform, die sich schon vor der Pandemie dem einen von uns (*Levinthal*, diese Zeitschr.) aufgedrängt hat. Von winzigen kokkoiden Gebilden bis zu phantastischen dicken Schlingen und Schleifen finden sich sämtliche irgend denkbaren Übergänge. Die Fäden können zu Knäueln verfilzt sein. Daneben erscheinen rundliche Gebilde von Granulumgröße und geblähte Kugeln. Zwischen stark gefärbten Formen liegen bei allen Färbungsmethoden ganz blasse Exemplare, so daß also der extremen Pleomorphie eine gleiche Polychromasie parallel geht. Dabei ist bemerkenswert, daß der verschiedene Grad der Färbbarkeit nicht für bestimmte Formen charakteristisch ist; d. h. nicht die kurzen Stäbchen sind stark, die Fäden schwach tingiert oder umgekehrt, vielmehr erscheinen intensiv gefärbte und blasse Gebilde jeder Gestaltung bunt durcheinander gewürfelt. Auch hier geht die Vielgestaltigkeit auf der Blutplatte oft noch erheblich weiter als auf optimalem Nährboden. Schon das mikroskopische Bild solcher Stämme drängt dem Beobachter den Eindruck auf, daß es sich hier um Degenerationsprozesse handelt; und diesem Eindruck entspricht die ganz regelmäßige Feststellung einer erheblichen Hinfälligkeit solcher Kulturen, die bei der Weiterzüchtung entweder sehr bald abreißen oder sich nach dem Typ I hin umwandeln. Mikrophotogramm 1 gibt einen Ausschnitt aus einer frischen Kultur eines extremen Pseudostammes¹⁾.

Abb. 1. *Extremer Pseudoinfluenzabacillus* = *Typ III* (Stamm 42). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1:1000.

Während Aussehen und Verhalten der Typen I bis III auf den festen Nährmedien keinerlei *makroskopischen* Unterschied erkennen lassen, wird der Geübte schon auf der Kochblutplatte die Kolonien des *Typs IV*, wenigstens in der Ausgangskultur, zu diagnostizieren vermögen. Die großen Kolonien sind deutlich opaker, dichter strukturiert, Merkmale,

¹⁾ Es braucht kaum bemerkt zu werden, daß wir die sehr schönen Photographie der Kunst des Herrn Prof. *Zettnow* verdanken, dem wir uns herzlichst verpflichtet fühlen.

die bei der Weiterzüchtung sehr bald der ganz klaren, strukturlosen Wuchsform echter Influenzabacillen Platz machen. Entscheidend wird aber das Verhalten auf Blutmischplatten; hier zeigen alle frisch gezüchteten Kulturen intensive *Hämolyse*, die wie bei stark hämolytischen

Abb. 2. *Hämolytischer Bacillus X = Typ IV* (Stamm K. W.). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1:1000.

Streptokokken den Blutfarbstoff komplett auflöst und zu vollständiger Aufhellung des Nährbodens führt. Für die Beobachtung dieser *Hämolyse* erweist sich Kaninchenblut dem Pferdeblut erheblich überlegen. Bei Weiterzüchtung über Monate hin verhalten sich die Stämme recht verschieden; während die einen keinerlei Verminderung in der Produktion ihres Hämolsins erkennen lassen — wenigstens bisher —, besitzen wir Stämme, die nach etwa drei Monaten Fortzüchtung bei zweitägiger Weiterimpfung ihre hämolytische Fähigkeit

mehr und mehr einbüßten und schließlich fast völlig verloren haben, während dieselben Stämme im Rachen des Spenders die

Abb. 3. *Hämolytischer Bacillus X = Typ IV* (Stamm L. K.). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1:1000.

hämolytische Eigenschaft über viel größere Zeiträume hinaus unvermindert festhalten. So besitzen wir z. Zt. nebeneinander von Dr. K. W. den Stamm W₁ aus dem Januar 1922, der heute kaum

mehr Blut löst, und den Stamm W_2 von Ende April mit intensivster Hämolyse. Das mikroskopische Bild dieses von *Pritschett* und *Stillman*¹⁾ im Jahre 1918 zuerst aus Rachensekret isolierten „*Bacillus X*“ entspricht etwa dem der extremen Pseudoform mit recht verschieden starker Fäden- und Kugelbildung der einzelnen Stämme, wie Abbildungen 2 und 3 zeigen. Der Grundstock wird von derben, geraden oder leicht gekrümmten Bacillen gebildet, die nicht selten an einem oder beiden Enden conidienähnliche Knöpfchen tragen; neben dieser Hauptform finden sich einerseits wieder Granula, Stäbchensplitter und geblähte Kugelgebilde, andererseits lange, schlanke, stark oder blaß gefärbte Scheinfäden oder dicke Schleifen und Schlingen jeden Farbgrades. Mehrfach trafen wir in letzter Zeit auf solche X-Stämme, die in den ersten Subkulturen neben den charakteristischen Kolonien überwiegend ganz dürrtige, flache und klare Kolonien abspalteten; auf Oleatagar zeigten diese Stämme die großen typischen Kolonien nach 48 Stunden mit zahlreichen winzigen Tochterkolonien besetzt. Weiterzüchtung isoliert von beiden Kolonienarten führte bald zu übereinstimmenden, üppig und einheitlich wachsenden Kulturen. Monatelange Fortzüchtung führt auch beim Typ IV zu einer Vereinheitlichung und Verfeinerung der Stämme. Daß sich von frischen Nährböden gelegentlich alle vier Typen in Pasteurellaart färben lassen, ist nach neuesten Mitteilungen keine Eigenheit der hämoglobinophilen Bakterien (vgl. *Epstein*, Arch. f. Hyg. 1922, Bd. 90, S. 136). Auch dem Typ IV eignet, wie schon *Pritschett* und *Stillman* bemerken, große Hinfälligkeit; die Kulturen müssen etwa alle zwei Tage abgeimpft werden.

Gemeinsam allen vier Typen ist die Wuchsform in Bouillon, in der reines Bodensatzwachstum ohne Trübung der überstehenden Flüssigkeit auftritt. Die Morphologie der Bouillonkulturen entspricht den geschilderten Bildern der Stämme auf festen Nährböden.

Beobachtet man Kulturen der verschiedenen Typen über längere Zeiträume hin, so läßt sich die enge Zusammengehörigkeit der Typen I bis III leicht erweisen. Auf optimalen Nährböden gelingt mühelos die Umzüchtung der Pseudo- und extremen Pseudoformen zum Typ I. Abbildungen 4 und 5 zeigen einen extremen Stamm (13/22 E) auf Kochblutagar und gewöhnlicher Blutplatte, der schon nach wenigen Subkulturen allmähliche Umwandlung und schließlich nach etwa 14 Tagen in der achten bis zehnten Generation das Bild des echten Typs I (Abb. 6) aufwies. Auch *Pfeiffer*²⁾, dem bei den Nachzüglern der Epidemie die auffällige Häufung solcher atypischen Stämme mit langen Fäden und „direkt monströsen, relativ kolossalen Formen, wie sie etwa den bekannten Involutionsformen des Pestbacillus entsprechen“, auffiel, glückte es

¹⁾ S. Fußnote 2, S. 485.

²⁾ S. Fußnote 4, S. 484.

vielfach, solche Stämme auf guten Nährsubstraten in typische Formen umzuwandeln. Andererseits gelang ihm ihre künstliche Erzeugung auf Blutagar mit Zusatz gewisser Salze, ähnlich wie bei den bekannten

Abb. 4. *Extremer Pseudoinfluenzabacillus* = *Typ III* (Stamm 13/22 frisch). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung verdünntes Carbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Abb. 5. Derselbe wie Abb. 4, aber gezüchtet auf gewöhnlichem Blutagar.

Versuchen von *Maassen*¹⁾, der bei zahlreichen Bakterienarten entsprechende Bildungen, seine „teratologischen Wuchsformen“, durch Zusatz von Lithiumchlorid zum Nährboden künstlich hervorrufen konnte. Auch die Deutung, die *Pfeiffer* in seiner letzten Publikation den geschilderten Beobachtungen gibt, entspricht unserer oben bereits zum Ausdruck gebrachten Anschauung; er sagt: „man könnte daran denken, in dieser neu hervortretenden Neigung der Influenzabacillen zur Degeneration den Ausdruck einer Schädigung zu erblicken, welche die Bacillen in dem durch das Überstehen der Epidemie modifizierten Menschenmaterial erleiden“.

Abb. 6. Derselbe Stamm 13/22, zwei Wochen später, nach Umwandlung in den *echten* Influenzabacillus = *Typ I*. Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1:1000.

Wie ebenfalls bereits oben ausgeführt, betrachten wir auch den

¹⁾ *Albert Maassen* (Berlin), Die teratologischen Wuchsformen (Involutionenformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte 21, 385. 1904.

hämolytischen Typ IV als ein Umwandlungsprodukt der *Pfeifferschen* Kokkobacillen unter der Einwirkung des infizierten Organismus. Wir fassen ihn als die für den *Rachen charakteristische Standortvarietät* auf. Doch liegen die Dinge hier nicht so klar auf der Hand, da die Umformung erheblich weiter geht und den Rahmen, der die drei ersten Typen umspannt, weit überschreitet. Zwar haben wir in dem hervorstechendsten Unterscheidungsmerkmal, der Hämolysinbildung, eine Eigenschaft kennengelernt, die wenigstens bei einigen unserer Stämme durch lange fortgesetzte Umzüchtung zum Schwinden zu bringen war. Doch ist uns die Umwandlung bis zur echten Grundform noch nicht geglückt. Einen zweiten Unterschied des Typs IV gegenüber den nicht hämolytischen Typen enthüllt die genaue Prüfung der Hämoglobino-philie. Zwar wachsen unsere sämtlichen X-Stämme auf gewöhnlichen Agarplatten ebensowenig wie echte Influenzabacillen, aber schon die Aussaat auf 30proz. Ascitesagar läßt minimales Wachstum erkennen; in Symbiose mit gelben Staphylokokken tritt in der Umgebung des Ammenbaktters diese geringe Entwicklung sogar auf einfachem Agar auf. Auch unsere ältesten Influenzastämme dagegen zeigen selbst auf staphylokokkenbeimpften Ascitesplatten völlige Sterilität. Es muß einstweilen dahingestellt bleiben, ob nicht unter Umständen die Umwandlung der *Pfeifferbacillen* im menschlichen Organismus bis zu ganz saprophytischen, nicht mehr hämoglobinophilen, also auf gewöhnlichem Agar wachsenden Stämmen gehen kann. *Neufeld* und *Papamarku*¹⁾ haben in einem Fall neben echten hämophilen Stäbchen einen solchen Stamm mit hoher Agglutination durch Immunserum isoliert. Uns lag es vorerst ob, die Stellung der X-Bacillen zu klären.

So wurde der Versuch unternommen, durch *serologische* Prüfung die Frage der Zusammengehörigkeit der X-Bacillen und Grippestäbchen zu entscheiden. Nach den oben mitgeteilten Untersuchungen, besonders der amerikanischen Forscher, konnte für einzelne Stämme aus beiden Gruppen eine Reaktion im kreuzweisen Agglutinationsversuch erhofft werden, ohne daß allzugroße Erwartungen auf gesetzmäßige Resultate gehegt werden durften. In der Tat führten mühevollen Untersuchungen mit kreuzweiser Agglutination und im Absättigungsversuch zu Ergebnissen, die durchaus charakteristisch für die ganze Gruppe der Influenzabacillen sind. Gearbeitet wurde mit drei Seren vom Kaninchen; das erste Serum I war durch Behandlung mit drei Stämmen, darunter dem mehrfach erwähnten Widaltteststamm 77, die sämtlich von einem alten Immunserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurden, gewonnen und besaß einen Endtiter von 1 : 800; das zweite wurde hergestellt mit zwei anderen Stämmen vom Typ I, als Serum a bezeichnet, und besitzt für beide homologe Stämme einen Titer von zirka

¹⁾ S. Fußnote 3a S. 456.

1 : 2000, während heterologe Kulturen, die das Serum I bis zur Titergrenze beeinflußt, zwar meist in stärkeren Konzentrationen komplette Zusammenballung zeigen, aber nur bis 1 : 400—800 höchstens agglutiniert werden. Andererseits reagiert von den beiden a-Stämmen der eine mit Serum I gar nicht, der andere nur 1 : 25 stark, 1 : 50 schwach positiv. Während die Mehrzahl unserer Stämme vom Typ I—III von beiden Seren, wenn auch verschieden stark, agglutiniert wird, besitzen wir einige wenige Kulturen, die mit Serum I positiv, mit Serum a negativ reagieren, und ebenso ein paar Stämme, die sich umgekehrt verhalten. Mit einem Wort, schon die Verwendung dieser beiden Influenza-Immunsera bestätigt die serologische Heterogenität der Art, wie u. a. die amerikanischen Autoren sie schildern. Schließlich wurde durch Vorbehandlung mit zwei X-Stämmen, W. L. X und K. W. X, ein Serum vom Kaninchen gewonnen und zuerst festgestellt, daß von den beiden homologen Kulturen K. W. überhaupt nicht, W. L. bis 1 : 800 schwach, bis 1 : 100 fast komplett agglutiniert wurde. Von anderen X-Stämmen verhielten sich die einen mit diesem Serum X wie W. L., andere wie K. W. Aber sowohl diese positiven wie die negativen Stämme ergaben mit dem Serum I schwach *positive* Reaktion, nicht dagegen mit dem Serum a. Andererseits ist das Serum X völlig wirkungslos für fast alle Influenzastämme mit der interessanten Ausnahme des extremen Stammes 42 (Abb. 1), der vom Serum I nur minimal, vom Serum a gar nicht, vom Serum X dagegen bis 1 : 100 agglutiniert wird.

Fassen wir diese kreuzweisen Agglutinationsversuche zusammen, so läßt sich sagen: soweit serologische Untersuchungen an *Pfeiffer*-bacillen überhaupt Schlüsse zulassen, zeigt sich eindeutig die Zusammengehörigkeit aller vier Typen zu einer Bakterienspecies.

Dagegen waren die Absättigungsversuche völlig unbefriedigend; bei allen drei Seren banden Stämme aus beiden Gruppen, echte und hämolysierende, immer nur die Agglutinine für sich selbst, nicht einmal für andere gleich stark agglutinierende Stämme desselben, geschweige für solche vom anderen Typ.

Ganz im Sinne der Agglutinationsversuche konnte dagegen schließlich noch ein Beweisstück für die Artgleichheit von Influenzastäbchen und X-Bacillen beigebracht werden.

In Fortsetzung seiner Studien über den „Satellitismus“ hat *Davis*¹⁾ in der Beobachtung dieses Symbiose-Phänomens ein Mittel zur Klassifikation der hämophilen Bakterien entdeckt. Er stellte zuerst einmal fest, daß das Phänomen der sog. Riesenkolonien durch Verwendung *aller* Bakterienarten, pathogener wie saprophytischer, hämolysierender

¹⁾ *David J. Davis* (Chicago), V. The value of the satellite (or symbiosis) phenomenon for the classification of hemophilic bacteria. *Journ. of inf. diseases*. **29**, 187. 1921.

wie nichthämolytischer, hervorgerufen wird; zu solchen Ammenbakterien gehören auch andere hämophile Bakterien, wie die von *Bordet*, *Morax-Axenfeld*, *Ducrey*, die ihrerseits das Phänomen des Riesenwachstums durch Symbiose mit anderen Bakterienarten nicht zeigen. Also ist das Phänomen spezifisch für Influenzabacillen. Aber weiter zeigte *Davis*, daß eine einzige Bakterienart auch bei Influenzabacillen kein Riesenwachstum auszulösen vermag, nämlich Influenzabacillen selbst, auch Stämme von serologisch und biochemisch differentem Charakter. Mit diesen beiden Merkmalen, dem Auftreten von Riesenkolonien durch Ammenbakterien oder (s. oben) vitaminöse Extrakte aus tierischen und pflanzlichen Geweben und dem Unvermögen, selbst als Ammenbakterien für echte Influenzabacillen zu dienen, ist also ein Mittel der Klassifikation der *Pfeifferspecies* gegeben.

Die scheinbare Ausnahme, die *Davis* mit Stämmen der *Koch-Weeksschen* Conjunctivitis fand, erschüttert nicht die bedeutsame Feststellung. Denn offenbar hat der Forscher gar nicht den *Koch-Weeksschen* auf Ascitis wachsenden Bacillus, sondern Stämme von Influenzaconjunctivitis in der Hand gehabt. Zaghaft sagt er selbst: „several strains of bacilli from the conjunctivitis, which, I think, commonly would be called *Koch-Weeks*.“

Und mit diesem Mittel haben wir Influenzabacillen der Typen I und II einerseits und X-Stämme andererseits wechselseitig auf Pferdeblutagar geprüft und festgestellt, daß erstens alle diese Stämme gleichmäßig, z. B. durch gelbe Staphylokokken als Ammenbakterien, das Satellitismusphänomen aufweisen, zweitens aber dies Phänomen der Riesenkolonien bei den Influenzastämmen nicht durch die X-Stämme, und bei diesen nicht durch die ersteren zu erzeugen ist.

Es darf also das Kapitel mit dieser Zusammenfassung abgeschlossen werden: Es konnten außer den *echten* kokkoiden Grippestäbchen drei weitere morphologische Typen von Influenzabacillen, die *Pseudoform*, die *extremen* Pseudobacillen und die *hämolisierenden* X-Bacillen aufgestellt und als Varianten einer einheitlichen Species dargetan werden. Die Umzüchtungsversuche beweisen, daß die Typen II und III nur labile Varietäten, Typ IV, die X-Bacillen, vielleicht eine Dauermodifikation darstellen. Die Häufung solcher Befunde in der letzten Zeit im Einklang mit den älteren Beobachtungen *Levinthals* legt die Deutung nahe, daß es sich bei diesen Formen um Ergebnisse von Immunitätsvorgängen im durchseuchten Menschenmaterial, zum Teil auch um spezifische Einwirkungen eines bestimmten Milieus, z. B. des Rachens für die X-Bacillen, handelt, Verhältnisse also, die ein Gegenstück zu dem Kapitel der Diphtheriebacillen und der Diphtherioden darstellen.

V. Epidemiologisch-ätiologische Schlußbetrachtung.

Aus dem Material der vorhergehenden Kapitel haben sich uns folgende Tatsachen ergeben: Der *Pfeiffersche* Influenzabacillus fin-

det sich als der regelmäßigste Mikrobe bei Fällen der epidemischen Grippe, und zwar, wie die Sektionen beweisen, vor allem auf den entzündeten Schleimhäuten der Atemwege, in den Lungen und nicht ganz so häufig in den regionären Lymphdrüsen. Weiterhin jedoch begegnet ihm der Untersucher zu einem hohen Prozentsatz bei Patienten akuter Infektionskrankheiten mit Beteiligung der Atmungswege, und darüber hinaus lassen sich unter Gesunden zahlreiche Bacillenträger ermitteln. Diese Verbreitung des Keimes erscheint in Abhängigkeit von der Ausdehnung und Dauer der Epidemie und geht immer stärker hervortretender Neigung, in atypisch-degenerierten Umwandlungsformen aufzutreten, parallel. Und diese Labilität einerseits, die große Zahl solcher Keimträger und Dauerausscheider andererseits spricht für eine geringe Pathogenität des weitverbreiteten Mikroben. So ist es klar, und wir befinden uns hier durchaus in Übereinstimmung mit den Kritikern der Pfeifferschen Lehre, daß der *Bacillus ohne weiteres* nicht als Primärerreger der Seuche angesprochen werden kann. Um ihm seine Bedeutung für den Krankheitsprozeß zu geben, muß noch ein weiteres Moment hinzukommen.

Man hat die Lösung dieses Geheimnisses auf zwei Wegen versucht: Die einen haben dem Keim jede ätiologische Bedeutung für die epidemische Influenza abgesprochen und ihn zu einem Mischinfizienten, dem vielleicht wichtigsten Trabanten eines noch unbekannten Primärerregers, degradiert; die anderen betrachten ihn auch weiterhin im Sinne der Pfeifferschen Lehre als das bakterielle Substrat der Seuche, das jedoch nur in einer *hochvirulenten Mutation* jenen Grad von Pathogenität und Infektiosität besitzt, der für die Krankheit charakteristisch ist.

Es ist bekannt, daß die Mehrzahl der Forscher aus der ersten Gruppe sich nicht mit einem resignierten „Ignoramus“ zufrieden gab und das unbekannte Virus der Seuche unter der Gattung jener kleinsten pathogenen Lebewesen, die Filterkerzen passieren, aufzuspüren unternahm. Auf zwei Fährten versuchte man, einem filtrablen Virus beizukommen; einmal im Infektionsexperiment an Mensch und Tier mit filtrierten Exkreten und Organextrakten Erkrankter, und andererseits mit mikroskopischen und kulturellen Studien an solchen Filtraten. Die reinen Infektionsversuche (*Kruse, Selter, Friedberger und Konitzer, P. Schmidt, Moreschi, Micheli und Satta, da Cunha* und Mitarbeiter, *Yamanouchi* und Mitarbeiter, *Lister und Taylor, Wahl* und Mitarbeiter, *Nicolle und Lebailly, Fejes* und andere an Menschen oder bei Affen), wie sie das Referat von *Levinthal* ausführlich darstellt und würdigt, können hier mit der Zusammenfassung übergangen werden: es konnte zum Beweise einer Grippe erzeugenden Substanz im Filtrat nichts beigebracht werden, was der Kritik standhält. Auch die mikro-

skopischen und kulturellen Untersuchungen (*v. Angerer, Leschke, Binder und Prell*, sowie *Prell*) zerpfückte die Kritik (*Prausnitz, Wade und Manalaing, Paschen, Olsen, Keegan* und andere) (vgl. a. a. Orte). Dagegen verdienen ein paar englische und amerikanische Arbeiten eingehendere Stellungnahme. Bei der Armee in Frankreich traten *Gibson, Bowman* und *Connor*¹⁾ bereits 1918 und 1919 mit der Mitteilung hervor, es sei ihnen mit Filtraten von Sputum und Blut Grippekranker innerhalb der ersten drei Krankheitstage die Infektion von Affen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen geglückt, die nach sechstägiger (!) Inkubation leicht fieberhaft mit geringen Krankheitserscheinungen, z. B. Conjunctivitis (bei subconjunctivaler Injektion!), Appetitlosigkeit oder Durchfall für wenige Tage erkrankten und wieder genasen. Wurden sie jedoch am dritten Tage der Krankheit getötet (Beispiel: ein Affe mit Durchfall am siebenten Tage nach der Infektion), so zeigte die Sektion Kongestion der Trachea, dunkelrote Flecken in den Lungen ohne Bronchopneumonie bei normalen Pleuren und hämorrhagisches Exsudat in den Lungen. Nach Passage durch drei Kaninchen, die zu einer Virulenzsteigerung führte, gelang aus der Niere in Ascites nach der streng anaeroben Methode *Fosters* oder *Noguchis* die Züchtung winziger gramnegativer kokkoider Gebilde, die bis zur dritten Generation fortgezüchtet werden konnten. Mit solchen Kulturen infizierte Kaninchen blieben zwar frei von Krankheitserscheinungen, aus ihrer Niere konnten jedoch am siebenten Tage von neuem die beschriebenen Kugelkörperchen kulturell nachgewiesen werden. Und endlich gelang eine solche Züchtung nicht nur aus filtrierten Lungenextrakten, sondern auch direkt aus Filtraten menschlichen Sputums. Die Autoren demonstrierten ihre Kulturbefunde und Präparate *Wilson*, der mit *Bradford* und *Bashford*²⁾ ähnliche Untersuchungsergebnisse publiziert hatte; und dieser bestätigte die Identität der Befunde *Gibsons* und seiner eignen. Nun haben aber kurz darauf die letztgenannten Autoren ihre Mitteilungen im unmittelbaren Anschluß an eine experimentelle Widerlegung durch *Arkwright*³⁾ zurückgezogen.

¹⁾ *H. Graeme Gibson, F. B. Bowman* und *J. I. Connor* (Abbeville, Frankreich), A filtrable virus as the cause of the early stage of the present epidemic of influenza. Brit. med. journ. 1918, S. 645. — *Dieselben*, The etiology of influenza. A filtrable virus as the cause, with some notes on the culture of the virus by Noguchi's method. Ebenda 1919, S. 331.

²⁾ *Sir John Rose Bradford* (Frankreich), A communication on a „filter-passing“ virus in certain diseases. Brit. med. journ. 1919, Nr. 3046, S. 599. — *E. F. Bashford*, The experimental reproduction of influenza, nephritis and encephalitis. Ebenda S. 601. — *J. A. Wilson*, The bacteriology of certain filter-passing organisms. Ebenda S. 602.

³⁾ *J. A. Arkwright* (Lister-Institute), A criticism of certain recent claims to have discovered and cultivated the filter-passing virus of trench fever and of influenza. Brit. med. journ. 1919, Nr. 3060, S. 233. Mit Noten von *Bradford* und *Wilson*, S. 236.

Auf diese „extraordinary retraction“ nehmen auch *Branham* und *Hall*¹⁾ in Chicago bezug, die im Winter 1919/20 mit der gleichen Noguichimethode unter Verwendung verschiedener Nährmedien Züchtungsversuche mit Rachenwaschwasser von gewöhnlichen Erkältungen, echter Influenza und Gesunden unternahmen und zeigten, daß bei Gebrauch von Kaninchenniere nicht nur bei jeder Art von Ausgangsmaterial, sondern auch in allen unbeimpften Kontrollröhrchen nach einigen Tagen bei klarbleibender überstehender Flüssigkeit über dem Organstück am Boden eine feine Trübung auftritt, die aus den geschilderten Granulis, auch in Häufchen- und Kettenlagerung, besteht. *Hall* und seine Mitarbeiterin deuten diese Gebilde als Kunstprodukte, wahrscheinlich infolge der Gewebsautolyse, und mahnen zur Vorsicht.

Die Schilderung jener zarten Trübung und ähnlicher mikroskopischer Befunde findet sich wieder in Mitteilungen von *Olitsky* und *Gates*²⁾ am Rockefeller Institut, deren Arbeiten jedoch weit über die erwähnten an Umfang, Exaktheit und Bedeutung hinausgehen. Ein Gegenstück zu diesen Studien, eine Publikation des durch seine Encephalitisforschung bestens beglaubigten *Loewe* mit *Zeman* (Journ. of the americ. med. assoc. 76, 15. 1921) war uns bisher nicht zugänglich. Dagegen liegen die Mitteilungen von *Olitsky* und *Gates* bis zur siebenten Fortsetzung vor und stellen heute bereits ein Material dar, an dem man nicht mehr vorübergehen kann.

In einer ersten Serie von Versuchen schufen sich die Autoren ihre Experimentalmethode und studierten die klinischen und pathologischen Veränderungen am Tier der Wahl, dem Kaninchen, nach *intratrachealer* Injektion *unfiltrierter* Nasen-Rachenwaschwasser von fünf Influenzkranken der ersten (1918/19) und von drei Patienten der zweiten (1920) Seuchenwelle. In sieben von diesen acht Fällen, in denen Material innerhalb der ersten 36 Stunden des Anfalles entnommen war, führte die Injektion zu einem charakteristischen Krankheitsprozeß, während in späteren Stadien, ebenso bei Gesunden und bei nichtgrippösen Prozessen, der Atemwege sich *ausnahmslos negatives* Resultat ergab. Die Erkrankung des Tieres beginnt nach 24—48 Stunden und zeigt Tem-

¹⁾ *Sara E. Branham* and *Ivan C. Hall* (Chicago), Influenza studies. III. Attempts to cultivate filtrable viruses from cases of influenza and common colds. Journ. of inf. diseases. 28, 143. 1921.

²⁾ *Peter K. Olitsky* and *Frederick L. Gates* (New York), Experimental studies of the nasopharyngeal secretions from influenza patients. Journ. of exp. med. — I. Transmission experiments with nasopharyngeal washings. 33, 125. 1921. — II. Filterability and resistance to glycerol. Ebenda S. 361. — III. Studies of the concurrent infections. Ebenda S. 373. — IV. Anaerobic cultivation. Ebenda S. 713. — V. Bacterium pneumosintes and concurrent infections. 34, 1. 1921. — VI. Immunity reactions. 35, 1. 1922. — VII. Serological reactions. Ebenda S. 553.

peraturerhöhung um etwa 1°C , Schläffheit, gesträubtes Haar und Conjunctivitis. Das Hauptsymptom sehen die Autoren in einem starken Abfall der mononucleären Leukocyten, also einer *Lymphopenie*. Die Dauer der Erkrankung beträgt etwa drei Tage, dann kehrt das Tier zur Norm zurück. Wird es auf der Höhe des Anfalles getötet, so finden sich ausschließlich Affektionen in den Atemorganen, und zwar Lungenödem und -emphysem, sowie ein bunt hämorrhagisches Bild mit Petechien, millimeterbreiten Flecken oder über breite Teile eines Lappens sich erstreckenden Feldern. Die Pleuren sind frei. Mikroskopisch zeigen sich die Alveolen voll koagulierten Serums, Erythrocyten, mononucleären und pseudoesinophilen Leukocyten und desquamierten Epithelien. In den Inter-alveolarsepten besteht Infiltration mit einkernigen Zellen. Die Bronchien sind ebenfalls von roten und weißen Blutzellen und degenerierten Epithelien erfüllt, die Capillaren blutreich. Die gewöhnlichen aeroben und anaeroben Kulturen bleiben steril.

Den reproduzierten Symptomenkomplex und sein pathologisch-anatomisches Korrelat betrachten die Autoren als den Typ des reinen und unkomplizierten Influenzaanfalles. Und daß diese Kaninchen-grippe wirklich die Folge einer echten Infektion durch ein Contagium animatum ist, beweisen sie durch Fortführung der „aktiven Substanz“ in langen Serien von Tierpassagen durch Inokulation mit Lungengewebe der infizierten Kaninchen. Weiterhin konnten nun die gleichen Effekte mit *Berkefeldfiltraten* des Ausgangsmateriales beim Kaninchen und Meerschweinchen erzielt werden, während sich der Affe auffälligerweise als refraktär erwies. Weder durch intratracheale noch subconjunctivale Injektion der Filtrate oder durch Kombination beider Versuche konnten Rhesusmakaken infiziert werden, im Gegensatz zu den zitierten Versuchen von *Nicolle* und von den Engländern. In 50%igem Glycerol bewahrte das Material seine Infektiosität bis zu 9 Monaten.

Schließlich gelang aus den Lungen infizierter Tiere, später aus den Filtraten von Rachenwaschwasser frisch erkrankter Personen in sechs von elf Fällen, dagegen aus späteren Stadien nur einmal 48 Stunden nach dem Beginn des Anfalles, nie aus Sektionsmaterial und in zahlreichen Kontrollversuchen mit menschlichen und tierischen Substraten nach der Noguchimethode die Züchtung eines $0,15\text{--}0,3\mu$ großen, gramnegativen, gut mit Löfflers Methylenblau färbbaren, bacilloiden Gebildes von monomorphem Habitus, meist solitär, oft in Diploform, gelegentlich in kurzen Ketten gelagert. Die Mikroorganismen sind filtrierbar und gedeihen in Symbiose mit gewöhnlichen Bakterien, vor allen Influenzabacillen, Pneumokokken, Streptokokken und Staphylokokken. Halb-stündige Erhitzung auf 56°C tötet sie ab, dagegen halten sie sich bei Zimmertemperatur in Massenkulturen bis zu sechs Monaten. Mit solchen

Kulturen konnten ganz die gleichen Infektionsresultate gewonnen werden, wie oben geschildert.

Die durch solche intratracheale Infektion gesetzte Schädigung der Lunge macht diese empfänglich für sonst bei gleichem Infektionsmodus nicht pathogene Keime, z. B. Pneumokokken und Influenzabacillen, ganz gleich ob das „Influenzavirus“ in Gewebefiltraten oder Reinkulturen gegeben wird. Diese Feststellung findet ihr Gegenstück in der Influenzaphathogenese des Menschen; sie wurde bestimmend für die Bezeichnung des Keimes als *Bacterium pneumosintes* (von *πνεύμων* = Lunge und *σίντης* = Verwüster, Schädling).

Der letzte bisher publizierte Teil der Studien von Olitsky und Gates weist erstens nach, daß Tiere nach einmaliger Infektion gegen Reinfektionen manchmal bis zu 14 Monaten immun geworden sind, und benutzt diese Feststellung im kreuzweisen Infektionsversuch noch einmal zum Nachweis der Identität jener krankmachenden Substanz im Rachensekret Influenzakranker, im Lungengewebe infizierter Kaninchen und des *Bacterium pneumosintes* in Reinkultur. Zweitens aber konnte mit durch Gates (Journ. exp. med. 35, 635. 1922) modifizierter Kulturmethode der Keim in einer Form gezüchtet werden, die seine Verwendung als Antigen für serologische Reaktionen gestattet. So wurden im Serum eines durch fünfmalige Injektion in 5–7tägigen Abständen mit Reinkultur immunisierten Kaninchens Agglutinine, Präcipitine, komplementbindende Antikörper und Bakteriotropine im Phagocytoseversuch mit der Neufeldmethode nachgewiesen. Die Serie dieser wichtigen Mitteilungen schließt mit einer bedeutungsvollen Tabelle; diese zeigt im Gegensatz zu drei negativen Normalkaninchenseren nicht nur den hohen Agglutinationstiter des immunisierten Tieres, sondern auch positive Reaktion, wenn auch schwächer, im Serum zweier Kaninchen nach dem *einmaligen Infektionsanfall*. Hier muß die weitere Forschung anknüpfen.

Es müssen sich im Serum von Influenzakranken und -rekonvaleszenten die gleichen Antikörper nachweisen lassen. Die Seuchenwelle des letzten Frühjahres wird auch in Amerika das längere Zeit entbehrte Untersuchungsmaterial geliefert haben.

Ob schließlich etwa Infektionsversuche am Menschen mit frischer Reinkultur gewagt werden dürften und zu andern Ergebnissen führen würden, als die oben erwähnten negativen Experimente mit Filtraten, bleibe dahingestellt.

Vorläufig darf nicht übersehen werden, daß, abgesehen von dem noch geringen Material, das geschilderte Krankheitsbild beim Kaninchen kaum dem entspricht, was wir beim Menschen Influenza nennen. Wir müßten umlernen; als Influenza vera dürfte nur ein ganz leichter und transitorischer Infekt mit katarrhalischen Reizerscheinungen und un-

bestimmtem Krankheitsgefühl, leichtem Fieber und starker Lymphopenie bezeichnet werden; alles andere, Bronchitis mit Husten und Auswurf usw., wäre auf Konto einer Mischinfektion zu setzen, der das lungenschädigende Bacterium pneumosintes den Weg bahnt.

Nun muß daran erinnert werden, daß die gleiche Wirkung einer Förderung nicht nur experimenteller, sondern auch spontaner Mischinfektionen bei Kaninchen und Meerschweinchen durch das *Toxin von Influenzabacillen* erzeugt werden konnte. Zitate solcher Versuche finden sich z. B. bei *Fildes* und *MacIntosh*¹⁾, die außerdem mit dem Influenzabacillen-Toxin allein bei intravenöser Applikation ein viel grippeartigeres Lungenbild hervorrufen konnten, als *Olitsky* und *Gates* mit ihrer brüsen Infektionsmethode.

Und weiter darf nicht vergessen werden, daß es zwei anderen amerikanischen Forschern, *Blake* und *Cecil*²⁾, gelungen ist, an Affen mit Reinkulturen des *Pfeifferschen* Influenzabacillus einen Krankheitsprozeß zu erzeugen, der mit kürzester Inkubation, Fieber und starker Leukopenie, bei Infektion von der Nase und dem Munde aus — statt der gewaltsamen intratrachealen Insufflation — mit descendierenden Entzündungserscheinungen der Trachea, der Bronchien und gelegentlich der Lungen vielmehr unseren Begriffen von Influenza entspricht als das Kaninchensyndrom von *Olitsky* und *Gates*. Die pathologisch-anatomischen Schilderungen vollends, die *Cecil* und *Blake*³⁾ geben, entsprechen mit Hämorrhagien, Ödem, Emphysem und peribronchialer zelliger Infiltration, auch ohne Hilfsinfektion eines filtrierbaren Virus, ganz dem pathologischen Bilde der menschlichen Grippe. Aber auch bei *Blake* und *Cecil*, deren viel zitierte Arbeiten längst Gemeingut der Influenzaforschung geworden sind, genügte nicht die Verwendung einer erstbesten *Pfeifferkultur*. Vielmehr mußte einer solchen durch komplizierte Tierpassagen der ausreichende Grad von Virulenz erst angezüchtet werden. So geben diese Versuche der eingangs dieses Kapitels formulierten zweiten Hypothese eine wichtige experimentelle Basis. Diese Hypothese, zu deren Verfechter sich auch das erwähnte Referat von *Levinthal*⁴⁾ gemacht hat, kommt mit dem Influenzabacillus als ätiologischem Faktor der Grippe aus unter der Annahme einer zeitweise hochgesteigerten Virulenz, die wiederum rasch verlorengehen kann.

¹⁾ *Paul Fildes* and *James MacIntosh* (England), The aetiology of influenza. Brit. Journ. of exp. pathol. **1**, 119 u. 159. 1920. Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. **3**, 548.

²⁾ *Francis G. Blake* and *Russel L. Cecil* (Washington), Studies on experimental pneumonia. IX. Production in monkeys of an acute respiratory disease resembling influenza by inoculation with bacillus influenzae. Journ. of. exp. med. **32**, 691. 1920.

³⁾ *Cecil* and *Blake*, X. Pathology of experimental influenza and of bacillus influenzae pneumonia in monkeys. Ebenda S. 719.

⁴⁾ S. Fußnote 1 S. 457.

Diese Virulenzlabilität findet ihr morphologisches Gegenstück in der mitgeteilten Typenvariabilität. Auch *Blake* und *Cecil* konnten zeigen, daß ihr hochgezüchteter Stamm schon nach fünfmaliger Passage künstlicher Nährböden jede Virulenz restlos einbüßte. Dagegen genügte bei *Cecil* und *Steffen*¹⁾ schon einmalige Passage durch einen Affen, um einen Influenzastamm wenigstens insoweit infektionstüchtig für eine kleine Reihe von Versuchen am Menschen zu machen, daß durch intranasales Einträufeln kleinster flüssiger Kulturmengen nach ganz kurzer Inkubation ein zwar fieberloses, aber mit Schwäche, Kopfschmerz, Rückenschmerz, Bruststichen, Conjunctivitis, Rhinitis, Pharyngitis, Tracheitis mucopurulenta und Leukopenie durchaus grippöses Syndrom von mehrtägiger Dauer hervorgerufen werden konnte.

Durch diese Laboratoriumsexperimente sowohl als auch durch unsere morphologischen Beobachtungen hat die Anschauung von der Labilität der Virulenz bei Influenzabacillen eine tragfähige Grundlage erhalten. Was die Hochzüchtung des Erregers im *geschichtlichen* Werden und Entstehen der Seuche betrifft — ein Problem, das für ein filtrables Virus ebenso gelten würde —, so müssen alle Erklärungsversuche von der Tatsache ausgehen, daß die Krankheit *bei uns endemisch* ist, von Zeit zu Zeit kleinere Epidemien hervorruft und nur in gewissen Zeitabständen gewaltige *pandemische* Ausbreitung erlangt, die nicht schlagartig über die Menschheit hereinbricht, sondern allmählich aus ihrem Heimatboden in den Kulturländern emporwächst, wie die Geschichte von 1914—1918 es lehrt. Dabei müssen Immunitätsvorgänge, beruhend auf der allgemeinen Durchseuchung, vielleicht auch eine Auswahl der Widerstandsfähigen, eine bedeutungsvolle Rolle spielen, wenn auch sicher nicht im Sinne einmaliger absoluter Immunisierung durch eine Pandemie. [Vgl. *Neufeld*²⁾.]

Es sei erlaubt, zum Schlusse die Hypothese hier zu zitieren, die sich dem einen von uns (L.) aus dem ganzen Material seines Referates aufgedrängt hat: „Nun berichten erfahrene Tropenärzte übereinstimmend, daß sie unter der einheimischen Bevölkerung niemals influenzaartige Erkrankungen beobachtet haben; ich darf mich auf *F. K. Kleine*, *Claus Schilling*, *Taute* berufen. Und schließlich fällt auf, daß alle Schilderungen über die Pandemie von 1918—1920 in Tropenländern dahin übereinstimmen, daß hier die Wirkung der Seuche geradezu verheerend gewesen sei: ‚Es war ein großes Sterben‘, sagt *Taute*; ‚durch die Eingeborenenländer fegte die Plage wie ein Feuer‘, sagt der medizinische Mitarbeiter der *Times*. Derselbe Gewährsmann

¹⁾ *Russel L. Cecil* and *Gustav I. Steffen* (Washington), Acute respiratory infection in man following inoculation with virulent bacillus influenzae. *Journ. of inf. diseases*. 28, 201. 1921.

²⁾ S. Fußnote 3c S. 456.

berichtet, daß auf Samoa 80 % der braunen Bevölkerung der Seuche zum Schlachtopfer gefallen seien, daß eine große Zahl von Indianern in Amerika ihr Leben eingebüßt habe, daß Neuseeland heftig befallen war; das entsetzliche Wüten der Pandemie in Indien wurde schon oben erwähnt. Das legt den Gedanken nahe, daß wir die Hochzüchtung des Virus dem Umstande zuzuschreiben haben, daß die schwarzen und braunen Hilfsvölker der Entente auf europäischem Boden mit dem hier endemischen Virus in Berührung gekommen und mit ihrer unverminderten Empfänglichkeit der Nährboden für die hochvirulente Form des Erregers geworden seien. Wir hätten hier also ein Gegenstück für das bekannte epidemische Bild der Masern auf den Faröer Inseln. Die Herkunft der älteren Influenzapandemien aus fernen Ländern würde dann ein Trugschluß sein. In Wahrheit wäre die Krankheit von Europa aus jedesmal erst in diese völlig grippefreien Gegenden eingeschleppt worden, um als fürchterliches Gastgeschenk von dort zurückzukommen.“