[Aus dem Institut „Robert Koch“.]
(Laboratorium Prof. Dr. Jos. Koch.)

Über den Bakteriengehalt des Rückenmarkes der Wutkaninchen und seine mögliche Bedeutung für die während der Schutzimpfung auftretenden Impfschädigungen.

Von

Dr. O. Kühne,
ehemaligem Assistenten am Institut.

Die in den Wutschutzinstituten gehandhabten Methoden der Schutzimpfung, so verschiedenartig sie auch sind, beruhen im Prinzip doch sämtlich auf dem Pasteurschen Immunisierungsverfahren, welches sich bekanntlich auf die Tatsache stützt, daß das Wutvirus im Gehirn und Rückenmark experimentell infizierter Tiere, z. B. des Kaninchens, gewissermaßen in Reinkultur enthalten ist. Nach Pasteur wird das Rückenmark der an Wut verendeten Kaninchen mehrere Tage über Ätzkali bei einer Temperatur von 22° getrocknet. Durch diesen Trocknungsprozeß soll zweierlei bewirkt werden: 1. die Abschwächung der Virulenz des im Mark enthaltenen Erregers, 2. die Verminderung der Zahl desselben. Je länger nämlich das Mark getrocknet wird, desto mehr soll die Virulenz und die Zahl des Erregers abnehmen, bis schließlich das Virus vollständig abgetötet ist. Bei der Zeitdauer der Austrocknung muß natürlich Größe und Gewicht der Kaninchen, welche das Mark liefern, berücksichtigt werden. Es liegt auf der Hand, daß die Austrocknung auf das Mark eines jungen Kaninchens intensiver wirkt, als auf das eines älteren und schwereren Tieres, dessen Rückenmarksquerschnitt wesentlich größer ist. Das ursprüngliche Pasteursche Immunisierungsverfahren ist bei einer Anzahl von antirabischen Abteilungen noch heute in Gebrauch, während

andere das Immunisierungsschema mehr oder weniger abgeändert haben. Nach dem Pasteurschen Schema erhielt der Patient zunächst eine Emulsion von 14 Tage lang getrocknetem Mark, in den folgenden Tagen 13 tägliches, 12 tägliches usw. bis zu 8 täglichem Mark. Je nach der Schwere der Bißverletzung wechselte die Dauer der Behandlung von 15 bis 21 Tagen.

Mißerfolge dieser Immunisierungsmethode führten zu einer Abänderung und zwar zu einer Verschärfung des ursprünglichen Verfahrens. Von dem Gedanken ausgehend, daß kürzere Zeit getrocknete Rückenmarke, in denen der Erreger noch nicht abgetötet ist, eine höhere Immunisierungskraft haben als länger getrocknete, begannen einige Abteilungen die Schutzimpfung mit 8 täglichem und noch kürzere Zeit getrocknetem Marke. Remlinger wandte im Institut zu Konstantinopel 9 bis 2 tägliches Mark an. In Bukarest, wo die Häufigkeit der Schwere der Verletzung, vielfach Wolfsbisse, eine intensivere Behandlung erfordert, beginnt man mit 6 Tage getrocknetem Mark. Noch weiter in dieser Hinsicht ist im Laufe der Jahre die Berliner Wutschutzabteilung gegangen, indem sie nur 3, 2 und 1 tägliches Mark benutzte. Seit 1916 wird jedoch mit 5 täglichem Mark begonnen und erst am 8. Tage 1 tägliches Mark verwendet. Die tägliche Menge beträgt 2 cem einer Emulsion, die durch Verreiben von 1 cem getrockneten Markes mit 5 cem Kochsalz gewonnen ist. Im ganzen erhält der Patient also während der 21 täglichen Behandlung 42 cem Emulsion. Zurzeit sind drei verschiedene Schemata im Gebrauch, die je nach der Schwere des Falles folgendermaßen sich gestalten:

		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	Impftag
Schema	stark	5	4	3	2	4	3	2	1	3	2	1	1	3	2	1	1	3	2	1	1	1	Alter des Markes nach Tagen
	mittelstark	5	4	3	2	5	4	3	2	5	4	3	2	3	2	1	1	3	2	1	1	1	
	schwach	5	4	3	5	4	3	5	4	3	5	4	3	5	4	3	5	4	3	5	4	3	

Die weitaus größte Zahl der Verletzten behandeln wir nach dem starken Schema. Das mittelstarke verwenden wir in solchen Fällen, in denen eine Kontinuitätstrennung der Haut zweifelhaft, der Hund wenig verdächtig und die Verletzung geringfügig ist. Ängstliche oder nervöse Menschen, bei denen eine zwingende Indikation nicht vorliegt, impfen wir zu ihrer Beruhigung nach dem schwachen Schema.

So geistreich das Pasteursche Verfahren auch erdacht ist, als ein ideales kann es nicht bezeichnet werden. Ideal wäre das Verfahren, das uns gestattete, das Lyssavirus frei von allen Beimengungen und in einem in seiner Virulenz für den Menschen ungefährlichen Zustande einzuspritzen.

Das ist aber nicht der Fall. Mit dem Virus wird vielmehr ein Teil des Kaninchenrückenmarkes, also eine artfremde Eiweißsubstanz dem zu Immunisierenden einverleibt. Ein noch größerer Nachteil als die Einspritzung tierischen Eiweißes liegt in dem Umstande, daß das Pasteursche Schema eine genaue und gleichmäßige Dosierung des Wutvirus nicht zuläßt. Es gründet sich auf die Annahme, daß das Virus im Kaninchenmark stets in gleicher Zahl und Virulenz vorkommt. Das ist aber von vornherein unwahrscheinlich. Es gibt Fälle, in denen die Verteilung des Virus eine durchaus ungleiche ist, ganz abgesehen von der Tatsache, daß Lenden- und Halsmark die Lieblingsstätten des Wutvirus sind. Durch diese unregelmäßige Verteilung des Erregers im Mark wird es häufig genug vorkommen, daß einige Patienten eine doppelt und dreifach so starke Impfdosis erhalten als andere.

In der Tat kommen während der Wutschutzimpfung Krankheitszustände vor, die dem Wutvirus des Kaninchens zur Last gelegt werden. Dies sind die bekannten Paraplegien der unteren Extremitäten, die Fazialislähmungen und eine Reihe zerebraler und meningitischer Erscheinungen, welche während und kurz nach der Schutzimpfung auftreten können, glücklicherweise in den seltensten Fällen.

War man im Beginn der Lyssaschutzimpfung der Ansicht, daß diese Fälle durch den Erreger der Straßenwut hervorgerufen würden, also als eine richtige durch die Schutzimpfung abgeschwächte Wuterkrankung aufzufassen sind, so gewann in späterer Zeit doch die Anschauung mehr Anhänger, daß es sich bei diesen Erkrankungen des Zentralnervensystems um eine Folge der Wutschutzimpfung handelte, und zwar nahm man an, daß die Giftstoffe des Wutvirus, die „Wuttoxine“, die Ursache der Lähmungen seien. Durch die Arbeiten Jos. Kochs ist die Frage nach der Entstehung der Paraplegien insofern geklärt, daß es sich um den Wuterreger selbst handelt, der sich an gewissen Prädispositionsstellen des Nervensystems, z. B. des Lendenmarkes, ansiedelt, hier wichtige Ganglienzellen zerstört und dadurch Lähmungen der Extremitäten, des Fazialis, der Blase und des Mastdarms herbeiführt. Nicht entschieden ist bisher die Frage, ob es der Erreger der Straßenwut oder das Passagevirus ist, das diese Krankheitszustände hervorruft. Während Jos. Koch die Ansicht vertreten hat, daß die größere Zahl der Fälle nichts anderes als eine abortive, durch den Erreger der Straßenwut hervorgerufene Form der Lyssa ist, und daß nur in den seltensten Fällen eine richtige Impflyssa vorliegt, ist Papamarku auf Grund der Erfahrungen der Berliner Wutschutzabteilung in der Kriegszeit dafür eingetreten, daß die Mehrzahl

der Fälle als eine Impflyssa zu gelten hat und die abortive Wut das seltenere Vorkommnis ist.

Nach neueren Feststellungen verschiedener Untersucher kann es als sicher gelten, daß der Erreger der Tollwut durch den Biß eines wutkranken Tieres häufiger in das Zentralnervensystem des Gebissenen gelangt, als wir früher angenommen haben. Als Beweis mag die Tatsache gelten, daß Teile des Zentralnervensystems, z. B. das verlängerte Mark von solchen Patienten, welche lange nach der Verletzung an interkurrenten Krankheiten starben, auf Kaninchen überimpft einen positiven Impferfolg ergaben. Daraus darf man schließen, daß der Erreger der Wut längere Zeit als ein wenig pathogener Keim im Zentralnervensystem des Gebissenen sich aufhalten kann, ohne daß die Betroffenen an Tollwut erkranken oder irgendwelche klinische Erscheinungen sich bei ihnen bemerkbar machen (Paltauf, Remlinger, Jos. Koch). Für die Latenz des Lyssavirus im Zentralnervensystem der Gebissenen spricht ja auch der Umstand, daß Gebissene erst nach einer langen Inkubationszeit, die bis zu einem Jahr und darüber dauern kann, an Tollwut erkranken. Während dieser Zeit hat sich das Lyssavirus im Zentralnervensystem aufgehalten, ohne krankhafte Erscheinungen zu machen. Die Erfahrung hat nun gelehrt, daß die Tollwut mit Vorliebe dann zum Ausbruch kommt, wenn der Organismus einer starken Schädigung in der Inkubationszeit ausgesetzt ist. Unter diesen Schädigungen verstehen wir einmal solche nervöser Art, z. B. heftige seelische Aufregungen oder Unfälle, die auf das Zentralnervensystem eingewirkt haben (Kopftrauma), andrerseits solche allgemein somatischer Natur, wie starke Erkältungen, körperliche Überanstrengungen, kurz alle Momente, die geeignet sind, die Widerstandsfähigkeit des Körpers herabzusetzen.

Die während oder kurz nach der Schutzimpfung auftretenden nervösen Erscheinungen sind in Anbetracht der großen Zahl der vorgenommenen Schutzimpfungen große Seltenheiten. Hunderte von Patienten überstehen die Impfung, ohne daß sich Störungen bei ihnen bemerkbar machen. Nur ganz vereinzelt kommt es einmal zu einer Lähmung der Extremitäten oder der Gesichtsmuskulatur; liegt in solchem Falle nicht die Möglichkeit vor, daß noch irgend eine andere unbekannte Schädlichkeit mitwirkt, um das Passagevirus, welches wir dem Impfling einverleiben, aggressiv zu machen?

Es ist bekannt, daß das Rückenmark der Passagekaninchen, die zur Herstellung des Impfstoffes dienen, nicht immer steril ist. Es sind neben dem Wutvirus noch andere Keime im Mark enthalten. Auf welche Weise diese Keime in die experimentell mit Wutvirus infizierten Tiere

hineingelangen, soll hier zunächst außer Betracht bleiben. Ist aber einmal das Rückenmark eines mit Wutvirus geimpften Tieres bakteriell verunreinigt, dann gelangen mit der Einspritzung des Wutmarkes diese Keime in den Organismus des Impflings, und es ist die Möglichkeit vorhanden, daß diese Begleitbakterien unter Umständen das Passagevirus beeinflussen oder die Widerstandsfähigkeit des Patienten derart herabsetzen können, daß eine Erkrankung des Nervensystems die Folge ist.

Über die bakterielle Verunreinigung des Zentralnervensystems der Passagetierte wissen wir sehr wenig. Daher schien es von Wichtigkeit, zu dieser Frage Stellung zu nehmen. Auf Anregung von Herrn Prof. Jos. Koch habe ich eine Anzahl von Untersuchungen angestellt, um zu prüfen:

1. wie häufig das Rückenmark der mit Passagevirus experimentell infizierten Kaninchen bakteriell verunreinigt ist,
2. um welche Bakterien es sich dabei handelt,
3. ob diese Keime pathogen sind,
4. auf welche Weise die bakterielle Verunreinigung zustande kommt.

Zum Nachweis der Keime im Rückenmark passagewutkranker Tiere habe ich getrocknetes, frisches und glyzerinisiertes Mark benutzt. Zur täglichen Schutzimpfung der Patienten gebrauchen wir, wie bereits erwähnt, Mark, das nach dem Pasteurschen Verfahren 1 bis 5 Tage lang getrocknet ist.

Es sei hier die Herstellung des Impfstoffes kurz wiedergegeben:

Das mit Passagewut geimpfte Kaninchen wird in der Agonie getötet und enthäutet, das Rückenmark nach der von Oshida angegebenen Methode steril entnommen und im Brutschrank bei 22° in Flaschen über Ätzkali getrocknet. Nach 1 bis 5 tägiger Trocknung wird 1 cm Mark mit 5 cm physiologischer Kochsalzlösung unter aseptischen Maßnahmen zu einer äußerst feinen Emulsion verrieben. Gebrauchsfertig stellt sie eine weißgraue, vollkommen undurchsichtige Flüssigkeit dar, in der gröbere Partikel nicht mehr vorkommen dürfen.

Die Keimfreiheit des Markes wird in der Weise geprüft, daß ein Stückchen, etwa $\frac{1}{2}$ cm, in gewöhnlicher Nährbouillon im Brutschrank von 37° bebrütet wird. Bleibt die Bouillon nach 24 Stunden klar, so wird das Mark zur Herstellung von Impfstoff benutzt, auch dann noch, wenn eine ganz schwache Trübung der Bouillon eintreten sollte. Trübt sie sich erheblich, so wird das Mark nicht verwendet. Schon durch diese Prüfung läßt sich nachweisen, daß das Kaninchenrückenmark außer dem Wutvirus, das bisher nicht züchtbar ist, in vielen Fällen Mischbakterien enthält. Der Prozentsatz des nicht gebrauchsfähigen Markes schwankt sehr. Immerhin ist bei dieser Art Prüfung auf Keimfreiheit etwa $\frac{1}{6}$ der

Marke zur Herstellung von Impfstoff unbrauchbar, in der heutigen Zeit, in welcher Kaninchen teuer sind, ein erheblicher Verlust.

Die Prüfung auf Keimfreiheit des Markes durch Bebrütung in Bouillon beantwortet nun zwar die Frage, ob das Mark überhaupt durch Mischbakterien verunreinigt ist, über die Zahl der Bakterien jedoch und über die Größe der Verunreinigungen gibt sie keinen Aufschluß. Wir haben daher die Prüfung in der Weise vorgenommen, daß wir 1 bis 2 Tropfen der gebrauchsfähigen Emulsion auf feste Nährböden brachten und mit dem Spatel gleichmäßig über die Oberfläche der Platten verteilten. Da anzunehmen war, daß manche Mischbakterien einen elektiven Nährboden zum Wachstum benötigten, so haben wir nicht nur gewöhnliche Agarplatten, sondern auch Aszites- und Drigalski-Nährböden verwendet. Mit dieser Versuchsanordnung haben wir die Prüfung auf Keimgehalt 30 Tage durchgeführt und zwar die Prüfung des getrockneten, des frischen und des glyzerinisierten Rückenmarkes an Passagewut verendeter Kaninchen. Das Wachstum von Keimen haben wir durch + bezeichnet, die Keimfreiheit durch —, wobei + (schwaches Wachstum) einen Keimgehalt bis 50 Kolonien, ++ (mittelstarkes Wachstum) 50 bis 1000, +++ (starkes Wachstum) unzählbare Kolonien bedeuten.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß das Kaninchenmark der Passagetierte außerordentlich häufig Mischbakterien enthält und die Zahl der gewachsenen Kolonien in vielen Fällen eine beträchtlich große ist. Fälle, in denen aus einem Tropfen Markemulsion unzählbare Kolonien aufgingen, gehörten keineswegs zu den Seltenheiten. Weiter haben die Versuche gezeigt, daß manche Mischbakterien in der Tat elektiv wachsen. Denn es ist öfter vorgekommen, daß Drigalski-Platten steril blieben, während die mit derselben Emulsion beschickten Agar- oder Aszitesplatten Wachstum zeigten.

Im folgenden sei die Versuchstabelle der ersten Serie: Prüfung des Keimgehaltes der täglichen gebrauchsfertigen und zur Impfung verwendeten Markemulsion aufgeführt (s. Protokoll I):

Aus dieser Tabelle ist das Ergebnis der Prüfung ohne weiteres zu erkennen. Der Prozeß der Trocknung scheint auf den Keimgehalt der Mischbakterien keinen wesentlichen Einfluß auszuüben. Von vornherein war anzunehmen, daß das länger getrocknete Mark, z. B. 5 tages, weniger Keime enthalten sollte, als das kürzere Zeit getrocknete. Die Tabelle zeigt jedoch, daß die Zahl der Keime im 5 tages Mark der in dem kürzer getrockneten Mark nicht nachsteht. Ja, es drängt sich sogar die Frage auf, ob der Prozeß der Trocknung nicht eher

Protokoll I.

(Getrocknetes, zur täglichen Impfung verwendetes Mark.)

— = 0 Keime; kein Wachstum.
 + = bis 50 Keime; schwaches Wachstum.
 ++ = 50 bis 1000 Keime; mittelstarkes Wachstum.
 +++ = über 1000 Keime; starkes Wachstum.

Tag des Ausstriches	Alter des Markes	Agar	Aszites-Agar	Drigalski	Tag des Ausstriches	Agar	Aszites-Agar	Drigalski
1. VI. 1919	1	+	+++	—	9. VI. 1919	+	+	+
	2	+	+++	—		+++	+++	+++
	3	+	+	—		+	+	—
	4	+++	+++	+++		+	+	—
	5	+	+	++		++	++	+
2. VI.	1	+	—	—	10. VI.	+	+	—
	2	—	+++	+		+	+	—
	3	+	++	—		+	+	+
	4	++	+	—		—	+	—
	5	+	+	+		—	+	—
3. VI.	1	+	+	—	11. VI.	+	+	+
	2	++	++	++		+	+++	—
	3	+	+	—		—	—	—
	4	+	++	+		+++	+++	+++
	5	+	+	—		+	++	+
4. VI.	1	—	—	—	12. VI.	—	—	—
	2	++	+++	++		—	—	—
	3	—	—	—		—	—	—
	4	++	++	—		—	—	—
	5	+	+	—		—	—	—
5. VI.	1	+	+	—	13. VI.	+	—	+
	2	—	++	—		—	—	—
	3	+	—	—		++	++	—
	4	+++	+++	—		++	++	—
	5	+	++	—		+	+	—
6. VI.	1	++	++	++	14. VI.	+	+	+
	2	+	++	—		—	—	—
	3	+	+++	+++		+	+	—
	4	—	—	—		—	—	—
	5	+	+	+		+	+	—
7. VI.	1	++	+++	++	15. VI.	—	—	—
	2	+	+	—		—	—	—
	3	+	+++	++		—	—	—
	4	—	—	—		—	—	—
	5	+	+	+		—	—	—
8. VI.	1	—	+	—	16. VI.	+	—	—
	2	+	+	+		+	+	+
	3	+	+	—		—	—	—
	4	—	+	—		++	++	++
	5	+	+	—		+	++	++

Protokoll I (Fortsetzung).

Tag des Ausstriches	Alter des Markes	Agar	Aszites-Agar	Drigalski	Tag des Ausstriches	Agar	Aszites-Agar	Drigalski
17. VI. 1919	1	+	—	—	24. VI.	—	+	—
	2	+	+++	+++		+++	+++	+++
	3	—	++	—		++	++	++
	4	++	++	—		—	—	—
	5	+	+	—		+	+	+
18. VI.	1	++	++	++	25. VI.	+	—	—
	2	—	—	—		++	+++	++
	3	+	++	+		+	+	—
	4	—	—	—		++	++	+
	5	—	—	—		++	+	+
19. VI.	1	—	—	—	26. VI.	—	—	—
	2	+	—	—		—	—	—
	3	—	—	—		++	+	—
	4	+	—	++		—	—	—
	5	+	—	—		+	++	—
20. VI.	1	+	—	—	27. VI.	+	+	+
	2	+	—	—		—	++	—
	3	+	+	—		++	++	++
	4	+	+	—		+	—	—
	5	—	—	—		+	++	+
21. VI.	1	—	—	—	28. VI.	++	+	+
	2	—	—	—		+	—	++
	3	—	—	—		++	—	—
	4	—	—	—		+++	+++	+++
	5	—	—	—		+	++	—
22. VI.	1	—	+	—	29. VI.	+	+	+
	2	—	+	—		+	+	++
	3	—	+	—		—	—	—
	4	—	—	—		+	+++	+++
	5	—	+	—		—	++	—
23. VI.	1	+	+	+	30. VI.	+	+++	—
	2	+	—	—		—	+++	—
	3	+	—	—		+	++	—
	4	++	+++	++		—	+++	—
	5	+	+	+		+	+	—

eine Anreicherung als Abschwächung der Keime zur Folge habe. Jedoch sind hier noch weitere Untersuchungen nötig, um diese Frage befriedigend zu klären.

Um festzustellen, ob der Keimgehalt des frischen Markes von dem des getrockneten sich unterscheidet, haben wir eine neue Versuchsserie mit frischem Mark nach derselben Versuchsanordnung und von gleicher

Zeitdauer angestellt. Bei dieser Versuchsserie haben wir noch einen vierten Nährboden verwendet, einfache Bouillon, wobei sich ergab, daß die Bouillon im allgemeinen steril blieb, während die festen Nährböden Wachstum zeigten. Die Aussaat in Bouillon allein genügt also nicht, um die Keimfreiheit des Rückenmarkes von Passagetieren nachzuweisen. Bei etwa $\frac{1}{6}$ der Rückenmarke zeigte die Bouillon eine so starke Trübung, daß eine Verwendung dieses Markes für die Schutzimpfung nicht in Betracht kommen konnte. Die betreffende Tabelle sei hier mitgeteilt.

Protokoll II. (Frisches Mark.)

Tag des Ausstriches	Agar	Aszites-Agar	Drigalski	Bouillon	Verwendung des Markes
22. X. 1919	+	+	—	klar	brauchbar
23. X.	—	—	—	"	"
24. X.	+	++	+	stark getrübt	unbrauchbar
30. X.	+	+	—	klar	brauchbar
31. X.	—	+	—	"	"
1. XI.	+	++	—	"	"
3. XI.	+++	+++	+	stark getrübt	unbrauchbar
4. XI.	—	++	—	schwach getrübt	brauchbar
5. XI.	+	+	—	klar	"
6. XI.	+	+	—	"	"
8. XI.	+	+	—	"	"
10. XI.	—	—	—	"	"
11. XI.	—	—	—	"	"
12. XI.	+++	+++	+	stark getrübt	unbrauchbar
13. XI.	+	+	—	klar	brauchbar
14. XI.	—	—	—	"	"
15. XI.	+	+	+	"	"
17. XI.	+	—	—	"	"
18. XI.	++	+	—	schwach getrübt	"
19. XI.	—	+	++	" "	"
20. XI.	+	+	—	klar	"
21. XI.	+	++	+	schwach getrübt	"
22. XI.	+	+	—	klar	"
28. XI.	+	+++	++	stark getrübt	unbrauchbar
29. XI.	—	+	—	klar	brauchbar
1. XII.	—	+	—	"	"
2. XII.	+	+	+	"	"
3. XII.	—	+	—	"	"
4. XII.	++	+++	+	stark getrübt	unbrauchbar
5. XII.	—	—	—	klar	brauchbar

Im Vergleich zu der vorigen Versuchsserie ist ein wesentlicher Unterschied nicht vorhanden. So viel geht jedoch aus den vergleichenden Versuchen hervor, daß der Prozeß der Trocknung den Keimgehalt des Markes der Passagetierte nicht erheblich beeinflußt.

Eine dritte Versuchsreihe haben wir mit getrocknetem und sodann in Glycerin aufbewahrtm Rückenmark angestellt. Bekanntlich ist von einigen Untersuchern behauptet worden, daß durch die Aufbewahrung von Rückenmark in Glycerin etwa darin vorhandene Bakterien abgetötet werden. Für diese Methode ist besonders Calmette eingetreten. Er benutzte Glyc. pur. von 30° Beaumé, das absolut neutral reagiert, da nach seiner Ansicht in saurem oder alkalischem Glycerin das Virus eine schnellere Abschwächung erfahren soll. Die Dauer der Glycerineinwirkung gibt er auf 3 bis 14 Tage an. Nach der Entnahme der Markstückchen aus dem Glycerin werden dieselben zwischen sterilem Flißpapier getrocknet und dann in physiologischer Kochsalzlösung verrieben.

Die Nachprüfung dieses Verfahrens Calmettes hat das in folgender Tabelle zum Ausdruck gebrachte Ergebnis: (s. Protokoll III.)

Vergleicht man die Ergebnisse der Versuche des Glycerinmarkes mit denen des frischen und getrockneten, so ergibt sich, daß eine Keimfreiheit durch diese Art der Konservierung nicht erzielt wird. Auch hier begegnen wir Rückenmarken, aus denen nicht mehr zählbare Kolonien von Mischbakterien gezüchtet werden konnten. Im allgemeinen ist aber der Keimgehalt des Glycerinmarkes ein geringerer; steriles Mark findet sich häufiger als bei den Versuchen mit dem getrockneten Mark. Vorteilhaft erscheint auch bei der Glycerinverwendung die durch die konservierende Wirkung des Glycerins bewirkte Möglichkeit, größere Reserven von Marksorten verschiedenen Alters aufzuheben, um so für einen plötzlichen Andrang von verletzten Personen, wie es zuweilen vorkommt, gerüstet zu sein, und vorteilhaft erscheint auch die hiermit verbundene Ersparnis an Tieren; im besonderen könnten die Sterilitätsproben, die in den deutschen Instituten regelmäßig gemacht werden, mindestens 3 Tage anstatt eines Tages wie bisher beobachtet werden, da das Mark erst frühestens nach dreitägigem Aufenthalt in Glycerin zur Verimpfung gelangt. Demgegenüber ist aber bei dem Glycerinverfahren die Möglichkeit nicht außer Acht zu lassen, daß mit den Bakterien zugleich auch die Wuterreger abgeschwächt bzw. teilweise abgetötet werden können. Zur Konservierung der Vakzine wird Glycerin allgemein verwendet, es ist aber nachgewiesen, daß hierbei das Vakzinevirus beträchtlich geschädigt wird.

Wir kommen zur zweiten Aufgabe unserer Untersuchungen, welcher Art die Keime sind, die in den Wutmarken angetroffen werden.

Protokoll III.
(Getrocknetes, in Glyzerin eingelegtes Mark.)

Tag des Ausstriches	Alter des Markes	Agar	Aszites-Agar	Drigalski	Tag des Ausstriches	Agar	Aszites-Agar	Drigalski
1. X. 1919	1	+	+	—	20. X.	+	+	—
3 Tage in Glyzerin	2	+	—	—	12 Tage in Glyzerin	—	+	—
	3	—	+	—		+	+	—
	4	—	+	—		—	—	—
	5	—	+	—		++	++	—
3. X.	1	—	—	—	22. X.	+++	+++	+++
4 Tage in Glyzerin	2	+++	+++	+	13 Tage in Glyzerin	+++	+++	+++
	3	+	—	—		+++	+++	+++
	4	++	++	—		+++	+++	+++
	5	—	—	—		++	++	—
5. X.	1	—	—	—	24. X.	—	—	—
5 Tage in Glyzerin	2	—	—	—	14 Tage in Glyzerin	—	+	+
	3	—	—	—		+	+	—
	4	—	—	—		—	+	—
	5	—	—	—		+	—	—
7. X.	1	—	—	—	9. XI.	—	+	—
6 Tage in Glyzerin	2	—	—	—	3 Tage in Glyzerin	+	+	—
	3	—	—	—		—	—	—
	4	—	—	—		+	+++	—
	5	—	—	—		+	+++	—
9. X.	1	++	—	—	11. XI.	+++	+++	—
7 Tage in Glyzerin	2	+	—	—	4 Tage in Glyzerin	+	—	—
	3	—	—	—		—	—	—
	4	+	+	—		+	—	—
	5	+++	+++	—		—	+++	—
12. X.	1	+	+	—	13. XI.	+	+	—
8 Tage in Glyzerin	2	—	+	—	5 Tage in Glyzerin	+++	+++	+++
	3	—	+	—		+++	+++	+++
	4	++	—	—		—	+++	+++
	5	+	++	—		++	+++	++
14. X.	1	+	+	++	15. XI.	—	—	—
9 Tage in Glyzerin	2	+	+	—	6 Tage in Glyzerin	+	+	—
	3	—	+	++		+	+	—
	4	+	+	—		+	++	+
	5	—	—	++		+	+	+
16. X.	1	+	++	—	17. XI.	—	++	++
10 Tage in Glyzerin	2	—	—	—	7 Tage in Glyzerin	—	—	++
	3	—	—	—		+	+++	+++
	4	+	—	—		+	—	+
	5	—	+	—		+	—	—
18. X.	1	—	—	—	19. XI.	—	—	—
11 Tage in Glyzerin	2	+	—	+	8 Tage in Glyzerin	—	—	—
	3	+	++	++		—	—	—
	4	+	+	+		—	—	—
	5	+	+	+		—	—	—

Protokoll III (Fortsetzung).

Tag des Ausstriches	Alter des Markes	Agar	Aszites-Agar	Drigalski	Tag des Ausstriches	Agar	Aszites-Agar	Drigalski
20. XI.	1	+	—	—	26. XI.	—	—	—
9 Tage in Glycerin	2	++++	++	++	12 Tage in Glycerin	—	—	—
	3	+	—	—		+	—	—
	4	+	—	—		++++	++++	+
	5	—	—	—				
22. XI.	1	—	—	—	28. XI.	—	—	—
10 Tage in Glycerin	2	—	—	—	13 Tage in Glycerin	—	—	—
	3	—	—	—		—	—	—
	4	—	—	—		—	—	—
	5	—	—	—		—	—	—
24. XI.	1	+	—	—	30. XI.	—	—	—
11 Tage in Glycerin	2	—	+	—	14 Tage in Glycerin	++++	++++	—
	3	+	+	—		—	—	—
	4	—	—	—		—	—	—
	5	+	+	+		—	—	—

Am häufigsten fanden wir Kokken und Stäbchen verschiedener Größe und Form, beweglich und unbeweglich, Sarcine, einige in die Koligruppe gehörende Bakterien, mehrfach Sporenbildner. Besondere Aufmerksamkeit haben wir den Streptokokken geschenkt, die wir vereinzelt in unseren Versuchen angetroffen haben.

Es war wichtig festzustellen, ob diese Streptokokken zu den pathogenen Streptokokkenarten gehörten. Im Tierversuch bei Mäusen zeigten sie niemals eine pathogene Wirkung. Sämtliche infizierten Tiere blieben am Leben. Es sind wohl demnach die Befürchtungen, daß wir mit den Markemulsionen, abgesehen von dem Wuterreger selbst, pathogene Keime dem zu Immunisierenden einverleiben, hinfällig. Diese Erkenntnis deckt sich übrigens auch vollkommen mit den praktischen Erfahrungen, daß bisher Allgemeininfektionen, die durch tierpathogene Bakterien verursacht worden, nicht beobachtet sind. Als ganz harmlose Keime sind jedoch diese Mischbakterien nicht anzusehen, denn die bei dem Impfling auftretenden lokalen Entzündungserscheinungen, welche wir bei einer Anzahl unserer Patienten beobachten, sind wohl auf die Einspritzung von Mischbakterien zurückzuführen. Die Schädigungen bestehen darin, daß sich an der Stelle des Impfdepots Infiltrate mit Rötung und Schmerzhaftigkeit bilden und allgemeines Schwäche- und Mattigkeitsgefühl sich einstellt. Die Körpertemperatur ist dabei zuweilen erhöht. In ganz vereinzelt Fällen (seit 1916 d.ermal) ist es an der Impfstelle zu einer Abszeßbildung gekommen. Seitdem jeder

Patient mit einer frisch sterilisierten Kanüle geimpft wird, gehören derartige Abszesse allerdings zu den größten Seltenheiten.

Sind also die Schädigungen, die der Patient durch die Einverleibung von Mischbakterien mit der Markemulsion unter Umständen erfährt, im allgemeinen nur gering anzuschlagen, so fragt es sich doch, ob diese Mischbakterien nicht dann und wann die Neigung zu einer Impflyssa verstärken können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß eine derartige Mischinfektion die Angriffskraft des Wutvirus auf das Zentralnervensystem erhöhen und das Wutvirus bei dafür veranlagten Personen virulenter machen kann (Jos. Koch).

So notwendig auch diese Überlegungen über die Schädlichkeit der Mischbakterien im Rückenmark der Passagetierte sind, wichtiger vom praktischen Standpunkt ist die Frage, auf welche Weise die bakterielle Verunreinigung zustande kommt und wie sie verhütet werden kann.

Zuerst ist die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß die subdural mit Wutvirus infizierten Tiere während ihrer Krankheit auch einer akzidentellen Infektion unterliegen können, etwa der Kaninchenseuche oder einer Coccidiose und anderen Erkrankungen parasitärer Natur, die zu einer bakteriellen Verunreinigung des Nervensystems Veranlassung geben. Gar nicht so selten treten bekanntlich Darmerkrankungen unter den Tieren auf, deren Ursache zumeist in einseitiger oder zu reichlicher Fütterung, wie Rüben oder Grünfutter, zu suchen ist.

Diese akzidentellen Infektionskrankheiten sind jedoch nach unserer Ansicht nicht die hauptsächliche Ursache für die bakterielle Verunreinigung des Rückenmarkes der Passagetierte. Wir müssen vielmehr annehmen, daß ein anderer Infektionsmodus hier in Frage kommt, nämlich die Überschwemmung des Organismus mit Bakterien des Verdauungskanalns in der Agonie, wenn die bakteriziden Kräfte des lebenden Organismus vermindert sind, Bakterien aus dem Darmkanal in die allgemeine Zirkulation geraten und alsdann mit dem Blut in die verschiedenen Organe getragen werden.

Wie lassen sich nun derartige Zustände vermeiden?

Zunächst wird es notwendig sein, nur gesunde und kräftige Kaninchen zur Markbereitung zu verwenden. Zweckmäßig erscheint es, die Tiere vorher einer Quarantäne zu unterwerfen, um ihren Gesundheitszustand überwachen zu können.

Auf die Regelung der Futtermittelverhältnisse ist Wert zu legen, damit Darmerkrankungen verhütet werden.

Der Tod der Tiere an Wut darf nicht abgewartet werden. Sie müssen vielmehr vor Beginn der Agonie getötet werden, um eine Einwanderung der Bakterien aus dem Darmkanal in die Blutbahn zu verhüten.

Wir sind uns bewußt, daß damit nicht alle Fehlerquellen vermieden werden. Unsere Aufgabe wird es bleiben, nach besseren Methoden der Schutzimpfung zu suchen.

Schlußsätze.

Meine Untersuchungen über den Bakteriengehalt des Wutmarkes ergaben die bemerkenswerte Tatsache, daß das frische, getrocknete und glyzerinisierte Rückenmark der Passagetierte sehr häufig zahlreiche Mischbakterien enthält.

Zwischen dem Keimgehalt des frischen und des getrockneten Markes besteht im großen und ganzen kein wesentlicher Unterschied; durch den Prozeß der Trocknung wird der Keimgehalt des Markes kaum beeinflusst. Durch seine Aufbewahrung in Glycerin wird eine Keimfreiheit nicht erzielt, immerhin ist der Keimgehalt des Glycerinmarkes ein geringerer.

Die im Wutmark anzutreffenden Keime sind verschiedener Art, z. B. Sarzine, Kokken, darunter Streptokokken, Stäbchen, unter diesen solche, die zur Koligruppe zu rechnen sind, sowie Sporenbildner.

Die im Tierversuch gezüchteten Streptokokkenstämme erwiesen sich in keinem Falle als pathogen.

Als ganz harmlose Keime darf man die in den Wutmarken vorkommenden Mischbakterien aber nicht ansehen. Die sich an der Stelle des Impfdepots bildenden Rötungen und Infiltrate, welche man vielfach als eine Anaphylaxieerscheinung aufgefaßt hat, sind wohl als Folge dieser Mischbakterien aufzufassen.

Es liegt die Möglichkeit vor, daß die mit dem Wutvirus dem Impfling einverleibten Mischbakterien das Passagevirus aggressiv machen.

Literaturverzeichnis.

Koch, Jos., Lyssa. *Handbuch d. pathog. Mikroorg.* von Kolle-Wassermann. Jena 1913. Verlag Fischer.

Derselbe, Über die Entstehung der akuten Paraplegie nach Lyssa-infektion. *Centr. f. Bakt.* I. Abt. Orig. 1912. Bd. LXIV.

Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 91.

- Babes, *Traité de la Rage*. Paris 1912. Baillière et fils.
- v. Frisch, *Die Behandlung der Wutkrankheit*. Wien 1887. Seidel & Sohn.
- Heller, *Die Schutzimpfung gegen Lyssa*. Jena 1906. Gustav Fischer.
- Kraus, *Über Methoden der Schutzimpfung gegen Lyssa*. Bd. I.
- Müller, Ed., *Über akute Paraplegien nach Wutschutzimpfungen*. *Deutsche Zeitschrift f. Nervenheilkunde*. 1908. Bd. XXXIV.
- Paltauf, *Zur Pathologie der Wutkrankheit beim Menschen*. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1909. No. 29.
- Papamarku, *Wutschutzimpfung und Paraplegien*. *Diese Zeitschrift*. Bd. LXXXVI.
- Remlinger, *Accidents paralytiques au cours du traitement antirabique*. *Ann. de l'Institut Pasteur*. 1905. T. XIX. p. 625.
- Derselbe, *Contribution à l'étude de la toxine rabique; faits expérimentaux et faits cliniques*. *Compt. rend. soc. biol.* 1904. No. 8. p. 346.
- Rodet et Galavjelle, *Influence du séjour prolongé dans la glycérine sur le virus rabique*. *Compt. rend. soc. biol.* 1902.
- Roux, *Accidents nerveux chez les personnes mordues par un chien enragé, soumises aux inoculations pasteuriennes*. *Prov. méd.* 1898.
- Simon, *Über Lähmungen im Verlauf der Tollwutschutzimpfung*. *Centr. f. Bakt. Orig.* 1913. Bd. LXVIII.
- Viala, *Les vaccinations antirab. à l'Institut Pasteur*. *Ann. d. l'Institut Pasteur*. 1900—1912.
-