

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

Untersuchungen über Superinfektion.

Von

Dr. Bruno Lange,

Assistent am Institut.

In neuerer Zeit sind — besonders durch Morgenroth — gewisse Probleme aus dem Gebiet der Immunitätsforschung wieder in den Vordergrund gestellt worden, deren Einordnung in die herrschenden Systeme auf den ersten Blick schwer möglich zu sein scheint, die aber einer experimentellen Bearbeitung zugänglich sind. Es handelt sich vor allem um das Problem der sog. Durchseuchungsresistenz, der Resistenz chronisch kranker Tiere gegen Superinfektion.

Die Erscheinungen der Superinfektion sind besonders an der Tuberkulose und der Syphilis studiert worden, also an Infektionen von ausgesprochen chronischem Charakter. Morgenroth, Biberstein und Schnitzer¹⁾ haben dann die Superinfektion mit Streptokokken einer experimentellen Untersuchung unterworfen und dabei auf den engen Zusammenhang dieser Frage mit einer zweiten, nämlich der nach den Bedingungen der Entstehung chronischer Infektionen überhaupt und dem zeitlichen Ablauf der Immunitätsreaktion hingewiesen.

Sieht man die ältere Literatur daraufhin durch, so findet man eine Reihe von Beobachtungen, die wohl bereits dafür sprechen, daß eine Immunität gegen Superinfektion sich nicht nur bei den chronischen Infektionskrankheiten, Tuberkulose, Syphilis, Texasfieber, Trypanosomenkrankheiten, Malaria, sondern unter Umständen auch gegenüber Bakterien, die sonst als Erreger akuter Infektionen gelten, wie Hühnercholera (Schweineseuche) und Paratyphus (Mäusetyphus-, Schweinepestbacillen) nachweisen läßt; die Bedingung dafür scheint nur die zu sein, daß gegen den Infektionserreger bei der betreffenden Tierart eine gewisse, aber unvollständige Immunität sich ausbildet. Solche Beobachtungen sind u. a. in den Arbeiten von Kutscher und Meinicke²⁾, Citron³⁾, Wolf⁴⁾ enthalten. Z. T. ist dabei ausdrücklich angegeben, daß die betr. Tiere, als sie auf Immunität geprüft wurden,

¹⁾ Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 13.

²⁾ Dies. Zeitschr. **52**, 301.

³⁾ Dies. Zeitschr. **53**, 515.

⁴⁾ Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 270.

noch chronisch infiziert waren, in anderen Fällen ist es wenigstens als wahrscheinlich anzunehmen, daß die Erstinfektion zu einer chronischen Erkrankung geführt hatte.

Eine Klärung der recht komplizierten Erscheinungen der Durchseuchungsresistenz und der chronischen Infektion ist nur von umfangreichen experimentellen Untersuchungen zu erhoffen. Das Ziel aller derartiger Untersuchungen muß letzten Endes sein, diese Erscheinungen unseren allgemeinen Vorstellungen vom Wesen der Infektion und der Immunität einzuordnen.

Die vorliegenden Untersuchungen sind auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Neufeld ausgeführt worden; sie sollen zunächst zur Frage der Superinfektion weiteres Tatsachenmaterial liefern.

1. Superinfektionsversuche mit Hühnercholera an Meerschweinchen.

Morgenroth und seine Mitarbeiter haben gezeigt, daß an chronischer Streptokokkeninfektion kranke Mäuse einen gewissen Schutz gegenüber einer Superinfektion mit virulenten Streptokokken besitzen.

Dieser Schutz ist bereits 24 bis 48 Stunden nach der Erstimpfung nachweisbar. Die „Depressionsimmunität“ kann sich sowohl primär darin zeigen, daß die Infektion gesunder Tiere mit Streptokokken nicht zu akuter Sepsis, sondern zu einer chronischen Erkrankung führt. Andererseits tritt sie bei der Nachinfektion bereits chronisch kranker Tiere als Umwandlung der schweren, sonst zu akuter Sepsis führenden in eine mildere von chronischer Erkrankung gefolgte Infektion in Erscheinung.

Es lag nahe, das sich hier dokumentierende Gesetz auch für andersartige Infektionen nachzuweisen. Morgenroth selbst weist auf die Beziehungen dieser Erscheinungen zur Tuberkulose hin.

Von Berliner und Citron¹⁾ sind in Anlehnung an die Morgenrothschen Experimente Versuche mitgeteilt worden, die ein analoges Verhalten bei der Superinfektion des Meerschweinchens mit Hühnercholera bacillen zu erweisen scheinen.

Die Autoren nehmen an, daß unter gewissen Bedingungen an Hühnercholera chronisch erkrankte Meerschweinchen gegen eine für gesunde Tiere akut tödliche Infektion mit Hühnercholera bacillen geschützt sind. Die Tiere wurden subcutan vorinfiziert, die Nachinfektion erfolgte intraperitoneal nach 24 Stunden. Leider fehlt in dem einzigen diese Immunität erweisenden Versuch die Kontrolle der Virulenz der zur Nachimpfung verwandten Kultur. Jedenfalls ist der Versuch ohne solche Kontrolle wiedergegeben.

Die Bedingungen, Versuchstiere auf Schutz gegen Superinfektion zu prüfen, liegen für die Hühnercholerainfektion des Meerschweinchens

¹⁾ Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 36.

deswegen besonders günstig, weil wir imstande sind, mit der gleichen hochvirulenten Kultur, je nachdem wir subcutan oder intraperitoneal impfen, die Tiere chronisch (subakut) oder akut tödlich zu infizieren.

Zu den folgenden Versuchen wurde eine im Institut seit einigen Jahren fortgezüchtete Hühnercholerakultur benutzt. Die Kultur stammt von einem spontan an Hühnercholera verendeten Huhn, hatte danach zur Erhaltung ihrer Virulenz mehrfache Hühnerpassagen durchgemacht, Anfang Oktober 1920, kurz vor Beginn unserer Versuche, drei Meerschweinchenpassagen. Die Bouillonkulturen verschiedener Abimpfungen sind quantitativ nicht ohne weiteres vergleichbar. Ich habe deshalb in späteren Versuchen Blutagarkulturen an Stelle von Bouillonkulturen benutzt. Diese lassen sich gut verreiben, und die Dosierung ist eine genauere.

Die Virulenz der verwandten Kulturen war eine gute und hielt sich auch während der Versuche einigermaßen konstant. $\frac{1}{100}$ Öse in 1 ccm oder 1 ccm Bouillonkultur in Verdünnung 1 : 100 (24stündige Kultur) tötete sk. Meerschweinchen noch akut in 2 Tagen, $\frac{1}{1000}$ Öse bzw. $\frac{1}{1000}$ ccm Bouillon erzeugte sk. verimpft ein meist über haselnußgroßes druckempfindliches Infiltrat, an dem die Tiere gewöhnlich nach 10—20 Tagen unter den Erscheinungen allgemeiner Sepsis eingingen. Gaben unter $\frac{1}{1000}$ Öse sk. machten noch Infiltrate, die Tiere überlebten aber meist. Bei ip. Verimpfung tötete noch $\frac{1}{100\,000}$ Öse bzw. $\frac{1}{100\,000}$ ccm Bouillonkultur Meerschweinchen akut nach 24—48 Stunden. Die Tiere zeigten bei der Sektion eine schwere eitrig-fibrinöse Peritonitis. $\frac{1}{1}$ Millionstel Öse bzw. ccm Bouillon tötete ip. nicht mit Sicherheit.

Bei den Versuchen machte sich störend bemerkbar, daß die Resistenz der Meerschweinchen der Hühnercholerainfektion gegenüber nicht ganz unbeträchtlichen Schwankungen unterliegt. Wenigstens bei der von uns benutzten Kultur ist es vorgekommen, daß ein ip. mit $\frac{1}{10\,000}$ Öse geimpftes Tier am Leben blieb, während das mit $\frac{1}{100\,000}$ Öse der gleichen Kultur geimpfte Tier akut starb.

Diese Beobachtung rechtfertigt für sich schon eine gewisse Skepsis Ergebnissen gegenüber, die eine Immunität von Meerschweinchen gegen Infektion mit kleinsten Mengen Hühnercholeraabacillen darzutun scheinen.

In den drei nachfolgenden Versuchen führte ich die sk. Erstinfektion teils an der Bauchhaut, teils am Rücken bzw. am Nacken aus, die ip. Nachimpfung geschah 24—48 Stunden danach mit der zehnfach tödlichen Dosis.

Im ersten Versuch der Tabelle starben die beiden vorbehandelten Tiere 1 bzw. 2 Tage später als das Kontrolltier; man könnte also auf eine gewisse Verzögerung des Krankheitsverlaufes schließen. Im zweiten Versuch verhalten sich von vier vorbehandelten Tieren drei wie die Kontrollen. Das vierte Meerschweinchen stirbt erst 28 Tage nach der Erstinfektion (26 Tage nach der zweiten) und zwar nach dem Sektionsbefund augenscheinlich an den Folgen der ersten (subcutanen) Infektion. Die Sektion ergab nämlich ausgedehnte Gewebse Nekrosen der Nackengegend und nur Zeichen einer beginnenden Peritonitis. Im dritten Versuch starben sämtliche drei vorbehandelte Tiere akut; eine Kontrolle überlebt die ip. Infektion und geht erst nach 3 Monaten

Tabelle I. Hühnercholerainfektion. Meerschweinchen.

		Vorinfektion sk.	Nachinfektion ip.		Ergebnis
			nach 24 Std.	nach 48 Std.	
1. Versuch.					
Kon- trollen	1	0,001 ccm B. K. (Bauch)	0,0001 ccm B. K.	.	† 2
	2	dgl.	dgl.	.	† 3
	3	dgl.	.	.	† 10
	4		0,0001 ccm B. K.	.	† 1
2. Versuch.					
Kon- trollen	1	0,001 ccm B. K. (Nacken)	0,0001 ccm B. K.	.	† 1
	2	dgl.	dgl.	.	† 2
	3	dgl.	.	0,0001 ccm B. K.	† 1
	4	dgl.	.	dgl.	† 26 Hchol. kult. +
	5	dgl.	.	.) erkrankt; getötet nach 2 Mon. Hchol. kult. = 0
	6	dgl.	.	.	
	7	.	0,0001 ccm B. K.	.	† 2
	8	.	dgl.	.	† 3
	9	.	.	0,0001 ccm B. K.	† 1
	10	.	.	dgl.	† 1
3. Versuch.					
Kon- trollen	1	0,001 Öse (Rücken)	0,0001 Öse	.	† 6 Std.
	2	dgl.	dgl.	.	† 1
	3	dgl.	dgl.	.	† 1
	4	dgl.	.	.	erkrankt, † 11
	5	.	0,0001 Öse	.	† 1
	6	.	dgl.	.	† 1
	7	.	dgl.	.	überlebt. Interkurrent † nach 3 Mon. Hchol. kult. = 0

Bemerkung: Die neben das † gesetzten Zahlen bedeuten bei den vorbehandelten Tieren die Tage nach der Superinfektion, bei den Kontrollen die Tage nach der Infektion. B. K. = Bouillonkultur.

interkurrent ein ohne kulturellen Befund von Hühnercholeraabacillen. Hiernach ist bei dem einen vorbehandelten Tier im vorhergehenden Versuch, das die ip. Superinfektion überstand, ein Zufall wohl nicht auszuschließen.

Demnach ist es mir bei einer Versuchsanordnung, die derjenigen von Berliner und Citron entspricht, nicht gelungen, einen bereits nach 1–2 Tagen auftretenden Schutz chronisch hühnercholerakranker Meerschweinchen gegen Superinfektion nachzuweisen; zum mindesten gelingt ein solcher Nachweis nicht regelmäßig.

Ich habe später die Versuchsmethode verändert, indem ich nicht nur subcutan bzw. intracutan vorbehandelte, sondern auch subcutan oder intracutan nachinfizierte, also eine mildere Zweit-Infektion wählte. Derartige Versuche sind in der Tab. IIa zusammengestellt.

Tabelle IIa.
Hühnercholera-Superinfektionsversuch an Meerschweinchen.
Q. = Quaddel. R. = Hautrötung.

Nr.	Ge- wicht in g	1. Impfung (25. I.)	Erfolg der 1. Impfung (nach 24 Stunden)	2. Impfung (26. I.)	Erfolg der 2. Impfung (nach 24 Stunden)	3. Impfung (29. I.)	Erfolg der 3. Impfung (nach 24 Stunden)	Endergebnis
1	300	0,0001 ¹⁾ intrac.	Q. + R. +	0,001 intrac.	Q. + + R. + +	0,001 intrac.	Q. + + + R. + + +	lebt
2	240	0,0001 sc. (Nacken)	Inf. +	0,002 sc. (Rücken)	Inf. +	0,001 sc. (Bauch)	Inf. + +	lebt
3	320	0,0001 sc. (Nacken)	Inf. ±	0,002 sc. (Rücken)	Inf. + +	0,001 sc. (Bauch)	Inf. + +	überlebt. (Interkurrent † am 20. III. Enteritis Hchol. Kult. O.)
4	290			0,001 intrac.	Q. + + R. + +	0,001 intrac.	Q. + + + R. + + +	1. II. †. Hchol. Kult. + +
5	305			0,002 sc. (Rücken)	Inf. +	0,001 sc. (Bauch)	Inf. +	1. II. †. Hchol. Kult. + +
6	310			0,002 sc. (Rücken)	Inf. + +	0,001 intrac.	Q. + + + R. + + +	26. II. †. Hchol. Kult. +
7	308					0,001 intrac.	Q. + + + R. + + +	überlebt. (Interkurrent † am 3. V. Hchol. Kult. O.)
8	290					0,001 intrac.	Q. + + + R. + + +	überlebt. (Interkurrent † am 25. IV. Hchol. Kult. O.)
9	285					0,001 intrac.	Q. + + + R. + + + +	lebt
10	302					0,001 sc. (Bauch)	Inf. +	überlebt. (Interkurrent † am 12. IV. Hchol. Kult. O.)
11	300					0,001 sc. (Bauch)	Inf. + +	überlebt. (Interkurrent † am 3. V. Hchol. Kult. O.)

¹⁾ = cem 24 stündiger Hchol.-Bouillonkultur.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Infiltrate der Haut und des Unterhautzellgewebes der superinfizierten Tiere sich von denjenigen der Kontrollen weder in bezug auf Größe noch auf Zeit des Auftretens irgendwie unterscheiden.

Die weitere Beobachtung der Tiere ergab zwar in den nächsten Tagen auch keine Verschiedenheiten des Verlaufs der lokalen Entzündung bei vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tieren, die am 25. I. vorgeimpften Tiere Nr. 1 und 2 überstanden aber die schwere intracutane bzw. subcutane Infektion vom 26. I. glatt, das Meerschweinchen 3 ging 2 Monate später ein, jedoch nicht an den Folgen der Hühnercholera (der bakteriologische Befund war negativ, die Infiltrate waren unter starker Bindegewebsbildung zur Ausheilung gekommen). Von den drei Kontrolltieren der Zweitinfektion verendeten zwei akut und das dritte verzögert (nach einem Monat) an der Infektion. Hier ist zweifellos durch die Vorbehandlung ein erheblicher Schutz erreicht worden.

Das Ergebnis ist wohl eindeutig, obwohl die Beurteilung etwas erschwert wird durch die doppelte Superinfektion — der Versuch war zunächst lediglich zur Prüfung der lokalen Reaktionen angestellt, und die Tiere wurden, wie aus der Tab. IIa ersichtlich, einer zweiten Superinfektion am 29. I. unterzogen; diese hatte aber für sich, wie die Kontrollen zeigen, den Tod der Tiere nicht zur Folge.

Ein zweiter Versuch mit zweimaliger Nachinfektion hatte folgendes Ergebnis:

Es wurden am 13. VI. drei Meerschweinchen (M 2184, 2185, 2188) am Nacken sk. infiziert mit 1 ccm Hühnercholera bouillon in Verdünnung 1:10 000. Bei den Tieren traten kleine, etwa bohngroße Infiltrate in der Nackengegend schon nach 24 Stunden auf, bei M 2184 war allerdings nur eine geringe Verdickung des Nackenbandes nachweisbar. Am 15. VI., also 2 Tage später, wurden diese Tiere zugleich mit drei gesunden Tieren gleichen Körpergewichtes (M 2186, 2187, 2189) wiederum sk., diesmal am Rücken mit 0,5 ccm Hühnercholera kultur 1:100 infiziert.

Von den Kontrollen starben zwei Tiere (M 2186, M 2189), von den vorbehandelten nur ein Tier (M 2184) schon 48 Stunden nach der zweiten Infektion. Die Sektion ergab bei allen drei Tieren talergroße eitrige Infiltrate unter der Rückenhaut, fibrinös eitrige Peritonitis, Milzschwellung, Hchol. in Blut u. Milz ++.

Bei M 2184 waren Erscheinungen der ersten sc. Infektion nicht mehr nachweisbar. Es scheint bei diesem Tier die Vorinfektion nicht angegangen zu sein. Die übrigen zwei Tiere blieben am Leben und zeigten 3 Wochen nach der Impfung noch am Rücken bohngroße harte, gut verschiebbliche Infiltrate.

Die überlebenden drei Tiere dieses Versuches wurden 23 Tage später zugleich mit drei Kontrollen einer schweren intraperitonealen Infektion mit 0,0001 ccm unterworfen. Das Ergebnis dieser ganzen Versuchsreihe ist in nachstehender Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle IIb.
Hühnercholerainfektion bei Meerschweinchen.

Nr.	Gew. g	1. Infektion am 18. VI.	Erfolg	2. Infektion am 15. VI.	Erfolg	3. Infektion am 8. VII.	Erfolg
2184	318	1ccm $\frac{1}{10\,000}$ sc.	(kl. Inf.?)	0,5 ccm $\frac{1}{100}$ sc.	† 2	.	.
2185	320	dgl.	Infiltrat	dgl.	Infiltrat	0,0001 i. per.	überlebt
2188	300	dgl.	Infiltrat	dgl.	Infiltrat	dgl.	überlebt
2186	280	.	.	dgl.	† 2	.	.
2187	310	.	.	dgl.	Infiltrat	dgl.	† 3
2189	300	.	.	dgl.	† 2	.	.
19	550	dgl.	† 2
576	460	dgl.	† 1
580	530	dgl.	† 1

Es zeigt sich, daß die vorbehandelten Tiere gegenüber einer sehr schweren Infektion zum mindesten weit widerstandsfähiger waren als die an Gewicht schwereren Kontrollen. Während die Kontrollen am 1. und 2. Tage eingingen, starb von den drei vorbehandelten Tieren eins und zwar das einmal vorbehandelte, verzögert am 3. Tage, die beiden andern, zweimal vorbehandelten, überlebten.

Dafür, daß diese Tiere zur Zeit der letzten Einspritzung noch chronisch infiziert waren, spricht das Vorhandensein der Infiltrate sowie der Nachweis der Erreger bei einer ganzen Anzahl anderer, in derselben Weise mit dem gleichen Stamm durch subcutane Injektion chronisch infizierter Meerschweinchen.

Bei unserm letzten Versuch ist die Nachbehandlung erheblich später vorgenommen worden als in den vorher mitgeteilten Versuchen; daher ist wohl die Immunität hier stärker ausgesprochen. Es liegt aber kein Anlaß vor, in dem einen Falle einen andern Mechanismus anzunehmen, als im andern. Die erhöhte Widerstandsfähigkeit, die wahrscheinlich bereits sehr früh einsetzt, erreicht erst allmählich einen stärkeren Grad und dürfte gewiß zeitlichen und quantitativen Schwankungen unterliegen; so ist es erklärlich, daß man besonders bei frühzeitiger Nachprüfung oft negative Resultate erhält. Hertel¹⁾ hatte bei ähnlicher Versuchsanordnung negative Resultate; seine Meerschweinchen, die eine subcutane Impfung gut überstanden hatten, starben bei intraperitonealer Injektion von $\frac{1}{10\,000\,000}$ ccm Bouillonkultur ebenso wie die Kontrolle in 20 Stunden. Die Versuche von Hertel sind nur sum-

¹⁾ Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 20, 466.

marisch mitgeteilt. Der abweichende Ausfall ist wohl durch die weniger intensive Vorbehandlung zu erklären, vielleicht war auch die zur ip. Nachinfektion benutzte Kultur zu virulent.

2. Superinfektionsversuche mit Mäusetyphus und Gärtnerbacillen an Mäusen.

Ich habe nun die Erscheinungen der Superinfektion noch bei anderen Erregern untersucht und möchte zunächst über einige Versuchsreihen an Mäusen kurz berichten.

Die Prüfung auf Schutz gegen Superinfektion bereits infizierter Tiere geschah in ähnlicher Versuchsanordnung wie bei den Untersuchungen mit der Hühnercholerainfektion der Meerschweinchen. Als Vorinfektion wurde ein Modus gewählt, der zu chronischer bzw. subchronischer Erkrankung führte, als Nachinfektion eine Impfung, die einen akuten Verlauf hatte. Der Schutz wurde nach 2×24 Stunden geprüft.

Bekanntlich gelingt es mit einiger Regelmäßigkeit, Mäuse durch Verfütterung von virulenten Mäusetyphuskulturen krankzumachen. Der Tod unserer Tiere erfolgte in der Regel eine Woche nach der Infektion, selten 14 Tage bis zu 3 Wochen danach, manchmal aber auch schon nach wenigen Tagen. Die ip. oder sc. Einspritzung kleinster Mengen der zur Verfütterung gelangenden Mäusetyphuskultur (Stamm Ellinger) verursachte stets eine akute Sepsis. Die Kultur tötete ip. oder sc. noch mit Sicherheit in Menge von $\frac{1}{1}$ Millionen Öse.

Die Fütterung geschah durch Eintropfenlassen von zwei Tropfen der Bakterienaufschwemmung in Bouillon in das geöffnete Maul der Tiere.

Neben der Vorinfektion durch Fütterung wurde in dem zweiten Versuch der nachstehenden Tabelle noch eine sc. Impfung mit $\frac{1}{10}$ Mill. Ösen gewählt. Diese Versuchsanordnung hat sich jedoch nicht bewährt, da die Tiere zu häufig schon nach wenigen Tagen starben.

Tabelle III. Mäusetyphusinfektion. Weiße Mäuse.

		Vorinfektion	Nachinfektion nach 48 Std.	Er- gebnis
1. Versuch.				
Kon- trollen	1	$\frac{1}{30}$ Öse per os	0,00001 Öse ip.	† 2
	2	dgl.	dgl.	† 3
	3	dgl.	dgl.	† 3
	4	dgl.	dgl.	† 3
	5	dgl.	.	† 4
	6	dgl.	.	† 6
	7	dgl.	.	† 7
	8	dgl.	.	† 17
	9	.	0,00001 Öse ip.	† 3
	10	.	dgl.	

Tabelle III (Fortsetzung).

	Vorinfektion	Nachinfektion nach 48 Std.	Er- gebnis
2. Versuch.			
1	$\frac{1}{30}$ Öse per os	0,000001 Öse ip.	† 3
2	dgl.	dgl.	† 4
3	dgl.	dgl.	† 4
4	dgl.	dgl.	† 4
5	$\frac{1}{10}$ Mill. Öse sc.	dgl.	† 3
6	dgl.	dgl.	† 4
7	$\frac{1}{10}$ Öse per os	.	† 5
8	dgl.	.	† 6
9	dgl.	.	† 7
10	dgl.	.	† 18
11	$\frac{1}{10}$ Mill. Öse sc.	.	† 3
12	dgl.	.	† 4
13	.	0,000001 Öse ip.	† 3
14	.	dgl.	
15	.	dgl.	
16	.	dgl.	

Bevor ich die Ergebnisse dieser beiden Versuche bespreche, möchte ich noch einige andere und zwar mit dem Bact. enteritidis Gaertner angestellte Superinfektionsversuche an Mäusen wiedergeben.

Die Vorversuche zeigten, daß die subcutane Infektion mit unserm Gaertner-Stamm unter geeigneten Versuchsbedingungen zu einer sich eine Woche hinziehenden septischen Erkrankung der Mäuse führte. Die ip. Impfung ließ dagegen die Tiere noch in Dosen von $\frac{1}{200}$ Öse akut verenden. Näheres über die Vor- und Nachimpfung der Tiere aus dem Superinfektionsversuch ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle IV.
Bact. enteritidis Gaertner-Infektion. Mäuse.

		Vorinfektion	Nachinfektion		Ergebnis
			nach 24 Std.	nach 48 Std.	
1. Versuch.					
Kontrollen	1	$\frac{1}{18}$ Öse sc.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	.	† 2
	2	dgl.	dgl.	.	† 2
	3	dgl.	dgl.	.	† 8
	4	dgl.	.	$\frac{1}{40}$ Öse ip.	† 2
	5	dgl.	.	dgl.	† 3
	6	dgl.	.	dgl.	† 5
	7	dgl.	.	.	† 5
	8	dgl.	.	.	† 8
	9	.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	.	† 3
	10	.	dgl.	.	
	11	.	.	$\frac{1}{40}$ Öse ip.	† 2
	12	.	.	dgl.	

Tabelle IV (Fortsetzung).

		Vorinfektion	Nachinfektion		Ergebnis
			nach 24 Std.	nach 48 Std.	
2. Versuch.					
Kontrollen	1	$\frac{1}{32}$ Öse sc.	.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	† 2
	2	dgl.	.	dgl.	† 2
	3	dgl.	.	dgl.	† 3
	4	dgl.	.	dgl.	† 4
	5	dgl.	.	dgl.	† 3
	6	dgl.	.	dgl.	† 3
	7	$\frac{1}{16}$ Öse sc.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	.	† 2
	8	dgl.	dgl.	.	† 3
	9	dgl.	dgl.	.	† 3
	10	dgl.	dgl.	.	† 3
	11	dgl.	dgl.	.	† 3
	12	dgl.	dgl.	.	† 3
	13	$\frac{1}{32}$ Öse sc.	.	.	† 4
	14	dgl.	.	.	† 5
	15	dgl.	.	.	† 5
	16	$\frac{1}{16}$ Öse sc.	.	.	† 4
	17	dgl.	.	.	† 4
	18	dgl.	.	.	† 4
	19	.	.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	† 2
	20	.	.	dgl.	
	21	.	.	dgl.	
	22	.	$\frac{1}{80}$ Öse ip.	.	† 3
	23	.	dgl.	.	† 2
	24	.	dgl.	.	† 3

Abgesehen von dem ersten Mäusetyphusversuch, der völlig negativ verläuft, zeigen beide Tabellen eine geringe Verzögerung des Todes bei den superinfizierten Tieren.

Im ersten Versuch mit Mäusetyphus sterben von vier vorbehandelten Tieren eins 2 Tage, drei 3 Tage nach der ip. Infektion, beide Kontrollen nach 3 Tagen.

Im zweiten Mäusetyphusversuch sterben von sechs superinfizierten Tieren zwei am 3., vier am 4. Tag, während die vier nur ip. infizierten Mäuse sämtlich schon am 3. Tage tot sind.

Im ersten Gaertner-Versuch sterben von sechs superinfizierten Tieren drei am 2., eins am 3., eins am 5., eins am 8. Tage, während von den vier nur ip. infizierten Mäusen zwei nach 2, zwei nach 3 Tagen eingehen.

Im zweiten Gaertner-Versuch sterben von i. g. 12 superinfizierten Mäusen drei am 2. Tag, acht am 3. Tag, ein Tier am 4. Tag. Die Kontrolltiere für die ip. Infektion erliegen der Impfung schneller und zwar von sechs Tieren vier am 2. Tag, zwei am 3. Tag.

Bei der Beurteilung des Ergebnisses obiger Versuche, wie übrigens bei allen derartigen Versuchen, ist zu berücksichtigen, daß trotz der

schweren ip. Nachinfektion, die zu der schon an sich schweren Erstinfektion hinzutritt, nicht nur nicht eine Summation der beiden Infektionswirkungen stattfindet, sondern sogar die Zweitinfektion eine — wenn auch meist nur geringe — Abschwächung erfährt.

Es lag nahe, für diesen so schnell nach der Erstinfektion auftretenden Impfschutz eine Mitbeteiligung unspezifischer Ursachen anzunehmen. Das ist nun, wie die beiden folgenden Versuche zeigen, in der Tat der Fall.

Tabelle V.

Cholera- und Gaertner-Infektion. Mäuse.

Vorinfektion mit Cholera und Gaertner, Nachinfektion mit Gaertner.

	Vorinfektion	Nachinfektion (24 Stunden)	Ergebnis
1	$\frac{1}{2}$ Öse Chol. sc.	$\frac{1}{80}$ Öse Gtn. ip.	+ 2
2	dgl.	dgl.	+ 3
3	dgl.	dgl.	+ 3
4	dgl.	dgl.	+ 3
5	$\frac{1}{32}$ Öse Gtn. sc.	dgl.	+ 2
6	dgl.	dgl.	+ 3
7	dgl.	dgl.	+ 3
8	dgl.	dgl.	+ 3
9	$\frac{1}{2}$ Öse Chol. sc.	.	+ 7
10	dgl.	.	+ 7
11	$\frac{1}{32}$ Öse Gtn. sc.	.	+ 5
12	dgl.	.	+ 6
13	.	$\frac{1}{80}$ Öse Gtn. ip.	+ 2
14	.	dgl.	+ 2
15	.	dgl.	+ 2
16	.	dgl.	+ 2

	Vorinfektion	Nachinfektion (48 Stunden)	Ergebnis
1	$\frac{1}{64}$ Öse Chol. sc.	$\frac{1}{40}$ Öse Gtn. ip.	+ 2
2	dgl.	dgl.	+ 3
3	dgl.	dgl.	+ 3
4	dgl.	dgl.	+ 3
5	$\frac{1}{64}$ Öse Gtn. sc.	dgl.	+ 2
6	dgl.	dgl.	+ 3
7	dgl.	dgl.	+ 3
8	dgl.	dgl.	+ 4
9	$\frac{1}{64}$ Öse Chol. sc.	.	Nach 2 Mo- nat. getötet. Chol. kult. = 0
10	dgl.	.	
11	dgl.	.	
12	dgl.	.	
13	$\frac{1}{64}$ Öse Gtn. sc.	.	+ 5
14	dgl.	.	+ 5
15	dgl.	.	+ 6
16	dgl.	.	+ 7
17	.	$\frac{1}{40}$ Öse Gtn. ip.	+ 1
18	.	dgl.	+ 1
19	.	dgl.	+ 1
20	.	dgl.	+ 2

Nach den Versuchen dieser Tabelle wird ein Schutz gegen ip. Nachinfektion mit Gaertnerbacillen in gleichem Grade wie durch Gaertnerbacillen auch durch Verimpfung von Cholera vibrios erreicht.

Für unsere Versuche mit Mäusetyphus und Gaertnerbacillen muß es also dahingestellt bleiben, wieweit etwa trotzdem eine spezifische Komponente an dem verzögerten Verlauf der Zweitinfektion beteiligt ist.

Daß auch bei Mäusetyphus zuweilen ein stärkerer und spezifischer Schutz zu erreichen ist, wenn die Nachprüfung erst später vorgenommen wird, geht aus früheren Versuchen von Wolf¹⁾ hervor; man darf wohl annehmen, daß es sich auch bei den Mäusen, die Wolf durch Fütterung mit einem schwach virulenten Stamm der Paratyphusgruppe gegen Fütterung mit einem virulenten Stamm schützen konnte, meistens um chronisch infizierte Tiere gehandelt hat.

3. Superinfektionsversuche mit Strepto- und Pneumokokken am Kaninchen.

Nach den Mitteilungen von Denys²⁾ erscheint es möglich, die Wirkung der Superinfektion bei Verimpfung von Streptokokken auf Kaninchen zu beobachten. Denys injizierte in das rechte Ohr mehrerer Kaninchen 0,01 ccm Streptokokken-Bouillonkultur, dann 12 bzw. 24, 36, 48 und 64 Stunden später je eins dieser vorinfizierten Tiere am linken Ohr mit der gleichen Dosis. Während sich nun bei allen Tieren gleichmäßig am erstinfizierten Ohr ein fortschreitendes Erysipel entwickelte, soll die nach 12 Stunden erfolgte Superinfektion bereits nur eine kleine schnell wieder verschwindende Entzündung, die nach 24 Stunden und später vorgenommene überhaupt keine Erscheinungen mehr hervorgerufen haben.

Die Beurteilung meiner Versuche wird durch die Tatsache erschwert, daß der Verlauf der Streptokokkeninfektion, im besonderen auch die Ausbildung des Erysipels, wenigstens bei meinen Stämmen individuell verschieden und u. a. von Größe, Rasse, der Tiere in nicht unbeträchtlichem Grade abhängig war. Obwohl ich versucht habe, diese Störungen nach Möglichkeit auszuschalten durch Benutzung gleichartiger Tiere, konnte ich doch in Vorversuchen hie und da ein Nichtangehen des Erysipels nach der ersten Impfung und zwar gerade bei sonst besonders empfänglichen Tieren beobachten. Darum habe ich nicht lediglich die lokale Reaktion, sondern stets den ganzen Verlauf der Superinfektion mit den entsprechenden Erscheinungen bei den Kontrolltieren verglichen.

Die Ergebnisse von Denys bezüglich der örtlichen Reaktion konnte ich — in dem vom Autor angegebenen Umfange — nicht bestätigen; das mag aber daran liegen, daß bei meinen Kulturen die Lokalreaktion

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 270.

²⁾ Handb. d. Immunität u. experim. Therapie, Kraus-Levaditi 1914.

überhaupt nicht so stark ausgesprochen war und so regelmäßig eintrat. In jedem Fall geben meine Versuche eine Vorstellung von der Wirkung der Superinfektion; ich möchte deshalb kurz über sie berichten.

Die Versuchsanordnung war in den einzelnen Versuchen eine verschiedene. Während im Versuch I und IV der Tabelle die Vorinfektion an einem Ohr mit einem nur schwach virulenten Streptokokken (*Streptoc. haemol.* bzw. E) erfolgte, wurde im Versuch II und III mit dem hoch-pathogenen *Streptococcus* Aronson vorinfiziert. Die beiden erstgenannten Streptokokken-Stämme haben auch in großer Dosis beim Kaninchen stets nur lokale Entzündungen verursacht, welche nach wenigen Tagen zurückgingen. Der *Streptococcus* Aronson führte in der Regel nach sc. Verimpfung von 0,01 ccm 24stündiger Bouillonkultur, nicht selten auch von vielfach kleineren Mengen zu subakuter bis akuter tödlicher Sepsis.

Der tödlichen Allgemeinerkrankung ging in der Regel ein mehr und mehr fortschreitendes Erysipel des geimpften Ohres voraus.

Zur Nachinfektion wurde nur im Versuch I der *Streptococcus* haemol., in den übrigen Versuchen der Stamm Aronson benutzt.

Als Impfstelle wurde stets die lockere Haut am vorderen Ohrknorpel dicht über der Ohrwurzel gewählt.

In der Tabelle sind zwei Erscheinungen beachtenswert. Erstens tritt regelmäßig bei den superinfizierten Tieren eine gewisse Verzögerung der Ausbildung des Erysipels auf. Völliges Fehlen desselben habe ich nicht gesehen. Ferner ist in den Versuchen III und IV bei den superinfizierten Tieren ein Schutz gegenüber der Zweitinfektion deutlich. Im Versuch III ist das eine vorinfizierte Tier, im Versuch IV eines der beiden vorgeimpften Kaninchen offenbar stark unempfindlich gegen die sonst tödliche Zweitinfektion, auch das zweite vorbehandelte Tier des letztgenannten Versuchs überlebt die Kontrollen wenigstens um einige Tage.

In einem weiteren hier nicht aufgeführten Versuch, in dem die Zweitinfektion schon nach 24 Stunden erfolgte — die Vorinfektion zweier Kaninchen geschah an einem Ohr mit 0,1 ccm Strept. E, die Nachinfektion am andern Ohr zugleich mit zwei Kontrolltieren mit 0,01 ccm Streptok. Aronson —, war weder eine Abschwächung der lokalen Entzündung am Ohr noch ein milderer Verlauf der Superinfektion bei den zweimalig infizierten Tieren nachweisbar. Die Kontrolltiere starben schon nach 24 bis 48 Stunden; die Zweitinfektion war also erheblich stärker als bei den vorigen Versuchen. Das ist vielleicht die Ursache des verschiedenen Ausfalls.

Bei der Pneumokokkeninfektion des Kaninchens kann in ähnlicher Weise die Lokal- und Allgemeinreaktion der Superinfektion beob-

Tabelle VI. Superinfektionsversuche mit Streptokokken am Kaninchenohr.

	Kanin- chen	23. II.	24. II.	25. II.	26. II.	27. II.	Ergebnis
I	1	0,01 cem B. K. Streptoc. haem. linkes Ohr	R = +	0,001 Streptoc. haem. rechtes Ohr	R ₁ = ++ R ₂ = ±	R ₁ = + R ₂ = ++	leben
	2	.	.		R = +	R = +	
		3. III.	4. III.	5. III.	6. III.	7. III.	
II	3	0,01 Streptoc. Ar. linkes Ohr	R = ++	0,1 Streptoc. Ar. rechtes Ohr	R ₁ = ++ R ₂ = ± R = +	R ₁ = ++ R ₂ = ± R = ++	† am 10. III. an Streptokokkensepsis
	4	.	.		R = +	R = ++	† am 11. III. an Streptokokkensepsis
	5	.	.		R = +	R = +	† am 7. III. an Streptokokkensepsis
		1. III.	2. III.	3. III.	4. III.	5. III.	6. III.
III	6	0,001 Streptoc. Ar. linkes Ohr	R = ++	0,001 Streptoc. Ar. rechtes Ohr	R ₁ = ++ R ₂ = + R = +	R ₁ = ++ R ₂ = ± R = ++	überlebt! Am 28. III. interkurrent. † Streptoc. in Organen Kult. = 0 † am 8. III. an Streptokokkensepsis
	7	.	.		R = +	R = ++	
		17. III.	18. III.	19. III.	20. III.	21. III.	
IV	8	0,1 Streptoc. E. linkes Ohr	R = +	0,01 Streptoc. Ar. rechtes Ohr	R ₁ = + R ₂ = ± R ₁ = +	R ₁ = ± R ₂ = + R ₁ = ±	† am 28. III. an Streptokokkensepsis
	9		R = +		R ₁ = ± R ₂ = ± R = +	R ₂ = + R = ++ R = ++	lebt!
	10		.		.	R = +	R = ++
	11	.	.		R = +	R = ++	† am 25. III. an Streptokokkensepsis

R₁ = Reaktion (Rötung und Schwellung des Ohres) nach der ersten Impfung.R₂ = Reaktion (Rötung und Schwellung des Ohres) nach der zweiten Impfung.

achtet werden. Beide verliefen aber bei meinem Pneumokokkenstamm ebenfalls unregelmäßig.

In dem nachfolgenden Versuch — Technik, siehe die früheren Bemerkungen — wurde die Vorinfektion mit schwachpathogenen Pneumokokken, die Nachinfektion mit einem hochpathogenen Pneumokokkus (Stamm Wachholz) angestellt. Vorversuche hatten ergeben, daß von letzterem Stamm zur tödlichen Infektion 0,0001 cem 24stündiger Bouillonkultur regelmäßig genügten, auch viel geringere Gaben führten zuweilen zu tödlicher Sepsis. Der avirulente Pneumokokkenstamm machte lediglich lokale Entzündungen, die nach 1—2 Wochen zurückgingen.

Ein Tier des Versuchs wurde 4 Tage, zwei andere bereits 1 Tag nach der Erstinfektion nachinfiziert, zwei Tiere dienten als Kontrollen für die Nachinfektion. Die Nachprüfung geschah bei allen Tieren gleichzeitig, die Vorbehandlung entsprechend an verschiedenen Tagen.

Tabelle VII. Pneumokokkeninfektion Kaninchen.
Vorinfektion sk. am rechten Ohr, Nachinfektion sk. am linken Ohr.

	Vorinfektion cem	Lokale Wirkung d. Vorinfektion	Nachinfektion 19. II. 21 cem	Lokale Wirkung der Nachinfekt.	Endergebnis
1	15. II. 21 0,001 Pn. Sa.	R = +	nach 4 Tagen: 0,001 Pn. Wa.	R = +	überlebt
2	18. II. 21 0,001 Pn. Sa.	R = +	nach 24 Std.: 0,001 Pn. Wa.	R = \pm , später +	† 9 Pn.-Sepsis
3	18. II. 21 0,001 Pn. Sa.	R = +	nach 24 Std.: 0,001 Pn. Wa.	R = \pm , später +	überlebt; † 11 an Enteritis; Pn. Kult. = 0
Kon- trollen { 4	.	.	0,001 Pn. Wa.	R = 0	† 3 Pn.-Sepsis
5	.	.	0,001 Pn. Wa.	R = +	† 7 Pn.-Sepsis

Bemerkung: R = Hautrötung und Schwellung an der Einstichstelle.

Das erste vorinfizierte Tier (Nachinfektion nach 4 Tagen) übersteht die Superinfektion glatt, von den beiden anderen vorbehandelten, nach 24 Stunden zum zweitenmal infizierten Kaninchen stirbt eins 9 Tage nach der Zweitinfektion an Pneumokokkensepsis, das andere geht 11 Tage nach der Zweitinfektion interkurrent an Enteritis ein ohne Pneumokokkenbefund im Blut und den Organen. Die beiden Kontrollen sterben an Pneumokokkensepsis 3 bzw. 7 Tage nach der virulenten Infektion.

Auch aus diesem Versuch ist also ein sehr erheblicher Schutz der vorinfizierten Tiere der Superinfektion gegenüber nachweisbar. Der Schutz ist vollkommen bei dem Kaninchen, das 4 Tage nach der

Erstinfektion und bei dem einen, das nach 24 Stunden superinfiziert wurde.

Bezüglich der Lokalreaktion ergibt sich kein Unterschied der vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tiere.

Schlußfolgerung.

Wie die Versuche zeigen, ist häufig bereits wenige Tage nach der Erstinfektion ein gewisser Schutz infizierter Tiere gegen Superinfektion nachweisbar. Bei der Hühnercholera des Meerschweinchens scheint dieser Schutz im Beginn oft zu fehlen oder doch nur schwach ausgesprochen zu sein; jedenfalls ist es mir nicht gelungen, einen solchen regelmäßig nachzuweisen. Eine starke Immunität fand ich dagegen bei Meerschweinchen, die etwa 3 Wochen nach der Erstinfektion nachgeprüft wurden.

Relativ gering war der Schutz auch bei meinen Versuchen mit Mäusetyphus- und Gaertnerinfektion, dagegen oft recht gut ausgeprägt bei Strepto- und Pneumokokkeninfektion des Kaninchens. Dieser Unterschied hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß sich Kaninchen gegen Streptokokken- und Pneumokokkeninfektion überhaupt verhältnismäßig gut immunisieren lassen, zum mindesten erheblich besser als Mäuse gegen Mäusetyphus und Gaertnerinfektion und auch besser als Meerschweinchen gegen Hühnercholera.

Der hohe Grad des Impfschutzes, den in meinen Versuchen einzelne Kaninchen der Superinfektion mit Streptokokken und Pneumokokken gegenüber zeigen, hat etwas recht Auffallendes. Auch Denys konnte, wie oben erwähnt wurde, einen schon sehr früh einsetzenden und starken Schutz streptokokkeninfizierter Kaninchen gegen eine Zweitinfektion nachweisen. Weitere Versuche müssen zeigen, ob hier in der Tat ein gesetzmäßiges Verhalten vorliegt. Es ist möglich, daß so gute Ergebnisse nur unter besonders günstigen Bedingungen, insbesondere nur mit Kulturen mittlerer Virulenz erzielt werden.

Auf die Frage, auf welchen Ursachen die Immunitätserscheinungen beruhen, die in unsern Versuchen bei der Superinfektion z. T. so deutlich hervortreten, wollen wir hier nicht eingehen; es sei aber darauf hingewiesen, daß bei solchen Infektionen, gegen die sich gut immunisieren läßt, auch nach Vorbehandlung mit totem Antigen die Immunität recht schnell auftritt; so ist sie nach Ehrlich und Hata¹⁾ bei der Hühnerspirochätose bereits nach 24 Stunden deutlich, nach 48 Stunden „vollkommen“.

Daß Kaninchen, die eine Streptokokken- oder Pneumokokkeninfektion mit ausgesprochenem Ohrerysipel überstanden haben, gegen eine zweite Infektion in hohem Grade geschützt sind, ist aus

¹⁾ Chemotherapie d. Spirillosen, S. 45, Anm.

früheren Versuchen bekannt. Bei der Hühnercholerainfektion der Meerschweinchen und der Mäusetyphusinfektion der Mäuse ist dagegen der betreffende Organismus in der Regel offenbar nicht imstande, genügend Antikörper zu bilden und eine genügend hochgradige Immunität zu entwickeln, um die Erreger völlig unschädlich zu machen; daher sind in diesen Fällen auch die Bedingungen gegeben, um jene Zustände einer chronischen, latenten oder rezidivierenden Infektion entstehen zu lassen, die wir als den Ausdruck einer unvollkommenen, labilen und in ihrer Höhe schwankenden Immunität ansehen.