

Deutsche Medizinische Wochenschrift

Begründet von Dr. Paul Börner

HERAUSGEBER:

Geh. San.-Rat Prof. Dr. Schwalbe

Berlin-Charlottenburg, Schlüterstraße 53

VERLAG:

GEORG THIEME / LEIPZIG

Antonstraße 15

Nummer 52

Donnerstag, den 29. Dezember 1921

47. Jahrgang

Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.
(Serologische Abteilung: Geh.-Rat R. Otto.)

Zum d'Hérelleschen Phänomen.

Von R. Otto und H. Munter.

Das von d'Hérelle beschriebene Phänomen besteht darin, daß Stuhlfiltrate, z. B. von Ruhrkranken bzw. Ruhrrekonvaleszenten, in vitro Ruhrbakterien auflösen. Die Filtrate enthalten ein gegen Erwärmung ziemlich widerstandsfähiges, spezifisches Agens, welches das Wachstum der Ruhrbazillen aufhebt und sie abtötet. Von besonderer Bedeutung ist die dabei von d'Hérelle aufgefundene Tatsache, daß sich dieses Agens, in Spuren mit lebenden Ruhrkeimen in Nährbouillon zusammengebracht, serienweise fortzuchten läßt. D'Hérelle hielt es daher für einen invisiblen, bakterienfressenden Mikroben. Seine grundlegenden Versuche, die vielleicht für die gesamten bakteriellen Infektionskrankheiten Bedeutung haben, sind von verschiedener Seite bestätigt worden, über die Natur des wirk-samen Prinzips bestehen indessen verschiedene Ansichten.

Was zunächst die Methoden des Nachweises betrifft, so gelingt es meist leicht, mit dem Filtrat Ruhrkranker das wirksame Agens zunächst zu gewinnen. Man braucht nur eine Spur Ruhrstuhl in Bouillon zu verreiben und die Bouillon entweder sofort oder besser nach 24stündiger Bebrütung bei 37° durch ein Bakterienfilter zu filtrieren, dann enthält das Filtrat das erwähnte Agens. Es läßt sich, nach Befunden von d'Hérelle, Bordet und Ciuca, Gratia u. a., die wir durchaus bestätigen können, auf verschiedene Weise demonstrieren. Einmal, indem man das Filtrat in Nährbouillon bringt und in diese dann die entsprechenden Bakterien einsät; im Gegensatz zu den Kontrollen erfolgt in dieser Bouillon (wenigstens anfangs) kein Bakterienwachstum. Bei längerer Bebrütung kann allerdings durch „resistente“ Keime Wachstum hervorgerufen werden. Oder man bringt das Filtrat zu einer Bakterienaufschwemmung in Bouillon: dann sieht man, daß sich diese durch die Bakterien getriebte Bouillon in einigen Stunden auflöst. Drittens kann man auch eine Spur des Filtrates auf eine noch unbebrütete, mit Bakterienkultur beschriebene Agarplatte tropfen, dann erfolgt dort, wo das Filtrat hinkam, kein Wachstum. Schließlich läßt sich das wirksame Agens auch durch das Tierexperiment nachweisen; wenn wir z. B. einem Meerschweinchen eine kleine Dosis wirksamen Filtrates zusammen mit einer bestimmten Menge Bakterienkultur intraperitoneal injizieren, so sehen wir, daß bei diesem Tier sich die Bazillen in abdomine nicht vermehren. Das Tier blieb am Leben, während das Kontrollmeerschweinchen (ohne Filtrat) starb. Auch schon d'Hérelle gibt an, daß sich die Behandlung mit seinem „Bakteriophagen“ bei einer Reihe von Seuchen in der Praxis als wirksam erwiesen habe (siehe unten).

Was die Natur des bakterien-schädigenden Agens betrifft, so sprach d'Hérelle (wie bereits erwähnt) von einem fortzuchtbaren, nach seiner Ansicht einheitlichen, aber oft polyvalent wirkenden „bakteriophagen Virus“ (Bacteriophagum intestinale). Gegen diese Anschauung sind unter anderem wegen der hohen Resistenz des Agens gegen Erwärmung und gegen Chemikalien Bedenken erhoben worden. Auffallend ist allerdings die Vermehrung der bakteriziden Substanz in vitro. Sie zwingt aber nicht zur Annahme eines belebten Virus. Schon Kabeshima sprach sich daher für ein autolytisches Ferment aus. Die Bakterien sollen eine Vorstufe des Fermentes enthalten, das durch einen im Tierkörper gebildeten Katalysator aktiviert wird. Die der Auflösung verfallenden Bakterien bilden dann ein Ferment, das seinerseits zur Bakterienauflösung befähigt ist. Bordet und Ciuca haben weiter gezeigt, daß sich das lytische Agens auch experimentell nach wiederholten intraperitonealen Einspritzungen von Kolibazillen beim Meerschweinchen erzeugen läßt. In dem den Tieren entnommenen Exsudat fand sich ein nicht nur für Koli-, sondern auch für andere Bakterien der Typhus-Koli-Ruhrgruppe wirksames Prinzip. Bordet und Ciuca sehen in dem Ergebnis dieser Versuche einen Beweis gegen ein belebtes „Virus“ und nehmen als Ursache der Bakterien-schädigung eine fermentative Wirkung entarteter Keime an. („Viciation nutritive héréditaire.“) Nach Baills Ansicht bilden sich bei Schädigung der Bakterien „Splitter“, eine bisher unbekannte Lebensform der Bakterien, die sich nur durch lebende Bakterien-

substanz erhalten können. Sie sollen damit ihrerseits den Bakterien wichtige Nährstoffe entziehen, wodurch diese wieder zu „Splittern“ abgebaut würden.

Erwähnt sei noch, daß Salimbeni zur Erklärung des „Virus“ die Mitwirkung eines „Myxomyzeten“ annimmt.

Es würde zu weit führen, auf die zahlreichen Versuche, welche bisher zur Theorie und Praxis des d'Hérelleschen Phänomens ausgeführt sind, einzugehen. Es sei hier nur erwähnt, daß d'Hérelle selbst dem Phänomen auch eine große epidemiologische und praktische Bedeutung zuspricht. Er stellt sich vor, daß Organismen, welche im Besitz dieses „Virus“ sind, dann vor einer Krankheit geschützt bleiben, wenn sich bei einer Infektion die „Bakteriophagen“ genügend schnell vermehren können. Man könne daher auch durch ihre rechtzeitige Injektion Schutz gegen Erkrankung erzielen. Ausgezeichnet soll sich die Schutzimpfung mit dem bakteriophagen Virus nach d'Hérelle bei Hühnertyphus und Büffelseuche (Barbonekrankheit) bewährt haben. Auch therapeutisch beim Menschen will d'Hérelle mit seinem „Bakteriophagen“ sehr gute Erfolge bei Ruhr und anderen Krankheiten erzielt haben. Tatsächlich verbreitet sich das Agens nach der Injektion sehr schnell im Organismus. Einige Stunden nach der Injektion einiger Kubikzentimeter von wirksamem „Virus“ hat — wie auch unsere Versuche zeigten — das Blut starke bakterio-phage Eigenschaften.

Auf Grund dieser Befunde haben auch wir uns zu therapeutischen Versuchen am Menschen entschlossen. Mit einem hochwirksamen Flexner-Y-Lysin und einem zweiten, gegen Typhus- und Ruhrkulturen gleich wirksamen Lysin wurde von Prof. Friedemann und seinen Assistenten eine größere Reihe von Ruhr- und Typhuskranken behandelt. Die Einverleibung des Lysins erfolgte teils als Klysma, teils per os. Von einer den Erwartungen entsprechenden therapeutischen Wirkung konnten sich die behandelnden Aerzte bei dieser Behandlungsmethode indessen nicht überzeugen. Das Ausbleiben eines therapeutischen Effektes nach stomachaler Einverleibung dürfte sich übrigens nach den von Gratia festgestellten Untersuchungen schon daraus erklären, daß das Virus in saurem Medium stark an Wirksamkeit einbüßt. Wir sind daher dazu übergegangen, andere Applikationsweisen zu erproben; über die erhaltenen Resultate soll später berichtet werden. An dieser Stelle seien nur die Ergebnisse einiger Versuche mitgeteilt, die wir im Laboratorium zur Klärung des Phänomens ausgeführt haben.

Die Auffindung eines wirksamen Agens aus Stuhl gelang uns unter 14 Kranken bei 8.

Bei gesunden Personen haben wir noch nicht systematisch danach gefahndet, doch soll es nach den Befunden von Debré und Hagenau auch bei diesen aufzufinden sein. Wir selbst legten auf derartige Untersuchungen weniger Wert, weil nach unseren Anschauungen aus noch zu erörternden Gründen lediglich die Kultur für die Auffindung des Agens ausschlaggebend ist. Denn auch aus Kulturen allein gelingt die Gewinnung des Agens, ohne Infektion von Tieren und ohne Bebrütung mit Stuhlfiltraten.

Mit den noch näher zu erwähnenden „Bakteriophagen“, die aus Bakterienkulturen gewonnen wurden, haben wir im ganzen 17 hochwirksame „Virus“-Stämme in der Hand. Von ihnen wirkten:

- 4 gegen Shiga-, Flexner- und Typhusbazillen;
- 1 gegen Shiga-, Flexner- und Y-Bazillen;
- 11 gegen Flexner- und Y-Bazillen;
- 1 gegen Shiga- und Typhusbazillen.

Während wir gegen Ruhrbazillen wirksame Lysine sowohl nach dem Vorgange von d'Hérelle aus Stuhlfiltraten als auch aus alten Kulturen mehrfach gewonnen haben, ist uns die Erzeugung eines gegen Kolibazillen wirksamen Lysins nach dem oben erwähnten Verfahren von Bordet und Ciuca bisher nicht gelungen, auch fanden wir ein solches Lysin bisher nicht in alten Kulturen in vitro; dagegen vermochten wir mit Leichtigkeit durch den einfachen Tierversuch ein solches Virus gegen Flexner- und Y-Kulturen zu erhalten.

Die Filtrate besaßen alle die Eigenschaften, welche frühere Autoren bei ihnen festgestellt hatten (Wärmebeständigkeit, Fortzuchtbarkeit mit lebenden Bakterien, Widerstand gegen Chemikalien). In letzterer Beziehung stehen uns allerdings keine größeren Versuchsreihen zur Verfügung; den von uns geprüften „Bakteriophagen“ Fl. Nr. 1 konnten wir z. B. in 0,1%iger Karbolsäurebouillon längere Zeit fort-

züchten, während er in 0,5%iger Karbolbouillon schnell zugrunde geht (vgl. Befunde von Watanabe). In der Literatur wird vielfach Wert auf die Feststellung gelegt, daß besonders die 1%ige Fluornatriumlösung wenig oder gar nicht das Agens schädigt, weil nach Arthus eine derartige Lösung jede vitale Tätigkeit unterdrücken soll. Wir konnten bestätigen, daß diese Lösung die Filtratwirkung nicht stört.

Die Wirksamkeit unserer Filtrate war mitunter erstaunlich groß. Die Verdünnungstiter schwankten bei ihnen allerdings von Ueberimpfung zu Ueberimpfung. So war am 28. IX. 1921 der Titer unseres Virus „K“ gegen Typhus 1:10⁶, während am 30. IX. 1921 der Titer des gleichen „Virus“, inzwischen nur weitergezüchtet, bei 1:10⁹ noch nicht annähernd sein Ende erreichte. Dasselbe „Virus“ zeigte bei der Fortzüchtung gegenüber denselben Kulturen später wieder geringere Titer.

Die von uns erhaltenen Lysine wirkten teils spezifisch nur auf Y- und Flexner-Kulturen, teils auch polyvalent gegen alle Ruhrkulturen und Typhusbazillen (siehe obige Zusammenstellung). Durch Fortzüchtung mit zunächst nicht beeinflussten Stämmen konnten auch wir das Lysin in seiner Wirkungsweise abändern, z. B. aus einem Flexner-einen Typhus-Bakteriophagen gewinnen.

Mit einzelnen Filtraten haben wir nach dem Vorgange von Bordet und Ciuca an Kaninchen antilytische Sera hergestellt, mit deren Studium wir noch beschäftigt sind. Die Ansicht von Maisin, daß die Antisera nicht allein gegen das eigene Filtrat, sondern auch gegen andere wirken, können wir nach unseren Versuchen bestätigen, insofern, als unser Y-Antilysin I auch gegen andere Y- und Flexner-Lysine, dagegen nicht auch gegen unsere Typhuslysine wirksam ist.

Mit besonderem Interesse haben wir das Auftreten überlebender Bakterien verfolgt. Es ist von Bordet und Ciuca und auch von d'Hérèlle selbst u. a. festgestellt worden, daß nicht alle Bakterien in der Bouillon bzw. auf dem Agar nach Zusatz von „Virus“ vernichtet werden, sondern daß vielmehr aus einigen überlebenden Keimen sich sekundäre Kulturen entwickeln, die sich dann später als „resistent“ gegenüber dem Bakteriophagen erweisen. Diese resistenten Keime bieten insofern Interesse, als sie häufig morphologische Änderungen zeigen und neue biologische Eigenschaften (Uebertragung des Virus) erworben haben. Bordet und Ciuca konnten aus dem mit Kolibazillen vorbehandelten Meerschweinchen Kulturen gewinnen, die sich von der Ausgangskultur durch zäh-schleimiges, unregelmäßiges Wachstum unterschieden und die ihrerseits teilweise das lytische Agens besaßen. Wir selbst fanden bei unsern Untersuchungen Stämme, die, ohne selbst resistent zu sein, das Lysin besaßen (siehe später).

Die Veränderungen an den Kulturen, die unter Umständen, wie dies auch Bruynoghe gezeigt hat, in den normalen Ausgangsstamm zurückschlagen können, erinnern an Befunde, welche bereits früher Twort wie auch Gildemeister gemacht haben.

Twort, dessen Untersuchungen später von Gratia zum Teil bestätigt sind, fand 1915 bei der Verimpfung von Vakzinebrei eine Mikrokokkenkultur, von der einige Kolonien, im Gegensatz zu den übrigen opak erscheinenden, einen glasartigen und durchscheinenden Anblick boten. Die Mikrokokken in diesen Kolonien schienen in feine Granula zertrümmert. Andere Male erhielt er eine breite Kultur, aus denselben durchscheinenden Flecken gebildet, die allmählich auf die ganze Kultur übergriffen und die Mikrokokken ganz in Granula umwandelten. Wurde eine opake Kolonie mittels Platindraht mit einer solchen glasigen beimpft, so breitete sich diese über die ganze Oberfläche aus und machte die ganze Kolonie transparent. Das Virus der transparenten Kolonie war filtrierbar und wurde erst bei 60° zerstört. Twort sprach es als ein aktives autolytisches Prinzip an.

Ähnliche Resultate erhielt Twort bei Kolibazillen, die aus den Dejekten eines Hundes gezüchtet waren, und bei einem dicken, nicht zur Koligruppe gehörenden Bazillus aus den Dejekten eines an Durchfällen leidenden Kindes. Seine Befunde sind in der Tat denen von d'Hérèlle ähnlich; d'Hérèlle glaubt indessen nicht, daß es sich um dieselbe Erscheinung handelt wie bei seinem Bakteriophagen, weil das wirksame Agens der sekundären Kolonien bei 60° zugrunde geht, während dies bei dem bakteriophagen „Virus“ erst bei 65° der Fall ist.

Gildemeister hatte 1917 bei systematischen Untersuchungen über Variabilitätserscheinungen in Stuhlausstrichen, besonders bei Ruhr- und Kolibazillen, eigenartige unregelmäßige und vielgestaltige Kolonieformen gefunden, die er auf Grund ihres übereinstimmenden Verhaltens bei der Weiterzüchtung trotz der großen Verschiedenheit ihrer Form als eine gemeinsame Koligruppe auffaßte und wegen ihrer außerordentlichen Labilität bei der Fortzüchtung als „Flutterformen“ bezeichnete. Er unterschied neben Uebergangsformen: „Hauptformen“ (bei ihnen zeigten die meist zäh-schleimigen Kolonien nicht gleichmäßig geformte, runde Scheibchen, sondern durch Defekte eigenartig entstellte Formen) und „Nebenformen“ (kleinste, sehr verschiedenartig gestaltete, vielfach metallisch glänzende und vom Nährboden schwer abzulösende Kolonien).

Ähnliche Kolonien, wie sie Twort und Gildemeister beschrieben haben, sieht man nun auch bei den sekundären Stämmen, welche der Einwirkung des d'Hérèlleschen „Virus“ entgehen. Es ist uns sowohl bei Typhus- als auch bei Y-Kulturen mit Leichtigkeit gelungen, durch Zusatz von Lysin zur Bouillonkultur vor der Aussaat auf Agar derartige „Flutterformen“ zu gewinnen. Mikroskopisch erwiesen sich

die erhaltenen Bazillen in ihrer Form oft stark verändert; bemerkenswert ist, daß wir aus einwandfrei wachsenden Typhus- und Flexner-Stämmen nach dem Zusatz des „Virus“ Kulturen gewannen, die den Drigalski-Conradi-Nährboden mehr oder weniger röteten. Dabei verhielten sich die Kulturen sonst, z. B. serologisch, dem Ausgangsstamm gegenüber, unverändert. Wir werden auf diese Versuchsergebnisse an anderer Stelle zurückkommen.

Gildemeister gelang es nun, aus alten Bouillonkulturen eines bei seiner Isolierung völlig normalen Kolistammes typische „Flutterformen“ zu gewinnen. Diese Beobachtung entspricht unseren Erfahrungen, nach denen es auch gelingt, aus anscheinend normalen Kulturen das d'Hérèllesche Virus ohne Mitwirkung des Organismus zu gewinnen. Bisher konnten wir das lytische Prinzip aus nicht resistenten Kulturen allein 9mal herstellen. Die Kulturen waren 3 Wochen bis 3 Monate alt. Die erhaltenen „Lysine“ wirkten 7mal gegen Flexner- und Y-Bazillen (gewonnen aus alten Flexner- oder Y-Kulturen), 1mal gegen Shiga- und Typhusbazillen (gewonnen aus alter Typhuskultur), 1mal gegen Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusbazillen (gewonnen aus alter Shigakultur).

Im übrigen berichtete schon Bail, daß es ihm einige Male gelungen sei, das lytische Agens aus Bakterien allein darzustellen.

Nach unseren bisherigen Versuchen kann es weiter keinem Zweifel unterliegen, daß das aus Bakterien allein und das aus Stuhlfiltraten gewonnene Lysin identisch sind. Ein mit bakteriophagen Virus gewonnenes antilytisches Serum neutralisierte z. B. auch die Wirkung eines solchen aus Bakterien allein gewonnenen Lysins.

Das prinzipiell Wichtige ist die Gewinnung des Lysins ohne Mitwirkung des Organismus; damit gewinnt die Ansicht an Wahrscheinlichkeit, daß es sich auch bei dem „Bakteriophagen“ nicht um ein lebendes Virus, sondern um ein von Bakterien unter bestimmten Bedingungen gebildetes, bakterienschädigendes Ferment handelt. Allerdings stammen alle pathogenen Keime letzten Endes aus infiziert gewesenen Organismen; auch ist es uns bisher noch nicht gelungen, nachzuweisen, weshalb nur die einen und nicht alle Bakterien das gleiche Ferment produzieren. Immerhin verhalten sich ja auch hinsichtlich der Toxinbildung die einzelnen Stämme derselben Bakterienart ganz verschieden. Zu den echten Toxinen dürfte das Lysin nach den vorliegenden Untersuchungsbefunden von Bordet und Ciuca, Poorter und Maisin, Wollmann und Goldenberg u. a. nicht zu rechnen sein, weil es einmal in antigener Beziehung nicht rein monovalent im Sinne Picks wirkt und zweitens seinen Eigenschaften nach mehr einem Eiweißkörper entspricht. Wir nehmen daher an, daß es sich hierbei um eine an kleinste Teile von Bakteriensubstanz gebundene Fermentwirkung handelt.

Derartige, von den Bakterien selbst gelieferte, bakterienschädigende Fermente sind seit längerer Zeit bekannt; es sei in dieser Hinsicht nur auf die älteren Arbeiten von Eijkmann, der thermolabile Stoffwechselprodukte, die bakterienhemmend wirkten, auch in den Fäzes gefunden hat, sowie auf die Befunde von Conradi und Kurpjuweit hingewiesen. Allerdings bestehen zwischen den von ihnen beschriebenen wachstumshemmenden Substanzen („Autotoxine“ von Conradi und Kurpjuweit) und dem bei dem d'Hérèlleschen Phänomen in Erscheinung tretenden „Bakteriophagen“ bzw. Lysin vorläufig noch derartige Unterschiede, z. B. hinsichtlich der Filtrabilität, Dialysierbarkeit, Wärmeresistenz usw., daß eine Identifizierung beider bisher so ohne weiteres nicht möglich ist. Aber selbst dann, wenn sich später — worüber unsere Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind — vielleicht eine Identität herausstellen sollte, würden hierdurch die Verdienste d'Hérèlles in keiner Weise beschränkt werden, da er als Erster die serienweise Fortführung dieses Virus oder Fermentes nachgewiesen und die Bedeutung des Phänomens erkannt hat.

Wir selbst möchten uns auf Grund unserer und der oben erwähnten Versuche der anderen Autoren, besonders der Versuchsergebnisse z. B. von Poorter und Maisin, allerdings mehr der Ansicht anschließen, daß es sich bei dem d'Hérèlleschen Prinzip um ein von den Bakterien unter gewissen Bedingungen gebildetes bakterienschädigendes Ferment handelt, das an bestimmte Leibessubstanzen der Bakterien gebunden ist. Mit Spuren dieser Substanz beladen, lösen sich die Bakterien unter Bildung neuen Fermentes auf, oder aber sie überstehen die Vergiftung, erleiden dann jedoch gewisse, vererbare, morphologische und biologische Veränderungen, ähnlich wie sich dies Bordet und Ciuca vorgestellt haben. Auf gleiche Weise dürften auch die sog. „paragglutinierenden“ Bakterien entstehen. Die „Paragglutination“ würde demnach gleichfalls auf einer vererbaren Entartung beruhen. Es scheint uns nicht ausgeschlossen, daß wir durch das Studium des d'Hérèlleschen Phänomens auch der Erklärung der „Paragglutination“ näher kommen, wenngleich bisher die von uns nach dieser Richtung hin unternommenen Experimente negativ verlaufen sind. Vielleicht gehören auch die „Vergrünung“ der Streptokokken (Morgenroth) und andere Variabilitätserscheinungen in das Gebiet dieser „vererbaren Entartung“.

Zusammenfassung. Die grundlegenden Befunde d'Hérèlles werden bestätigt. Es gelang auch im Tierversuch die Wirkung des d'Hérèlleschen „Bakteriophagen“ nachzuweisen, doch konnten bei Darmerkrankungen des Menschen (Ruhr, Typhus) sichere und einwandfreie therapeutische Erfolge bisher nicht erzielt werden.

Auf Grund der Tatsache, daß die Gewinnung des wirksamen Agens mehrfach auch aus Kulturen allein gelang, und auf sonstige, oben erwähnte Befunde hin wird der Anschauung der Vor-

zug gegeben, daß es sich bei dem d'Hérelleschen Phänomen um die Wirkung eines an allergeringste Bakterienteilchen gebundenen Fermentes handelt.

Die meisten Arbeiten sind in den Cpt. rend. Soc. de Biologie seit 1918 und in den Cpt. rend. Acad. des sciences seit 1917 erschienen. Die erste Arbeit d'Hérelles findet sich in der Compt. rend. Acad. des sciences 1917, 165. S. 373. Außerdem: D'Hérelle, Presse médicale 1921 S. 462. — Bail, W. kl. W. 1921 Nr. 20 u. 37. — Conradi und Kurpjuweit, M. m. W. 1905 Nr. 37, 45, 46. — Eijkmann, Zbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) 37, S. 436. — Gratia, Proc. Soc. f. exp. biol. a. med. 1921, 18. — Kuttner, Proc. Soc. f. exp. biol. a. med. 1921, 18. — Poorter et Maisin, Arch. internat. de pharmacod. et de therap. 1921, 25, S. 473. — Watanabe, W. kl. W. 1921 S. 522. — Gildemeister, B. kl. W. 1921 Nr. 46. — Twort, Lancet 1915 (4. XII. 1915).
