

(Aus der bayr. Landesimpfanstalt München.)

## Über Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe.

Von  
**A. Groth.**

Mit 10 Textabbildungen.

Die Notwendigkeit einer einwandfreien Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe ist begründet in dem Bestreben, jede Impfung zu einer erfolgreichen zu machen, also bei jedem Erst- und Wiederimpfpling die allgemein bekannten Vaccineefflorescenzen zu erzielen. Wir sind gewohnt, deren Auftreten als Vorbedingung der Immunisierung zu betrachten. Diese Auffassung von der Bedeutung der Vaccineefflorescenzen besteht tatsächlich zu Recht, wenn auch ihre Entwicklung an sich nicht unerläßlich notwendig ist, um Immunität zu erzielen, ebenso wie auch nicht unter allen Umständen allein aus ihrer Bildung auf den Eintritt der Immunität geschlossen werden darf. Ihre Entstehung sowie die Art ihrer Ausbildung wird, abgesehen von äußern Umständen, bestimmt einmal von dem Immunitätszustand des Impflings und dann von der Intensität der Infektion mit Vaccine. Über den Immunitätszustand der Erstimpflinge sind wir im allgemeinen unterrichtet. Wir wissen, daß die Zahl der gegen Vaccine Immunen verschwindend klein ist, und daß von diesen wenigen Ausnahmen abgesehen die Empfänglichkeit der Erstimpflinge so groß ist, daß die Einverleibung auch wenig virulenter Vaccine fast regelmäßig zur Entwicklung des typischen Impfbläschens führt. Dabei können zwar in seiner Form und zeitlichen Entwicklung, entsprechend der Virulenz der Vaccine, gewisse Abweichungen hervorgehen, doch sind diese Unterschiede nicht groß genug, um das typische Bild der Erstimpfung in nennenswerter Weise zu verändern. Ganz anders verhält es sich mit den bei Wiederimpfungen erzielten Ergebnissen. Während bei der Erstimpfung der Immunitätszustand des Impflings als mitbestimmender Faktor in der Regel vollkommen ausscheidet, ist für die Entwicklung der revaccinalen Gebilde der individuelle Immunitätsgrad und die Virulenz der Vaccine in gleicher Weise verantwortlich zu machen. Der eine bestimmende Faktor, der individuelle Immunitätszustand, ist jedoch eine unbekannte Größe. Die durch die Erstimpfung gewonnene

Immunität kann noch völlig erhalten oder wenigstens fast völlig wieder erloschen sein, und zwischen diesen beiden gegensätzlichen Zuständen besteht eine Reihe von Übergängen des Immunitätsgrades, die bei einer erneuten Infektion einen mehr oder weniger hemmenden Einfluß auf die Entwicklung der Vaccinekeime und damit auf die in der Haut des Impflings erzeugten Gewebsveränderungen ausüben müssen. Andererseits werden diese um so stärker zur Ausbildung kommen, je intensiver die Reinfektion mit Vaccine erfolgt. Es ist daher notwendig, sich wenigstens über den zweiten mitbestimmenden Faktor, die Virulenz der Vaccine, und damit über die Größe seines möglichen Einflusses Aufschluß zu verschaffen.

Dazu kommt, daß die bei der Revaccination mit Sicherheit und die bei der Erstvaccination entstandenen Veränderungen der Impfstelle mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit in ihrer Bedeutung für die Gewinnung einer ausreichenden Immunität nicht als gleichwertig aufgefaßt werden dürfen. Es wird im folgenden bei Besprechung der Impfergebnisse bei Wiederimpfungen noch Gelegenheit gegeben sein, auf die Ungleichwertigkeit der Vaccineefflorescenzen hinsichtlich ihres immunisatorischen Erfolges näher einzugehen. Unsere Aufgabe wird daher sein, den Nachweis zu führen, daß die von uns hergestellte Schutzpockenlymphe imstande ist, bei ihrer Verimpfung nicht nur spezifische Gewebsveränderungen schlechtweg, sondern, wenn überhaupt möglich, solche Efflorescenzen zu erzeugen, von welchen mit einiger Sicherheit ein immunisatorischer Effekt erwartet werden darf.

Solange wir das Virus der Vaccine selbst nicht in so einwandfreier Weise darstellen können, daß es einer unmittelbaren Methode der Zählung oder annähernden quantitativen Schätzung zugänglich ist, kann es sich bei der Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe nur darum handeln, aus der Größe der durch ihre Einverleibung hervorgerufenen Gewebsveränderungen einen Rückschluß auf die Zahl der vorhandenen infektionstüchtigen Erreger zu ziehen.

Das einfachste Verfahren besteht darin, an einer größeren Zahl von Erstimpfungen nach einer sorgfältigen und technisch möglichst gleichmäßigen Impfung am Tage der Nachschau, also nach 7 mal 24 Stunden, festzustellen, ob die Lymphe gut angekommen ist. Eine größere Zahl von Erstimpfungen — etwa 10 — der Bewertung zugrunde zu legen, ist notwendig, um die individuellen Verschiedenheiten in der Reaktionsfähigkeit der Impflinge auszuschalten; eine möglichst einwandfreie und möglichst gleichmäßige Technik ist nötig, weil nicht selten Schutzpockenlymphe, welche, von sehr geübten Impfarzten verimpft, gute Ergebnisse liefert, in der Hand des weniger geübten nicht mehr ganz befriedigt, und damit die Beurteilung der Erfolge erschwert wird. Man hat bisher unterschieden den persönlichen und

den Schnitterfolg. Der persönliche Erfolg gibt an, wieviel von 100 Erstimpfungen (ohne Rücksicht auf die Zahl der entstandenen Vaccineefflorescenzen) mit Erfolg geimpft wurden; der Schnitterfolg, wieviele von 100 Impfschnitten sich zu Pusteln entwickelt haben. Sicher ist, daß Lymphe, welche, technisch einwandfrei auf Erstimpfungen verimpft, nicht 100% persönlichen und 100% Schnitterfolg erzielt, im allgemeinen nicht als genügend virulent bezeichnet werden darf<sup>1)</sup> Einen wirklichen Einblick in die Wirksamkeit der Lymphe erhält man jedoch dadurch nicht, weil eine ganze Reihe verschiedener Virulenzgrade innerhalb der Breite des vollen persönlichen und Schnitterfolges liegt. Um diese nicht unbeträchtlichen Schwankungen zu erfassen und damit die Ergebnisse bei Erstimpfungen zu einer brauchbaren Virulenzbestimmung zu verwerten, ergänzen wir die Beurteilung der Impferfolge nach der Richtung, daß die entwickelten Pusteln eines jeden einzelnen Erstimpflings gelegentlich der Nachschau am 8. Tage nach ihrer Farbe, Form und Größe und gleichzeitig die um die Impfpusteln entwickelte reaktive Rötung, die sog. *area*, nach dem Maß ihrer bis dahin erreichten Ausbildung in drei Beurteilungsstufen eingeteilt werden (s. Abb. 1—3). Sehr gut entwickelte, breite, erhabene, auf voller Höhe ihrer Ausbildung stehende Pusteln von reiner grauweißer Farbe werden mit 3, das gewöhnliche Bild der Impfpustel als Mittelwert mit 2, die schwach entwickelten, noch schmalen, an den Rändern unscharfen Gebilde mit 1, entsprechend den bei serologischen Arbeiten üblichen Stufen (+++, ++, +) bezeichnet. Dieser subjektiven Beurteilung liegt die Auffassung zugrunde, daß die Impfpustel als die unmittelbarste Folge der Wachstumsenergie der eingebrachten Keime anzusprechen ist, daß also die Ausbildung der Pustel abhängig ist von der Größe der gesetzten Infektion, insofern, als sie sich bei geringer Menge des eingebrachten virulenten Materials langsamer und schwächer, bei größerer Menge rascher und intensiver entwickelt.

<sup>1)</sup> Die Bezeichnungen genügend oder nicht genügend virulent dürfen hier wie im folgenden nicht in dem Sinne aufgefaßt werden, daß die Virulenz zur Herbeiführung der Immunität des Impflings genügt oder nicht genügt; denn es ist selbstverständlich, daß auch solche Impflinge immun gegen eine Reinfektion mit Vaccine werden, bei denen sich weniger Impfpusteln gebildet haben, als Impfschnitte angelegt wurden. Es kann sich vielmehr nur darum handeln, gewisse Regeln dafür aufzustellen, unter welchen Virulenzgrad die Schutzpockenlymphe nicht sinken darf, um nicht von der Abgabe an die impfenden Ärzte ausgeschlossen zu werden. Von der lymphebereitenden Anstalt als der Abgabestelle bis zu ihrer Verimpfung ist die Lymphe bekanntermaßen einer Reihe von Einflüssen, namentlich beträchtlichen Temperaturschwankungen, ausgesetzt, welche eine Abminderung ihrer Virulenz herbeiführen können. Es braucht auch wohl kaum besonders hervorgehoben zu werden, daß die Aufstellung von bestimmten Regeln bis zu einem gewissen Grad von den subjektiven Auffassungen über die Höhe der zu stellenden Anforderungen abhängig ist.

Ähnliche Überlegungen liegen der Bewertung der area zugrunde. Die area oder areola ist der Ausdruck der spezifischen Reaktion auf die Wirkung toxischer Produkte, welche aus der Impfpustel als dem

Sitz des vaccinalen Virus in die Haut und das subcutane Zellgewebe abgegeben werden. Die Art der Ausbildung der area nach Zeit ihres Eintrittes und Größe ihrer Entwicklung ist daher abhängig neben der individuellen Reaktionsfähigkeit des betroffenen Organismus wiederum von der Intensität der Infektion. Je nachdem am Tage der Nachschau, nach 7 mal 24 Stunden, nur ein schmaler, roter Saum die Impfpusteln umgibt (aula), die Ausbildung der area demnach noch nicht begonnen hat, oder über das Aulastadium hinaus die area einen größeren roten Hof um die einzelnen Pustel bildet oder als konfluierende,

Ergebnisse der Erstvaccination. Aufnahme nach 7 mal 24 Stunden.

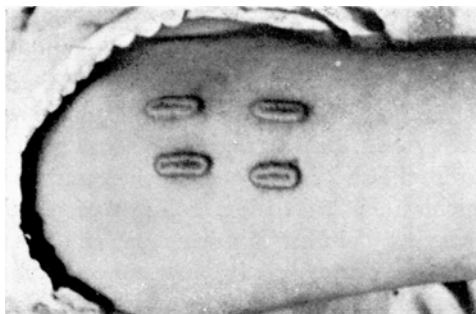


Abb. 3. Schwach entwickelte Pusteln ohne Area (1/1).

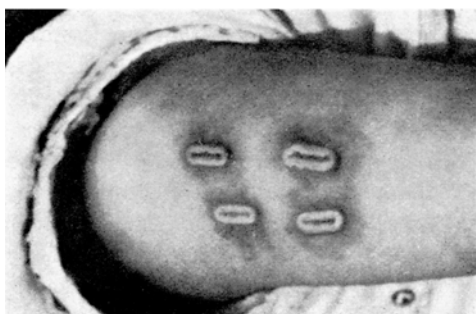


Abb. 2. Mittelmäßig entwickelte Pusteln mit Area um die einzelnen Pusteln (2/2).

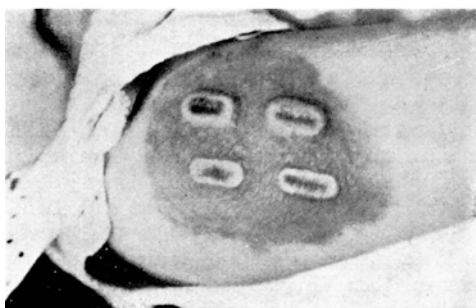


Abb. 1. Sehr gut entwickelte Pusteln mit konfluierender Area (3/3).

ziemlich derbe Infiltration sich zeigt, erfolgt die Einteilung in die Stufen 1, 2 und 3. Die Anlegung der vier Impfschnitte geschieht in Form eines Rechtecks mit möglichst gleichgroßen Seiten. Die schriftliche Feststellung der Befunde erfolgt für den einzelnen Impfling regelmäßig in der Weise, daß an erster Stelle die Bewertungsstufe der Pustel, an

zweiter Stelle die Bewertungsstufe der area notiert wird, z. B.  $\frac{1}{2}$  = schlecht entwickelte Pusteln mit area um die einzelnen Impfstellen,  $\frac{2}{3}$  = normal entwickelte Pusteln mit konfluierender area. Am Schlusse der Beobachtung werden sämtliche Zahlen für Pusteln und area getrennt addiert, die erhaltenen Summen durch die Zahl der geimpften Kinder dividiert und auf diese Weise Mittelwerte gewonnen, welche, je nachdem sie von der 2 nach oben oder nach unten sich entfernen, größere oder geringere Virulenz der verwendeten Schutzpockenlymphe bezeichnen (Pustelbewertungs-, Areabewertungsindex). Ein Pustel- oder Areabewertungsindex unter 1,5 bedeutet ungenügende Virulenz der Lymphhe.

Um das namentlich hinsichtlich der Bewertung der Pustel mehr oder weniger subjektiv gewonnene Urteil zu erweitern und ein möglichst objektives Bild zu gewinnen, werden gleichzeitig gewöhnlich bei ebenfalls nicht weniger als 10 Erstimpflingen mit einem Schiebemaßstab, einem sog. Kaliber, der Zehntelmillimeter zu messen erlaubt, der quere Abstand der beiden deutlich abgesetzten seitlichen Pustelränder, d. i. die Breite jeder einzelnen Impfpustel, bestimmt. Nach gemeinsamer Festlegung der Messungsmethode lassen sich auch von verschiedenen Beobachtern sehr gut übereinstimmende Zahlenwerte gewinnen. Dabei differieren die Breiten der Pusteln des einzelnen Erstimpflings mitunter ziemlich erheblich, noch größer sind die Schwankungen der Blatternbreite innerhalb einer größeren Zahl von Kindern, welche mit der gleichen Schutzpockenlymphe geimpft wurden. Doch zeigt sich deutlich eine genügend scharfe Einteilung auf ein bestimmtes Mittelmaß für jeden einzelnen Impfstoff, so daß die Messung von 40 Pusteln an 10 Erstimpflingen durchaus zur Ausschaltung der individuellen Schwankungen genügt. Dieser Art der Wertbestimmung durch Messung der Pustelbreite liegt die Pirquetsche Auffassung der Pustel als einer Bakterienkolonie auf festem Nährboden zugrunde. Bei der Impfung wird in den Impfschnitt, je nach Wertigkeit des Impfstoffes, eine größere oder geringere Zahl spezifischer Keime gebracht, deren jeder gleichsam eine kleinste, kreisförmige Pustel erzeugt. Aus dieser Vielheit von Pusteln entsteht durch Konfluenz die Gesamtpustel, deren Länge von der nie ganz beherrschten Länge des Impfschnittes, deren Breite von der Zahl und Virulenz der eingebrachten spezifischen Keime abhängig ist. Man ist demnach berechtigt, die durchschnittliche Pustelbreite, welche aus der Summe aller Pustelbreitenmaße durch Division mit der Zahl der Impfpusteln bzw. Impfschnitte gewonnen wird, zur Zahl und Virulenz der in der Lymphhe enthaltenen spezifischen Keime in Beziehung zu setzen. Eine durchschnittliche Pustelbreite von unter 4,5 bedeutet ungenügende Virulenz der Lymphhe. Die durchschnittliche Pustelbreite ergibt im Zusammenhalt

mit der schätzungsweisen Bewertung von Pustel und Area ein anschauliches und durchaus zuverlässiges Bild von der Wertigkeit eines Impfstoffes.

Stehen Erstimpfinge nicht oder nicht in genügender Zahl zur Verfügung, dagegen Wiederimpfinge, also Kinder mit etwa 12 Jahren, so lassen sich auch aus deren Impfergebnissen sehr gute Anhaltspunkte für die Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe gewinnen. Wenn auch ihre Erstimpfung im Durchschnitt etwa 10 Jahre zurückliegt und der aus der Erstimpfung hervorgehende immunisatorische Effekt unmittelbar nach ihrer Vornahme gleichmäßig für alle Impfinge in einer hochgradigen Unterempfindlichkeit bis Unempfindlichkeit gegenüber einer erneuten Infektion besteht, also genügende Übereinstimmung hinsichtlich des zeitlichen Eintrittes und des ursprünglichen Grades der Immunität gegeben ist, so ist doch das von den wieder impfpflichtigen Kindern gestellte Material durchaus kein gleichmäßiges, weil, wie schon einleitend erwähnt, das Festhalten bzw. der Verlust der Immunität bei jedem Individuum in verschiedenem Grade erfolgt. Es ist darum notwendig, eine größere Zahl von Wiederimpfungen — wir haben 50 als genügend erachtet — der Beobachtung zugrunde zu legen, um die individuellen Schwankungen der Immunität im Gesamtergebnis zu beseitigen.

Nicht verwertbar dagegen sind die Impfergebnisse bei Wiederimpfungen der Erwachsenen, hier fehlt einmal fast immer die Gleichmäßigkeit des Alters, d. h. des seit der letzten Impfung verflossenen Zeitraumes, und dann sind auch die immunisatorischen Erfolge der mit 12 Jahren vollzogenen ersten Wiederimpfung dieser Personen nicht von der Gleichmäßigkeit der Erstimpfung. Zu diesen theoretischen Bedenken, welche gegen die Verwendung der Wiederimpfergebnisse der Erwachsenen bestehen, kommt, daß uns genügend eingehende und umfangreiche, auf praktischem Wege gewonnene Feststellungen über die Immunitätsverhältnisse, welche sich aus der gesetzlichen Erst- und Wiederimpfung für die einzelnen Stufen des höheren Alters ergeben, nicht zur Verfügung stehen.

Man hat bisher, ähnlich wie bei den Ergebnissen der Erstimpfung, sich mit der Feststellung begnügt, bei wieviel Kindern sich nach 7 mal 24 Stunden aus den Impfschnitten vollentwickelte, nach Form, Farbe und Größe der Erstimpfpustel gleiche oder wenigstens ähnliche Blattern gebildet haben, ohne darauf Rücksicht zu nehmen, ob die Zahl der entstandenen Pusteln auch der Zahl der gesetzten Impfschnitte entspricht — persönlicher Pustelerfolg — oder wieviel derartige Pusteln im ganzen sich aus den Impfschnitten entwickelt haben — Pustelschnitterfolg. Bei dieser Feststellung der Ergebnisse verwerten wir einseitig nur diejenigen aus den Impfschnitten hervorgegangenen Efflorescenzen, welche den Erstimpfpusteln entsprechen und ver-

nachlässigen alle diejenigen Veränderungen der Impfstellen und ihrer Umgebung, bei welchen ein „voller Erfolg“ nicht erzielt worden ist. Es ist jedoch allen Impfpärzten bekannt, daß die Revaccination sehr verschiedenartige Resultate liefern kann. C. von Pirquet hat versucht, eine systematische Einteilung der revaccinalen Erscheinungen zu geben und sich dabei auf die Analyse von Kurven gestützt, welche durch tägliche Beobachtung der Impfstellen gewonnen wurden. Diese tägliche Beobachtung, welche sich neben der Differenzierung von Papille und Area vor allem auf die Beobachtung der Zeit des Auftretens und der Größe der hyperämischen Erscheinungen erstreckt, ist praktisch wegen der nicht unbeträchtlichen Zahl der der Beobachtung zu unterstellenden Wiederimpfungen für die Wertbestimmung einer größeren Reihe von Impfstoffen undurchführbar. Wir müssen uns daher in gleicher Weise wie bei der Erstvaccination an die Gewebsveränderungen an den Stellen der Impfschnitte halten, wie sie bei der Nachschau der gesetzlichen Revaccination, also nach 7 mal 24 Stunden, ohne weiteres festzustellen sind. Eine Einteilung nach der Entwicklung der aus den Impfschnitten unmittelbar hervorgegangenen Gebilde ohne Berücksichtigung der an sich gerade bei der Revaccination besonders wichtigen hyperämischen Erscheinungen ist deshalb gerechtfertigt, weil im allgemeinen einer vollkommenen Ausbildung von Pusteln auch intensive Erscheinungen der area und unvollkommenen, in den Frühstadien der Entwicklung verharrenden Efflorescenzen geringe Areaentwicklung entspricht. Man unterscheidet dabei die vollentwickelte, der Erstimpfpustel gleiche oder ähnliche Wiederimpfpustel, das am Tage der Nachschau schon meist im Stadium der Rückbildung befindliche, aber noch deutlich als solches erkennbare Bläschen und die in dem ersten Stadium der Entwicklung zur Pustel zurückgebliebene Papel (s. Abb. 4—7). Alle drei Formen sind zurückzuführen auf das Bestreben des einverleibten Virus, sich zu vermehren und zur Bakterienkolonie zu entwickeln, ihr Wachstum hängt ab von der Möglichkeit sofortiger mehr oder weniger rasch sich entwickelnder spezifischer Gegenwirkung des Organismus. Ihre Abgrenzung untereinander ist nicht immer scharf durchführbar, so daß die Übergangsformen der subjektiven Auffassung und Einteilung gewissen Spielraum erlauben. Die Erfahrung hat gezeigt, daß hochwertigste Impfstoffe imstande sind, bei der Mehrzahl der gesetzlichen Revaccinationen die sicher noch vorhandene Immunität zu brechen und zur Bildung „voller Erfolge“ zu führen; wo geringwertige Impfstoffe lediglich die Bildung von Bläschen oder Papeln bewirken. Wir dürfen dabei in allen denjenigen Fällen, in welchen eine Weiterentwicklung des Erregers und die Abgabe von toxischen Produkten aus der Pustel in die umgebende Haut und das Unterhautzellgewebe möglich

ist, auch eine Steigerung der Immunität erwarten. Mit Sicherheit kann das angenommen werden, wenn die Revaccination vollkommene Pustelbildung ergibt, weil diese Pustel nachgewiesenermaßen virulente Keime enthält. Zweifelhaft ist die Steigerung der noch von der Erst-

Ergebnisse der Revaccination.  
Aufnahme nach 7 mal 24 Stunden.



Abb. 4. Vollentwickelte Pusteln mit beginnender hyperergischer Reaktion (Bl.)



Abb. 5. Bläschen (ves).



Abb. 6. Papeln ( $\pi$ ).



Abb. 7. Abgelaufene Frühreaktion ( $\pi$ ).

vaccination herrührenden, aber verminderten Immunität bei der Bildung von Bläschen und unwahrscheinlich in denjenigen Fällen, in welchen es lediglich zur Entwicklung von Papeln gekommen ist, oder bei denen wir nach 7 mal 24 Stunden nur die Reste einer typischen Frühreaktion, welche ebenfalls ein papulöses Gebilde darstellt, festzustellen imstande



sind. Es erscheint jedoch nicht gerechtfertigt, solange über den immunisatorischen Effekt der verschiedenen Ablaufformen der Revaccination nicht vollkommen einwandfreie Ergebnisse vorliegen, lediglich auf Grund theoretischer Überlegungen den nicht zum „vollen Erfolg“ entwickelten Efflorescenzen die immunisatorische Bedeutung abzusprechen und sie bei der Wertbestimmung der Lymphe zu vernachlässigen. Wir haben uns daher in den letzten Jahren daran gewöhnt, jede aus den einzelnen Impfschnitten entwickelte Efflorescenz bei Niederschrift der Erfolge zu verzeichnen, z. B. 4 Bl., 2 Bl. 2 ves, 1 Bl. 2 ves 1  $\pi$ , 2 ves 2  $\pi$ , 4  $\pi$ . Am Schlusse der Beobachtung werden sämtliche Zahlen für Pusteln, Bläschen und Knötchen getrennt addiert, die Summe der Pusteln mit 3 als dem hochwertigsten, die Summe der Bläschen mit 2 und die Summe der Papeln mit 1 als dem geringwertigsten multipliziert, und die Summe der 3 Produkte durch die Zahl der Kinder dividiert. Man erhält dadurch einen Mittelwert, der ohne weiteres ein sehr gutes Urteil über die Virulenz der verimpften Vaccine gestattet. Dieser „Revaccinationsindex“ kann Schwankungen aufweisen zwischen 0 als dem praktisch nicht beobachteten Ergebnis völligen Versagens der Lymphe und 12 als Höchstleistung, die dann gegeben sein würde, wenn aus sämtlichen Schnitten aller Revaccinierten vollentwickelte Pusteln sich entwickelten. Ein unter 6 liegender Revaccinationsindex bedeutet ungenügende Virulenz der Lymphe.

Nun hat die Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe auf Kindern, so zuverlässig und an sich vollkommen ausreichend sie auch ausgestaltet werden kann, drei sehr wesentliche Nachteile. Einmal stehen nicht immer Kinder in genügender Zahl zur Verfügung, weil die Vornahme der gesetzlichen Erst- und Wiederimpfung im allgemeinen auf bestimmte Zeiten des Jahres beschränkt ist. Der zweite Nachteil liegt darin, daß zur Vornahme der Wertbestimmung eben Lymphe von unbekannter Virulenz verimpft, also gerade mit Ergebnissen gerechnet werden muß, die durch die Wertbestimmung vermieden werden sollen. Der dritte Nachteil liegt darin, daß mit der Wertbestimmung erst dann begonnen werden kann, wenn festgestellt ist, daß die Lymphe bakteriologisch einwandfrei ist, eine Prüfung, welche immerhin wenigstens 8 Tage beansprucht. Die Ergebnisse der Impfungen bzw. Wiederimpfungen lassen sich wiederum erst nach Ablauf einer weiteren Woche erheben, so daß bei dieser Methode im günstigsten Falle etwa 14 Tage verstreichen, bis ein Urteil über die Verwendbarkeit der Lymphe gewonnen ist. Es ist selbstverständlich, daß ein Zeitraum von 2 Wochen namentlich dann, wenn größere Mengen Lymphe in wenigen Tagen abgegeben werden müssen, nicht immer zur Verfügung steht.

Aus diesem Grunde hat Chaumier vorgeschlagen, das Resultat der Impfung bei Erstimpfungen schon nach 3 mal 24 Stunden zu beur-

teilen. Er verimpft die zu prüfende Lymphe auf dem rechten, eine ihm als vollvirulent bekannte Lymphe auf dem linken Arm eines Kindes, und unterscheidet je nach dem Aussehen der nach 3 mal 24 Stunden entstandenen Veränderungen der Impfstelle 6 Stufen der Wertigkeit. Nur die letzte Stufe, Entwicklung der Pustel in der ganzen Länge des Impfschnittes und mit vollkommen scharfen Rändern, gilt ihm als vollwertiger Impfstoff, der zur Abgabe geeignet ist. Chaumier empfiehlt selbst, den Versuch, wenn möglich, an mehreren Kindern anzustellen. Der durch diese Methode gewonnene Zeitraum von 4 Tagen kann unter Umständen von Vorteil sein, zumal durch sie im allgemeinen tatsächlich ein richtiges Urteil über die Virulenz der verimpften Lymphe erhalten werden kann. Nicht entbehrt werden darf jedoch die Vornahme der bakteriologischen Prüfung, die Chaumier allerdings anscheinend zu umgehen sucht, da nach ihm die Entwicklung der Pustel auch nach der Richtung hin einwandfrei sein soll, daß sie keine Neigung zum Nässen oder zur Eiterung zeigt. Mit der damit gegebenen Prüfung der Lymphe auf Beimengung pathogener Keime im Menschenversuch wird man sich nicht einverstanden erklären.

Es haben deshalb schon ziemlich frühzeitig Versuche eingesetzt, eine Wertbestimmung der Lymphe unter Umgehung des kindlichen Organismus durchzuführen. Es lag nahe, nachdem das Rind zur Gewinnung der Lymphe in allererster Linie herangezogen wird, auch die Prüfung der Virulenz der Lymphe durch Verimpfung auf das Rind zu versuchen, wobei ein einziges Tier gleichzeitig für mehrere Stoffe verwendet werden könnte. Es würde nur notwendig sein, um allenfallsige Zweifel an der Empfänglichkeit des Versuchstieres auszuschließen, daneben eine Lymphe von bekannt guter Virulenz zu verimpfen. Dieses von Warlomont empfohlene Verfahren ist durch gesetzliche Bestimmung in Frankreich in der Form eingeführt, daß auf der Haut der Impftiere eine Stelle ausgespart werden muß, um die Wirksamkeit älterer Impfstoffe zu prüfen. Es ist jedoch jedem, der sich mit der Impfung von Kälbern, jüngeren und besonders älteren Rindern befaßt, bekannt, daß die Empfänglichkeit des Rindes außerordentlich wechselt und vor allem, daß von der Entwicklung einer Lymphe auf dem Rind nur mit Vorbehalt Schlüsse auf die Entwicklung derselben auf dem Kinde gezogen werden dürfen. Wir sehen nicht selten, daß Impfstoffe, welche auf dem Rind zu schwachen Erfolgen geführt haben, bei der menschlichen Verimpfung als sehr virulent sich erweisen und umgekehrt, daß auf dem Rind gut entwickelte Impfpusteln bei Verimpfung auf Kinder nur mittelmäßige und selbst schwache Impfergebnisse liefern.

Das am häufigsten zur Wertbestimmung verwendete Versuchstier ist das Kaninchen, dessen Empfänglichkeit für den Erreger der Vaccine

nicht nur an sich sehr hoch, sondern auch im allgemeinen ziemlich konstant ist. Die als diagnostisches Mittel bekannte Impfung der Kornea des Kaninchens gibt durch den nach 2—3 Tagen ermöglichten Nachweis der Guarnierischen Körperchen Aufschluß darüber, ob in dem verimpften Material lebende Vaccineerreger vorhanden sind. Gorini, welcher hierbei mit der Prüfung auf Wirksamkeit gleichzeitig die der bakteriologischen Reinheit der Lymphe verbindet, verlangt die Impfung von 3 Kaninchen (6 Hornhäuten) für jede Kontrolle, sorgfältige, leichte und oberflächliche Verletzung des Korneaepithels, tägliche Untersuchung des makroskopischen Prozesses während der ersten 3 Tage (zur Feststellung der Reinheit der Vaccine) und in allen Fällen mikroskopische Untersuchung von Hornhäuten nach 3 mal 24 Stunden, und im Falle von entzündlicher Reaktion auch von Hornhäuten, welche der Periode der Entzündungsremission angehören (zur Kontrolle der Wirksamkeit der Vaccine). Nach Gorini sind die unvermeidbaren gewöhnlichen Unreinheiten der Vaccine nicht imstande, den Befund der charakteristischen mikroskopischen Läsionen der vaccinalen Korneaimpfung zu verhindern oder zu stören. Es sollte nur Lymphe abgegeben werden, welche an den Hornhäuten der Kaninchen ein makroskopisch normales und mikroskopisch positives Ergebnis liefert, wobei zur mikroskopischen Untersuchung in den meisten Fällen anstatt der Schnittmethode die Abkratzungsmethode angewendet werden kann, so daß sich binnen 3—4 Tagen die Kontrolle vervollständigen läßt. Größere Verbreitung hat diese Methode, welche den quantitativen Nachweis der Virulenz der Lymphe vollkommen vermissen läßt, nicht gefunden.

Eine weitere, ebenfalls nicht zur allgemeinen Anwendung gelangte Methode ist die von Calmette angegebene Impfung mit Schnitten am Kaninchenohr. Calmette beurteilt in ähnlicher Weise wie Chaumier bei Kindern das Ergebnis seiner Impfung am Kaninchen nach 4 mal 24 Stunden, und zwar im durchfallenden Licht, wobei er eine Zone der vaccinalen Irritation und der entzündlichen Infiltration unterscheidet. Je nach dem Umfange und der Ausbildung dieser Zonen unterscheidet Calmette 6 Stufen der Wertigkeit, von denen, wie bei Chaumier, nur die letzte ihm als vollwertiger Impfstoff gilt, der zur Abgabe geeignet ist. Die mit dieser Methode gewonnenen Ergebnisse sind jedoch unsicher und schwankend.

Calmette und Quérin haben weiterhin ein in seinem grundlegenden Gedanken zweifellos sehr ansprechendes Verfahren mitgeteilt, das in unwesentlichen Punkten modifiziert, namentlich in Frankreich viel geübt wurde. Man rasiert den Rücken von 3 Kaninchen und beschickt die dadurch leicht wund gemachten Flächen mit je 1 ccm von 3 Verdünnungen der durch feine Seide filtrierten Lymphe, nämlich

1 : 100, 1 : 500 und 1 : 1000. Nach Ablauf von 4—5 Tagen konfluieren bei sehr guter Virulenz die auf dem Kaninchenrücken entwickelten Pusteln bei den Verdünnungen 1 : 100 und 1 : 500, während sich bei der Verdünnung 1 : 1000 einzelstehende Pusteln etwa 3—4 auf 1 qcm gebildet haben. Lymphe, welche in der Verdünnung von 1 : 100 nicht mehr als 3—4 Pusteln auf 1 qcm zur Entwicklung gebracht hat, ist als nicht wirksam genug zu betrachten und für die Abgabe nicht geeignet. Diese Methode ist von Quérin selbst dahin geändert worden, daß er die drei in gleicher Weise hergestellten Verdünnungen auf ein allerdings sehr großes, 3 kg schweres Kaninchen gleichzeitig verimpft, indem er die durch Rasieren wundgemachte Rückenfläche in drei ungefähr gleich große Rechtecke teilt. Von den mit 66% Glycerinwassergemisch hergestellten Verdünnungen bringt er nur 0,5 ccm mit der Schneide des Rasiermessers auf die Haut. Er sucht dadurch den Einfluß der individuellen Verschiedenheit in der Empfänglichkeit des Kaninchens zu vermeiden und gleichzeitig an Tiermaterial zu sparen. Kelsch und Camus wollen unter Beibehaltung der Methode Quérins die Ungleichheiten in den oberflächlichen Verletzungen der Haut, wie sie durch das Rasiermesser bedingt werden, dadurch ausschalten, daß sie eine Pipette mit glatt abgebrochener Spitze zum Wundschaben der Haut des Kaninchens verwenden. Die Impffläche teilen sie gleichmäßig in drei Rechtecke von 50 qcm Umfang ein, deren jede mit einer der drei Verdünnungen beschickt wird. Belin verimpft nach der Methode von Calmette und Quérin auf die eine Seite des Kaninchens eine Lymphe mit bekannter Virulenz, auf die andere Seite den zu prüfenden Impfstoff, um aus der Differenz der Entwicklung ein Urteil zu gewinnen.

Die mehrfache Anwendung der Methode von Calmette und Quérin in der Modifikation von Quérin haben uns keine befriedigenden Ergebnisse gebracht. Wir haben dabei das Wundschaben der Impffläche mit dem Rasiermesser als zuverlässiger gefunden wie die Verwendung der abgebrochenen Pipette und haben das Einreiben der Lymphe mit dem mit Gummikappe versehenen Finger vollzogen. Die von Quérin angegebene Menge von 0,5 ccm der Verdünnungen ist selbst für sehr große Tiere bei der Dreiteilung der Impffläche zu groß. Wir erhielten dabei fast regelmäßig auch bei Impfstoffen, welche sich bei gleichzeitiger Verimpfung auf Kinder als nur von mittlerer Virulenz erwiesen, auch in den Verdünnungen 1 : 1000 konfluierende Eruption. Es mag dies darauf zurückzuführen sein, daß die gegenseitige scharfe Trennung der verschiedenen Verdünnungen, namentlich an den Rändern der abgegrenzten Flächen, nicht möglich ist, auch dann nicht, wenn sie durch Aufkleben von Heftpflasterstreifen oder ähnliche Vorkehrungen versucht wird.

Wir haben weiterhin die Methode von Calmette und Quérin wegen der ihr zugrunde liegenden, an sich wertvollen Überlegungen in der Weise verwendet, daß wir nur 0,2 ccm einer unfiltrierten Verdünnung 1 : 100 auf eine möglichst große Fläche des Kaninchenrückens durch gleichmäßig 1 Minute lange und die ganze Fläche möglichst gleichmäßig berücksichtigende Einreibung verimpften, um dadurch jedem auf die Impffläche gebrachten Vaccinekeim die Möglichkeit der Entwicklung zu gewähren.

Es wurde zu diesem Zweck der Rücken von etwa 1 Jahr alten, gut genährten, weißen Kaninchen etwa 6—8 Tage vor dem Versuch mittels Calciumhydrosulfid enthaart und unmittelbar vor der Aussaat mit dem Rasiermesser durch leichtes Abschaben der obersten Schichten der Epidermis eine Wundfläche erzeugt, welche für die Ansiedlung und Entwicklung des Vaccineerregers sehr günstige Bedingungen liefert. Nach etwa 4—5 Tagen (s. Abb. 8) können wir dann die Summe der entstandenen, häufig einzelstehenden Pusteln durch einfache Zählung feststellen und durch Multiplikation mit 500 einen wenigstens ungefähren Anhaltspunkt für die Zahl der

Vaccinale Pustelbildung am Kaninchen nach cutaner Impfung  
(mod. Methode nach Calmette und Quérin).  
Aufnahme nach 4 mal Stunden.



Abb. 8. Vorwiegend konfluierende Eruption mit Einzelpusteln an den Rändern.

in 1 ccm unverdünnter Lymphe enthaltenen Keime gewinnen. Bei konfluierender Eruption der Pusteln wird die beschickte Fläche gemessen und auf 1 qcm je 10 Pusteln gerechnet. Diese letztere Art der Zählung gilt auch für kleinere Stellen mit konfluierender Pustelentwicklung innerhalb einer Fläche, welche im übrigen mit Einzelpusteln bedeckt ist. An sich erscheint mit dieser Methode zweifellos a priori eine wirklich quantitative Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe gegeben zu sein, weil sie nach der technischen Seite die Fehler der Calmette-Quérinschen Methode vermeidet und zahlenmäßig feststellbare Ergebnisse liefert, welche zu den Ergebnissen, die durch Verimpfung des

zu prüfenden Impfstoffes auf Kindern gewonnen werden, in unmittelbare Beziehungen gesetzt werden können.

Wir haben 25 verschiedene Impfstoffe systematisch auf diese Weise auszuwerten versucht und dabei gefunden, daß die gewonnenen Werte innerhalb sehr weiter Grenzen schwanken. Der niederste Wert betrug 67,500, der höchste 290,000. Diese großen Differenzen ließen erwarten, daß damit auch die Ergebnisse der Wertbestimmung bei Erst- und Wiederimpfungen übereinstimmen würden, wobei die Übereinstimmung natürlich keineswegs eine so vollkommene sein kann, daß die Ergebnisse restlos zur Deckung gebracht werden. Einerseits ist zu berücksichtigen, daß trotz der im allgemeinen zweifellos hohen und konstanten Empfänglichkeit des Kaninchens mit individuellen Schwankungen gerechnet werden muß, und andererseits, daß auch die Reaktionsfähigkeit des menschlichen Organismus nicht die gleiche ist wie die von Versuchstieren.

In Tabelle I sind die Ergebnisse dieser cutanen Wertbestimmung bei 25 Kaninchen im ganzen und bei 18 mit denen der Erst- bzw. Wiederimpfung zusammengestellt. Danach entspricht bei den Erstimpfungen einer Pustelzahl von unter 100,000 (2 Impfstoffe) ein mittlerer Pustelbewertungsindex von 1,9, ein mittlerer Areabewertungsindex von 2,1 und eine mittlere durchschnittliche Pustelbreite von 5,6, einer Pustelzahl von 100—150,000 (1 Impfstoff) entsprechend 1,7, 2,0 und 6,1, einer Pustelzahl von 150—200,000 (6 Impfstoffe) 2,2, 2,0 und 5,8 und einer Pustelzahl von 200,000 und höher (5 Impfstoffe) 1,9, 2,1 und 5,6. Bei den Wiederimpfungen entspricht einer Pustelzahl von unter 100,000 (1 Impfstoff) ein mittlerer Revaccinationsindex von 7,4, einer Pustelzahl von 100—150,000 (1 Impfstoff) 8,7, einer Pustelzahl von 150—200,000 (7 Impfstoffe) 7,8, einer Pustelzahl von 200,000 und darüber (5 Impfstoffe) 8,3. Danach würde man nicht berechtigt sein, von einer auch nur annähernden Übereinstimmung zu sprechen. Immerhin ist zu bemerken, daß für ein abschließendes Urteil zweifellos auch die Zahl der Versuche viel zu gering ist. Es wird demnach noch weiterer Untersuchungen bedürfen, bevor über den Wert der Methode, welche wenigstens als Kontrolle neben anderen Wertbestimmungsmethoden verwendet werden könnte, ein endgültiges Urteil abgegeben werden kann.

Mit der Methode von Calmette und Quérin haben auch Henseval und Convent eine Virulenzprüfung durchzuführen versucht, indem sie 0,5 ccm einer 1 : 250 verdünnten Lymphe mit 1 ccm eines Vaccineserums vermischen und nach einigen Stunden das Gemisch auf ein Kaninchen verimpfen. Dieses Mengenverhältnis haben sie als das für den Versuch geeignetste durch Verwendung verschieden starker Verdünnungen der Lymphe einerseits und verschieden großer Mengen

Tabelle I.

Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe am Kaninchen durch cutane Impfung nach der modifizierten Methode Calmette-Quérin.

Impfstoff Nr.	Tag der Auswer- tung am Kaninchen	Zahl der Pusteln be- rechnet auf 1 qcm	Tag der Auswertung am Kind Erst- bzw. Wieder- impfung	Pustel- bewer- tungs- index	Area- bewer- tungs- index	Durch- schnitt- liche Pu- stelbreite in mm	Revac- cinations- index
I. T. 1b	21. I.	133,000	24. I.	—	1,7	2,0	6,1
„ 2b	21. I.	210,000	25. I.	—	1,5	1,8	5,2
„ 2c	30. I.	86,000	26. I.	—	1,8	2,1	5,2
„ 3a	5. II.	122,000	—	—	—	—	—
„ 3b	5. II.	107,000	—	—	—	—	—
„ 4b	5. II.	67,500	—	—	—	—	—
„ 5b	5. II.	134,500	—	—	—	—	—
K. 1	2. III.	184,500	24. III.	20. III.	2,1	1,9	5,9
„ 2	8. III.	207,500	25. III.	20. III.	1,9	2,0	5,4
I. T. 6b	8. III.	157,500	27. III.	20. III.	2,0	2,2	5,4
„ 8	10. III.	180,000	28. III.	21. III.	1,7	1,7	5,4
„ 10	10. III.	160,000	—	—	—	—	—
„ 11b	10. III.	290,000	29. III.	22. III.	1,9	2,3	5,7
„ 12b	10. III.	80,000	—	—	—	—	—
„ 13	10. III.	137,500	—	—	—	—	—
„ 14b	10. III.	227,500	1. IV.	20. III.	2,3	2,2	5,8
„ 15b	10. III.	192,500	20. III.	—	1,9	1,9	5,7
„ 16	23. III.	212,500	—	21. III.	—	—	6,9
„ 17a	23. III.	171,250	—	24. III.	—	—	8,2
„ 17b	23. III.	180,000	—	22. III.	—	—	7,5
„ 18	29. III.	78,000	3. IV.	4. IV.	2,0	2,2	6,1
„ 19	29. III.	180,000	4. IV.	4. IV.	2,3	2,3	6,3
„ 20	29. III.	200,000	5. IV.	3. IV.	1,8	2,0	5,7
„ 21	31. III.	186,200	6. IV.	4. IV.	2,4	2,1	5,9
„ 22	31. III.	146,000	—	5. IV.	—	—	8,7

Antisera andererseits gefunden. Das Vaccineserum wird dadurch gewonnen, daß die ganze Rückenfläche eines Kaninchens mit einer 1 : 50 verdünnten Lympe geimpft, das Tier nach Ablauf von 18 Tagen entblutet, das Serum in Phiolen von 1—2 ccm verteilt und im Vakuum getrocknet wird. Das Präparat soll wenigstens 8 Monate konstante Wirksamkeit behalten. Henseval und Convent bewerten also die Wirksamkeit der Lympe nach der Einwirkung, welche ein bekanntes Vaccineserum auf sie ausübt.

Allen früher angegebenen Methoden der Wertbestimmung im Tierversuch haftet der Mangel an, daß der genügende, nur durch Vergleich mit einem mehr oder weniger ausgedehnten menschlichen Material zu gewinnende Beweis ihrer Anwendbarkeit so gut wie vollkommen gefehlt hat. Es kann durchaus nicht genügen, wie es bisher immer geschehen ist, wenn dem Ergebnis der Impfung am Kaninchen die photographische Aufnahme eines mit derselben Lympe geimpften

Erstimpflings gegenübergestellt wird, weil dabei auch völlig unbeabsichtigte Täuschungen möglich, bis zu einem gewissen Grade sogar wahrscheinlich sind. Auch sehr gute Impfstoffe werden unter einer größeren Zahl von Impfungen aus irgendwelchen Gründen bei einzelnen zu weniger gut ausgebildeten Pusteln führen, ebenso wie schwache Impfstoffe in dem einen oder anderen Falle zu einem sehr guten Erfolge führen können, während die Mehrzahl der geimpften Kinder nur schwach entwickelte Pusteln aufweist. Die Möglichkeit unzulässiger Vergleiche ist daher sehr leicht gegeben.

Neben der cutanen Impfung, welcher sich die bisherigen Methoden bedienten, kann noch ein anderer Weg der Infektion eingeschlagen werden, wenn man den Gedanken an die Möglichkeit der Gewinnung einer brauchbaren Virulenzprüfung durch Impfung des an sich sehr empfänglichen Kaninchens weiter verfolgt.

Der Infektionsmodus, welcher ebenfalls deutlich sichtbare Erscheinungen auf der Kaninchenhaut erzeugt, ist die intracutane Impfung, über deren Ergebnis zuerst von de Waele und Sugg im Jahre 1905 berichtet wurde. Die Zusammenfassung ihrer Erfahrungen lautet: „Versuche, Kaninchen mit Kuhpockenlymphe intracutan zu impfen, haben nur sehr wenig interessante Resultate geliefert. In der Hauptsache sind sie negativ; manchmal konnten wir am dritten Tage die Bildung von Papeln beobachten, die dann schrumpften und am sechsten Tage abgeheilt waren. Wir fanden, daß bei den Tieren große individuelle Verschiedenheiten vorkommen.“ Im Jahre 1910 haben Novotny und Schick über mehrere Versuche mit intracutaner Injektion verschiedener Konzentrationen von Kuhpockenlymphe berichtet. Nach ihnen führt die Vaccineinfektion des weißen Kaninchens durch intracutane Injektion von virulenter Vaccinelymphe stets zu positivem Ergebnis, ohne daß sie die Frage entscheiden konnten, welche Konzentration die besten Resultate liefert. Über die Art der von ihnen angestellten Versuche, namentlich über die, wie sich später zeigen wird, für das Gelingen der Versuche grundlegende Vorbehandlung der Kaninchen wurden keine Mitteilungen gemacht.

Unsere eigenen ersten Versuche mit der intracutanen Injektion von Vaccine in die enthaarte Haut des Kaninchenrückens führten zu außerordentlich wechselnden Ergebnissen, welche die Anschauung von de Waele und Sugg zu bestätigen schienen, daß bei den Tieren große individuelle Verschiedenheiten vorkommen und welche die Möglichkeit der Gewinnung einer brauchbaren Wertbestimmung sehr zweifelhaft erscheinen ließen. Diese Auffassung von den individuellen Verschiedenheiten in der Empfänglichkeit der Tiere stand jedoch in Widerspruch mit der Tatsache, daß die cutane Impfung der Tiere auch mit höheren Verdünnungen der Lymph nicht nur konstant ge-



lingt, sondern auch sehr intensive Reaktionen spezifischen Charakters erzeugt. Es mußte daher entweder die intracutane Injektion selbst kein geeigneter Infektionsmodus und die positiven Resultate mehr oder weniger zufälligen günstigen Nebenumständen zuzuschreiben sein oder auch, und das schien uns nach dem Ergebnis unserer Vorversuche von vornherein das Wahrscheinlichste, daß gewisse technische Vorbedingungen erfüllt werden müssen, von welchen das regelmäßige Gelingen der Versuche abhängig ist.

Diese Vorbedingungen betreffen in erster Linie die Herstellung eines geeigneten Nährbodens, d. h. die Vorbehandlung der von uns wegen ihrer pigmentfreien Haut ausnahmslos verwendeten weißen, nicht unter 8 Monate alten, also ausgewachsenen, möglichst gleichalterigen Kaninchen. Die Enthaarung des Rückens des Kaninchens erfolgt mittels Calciumhydrosulfid, das wir im Abzug durch Übergießen von Schwefeleisen mit roher Salzsäure im Kippschen Apparat und durch Einleiten des entstehenden Schwefelwasserstoffes in dünne Kalkmilch 1 : 4 gewinnen, wobei eine möglichst sorgfältige Umwandlung des Calciumhydroxyds in Calciumhydrosulfid durch längeres (1—2 Stunden) Einleiten des Schwefelwasserstoffes und häufiges Umrühren der Kalkmilch erzielt wird. Der Rücken der Tiere wird mittels Schere oder Maschine unter Vermeidung von Verletzungen so gut als möglich geschoren, das Calciumhydrosulfid in dicker Schicht aufgetragen, etwa 5 Minuten belassen und dann nach Prüfung, ob die Enthaarung vollendet ist, mit Wasser sorgfältig abgespült, das Kaninchen getrocknet und die enthaarte Haut mit Vaseline leicht gefettet. Die Enthaarung gelingt auf diese Weise wenigstens bei ausgewachsenen Tieren fast regelmäßig vollkommen. Bei jüngeren Tieren dagegen mißlingt die Enthaarung nicht selten infolge einer auch bei einzelnen älteren Tieren mitunter beobachteten Beschaffenheit der Haut, welche anscheinend auf den Wechsel des Haarpelzes zurückzuführen ist. Diese Beschaffenheit kennzeichnet sich in einer urticariaartigen Schwellung meist nur einzelner, inselartiger Flecken, in manchen Fällen allerdings auch der gesamten Rückenhaut und ist nicht selten schon nach dem Scheren an figurenartig angeordneter dichter Behaarung mehr oder weniger deutlich zu erkennen. Nach dem Enthaaren treten diese Stellen als anscheinend gut enthaarte, gerötete und etwas gequollene Felder auf der sonst blaßroten Haut hervor, zeigen aber bald, am nächsten oder übernächsten Tage ganz feine kurze Behaarung, die in der Folge rasch zunimmt und die Entwicklung der Impfstellen entweder völlig verhindert oder zum mindesten stört. Finden sich jedoch bei solchen Tieren, wie es die Regel ist, genügend große einwandfrei enthaarte Stellen, so steht ihrer Verwendung nichts im Wege. Die chemische Enthaarung, zugleich das schonendste, weil fast schmerzfreie Verfahren, muß eine vollkommene sein, da von der Erfüllung dieser Bedingung in erster Linie das Gelingen der Versuche abhängt. Von fast ebenso ausschlaggebender Bedeutung ist die Rückkehr der immer durch Calciumhydrosulfid in geringerem, durch Calciumhydroxyd in stärkerem Maße in seinen oberflächlichen Epithelschichten geschädigten Haut zur völligen Norm. Die unmittelbar nach der Enthaarung durchaus glatt erscheinende Haut beginnt regelmäßig nach etwa 3—4 Tagen sich entzündlich zu rötten, um nach weiteren 3—4 Tagen unter größerer oder geringerer Schuppung zu einem völlig reizlosen Zustand zurückzukehren. Wir injizieren ausnahmslos erst nach Ablauf aller entzündlichen Erscheinungen, gewöhnlich 8—10 Tage nach der Enthaarung. Da gut enthaarte Tiere gewöhnlich erst Ende der dritten Woche und später sich wieder behaaren, so steht genügend lange Zeit für die Anstellung der Versuche zur Verfügung.

Zur Injektion bedienen wir uns der mit sehr scharfer Einteilung in Kubikmillimeter versehenen Tuberkulinspritzen, auf deren mit Lederdichtung versehenen Konus wir die Nadel aufschrauben, um durch absolut dichten Verschuß Verluste der mitunter unter Druck einzuspritzenden Flüssigkeit zu vermeiden. Die Nadeln sind feine Platin-Iridiumnadeln, welche gegen Abbiegen oder Brechen durch Metallverstärkung bis fast zur Hälfte geschützt sind. Wir injizieren 0,1 ccm der auf folgende Weise hergestellten Verdünnungen. 0,4 ccm der gebrauchsfertigen Glycerinlymphe wird mit 3,6 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung verdünnt und zur Entfernung der gröberen, die Injektionsnadel leicht verstopfenden Gewebsteilchen filtriert. Zur Filtration benutzen wir das gut durchlässige chemisch reine Rapid-Crepp-Filtrierpapier N. 86 von Max Dreverhoffs in Dresden, das wegen der Gleichmäßigkeit seiner Herstellung auch sehr gleichmäßige Verdünnungen gewährleistet. Aus dem fein getrübten Filtrat 1 : 10 stellen wir dann die weiteren Verdünnungen (je 0,2 auf 1,8 Kochsalzlösung) her: 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000 und 1 : 100 000.

An sich würde es nahe liegen, für jeden einzelnen Impfstoff einen Grenztiter und danach die Virulenz zu bestimmen. Verdünnungen jedoch, welche über 1 : 100,000 hinausgehen, liefern auch bei höchstvirulenten Impfstoffen nicht immer völlig einwandfreie Resultate. Verimpft man nämlich sehr hohe Verdünnungen ( $1:10^6$ ,  $1:10^7$ ) mehrmals auf einem Versuchstier, so treten neben positiven auch negative Reaktionen auf, was darauf zurückzuführen ist, daß die verimpfte Verdünnung eine sehr schwache Emulsion zum Teil freier, zum Teil an feinsten Gewebsteilen haftender Vaccineerreger, nicht eine chemische Lösung, darstellt. Es ist daher möglich, daß in einem Teile der injizierten Einzeldosen (0,1 ccm) noch die genügende Zahl virulenter Keime, welche in der Haut des Kaninchens sich vermehren und entzündliche Gewebsveränderungen hervorrufen können, vorhanden ist, in einem anderen Teile dagegen die Zahl der deponierten Keime nicht groß genug ist, um die der Erzeugung einer spezifischen Reaktion gesetzten Grenzschwelle zu überschreiten. Es muß auch damit gerechnet werden, daß der in der Haut zwar sehr verlangsamte, aber doch vorhandene Säftestrom einen Teil der eingebrachten Keime aus dem geschaffenen Depot in den Kreislauf überführt und damit einer weiteren Entwicklung entzieht. Diese bei normalen Hautverhältnissen unwesentliche Ausschwemmung eingebrachter Keime tritt dann störend hervor, wenn entzündliche oder regenerative Prozesse, welche eine stärkere und beschleunigtere Durchströmung der Haut herbeiführen, gegeben sind. Darauf beruht auch die Forderung nach einwandfreier Enthaarung und völlig normaler Beschaffenheit der Haut, zum mindesten an den Stellen der Injektion.

Um etwaige, durch Verschiedenheiten der individuellen Empfänglichkeit des Versuchstieres hervorgerufene Schwankungen auszuschalten, ist es notwendig, jeden Impfstoff auf zwei Kaninchen, und um an Tiermaterial zu sparen, nur auf einer Seitenfläche des Rückens zu

verimpfen, und die andere Seite der beiden Kaninchen zur Auswertung eines zweiten Impfstoffes zu benutzen. Die Impfstellen sind wenigstens 2 cm voneinander entfernt anzulegen.

Die Injektion selbst muß möglichst oberflächlich, rein subepidermoidal, unter Vermeidung zweimaligen Einstechens an derselben Stelle, Durchstechens durch die Haut oder Anstechens von Blutgefäßen erfolgen und führt dann zu einer halbkugeligen, etwa 10 mm im Durchmesser haltenden Quaddel, welche noch mehrere Stunden deutlich sichtbar bleibt. An die Stelle der Quaddel tritt nach einigen Stunden eine geringe traumatische Reaktionsröte, welche gewöhnlich am Ende des ersten Tages verschwindet. Die spezifische Reaktion beginnt bei den Verdünnungen 1 : 10 meist schon nach etwa 24 Stunden mit Rötung und infiltrativer Schwellung der Haut, welche sowohl nach der Breite als auch Tiefe rasch zunimmt und nach 3—3½ Tagen ihren Höhepunkt erreicht. In dieser Zeit stellt sich die ausgesprochene spezifische Reaktion als eine intensiv rote, gut abgegrenzte, über die Oberfläche der umgebenden Haut leicht erhabene, derbe Infiltration dar, welche häufig zentral eine leicht gelbliche Farbe als Zeichen oberflächlicher Nekrose und mitunter feinste capilläre Blutaustritte zeigt. Nach Ablauf von 4 Tagen erfolgt die Rückbildung der Rötung und Schwellung, das Zentrum sinkt leicht ein, Nekrosen und Blutungen zeigen leichte Schorfbildung. In den nächsten Tagen tritt unter weiterem Rückgang der entzündlichen Erscheinungen im ganzen Bereich der Reaktion feine Schuppung, im Mittelpunkt nicht selten Krustenbildung ein. Nach 12—14 Tagen ist der Rückbildungsprozeß beendet, an die Stelle der Reaktion ist eine leicht glänzende, weißliche, gut sichtbare, im Niveau der Haut liegende Narbe getreten. Die Verdünnungen 1 : 100 bis 1 : 100000 bilden in entsprechendem absteigendem Maße die gleiche infiltrative Schwellung und Rötung, doch ist der Beginn ihrer Entwicklung verzögert, die Ausbildung geringgradiger und die Rückbildung früher vollendet.

Es hat sich bei unseren Versuchen gezeigt, daß die intracutane Injektion als Methode bei der experimentellen Vaccine den bisher geübten Verfahren der cutanen und cornealen Impfung als durchaus überlegen zu bezeichnen ist. Von besonderem Interesse waren hierbei auch die Versuche mit intracutaner Injektion von Variolamaterial, das der Landesimpfanstalt zum Zwecke der biologischen Differentialdiagnose gegenüber anderen Exanthemen zur Verfügung gestellt wurde. Die intracutane Injektion von Material, welches den Variolaerreger aus frischen oder eitrigen Pockenpusteln im Abstrich auf Objektträgern oder in Pockenborken enthält und in einigen Tropfen Kochsalzlösung emulgiert bzw. verrieben wird, führt regelmäßig zu den gleichen mehr oder weniger intensiven Erscheinungen wie Vaccine. Da Vergleichs-

versuche mit Material von *Impetigo contagiosa*, *Erythema exsudativum multiforme* und namentlich *Varicellen* stets negative Resultate geliefert haben, so ist hier die Möglichkeit einer sicheren biologischen Differentialdiagnose gegeben, sofern die bisherigen Ergebnisse der nur mit wenigen Fällen angestellten Versuche durch weitere Beobachtungen bestätigt werden.

Obwohl die Reaktion ihrer ganzen Entwicklung nach zweifellos als eine spezifisch vaccinale angesehen werden mußte, hielten wir es doch für angezeigt, zu prüfen, ob nicht die gleichzeitig mit den Vaccineerregern injizierten Komponenten der Schutzpockenlymphe die gleichen oder ähnliche Bildungen hervorzurufen imstande sind, und vor allem, ob die Reaktion als Produkt des lebenden und vermehrungsfähigen Vaccineerregers anzusprechen ist. Als solche Komponenten kommen neben dem Vaccinevirus in Betracht: Kochsalz, Glycerin, Rindereiweiß zum Teil gelöst, zum Teil in Emulsion, Begleitbakterien und Vaccineerregereiweiß. Kochsalz und Glycerin geben außer der primären traumatischen keine Reaktion. Die Wirkung von Rindereiweiß prüften wir in folgender Weise. Eine Bugdrüse vom Rind wurde steril entnommen, im Mörser zerkleinert, mit Kochsalzlösung 1 : 2 versetzt und durch sterile Gaze filtriert. Das erhaltene Gemisch von gelöstem und ungelöstem, sehr fein verteiltem Rindereiweiß ergab bei intracutaner Injektion eine geringfügige, innerhalb zwei Tagen wieder verschwindende Rötung und Schwellung, die mit der spezifischen vaccinalen Reaktion nicht verwechselt werden kann. Die Injektion von 3 mal 24stündigen, mit Kochsalzlösung abgeschwemmten Agarreinkulturen von 25 verschiedenen, aus der Lymphe gezüchteten Kokken und Stäbchen hatte schon in früheren Versuchen negative Resultate geliefert, wie auch bakteriologisch sterile Schutzpockenlymphe positive spezifische Reaktionen ergibt. Zur Vornahme der Prüfung der Wirkung des Vaccineerregereiweißes wurde wegen der Unmöglichkeit, das Eiweiß der abgetöteten Vaccineerreger als solches zu gewinnen, Lymphe 1 Stunde im Wasserbad auf 56° erwärmt und in der üblichen Weise 1 : 10 verdünnt, filtriert und ebenfalls 0,1 ccm der Verdünnung injiziert. Es entsteht eine geringgradige Rötung und Schwellung, welche über den Umfang der Injektionsquaddel hinausgeht und deutlich intensiver erscheint als bei der Verimpfung der Aufschwemmung von Rindereiweiß, aber hinter der spezifischen Reaktion sehr wesentlich zurückbleibt. Sie hat, nachdem sie im Verlauf des zweiten Tages ihre größte Ausbildung erreicht hat, keine Neigung zum Wachstum, bildet sich vielmehr nach 2 Tagen langsam zurück und zeigt nach weiteren 24 Stunden feinste, sehr oberflächliche Schuppung. Ihre Rückbildung ist nach 4 Tagen ohne Hinterlassung einer sichtbaren Gewebsveränderung der Haut vollendet. Diese Entwicklung der reaktiven

Erscheinungen auf Vaccineerregereiweiß ist identisch mit den Gewebsveränderungen, welche nach Injektion vollvirulenter Vaccine in der Haut des vorher vaccineimmunisierten Kaninchens entstehen und in diesem Falle als Frühreaktion entsprechend der vaccinalen Frühreaktion bei Revaccination des Menschen anzusprechen sind. Umgekehrt darf daher die Frühreaktion als Vaccineerregereiweißreaktion angesehen werden, weil die Immunität des Versuchstieres eine Entwicklung des lebenden Erregers verhindert.

Den Beweis für den spezifisch-vaccinalen Charakter der durch intracutane Impfung von Kuhpockenlymphe in der Haut des Kaninchens entstehenden entzündlichen Veränderungen haben wir dann auch durch histologische Untersuchung derselben zu erbringen gesucht. Es gelingt tatsächlich, vor allem in den Bindegewebszellen innerhalb der Infiltrationen das Auftreten von zahlreichen Guarnierischen Körperchen festzustellen und damit den Nachweis des vaccinalen Charakters einwandfrei zu führen. Die Befunde von Guarnierischen Körperchen in den Bindegewebszellen innerhalb der vaccinalen Infiltration sind im Rahmen ausgedehnterer histologischer Untersuchungen der Kaninchenpocken von Dr. Hermann Abmayr erhoben worden.

Die für die Wertbestimmung der verimpften Schutzpockenlymphe maßgebende Beurteilung der einzelnen aus den verschiedenen Verdünnungen hervorgegangenen entzündlichen Infiltrationen erfolgt am besten Ende des dritten oder im Verlaufe des vierten Tages (Abb. 9 u. 10). In allen Fällen, in denen die Verdünnung 1 : 1000 kein deutlich positives Resultat ergeben hat, ist eine so ungenügende Virulenz der Lymph gegeben, daß ihre Verwendung zu Kinderimpfungen nicht mehr ratsam erscheint, wenn Fehlerfolge namentlich bei Wiederimpfungen vermieden werden sollen. Es liefert nämlich auch Lymph, welche deutliche Abschwächung auf dem Kinderarm mit teilweisem Ausfall des Schnitt- und persönlichen Erfolges zeigt, in den Verdünnungen 1 : 10 und 1 : 100 noch positive, wenn auch in ihrer Intensität stark herabgesetzte Resultate. Die eingebrachte Menge von Vaccineerregern in 0,1 ccm Lymph ist trotz der Verdünnung im Vergleich zu den außerordentlich geringen Mengen, welche zur erfolgreichen Impfung eines Kindes genügen, sehr groß und zudem werden durch die technisch richtig ausgeführte intracutane Injektion die Vaccinekeime gerade an der Stelle ihrer Entwicklungsmöglichkeit so sicher deponiert, wie es bei der cutanen Impfung nicht möglich ist.

Wenn auch im allgemeinen zwischen den Verdünnungen 1 : 1000 und 1 : 10000 die Grenze für die Verwendbarkeit der Lymph gegeben ist, so muß sich doch die Beurteilung in erster Linie auf das Gesamtbild der aus allen Injektionen hervorgegangenen Infiltrationen stützen, wobei die Intensität der Erscheinungen, namentlich die Breiten- und

Tiefenausdehnung der Infiltration und der Grad der Rötung zu beachten ist. Gleichzeitig wird dadurch ein Urteil über etwa vorhandene Fehlerquellen gewonnen, weil sich entsprechend der Steigerung der Verdünnung in fallender Reihe die Intensität der Erscheinungen verringert.

Die Festlegung der Bewertung erfolgt in der auch sonst üblichen Weise (+++, ++, +), wobei zur Gewinnung eines einfachen Zahlen-

Vaccinale Infiltrationen am Kaninchen nach intra-  
cutaner Injektion.

Aufnahme nach 3 mal 24 Stunden.

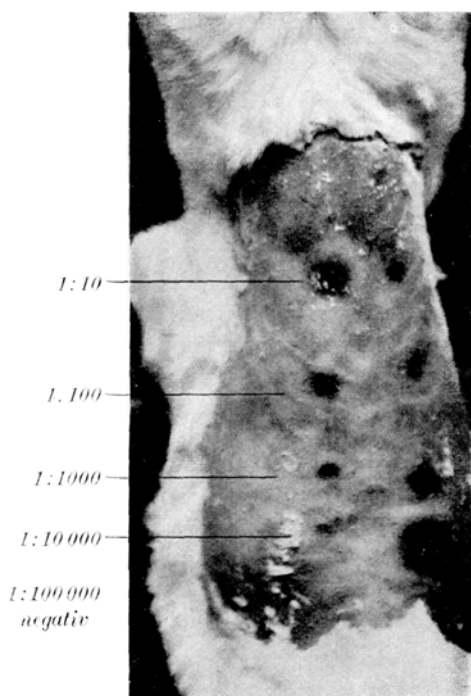


Abb. 9. Vaccine von mittlerer Virulenz.

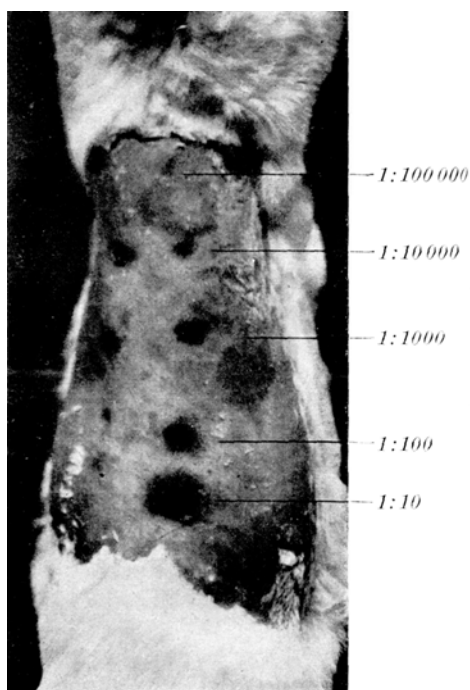


Abb. 10. Vaccine von hoher Virulenz.

wertes für statistische Vergleiche mit den Ergebnissen der Kinderimpfung  $++ = 3$ ,  $\pm = 2$  und  $- = 1$  gesetzt und durch Addition der für die einzelnen Infiltrationen errechneten Werte ein Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration gewonnen wird.

Um dieser mehr subjektiven Bewertung eine möglichst objektive Unterlage zu geben, haben wir in ähnlicher Weise, wie bei der Bewertung der Erstimpfpustel, Messungen der Reaktionsbreiten mit dem Schiebemaßstab vorgenommen und dadurch Größen erhalten, welche

einfachste und vollkommen einwandfreie Vergleichsmöglichkeiten liefern. Da die Reaktionen im allgemeinen fast kreisrund sind, genügt es, einen Durchmesser der entzündlichen Röte zu messen, im anderen Falle bestimmt man das Mittel aus dem größten und kleinsten Durchmesser. Im allgemeinen sind die Grenzen der entzündlichen Infiltration gegenüber der normalen Haut so scharf, daß sich bei wiederholten Messungen durch verschiedene Beobachter nur sehr geringe Fehlerbreiten ergeben, welche über 2—3 Zehntelmmillimeter nicht hinausgehen.

Die Summe der Breitendurchmesser der aus allen 5 Verdünnungen eines Impfstoffes hervorgegangenen Infiltrationen ergibt den „Durchmesser der vaccinalen Infiltration“.

In der Tabelle II sind die während der Jahre 1917 und 1918 gewonnenen Ergebnisse zusammengestellt, soweit die Wertbestimmung sowohl an Kaninchen als auch an einer genügend großen Zahl von Erst- bzw. Wiederimpfungen durchgeführt werden konnte. Es geht in erster Linie daraus hervor, daß zwischen den einzelnen Impfstoffen beträchtliche, durch die intracutane Wertbestimmung festzustellende Differenzen ihrer Virulenz bestehen, welche sowohl im „Bewertungsindex“ als auch im „Breitendurchmesser der vaccinalen Infiltration“ ihren zahlenmäßigen Ausdruck finden. Diese Differenzen in den Zahlenwerten beanspruchen deshalb eine besondere Bedeutung, weil die weit überwiegende Mehrzahl derselben für Impfstoffe gewonnen wurde, deren Virulenz bei ihrer Verimpfung auf Erstimpfungen als innerhalb des vollen persönlichen und Schnitterfolges gelegen war. Die intracutane Wertbestimmung läßt also auch da noch Differenzen der Virulenz deutlich erkennen, wo unter Anwendung der früheren Wertbestimmungsmethoden, die sich auf das Ergebnis der Impfung von Erstimpfungen stützen, Unterschiede nicht mehr oder doch nicht deutlich genug in Erscheinung treten. Während der Kaninchenbewertungsindex zwischen 9 und 25, der Infiltrationsdurchmesser zwischen 21,1 und 72,0 sich bewegte, die Steigerung von der untersten zur obersten Stufe 100 : 278 und 100 : 341 betrug, war die Steigerung beim Revaccinationsindex (5,1—10,7) 100 : 210, beim Pustelbewertungsindex (1,4—2,4) 100 : 171, beim Areabewertungsindex (1,5—2,8) 100 : 186 und bei der durchschnittlichen Pustelbreite (4,8—6,4) nur mehr 100 : 133. Der Grund für diese relative Gleichmäßigkeit der Ergebnisse, welche sich im besonderen aus den bei Erstimpfungen angewendeten Bewertungs- und Messungsmethoden gewinnen lassen, liegt in der außerordentlich hohen, gewissermaßen absoluten Empfänglichkeit des Säuglings und Kleinkindes gegenüber der Erstinfektion mit Vaccine, welche auch auf schwächere Infektionen mit Reaktionen antwortet, die nicht allzusehr hinter dem Maximum der Reaktionsfähigkeit gegenüber intensiven Infektionen zurückbleiben.

Tabelle II.

Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe am Kaninchen durch intracutane Injektion.

Impfstoff	Kaninchen		Erstimpflinge			Wiederimpflinge
Nr.	Be- wertungs- index	Infil- trations- Durchmesser in mm	Pustel- bewertungs- index	Area- bewertungs- index	Durch- schnittliche Pustelbreite in mm	Revaccinations- index
<b>1917</b>						
1b	18	44,8	1,7	2,0	6,1	—
2b	25	57,9	1,5	1,8	5,2	—
6b	25	60,0	2,0	2,2	5,4	9,0
8	9	21,1	1,7	1,7	5,4	5,2
11b	12	29,9	1,9	2,3	5,7	8,8
14b	20	50,2	2,3	2,2	5,8	9,0
15b	14	38,1	1,9	1,9	5,7	—
17a	17	45,7	—	—	—	8,2
18	18	48,5	2,0	2,2	6,1	7,4
19	20	60,0	2,3	2,3	6,3	9,5
20	25	66,5	1,8	2,0	5,7	8,4
21	22	56,3	2,4	2,1	5,9	8,9
22	22	68,1	—	—	—	8,7
23	13	48,1	—	—	—	6,0
24	17	54,9	2,0	2,0	5,7	7,9
25a	16	50,7	1,8	1,5	5,2	—
27b	19	55,5	2,1	2,3	6,1	8,0
29	20	62,7	—	—	—	7,3
30	16	52,5	1,9	1,8	5,5	6,4
31	23	68,1	2,1	2,3	5,8	7,5
32b	25	70,8	2,0	2,0	5,4	7,2
33b	18	55,4	2,2	2,3	5,6	7,8
34	16	55,6	2,0	2,3	5,9	7,5
35	15	43,7	1,9	2,2	5,6	6,3
37	11	35,6	2,1	2,4	5,8	7,7
38b	24	66,9	2,1	2,3	5,9	9,1
39b	19	56,1	2,0	2,2	5,8	—
40	16	44,1	1,8	2,0	4,9	6,7
41	18	52,7	1,9	2,0	5,2	7,0
42	10	37,4	2,1	2,1	5,3	5,7
43	9	33,4	1,9	1,9	5,6	7,4
45c	11	45,6	1,4	1,9	4,8	5,5
50b	20	45,6	2,4	2,4	6,1	8,1
52	13	47,8	2,0	2,1	5,8	8,5
61	17	45,1	1,8	2,0	5,6	8,3
64b	22	60,2	2,1	2,1	6,0	—
65	21	66,7	2,1	2,6	5,9	—
66	22	66,8	2,0	2,2	6,4	—
67	12	47,3	1,4	1,8	5,4	—
68	13	49,1	1,9	2,3	6,1	—
73b	25	67,5	2,4	2,7	6,3	—



Tabelle II (Fortsetzung).

Impfstoff	Kaninchen		Erstimpflinge			Wiederimpflinge
Nr.	Be- wertungs- index	Infil- trations- Durchmesser in mm	Postel- bewertungs- index	Area- bewertungs- index	Durch- schnittliche Postelbreite in mm	Revaccinations- index
74b	15	51,7	2,1	2,5	5,9	—
75b	16	55,0	2,0	2,4	5,7	—
79b	19	54,9	2,2	2,3	6,2	—
90	13	44,3	1,5	2,0	5,0	—
92	16	51,6	1,8	2,4	5,8	—
1918						
1	10	41,5	1,9	2,4	6,0	5,1
2	14	48,9	2,0	2,3	5,7	6,0
3b	17	59,2	2,2	2,5	6,1	7,1
4a	10	48,7	1,9	2,1	5,7	6,6
5b	10	35,3	—	—	—	7,6
6b	14	49,2	—	—	—	7,9
8	18	60,8	—	—	—	10,7
9	17	52,5	—	—	—	9,3
12	17	55,0	—	—	—	7,0
13b	18	50,3	—	—	—	9,1
14b	17	50,3	—	—	—	8,7
15a	19	47,3	—	—	—	9,2
15b	24	52,5	—	—	—	10,2
20	20	47,9	—	—	—	9,4
21	16	45,5	—	—	—	7,4
22	20	51,1	—	—	—	9,6
23	16	49,4	—	—	—	7,1
25	19	54,3	—	—	—	7,6
30	16	50,7	—	—	—	7,5
33	17	53,1	—	—	—	7,7
34b	12	48,4	—	—	—	7,0
37	15	54,4	—	—	—	7,4
38	19	62,5	—	—	—	7,6
42	17	44,3	—	—	—	7,7
48	15	53,4	—	—	—	7,4
49	14	46,7	—	—	—	7,8
51b	16	54,9	1,9	2,7	5,9	—
70	13	47,9	1,8	2,4	5,3	—
82b	20	69,0	2,0	2,7	6,1	—
83b	17	61,3	—	—	—	8,5
84b	17	57,9	1,9	2,2	5,4	—
85b	16	42,1	1,9	2,4	6,0	—
87	18	58,5	1,7	1,7	5,2	—
91	17	51,9	2,0	2,4	6,2	—
93	15	49,7	1,7	2,2	5,0	—
94	12	44,1	2,0	2,2	5,6	—
96	22	72,0	2,2	2,3	6,3	—
99b	20	62,3	2,0	2,4	6,1	—
100	22	60,4	1,8	2,5	5,4	—

Tabelle II (Fortsetzung).

Impfstoff	Kaninchen		Erstimpflinge			Wiederimpflinge
	Be- wertungs- index	Infil- trations- Durchmesser in mm	Pustel- bewertungs- index	Area- bewertungs- index	Durch- schnittliche Pustelbreite in mm	Revaccinations- index
101	18	56,1	2,0	2,6	5,7	—
1 2	11	32,6	1,5	2,2	5,4	—
104	16	54,4	2,0	2,5	5,7	—
105	17	51,1	2,1	2,4	6,2	—
106	13	44,4	1,9	2,1	5,6	—
107	12	40,6	2,1	2,2	6,0	—
110	15	49,4	2,2	2 8	6,4	—
111	13	41,2	2,1	2,7	6,2	—
156b	15	47,9	2,0	2,4	5,8	—
157a	14	39,4	1,9	2,1	5,5	—

In Tabelle III und IV sind die Ergebnisse der bei 1581 Erstimpflingen mit 68 verschiedenen Impfstoffen ausgeführten Impfungen, wobei durchschnittlich auf einen Impfstoff 23 Kinder entfallen, mit den Ergebnissen der Kaninchenwertbestimmung in Beziehung gebracht und dabei in Tabelle III der Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration am Kaninchen und in Tabelle IV die durchschnittliche Pustelbreite der Erstimpflinge nach je 5 Stufen zugrunde gelegt und für die übrigen korrespondierenden Größen die mittleren Werte berechnet. Es geht daraus hervor, daß einem ansteigenden Kaninchenbewertungsindex und zunehmenden Infiltrationsdurchmesser eine Steigerung des Pustel- und Areabewertungsindex und zunehmende Pustelbreite bei Erstimpflingen und umgekehrt der zunehmenden Impfpustelbreite eine Steigerung des Pustel- und Areabewertungsindex bei Erstimpflingen und des Bewertungsindex und des Breitendurchmessers am Kaninchen entspricht.

Tabelle III.

Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe durch intracutane Injektion am Kaninchen und Ergebnisse der Erstimpfung.

Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration am Kaninchen	Durchschnitt- licher Breiten- durchmesser der vaccinalen Infiltration am Kaninchen	Am Erstimpfling			
		Durch- schnitt- licher Pustel- bewertungs- index	Durch- schnitt- licher Area- bewertungs- index	Durchschnitt- licher Breiten- durchmesser der Impfpusteln in mm	
unter 12 . . . . .	37,0	1,8	2,1	5,5	8 Stoffe
von 12 bis unter 15	43,3	1,9	2,2	5,7	13 „
„ 15 „ „ 18	51,2	2,0	2,3	5,7	20 „
„ 18 „ „ 21	55,0	2,1	2,3	5,9	14 „
„ 21 und darüber	64,6	2,0	2,3	5,8	13 „

Tabelle IV.

Ergebnisse der Erstimpfung und Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe durch intracutane Injektion am Kaninchen.

Durchschnittlicher Breitedurchmesser der Impfpustel in mm	Durchschnittlicher Pustelbewertungsindex	Durchschnittlicher Areabewertungsindex	Durchschnittlicher Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration am Kaninchen	Durchschnittlicher Breitedurchmesser der vaccinalen Infiltration am Kaninchen in mm	
unter 5,1 . . . . .	1,6	2,0	13,8	45,9	4 Stoffe
von 5,1 bis unter 5,4	1,8	1,9	16,7	50,9	6 „
„ 5,4 „ „ 5,7	1,9	2,1	15,7	47,2	15 „
„ 5,7 „ „ 6,0	2,0	2,3	17,0	52,8	22 „
„ 6,0 und darüber	2,1	2,4	17,9	54,0	21 „

Tabelle V.

Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe durch intracutane Impfung am Kaninchen und Ergebnisse der Wiederimpfung.

Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration am Kaninchen	Durchschnittlicher Breitedurchmesser der vaccinalen Infiltration am Kaninchen in mm	Durchschnittlicher Revaccinationsindex	
unter 12 . . . . .	37,3	6,4	8 Stoffe
von 12 bis unter 15 . .	45,6	7,4	7 „
„ 15 „ „ 18 . .	51,1	7,6	19 „
„ 18 „ „ 21 . .	53,7	8,5	15 „
„ 21 und darüber . .	63,7	8,6	8 „

Tabelle VI.

Ergebnisse der Wiederimpfung und Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe durch intracutane Impfung am Kaninchen.

Revaccinationsindex	Durchschnittlicher Bewertungsindex der vakzinalen Infiltration am Kaninchen	Durchschnittlicher Breitedurchmesser der vakzinalen Infiltration am Kaninchen in mm	
von 5,0 bis 6 . . . . .	10,0	36,4	4 Stoffe
„ 6 „ 7 . . . . .	14,0	47,7	6 „
„ 7 „ 8 . . . . .	16,4	52,0	25 „
„ 8 „ 9 . . . . .	18,3	52,0	11 „
„ 9 und darüber . .	20,5	54,5	11 „

In Tabelle V und VI sind die Ergebnisse der bei 6966 Wiederimpfungen mit 57 Impfstoffen ausgeführten Impfungen, wobei durchschnittlich auf 1 Impfstoff 122 Kinder entfallen, mit den Ergebnissen der Kaninchenwertbestimmung in Beziehung gebracht und dabei in Tabelle V der Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration am Kaninchen und in Tabelle VI der Revaccinationsindex nach je 5 Stufen

zugrunde gelegt und aus den korrespondierenden Größen die mittleren Werte berechnet. Auch hier zeigt sich, daß einem ansteigenden Kaninchenbewertungsindex und zunehmenden Infiltrationsdurchmesser eine Steigerung des Revaccinationsindex und umgekehrt entspricht. Damit ist der früher geforderte Nachweis der praktischen Anwendbarkeit der Methode geliefert.

Aus den Tabellen lassen sich gleichzeitig die Richtlinien für die praktische Verwertung der mit der Methode gewonnenen Ergebnisse nach der Richtung hin gewinnen, welche Größe als unterste Grenze für die Verwendbarkeit eines Impfstoffes anzusprechen ist. Impfstoffe, welche einen Bewertungsindex der vaccinalen Infiltration unter 12 oder noch besser, da es sich um eine objektive Größe handelt, einen Breiten-durchmesser der vaccinalen Infiltration am Kaninchen unter 40,0 erzielen, dürfen nur mit Vorbehalt zur Kinderimpfung verwendet werden. Impfstoffe mit einem Bewertungsindex von 12 bis 18 und einem Breiten-durchmesser von etwa 40 bis 50 können als mittlere, Impfstoffe mit einem Bewertungsindex von über 18 und einem Breiten-durchmesser von über 50 können als gut bzw. sehr gut betrachtet werden.

Selbstverständlich wird nur eine längere Beschäftigung mit der Methode und die daraus zu gewinnende persönliche Erfahrung das ausschlaggebende Urteil ermöglichen.

#### Zusammenfassung.

Das einfachste Verfahren der Wertbestimmung der Schutzpocken-lymphe besteht in der Vornahme von Kinderimpfungen. Bei Erstimpfungen unterscheidet man den „persönlichen“ und den „Schnitt-erfolg“. Zur Feststellung der innerhalb der Breite des persönlichen und Schnitterfolges liegenden Virulenzgrade dient der „Pustel- und der Areabewertungsindex“ und die „durchschnittliche Pustelbreite“. Bei Wiederimpfungen unterscheidet man in ähnlicher Weise wie bei Erstimpfungen den „persönlichen Pustel-“ und den „Pustelschnitterfolg“. Die notwendige Ergänzung bildet der „Revaccinationsindex“.

Die mit der Wertbestimmung auf Kindern notwendig verbundenen Nachteile lassen sich vermeiden durch Verwendung des Kaninchens zur Wertbestimmung. Die bisher geübte Methode von Calmette und Quérin ist ungenau und nicht genügend auf ihre Verwertbarkeit geprüft. Die Modifikation der Methode durch Quérin selbst, Kelsch und Camus, Belin können als Verbesserungen nicht betrachtet werden. Eine Modifikation durch den Berichterstatter bedarf noch weiterer Versuche.

Allen bisher angegebenen, auf der cutanen Impfung des Kaninchens beruhenden Wertbestimmungsmethoden hat der genügende, nur an einer größeren Kinderzahl zu gewinnende Beweis ihrer Anwendbarkeit gefehlt.

Die intracutane Impfung des Kaninchens führt unter Einhaltung besonderer Vorbedingungen zu spezifischen Gewebsveränderungen (Rötung und infiltrative Schwellung) mit deutlich der Menge des einverleibten Virus entsprechenden Abstufungen. Durch die Gewinnung exakter Maße, „Bewertungsindex“ und „Durchmesser der vaccinalen Infiltration“ werden Vergleiche mit den Ergebnissen der Impfung von Erst- und Wiederimpfungen gewonnen, welche die praktische Verwertbarkeit der Methode der Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe durch intracutane Injektion am Kaninchen bestätigen.

---

#### Literaturverzeichnis.

Pirquet, v., Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie 1907. — Chaumier und Bonreau, Études expérimentales sur la vaccine et la vaccination. Rev. internat. de la vaccine 1910. — Warlomont, Traité de la vaccine. Paris 1883. — Gorini, Le contrôle du vaccin antivariolique. Rev. d'Hygiène et de méd. infantile 1903. — Calmette et Quérin, Recherches sur la vaccine expérimentale. Ann. de l'inst. Pasteur 1901. — Quérin, Contrôle de la valeur des vaccins jennériens par la numération des éléments virulents. Ann. de l'inst. Pasteur 1905. — Camus, Recherches sur l'immunité vaccinale. Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. 1908. — Henseval et Convent, Recherches sur l'immunité vaccinale. Rev. internat. de la vaccine 1912. — De Waele und Sugg, Experimentelle Untersuchungen über Kuhpockenlymphe. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 39, 1905. — Novotny und Schick, Vaccineinfektion des Kaninchens durch intracutane Injektion von Kuhpockenlymphe. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 5, 1910.

---