

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität in Budapest.
(Direktor: Professor E. Jendrassik.)

Die Aetiologie der Influenza.

Von Priv.-Doz. Dr. Ludwig Fejes.

Die ätiologische Erforschung der Influenza ergab bisher kein einheitliches Resultat. Die krankheitserregende Rolle der Pfeifferschen Bazillen wurde immer mehr angezweifelt. Eine große Anzahl von Untersuchern spricht ihnen bereits jede ätiologische Bedeutung ab. Von der Mehrzahl der Autoren wurden im Sputum, Blut, Pleuraexsudat usw. eitererregende Kokken mikroskopisch und kulturell nachgewiesen, und es fehlt nicht an Forschern, die den einen oder den anderen dieser Bakterien als Krankheitserreger betrachten.

Bei unseren eigenen Untersuchungen fanden wir den Pfeiffer-Bazillus selten im Sputum der Influenzakeranken. Auch wir fanden viel häufiger eitererregende Kokken. Hauptsächlich bei der Influenzapneumonie enthielt das Sputum in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle die erwähnten Keime. Am meisten waren die verschiedenen Arten der Streptokokken vertreten, so der Diplococcus lanceolatus, häufig auch in der Form von einer Kapsel umhüllten langen Ketten. Oft haben wir den Streptococcus haemolyticus longus und einigemal den von Wiener beschriebenen Streptococcus pleomorphus gefunden. Aus dem strömenden Blute der Grippepneumoniefälle konnten wir in jedem Falle einen der genannten Stämme aus dem mittels Venenpunktion gewonnenen Blute züchten. Hingegen ist uns der kulturelle Nachweis von Pfeiffer-Bazillen aus dem strömenden Blute nie gelungen (auch bei Heranziehung von Blutagar und Lewinthschem Agar bei der Züchtung).

Die große Mannigfaltigkeit der bakteriologischen Befunde bei der Prüfung der Grippekranken bzw. deren Sputa zeigt, daß in den einzelnen Herden der Pandemie bestimmte Keime häufiger nachweisbar waren. Die örtlichen und individuellen Verhältnisse scheinen hierbei eine gewisse Rolle gespielt zu haben. So ist es erklärlich, daß hauptsächlich diejenigen Autoren, die in kleineren Städten so ziemlich aus demselben Kreise stammende Kranke untersucht haben, leicht dazu verleitet wurden, den am häufigsten vorkommenden Keim als Krankheitserreger zu betrachten.

Durch die explosionsartige, auf ganze Weltteile sich gleichzeitig ausbreitende Art der Pandemie wurde die Natur des Erregers noch rätselhafter. Diese Art der Seuchenentstehung fiel in eine Zeit, wo schon durch die Verkehrsverhältnisse eine ausschließliche Uebertragung von Mann zu Mann unmöglich erscheint. So ist es leicht erklärlich, daß bereits eine Anzahl von Forschern die Bakteriennatur des Erregers bezweifelt und die Erklärung der Sonderstellung der Aetiologie, Pathogenese sowie des Krankheitsverlaufes und der Epidemiologie dieser Seuche in besonderen Eigenschaften des Virus gesucht hat.

So berichtet H. Selter¹⁾ über Versuche, wo er und seine Assistenten das Filtrat vom Rachensekret eines Grippekranken eingeatmet haben. Er selbst kam mit einem eintägigen Unwohlsein davon, die Assistentin hatte durch einige Tage Fieber. Die geringe Beweiskraft dieser Versuche ist einleuchtend, da bei der ungeheuren Verbreitung der Krankheit auch eine natürliche Infektion zeitlich zusammenfallen konnte. Größere Bedeutung müssen wir den Untersuchungen von Angerer²⁾ zuschreiben. Angerer hatte mit dem Sputum von Grippekranken Ratten subkutan geimpft, nach einiger Zeit die Ratten getötet und ihr Blut durch bakterienreiche Berkefeld-Kerzen filtriert. Das Filtrat wurde in Zuckerbouillon verimpft, worin sich stark lichtbrechende, sehr kleine, lebhaft Molekularbewegung zeigende, mit einfachen Färbemethoden gut darstellbare Gebilde entwickelten. Angerer ersieht in diesem filtrierbaren Gebilde den Krankheitserreger. Ähnliche Gebilde fanden Binder und Prell³⁾ im Blute und in Lungenschnitten von Patienten, die an Grippepneumonie

gestorben sind. Sie benennen diese Gebilde Aenigmoplasten und betrachten sie jedenfalls für den Erreger der Seuche. Die ätiologische Bedeutung eines filtrierbaren Virus wird ferner auch von Kruse¹⁾, Rimpau²⁾ und Hirschbruch³⁾ angenommen. E. Leschke⁴⁾ hat in Lungenschnitten und Bronchialschleimhaut von Influenzapneumoniefällen dieselben Chlamydozoen nachgewiesen und in Zuckerbouillon gezüchtet. Die Einatmung dieser Kulturen verursachte bei drei Personen eine typische Influenzaerkrankung.

Noch vor der Veröffentlichung dieser neuesten Mitteilungen habe ich im November 1918 meine Untersuchungen über die pathogene Fähigkeit des filtrierbaren Influenzavirus begonnen. Die Annahme eines filtrierbaren Erregers wurde einerseits durch die Mannigfaltigkeit der mitgeteilten und eigenen bakteriologischen Untersuchungen bestätigt, andererseits war eine vielseitige Ähnlichkeit der Seuche zu einigen, durch filtrierbare Erreger verursachte Tierseuchen feststellbar. Von den Seuchen unserer Haustiere zeigt besonders die Aetiologie und Pathogenese der Schweinepest eine große Analogie zu der jetzigen Influenza. Als Erreger der Schweinepest ist ein die Berkefeld-Kerze passierendes, also filtrierbares Virus anerkannt, da die Krankheit durch subkutane Verimpfung des bakterienfreien Blutes von schweinepestkranken Tieren auf gesunde Tiere übertragbar ist. Außer dem eigentlichen Krankheitserreger, dem filtrierbaren Virus, spielen in der Pathogenese der Schweinepest zwei Arten von Bakterien eine sehr wichtige Rolle: der Bacillus suispestifer, ein zu der Paratyphus-B-Gruppe, in die Familie der Hog-Choleraeime gehörender Bazillus, welcher bei der Schweinepest so häufig vorkommt, daß er lange Zeit für den Erreger der Seuche betrachtet wurde. Heute wird seine Bedeutung auf die einer Mischinfektion herabgesetzt. Es erscheint als eine allgemein anerkannte Tatsache, daß das filtrierbare Virus die schwere Gefäßwunderkrankung, die septische Allgemeinerkrankung hervorruft. Der als harmloser Schmarotzer in dem Darmtrakte gesunder Schweine sehr häufig vorkommende Bacillus suispestifer erlangt durch die septische Erkrankung plötzlich eine erhöhte Virulenz. Kraft dieser dringt er in die Follikel der Darmwand ein und verursacht die schwere ulzeröse Entzündung. Das zweite Begleitbakterium ist der Bacillus suissepticus, welcher zu den bipolaren Erregern der Septicaemia haemorrhagica gehört. Dieser Keim ist sowohl in der freien Natur im Boden auf Weiden als auch im Verdauungskanal gesunder Schweine stets nachweisbar. In dem pestkranken Schwein wird er durch Erhöhung seiner Virulenz plötzlich pathogen, er verbreitet sich durch den Blutweg und ruft öfters schwere Lungenentzündung, auch Lungenabszeß, Lungengrän und Brustfellentzündung vor.

Die Bedeutung der bei der jetzigen Influenzaepidemie vorgefundenen Bakterien erinnert an die Rolle dieser beiden Begleitbakterien der Schweinepest. Diese Analogie führte mich zu folgenden Versuchen.

Das Sputum der Grippekranken wurde folgenderweise bearbeitet: Das Sputum wurde in sterilen Gefäßen frisch aufgefangan, die vorhandenen Bakterien färberisch und kulturell bestimmt, danach wurde das Sputum mit steriler physiologischer Kochsalzlösung sehr stark verdünnt und so lange geschüttelt, bis eine homogene Flüssigkeit entstand. Die dünnflüssige, homogene Emulsion wurde jetzt durch eine bakterienreiche Berkefeld-Kerze bei schwachem negativen Drucke filtriert. Das Filtrat wurde zu weiteren Untersuchungen nur dann herangezogen, wenn die Filtrierung vollkommene Bakterienfreiheit ergab. Hiervon überzeigte ich mich stets durch mikroskopische und kulturelle Untersuchung des Filtrates. Eine Probe des Filtrates wurde auch in Aszitesbouillon verimpft. Die entstandene Trübung war durch die Entwicklung sehr kleiner Gebilde bedingt, welche lebhaft Molekularbewegung zeigten, durch starkes Lichtbrechungsvermögen erkennbar waren. Mit einfachen Farbstofflösungen konnten sie gut dargestellt werden, sie verhielten sich jedoch Gram-negativ. Diese Gebilde entsprechen den von Angerer, Binder und Prell, ferner von E. Leschke beschriebenen Chlamydozoen.

Das Filtrat wurde nun unmittelbar zu Tierversuchen in der Form von subkutaner Impfung verwendet. Die gewöhnlichen Versuchstiere des Laboratoriums, wie Kaninchen und Meerschweinchen, erwiesen sich unempfindlich für die Infektion, sie blieben nach der Impfung stets gesund. Es ist ja bekannt, daß die krankheitserregende Fähigkeit des filtrierbaren Virus nur auf diejenige Tierart beschränkt ist, in welcher auch die natürliche Infektion vorkommt. Deshalb habe ich in den weiteren Versuchen Affen als Versuchstiere verwendet. Bei jedem Versuch wurden je zwei Affen möglichst desselben Körpergewichts subkutan geimpft: mit der gleichen Menge des Filtrates. Der eine erhielt das Filtrat unmittelbar nach der Filtration, der zweite wurde mit einer Probe verimpft, die vorher eine Stunde lang auf 65° erwärmt wurde. Es ist ja bekannt, daß der filtrierbare Infektionserreger bei solcher Erwärmung seine pathogene Fähigkeit verliert; so diente der zweite Affe als Kontrolle.

Die Versuche nahmen folgenden Verlauf:

Am 20. November 1918 wurden zwei Macacus-rhesus-Affen in der angeführten Weise geimpft. Der Impfstoff war ein bak-

¹⁾ D. m. W. 1918 S. 932. — ²⁾ M. m. W. 1918 S. 1280.

³⁾ M. m. W. 1918 S. 1397 u. 1457.

¹⁾ M. m. W. 1918 S. 1228. — ²⁾ Verh. des ärztl. Vereins München, den 9. VII. 1918. — ³⁾ D. m. W. 1918 S. 935. — ⁴⁾ B. kl. W. 1919 S. 11.

terienfreies Filtrat, das durch Filtration des blutigen Sputums des Patienten K. D. gewonnen wurde. Der Patient befand sich am vierten Tage einer schweren beiderseitigen Grippepneumonie, die tödlichen Verlauf nahm. Im nativen Sputum war der *Diplococcus lanceolatus* in der Form von langen Ketten nachweisbar. Das Filtrat war bakterienfrei. Der Affe ging am neunten Tage nach der Impfung ein. Die Obduktion ergab auszüglich folgenden Befund:

Die Gesichtshaut und die Nägel des totenstarrten Affens sind tiefbläulich-livid. Das Herz mittelgroß, Muskulatur zähe. Das Pericardium viscerale zeigt auf der oberen Grenze des rechten Vorhofes eine linsengroße, zackige Blutung. Auf der Pleura pulmonalis sind zahlreiche punktförmige, teils zusammenfließende Blutungen vorhanden. Aus den eröffneten Bronchien strömt röthliches, seröses Sekret hervor. In dem lockeren Bindegewebe des vorderen und rückwärtigen Mediastinums ausgedehnte Blutungen. Milz mittelgroß, $1 \times 1 \times 0,5$ cm, die Pulpa fest. Die Nieren sind mittelgroß, die Struktur deutlich, sowohl auf den Nierenkapseln, wie in dem umgebenden Bindegewebe zahlreiche, bis hellerstückgroße, teils einzelne, teils zusammenfließende Blutungen. Die Magenschleimhaut ist blaß, über den Trabekeln zahlreiche punktförmige Blutungen. Die Schleimhaut des Dünn- und Dickdarmes ist blaß, sowohl die Serosa als die Schleimhaut mit unzähligen dieselben abhebenden Blutungen bedeckt. Besonders auf einer Stelle, nämlich 25 cm über dem Blinddarm, ist eine ausgedehnte Blutung sichtbar. Viele Blutungen enthält, meistens in der Form punktförmiger Herde, auch das Bauchfell. Auch in dem Bindegewebe rings um die Bauchspeicheldrüse sind ausgedehnte Blutungen. Das Peritoneum des Zwerchfells ist ebenfalls mit Blutungen übersät. Auf der Oberfläche der Dura mater, entsprechend dem Sinus longitudinalis, sind Unmengen von kleinsten Blutungen vorhanden.

Der zweite Affe, der das Filtrat nach vorheriger Erwärmung erhielt, blieb vollkommen gesund.

Am 24. November 1918 wurden zwei gleichwiegende, sehr stark entwickelte Paviane infiziert. Der Infektionsstoff wurde aus dem Sputum des Patienten B. F., der an schwerer beiderseitigen Lungenentzündung litt, gewonnen. Im frischen Sputum waren Streptokokken in langen Ketten nachweisbar. Auf Blutagar ging in Reinkultur *Streptococcus haemolyticus longus* auf. Aus der Kultur einer Probe des strömenden Blutes wurde dasselbe Bakterium gezüchtet. Das Filtrat erwies sich auch kulturell als bakterienfrei. Der mit frischem Filtrat geimpfte Affe ist elf Tage nach der Impfung zugrundegegangen. Aus dem Befunde der Leichenöffnung sei hervorgehoben, daß die Bronchialschleimhaut mit überaus vielen punktförmigen Blutungen übersät war. Auf der Schleimhaut des Dickdarmes und Blinddarmes mehrere bis erbsengroße Blutungen. Der Kontrollaffe, der das erhitzte Filtrat erhielt, blieb gesund.

Aehnliches Resultat ergab der dritte Versuch. Am 25. November 1918 wurden zwei starkentwickelte Macacusaffen geimpft. Als Impfstoff diente das Filtrat des stark blutigen Sputums des Patienten R. D. Der Patient befand sich am fünften Tage einer schweren beiderseitigen Lungenentzündung. In dem frischen Sputum waren Pneumokokken und Streptokokken in langen Ketten nachweisbar. Das Filtrat erwies sich als bakterienfrei. Der erste Affe verschied am 22. Tage nach der Impfung. Ausgedehnte Blutungen waren am Bauchfell vorhanden. Auffallend war der Sitz der Blutungen in der Mundschleimhaut, wo entsprechend dem letzten Molarzahn sehr viele kleinste punktförmige Blutungen waren. Der Kontrollaffe blieb gesund.

In dem vierten Versuch wurde das Sputum des Patienten R. Gy. verarbeitet. Der Patient befand sich am dritten Tage der Influenzapneumonie. Das Sputum enthielt Pfeiffer-Bazillen in großen Mengen. Der Bazillus wurde auf Blutagar in Reinkultur gezüchtet. Das Filtrat war bakterienfrei. Mit dem frischen Filtrat wurde ein starker Pavian, mit dem erwärmten Virus ein gleichentwickelter Macacus geimpft am 5. Dezember 1918. Der erste Affe ist am dreizehnten Tage nach der Impfung eingegangen. Die Leichenöffnung ergab das gewohnte pathologische Bild: In den parenchymatösen Organen schwere trübe Schwellung, auf der Schleimhaut des Magen-Darmtraktus, der Bronchien, ferner auf Zwerchfell und Dura mater ausgedehnte, teils isolierte, punktförmige, teils zusammenfließende Blutungen. Der Kontrollaffe blieb gesund.

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß das bakterienfreie Filtrat der Sputa unserer Lungenentzündungsfälle ein Virus enthielt, das die Berkefeld-Kerze durchdringt. Es erwies sich Affen gegenüber als sehr stark pathogen, alle Affen gingen unter den pathologischen Erscheinungen einer hämorrhagischen Sepsis ein. Daß diese Wirkung einem filtrierbaren lebenden Infektionserreger zuzuschreiben ist und nicht etwa durch ein im Sputum enthaltenes Toxin verursacht wird, das beweisen die folgenden Umstände. Vor allem spricht für die ätiologische Rolle eines lebenden Keimes der klinische Verlauf der Erkrankung des Affen. Der Affe erkrankt nämlich nicht unmittelbar nach der Impfung, er bleibt drei bis vier Tage im Käfig munter, verzehrt seine Nahrung gierig. Erst am fünften bis sechsten Tage beginnt die Krankheit, er sitzt traurig im Käfig, er liegt viel, ißt wenig oder garnicht, hohes Fieber stellt sich ein. Diese Inkubation spricht entschieden für einen lebenden Keim. Das Virus erwies sich ausschließlich Affen gegenüber als pathogen. Auf Anraten von Prof. Josef Marek versuchte ich auch Schweine mit dem filtrierbaren

Erreger durch subkutane Verimpfung zu infizieren. Bekannterweise verursacht das Filtrat des Blutes von Pferden, die an perniziöser Anämie litten (welche Erkrankung bekannterweise bei den Pferden durch einen filtrierbaren Infektionserreger verursacht wird), dieselbe Erkrankung der Schweine. Diese Versuche ergaben jedoch ein negatives Resultat, die Schweine blieben gesund. Eine Beschränkung der krankheitsregenden Fähigkeit auf diejenige Tierspezies, worin auch die natürliche Infektion vorkommt, bestätigt ebenfalls die Annahme eines filtrierbaren lebenden Infektionserregers. Durch einstündige Erhitzung auf 65° wird die pathogene Fähigkeit des Filtrates vollkommen aufgehoben. Durch diese Erwärmung kann zwar auch ein Toxin vernichtet werden, doch in Anbetracht des oben Angeführten, ferner der pathologischen Veränderungen müssen wir die Empfindlichkeit der Erhitzung gegenüber auch im Sinne des lebenden Keimes bewerten. Es ist ja von den meisten filtrierbaren Infektionserregern erwiesen, daß sie bei solcher Erwärmung vernichtet werden. Einen sehr wichtigen Beweis für diese Blutung liefern die pathologisch-anatomischen Befunde. Die typischen septischen Blutungen, die zerstreut im ganzen Organismus auftraten, verkünden die septische Allgemeinerkrankung, ein Befund, der so ausgebreitet durch kein Toxin hervorgerufen wird.

Hervorzuheben ist, daß bei meinen Versuchen die untersuchten Sputa einen filtrierbaren Keim enthielten, welcher in jedem Falle dieselbe pathogene Fähigkeit darbot. Auch die Erkrankung des Affen und die pathologischen Veränderungen zeigten eine große Aehnlichkeit. Die Wichtigkeit dieses Umstandes liegt darin, daß die Bakterienflora der untersuchten Sputa ganz verschieden war. Absichtlich habe ich nämlich die vier Sputa so ausgewählt, daß das erste Pneumokokken allein, das zweite den *Streptococcus haemolyticus longus* sozusagen in Reinkultur, das dritte diese zwei Arten von Streptokokken gemischt und das vierte den Pfeiffer-Bazillus enthielt. Die gleiche pathogene Fähigkeit des Erregers, die Eintönigkeit des klinischen Krankheitsverlaufes und der pathologischen Veränderungen bei allen Affen beweisen also, daß das Virus von der Bakterienflora des Sputums vollkommen unabhängig ist.

Zusammenfassung. Aus meinen Versuchen geht hervor, daß das Sputum von Influenzapneumoniekranke einen filtrierbaren Infektionserreger enthält, welcher bei Affen, subkutan verimpft, eine hämorrhagische Sepsis verursacht. Die jetzige Grippe stellt eine septische Allgemeinerkrankung dar, in deren Pathogenese die Gefäßwanderingerkrankung, die Neigung zur Blutung die höchste Bedeutung besitzt. So wie bei der Schweinepest, verursacht auch bei der menschlichen Grippe der filtrierbare Erreger die Grundkrankheit: die Sepsis. Ebenso wie dort der *Bacillus supester* und *suisepticus* nur Begleitbakterien sind, welche die Mischinfektion verursachen, gerade so müssen wir den Erreger der Influenza in einem filtrierbaren Virus suchen. Es ist derselbe Keim, der bei meinen Versuchen die Sepsis der Affen verursachte; die eitererregenden Keime verursachen in dem durch die septische Grunderkrankung geschwächten Organismus eine ihrer Natur entsprechende Mischinfektion.