

verlangt. Es darf erwogen werden, ob sich in den «Zöpfen» auch eine *Formdoppelbrechung*¹ (mit positivem Vorzeichen, bezogen auf die Länge) überlagernd geltend machen könnte.

Die «Zöpfe» bilden sich, wie erwähnt, spontan nur in Kulturen von *virulenten* Tuberkelbazillen. Erst nach einer genaueren Analyse wird zu entscheiden sein, worauf die Doppelbrechung dieser offenbar bedeutsamen morphologischen Besonderheit beruht.

Für die Bereitstellung der Kulturen bin ich dem Hygienischen Institut, Basel (Direktor: Prof. J. Tomcsik), zu Dank verpflichtet.

G. BOEHM

Medizinische Universitätsklinik Bürgerspital, Basel,
den 31. August 1949.

Summary

Cultures of virulent strains of human tubercle bacilli form, as well known, so-called "cords". These cords are, as is shown in this communication, birefringent. The sign of the double refraction is *negative* with regard to the long axis of the cords. Possible causes of this double refraction are discussed.

¹ W. J. SCHMIDT in: *Hb. biolog. Arbeitsmeth.* (E. ABBERHALDEN) Abt. V, Teil 10 (1934), dort S. 476 ff.

Untersuchungen über antibiotische Wirkungen an Blutegeln, Blutegelbakterien und deren keimfreien Filtrat

Wie bekannt, gibt es besondere Bakterien (*B. hirudinis*), die mit dem Blutegel (*Hirudo medicinalis*) in Symbiose leben. Bereits DINAND¹ und BOTTEMBERG² vermuteten, daß diese Bakterien in der Therapie eine gewisse Rolle spielen. R. KOPP³ schloß sich dieser Auffassung an.

Wir konnten in langjährigen Versuchen feststellen, daß *B. hirudinis*, gezüchtet aus der äußeren Schleimhaut, dem Darmtraktus oder dem Blut der Bißwunde, antibiotische Wirkung zeigt und daß darüber hinaus das keimfreie Filtrat von Blutegelbazillen ebenfalls antibiotische Effekte aufweist.

Zur Aufklärung der eigenartigen Widerstandsfähigkeit des Blutegels gegen pathogene Erreger wurden Versuche an weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführt, welche mit Spirochäten (*Sp. pallida* und *obermeieri*) infiziert waren. Diesen Tieren wurden bisher ungefütterte Blutegel angesetzt. Es zeigte sich bereits am ersten, mehr noch am zweiten und dritten Tage, daß die Spirochäten in dem von dem Blutegel angesaugten Blut eine Schädigung erleiden, indem sie ihre lebhafte Eigenbeweglichkeit verlieren und starr werden. Dieses Starrwerden tritt auch dann ein, wenn die Egel in warmem Wasser von 35–38° C gehalten werden, so daß ein Kälteschock hier nicht vorliegen kann. Wird den Egeln durch Punktierung, z. B. am vierten Tage, Blut entnommen und gesunden Tieren subkutan eingespritzt, so lassen sich im Blut dieser Tiere nach zwei Tagen normal bewegliche Spirochäten feststellen. Eine merkliche Schädigung der Virulenz der Spirochäten konnte nach viertägiger Verweilzeit des infizierten

Blutes im Blutegel nicht beobachtet werden. Läßt man das infizierte Blut jedoch elf Tage im Blutegeldarm und entnimmt man darauf durch Punktierung Blut und spritzt es den Versuchstieren ein, so erfolgt in keinem Falle eine Infektion. Der Blutegelorganismus hat also die Fähigkeit, pathogene Mikroorganismen bis zum vollen Verlust der Infektionsfähigkeit abzuschwächen.

Unsere Untersuchungsergebnisse stehen in Widerspruch mit Ergebnissen wie sie von KARLINSKI¹, KARWACKI und SZOKALSKI² und WLADIMIROFF³ berichtet worden sind. Diese Untersucher stellten fest, daß sich die Erreger des Rückfallfiebers (*Sp. obermeieri*) in Därmen von Blutegeln, die an Erkrankten gesogen haben, bis zu 100 Tagen halten.

Die zunächst von uns mit Spirochäten gemachten Feststellungen wurden später mit einer großen Anzahl weiterer Erreger bestätigt gefunden (Milzbrand, Tetanusbazillen, Staphylokokken, Streptokokken). Für den Milzbrandbazillus konnten wir damit die von CATTERINA⁴ und MÜHLING⁵ berichteten Ergebnisse bestätigen.

Weitere Versuche zeigten, daß eine Abschwächung der Erreger auch unmittelbar durch Behandlung mit Blutegelbazillenkulturen oder keimfreien Filtraten von derartigen Kulturen erzielt werden kann.

Zwei Kaninchen wurden mit Meningokokken infiziert. Das Angehen der Infektion wurde im Kulturversuch geprüft. An rasierten Körperstellen der Kaninchen wurden dann bisher ungefütterte Blutegel angesetzt. Das angesaugte und nochmals im Kulturversuch geprüfte Blut wurde positiv gefunden. Gemäß der Inkubationszeit von 8–10 Tagen wurde das Blut 10 Tage in den Blutegeln belassen. Am elften Tage wurde je 10 dieser Egel eine kleine Menge Blut entnommen und durch Impfung auf Blutplatten und Bouillon geprüft. In allen Fällen konnten Meningokokken nachgewiesen werden. Den gleichen Egeln wurde daraufhin durch Punktierung wiederum Blut entnommen und nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung teils subkutan, teils intraperitoneal weißen Mäusen und Kaninchen eingespritzt. Eine Infektion erfolgte in keinem Falle. Es war also bei diesem Versuch gelungen, im Blutegel Vakzine durch nur elftägiges Verweilen des angesaugten infizierten Blutes herzustellen.

Ein entsprechender Versuch wurde mit Kaninchen durchgeführt, die mit *Bacillus tetani* infiziert waren. Nach elftägigem Belassen des aus derartigen Kaninchen abgesaugten und zunächst positiv befundenen Blutes im Blutegel konnte trotz Nachweis des *Bacillus tetani* mit diesem Blutegel auch bei wiederholter Impfung trotz zusätzlicher Zweitinfektion kein Wundstarrkrampf hervorgerufen werden.

Drei Schweinsblasen werden mit je 1000 cm³ defibriniertem Rinderblut gefüllt, das mit $1/10$ des Gesamtvolumens an Bouillonkulturaufschwemmung von Meningokokken versetzt ist. Auch an diese Tierblasen werden ungefütterte Egel angesetzt. Infektionsversuche mit dem angesaugten Blut scheitern nach elf Tagen ebenso.

An drei an Rotlauf erkrankten Mastschweinen im Gewicht von etwa 70–80 kg lassen wir je drei Blutegel bis zum Abfallen saugen. Aus je einem der Egel wird anschließend mittels Injektionsspritze das angesaugte Blut entnommen und intramuskulär in die Schweine zurückgespritzt. In Abständen von je 24 Stunden erhalten die Tiere noch zwei weitere Spritzen mit dem Blut, das sich in den am ersten Tage angesetzten Egeln befindet. Alle drei Schweine bleiben am Leben, während ein vierter, unbehandelter Tier stirbt.

Wir sehen also auch bei Kombination mit Eigenblutbehandlung den Erfolg.

An sechs Kaninchen (belgische Riesen) derselben Zucht lassen wir je einen Blutegel je eine Stunde saugen. Drei der Kaninchen werden mit Tularämie infiziert. In die sechs Blutegel werden dann je $1/2$ cm³ Blutegelbazillenaufschwemmung gespritzt. Das Blut wird durch

¹ J. KARLINSKI, Fortschr. Medizin 9, 456 (1891).

² L. KARWACKI und C. SZOKALSKI, C. R. Soc. Biol. Paris 68, 228 (1910).

³ A. WLADIMIROFF, *Rückfallfieber in Handb. pathogen. Mikroorganismen* (Kolle und Wassermann), 1. Aufl. 3, 96 (Jena 1903).

⁴ G. CATTERINA, Atti Soc. Veneto-Trent. (2) 3, 208 (1897).

⁵ P. MÜHLING, *Die Übertragung von Krankheitserregern durch Wanze und Blutegel*, Diss. Königsberg, auch Zbl. Bakt. Parasitenk. 25, 703 (1899).

¹ E. DINAND und H. BOTTEMBERG, Med. Welt 32, 1147 (1935).

² H. BOTTEMBERG, *Die Blutegelbehandlung* (Hippocrates-Verlag, Stuttgart 1948).

³ RENÉ KOPP, *Le problème du mode d'action thérapeutique des sangsues* (Diss. Strasbourg 1945).

Punktierungen wieder aus den Egeln entnommen und in Abständen von sechs Stunden in eines der infizierten Kaninchen eingespritzt. Das Kaninchen bleibt am Leben. Das zweite der infizierten Tiere erhält ebenfalls alle sechs Stunden eine Injektion von 1 cm³ Blutegelbazillenaufschwemmung in Kaninchenserum. Auch dieses Kaninchen übersteht die Krankheit in der gleichen Weise wie das erste Kaninchen, während das dritte infizierte Tier stirbt. Dieser Versuch ergibt die Wirkung der Behandlung mit Blutegelbazillenaufbereitungen.

Diese Blutegelbakterien wurden von uns wie folgt gezüchtet: frisches Schweine- oder Rinderblut unter Zusatz von Gelatine und eines Tropfens Eisenglycerinphosphatlösung wird in einen evakuierten Kaltsterilisationsapparat gebracht und sofort mit Äther-Chloroform-Dämpfen sterilisiert. Nach Impfung der Nährböden z. B. mit dem Verdauungsschleim des Blutegels mit Hilfe einer Platinneadel entwickeln sich in kurzer Zeit Reinkulturen der Blutegelbakterien. Abschwemmungen dieser Blutegelbakterien werden keimfrei filtriert. Bei Zugabe von Vitamin H zu den Nährböden erhalten wir Virulenzsteigerung. Die Hemmungswirkung von keimfrei filtrierten Blutegelbazillenaufschwemmungen – von uns kurz Subtiligin H genannt – gegen *St. aureus* zeigt sich noch in der Verdünnung 1:80 Millionen (bezogen auf Trockensubstanz und Oxford-einheit).

P. WEILER

Laboratorium der Terrachemie, Freiburg i. Br., den 8. Juni 1949.

Summary

In a series of experimental reports it is shown that the leech's organism has the capacity to weaken pathogenic microorganisms even to complete loss of their infectiousness.

Production of vaccine in the leech, as well as a combined treatment with vaccine and own blood, are described.

Furthermore, it proved that weakening of the infectious agent can also be achieved immediately by treatment with leech bacilli or with germ-free filtrates from such cultures (Subtiligin H).

Die Wirkung von Patulin auf das myelo- und lymphopoetische System der Maus

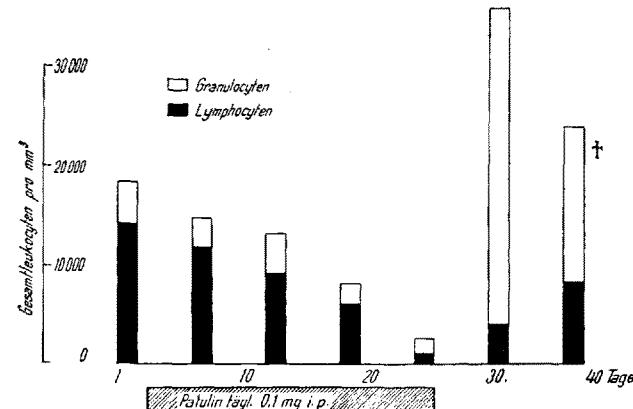
Patulin wird von *Penicillium patulum* und verschiedenen anderen Schimmelpilzen gebildet. Es hat eine sehr starke antibiotische Wirksamkeit gegenüber grampositiven und grammnegativen Bakterien sowie auch gegenüber Tuberkelbazillen. Patulin wirkt aber auch auf pflanzliche und tierische Zellen sehr toxisch bzw. wachstumshemmend (GÄUMANN, JAAG und BRAUN¹, O. JIROVEC², H. KEILOVA³, BROOM⁴ et al., WANG⁵).

Bei der Prüfung von zytostatisch wirksamen Stoffen, die eventuell bei der Therapie von Neoplasmen von Bedeutung sein könnten, ist es von größter Wichtigkeit, zu wissen, ob der betreffende Stoff eine selektiv hemmende Wirkung auf in Wachstum begriffene Gewebe hat. Da die blutbildenden Gewebe die am stärksten in Proliferation sich befindenden tierischen Gewebe sind, haben wir Patulin daran geprüft. Wir haben zwei Gruppen von je 10 männlichen weißen Mäusen von ca. 20 g Gewicht täglich 0,075 bzw. 0,1 mg Patulin intraperitoneal in-

jiziert. Wir verwendeten eine 1/2%ige Lösung von Patulin in Phosphatpuffer ($p_H = 6,3$), die ständig bei 0° C aufbewahrt wurde¹.

Die Leukozytenzahl sowie das weiße Blutbild wurden 2-3 mal wöchentlich untersucht. Die Blutentnahmen erfolgten aus den Schwanzvenen.

Wir beobachteten bei allen Tieren, die 0,1 mg Patulin erhielten, einen allmählichen Rückgang der Gesamtleukozytenzahl. Mit 0,075 mg war nur selten diese Wirkung zu erzielen. Bei der Berücksichtigung des Differentialblutbildes konstatierten wir, daß die Lymphozyten einen sehr starken Abfall im peripheren Blut aufwiesen, während die Granulozytenzahl ungefähr konstant blieb. Die Lymphozytenzahl, die bei der Maus normalerweise 70–90 % der Gesamtleukozytenzahl ausmacht, sank meistens innerhalb 3–4 Wochen bis auf 10–30 % ab, oder in absoluten Zahlen ausgedrückt, durchschnittlich von 8–15 000 auf 1–3 000. Ferner beobachteten wir, daß nach Absetzen der Injektionen ein Anstieg der Lymphozytenzahl erfolgte, der manchmal mit einem reaktiven Granulozytenanstieg einherging (siehe Abbildung).



Leukozytenwerte bei einer mit Patulin behandelten Maus.

In einzelnen Fällen überlebten die Tiere so lange, bis es zu einer vollständigen Normalisierung des Blutbildes kam. Oft gingen die Tiere nach Absetzen der Injektionen an Eiterungen, die wir im subkutanen Gewebe, im Peritoneum, in der Leber, in den Nieren, im Perikard fanden, zugrunde. Möglicherweise spielte die fehlende Infektionsabwehr der Lymphozyten dabei ursächlich eine Rolle. Als Zeichen der Schädigung des lymphatischen Gewebes ließ sich oft eine Atrophie der Milzfollikel feststellen.

Die Eigenschaft des hemmenden Einflusses auf das lymphatische Gewebe hat Patulin also mit anderen zytostatischen Stoffen, wie Urethan, Nitrogen mustard, gemeinsam. Patulin bewirkt eine allgemeine erhöhte Gefäßdurchlässigkeit, die u. a. zu Lungenödem führt², so daß einer höheren Dosierung Grenzen gesetzt sind. Trotzdem versuchen wir jetzt, ob bei geeigneter Dosierung ein wachstumshemmender Effekt bei Mäuseleukämien und Tumoren zu erreichen ist.

W. BOLLAG

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 30. Juni 1949.

¹ Patulin wurde uns in freundlicher Weise vom Institut für Spezielle Botanik ETH. (Dir. Prof. GÄUMANN) zur Verfügung gestellt.

² W. A. BROOM et al., Brit. J. Exp. Pathol. 25, 195 (1944).

¹ E. GÄUMANN, O. JAAG und R. BRAUN, Exper. 3, 70 (1947).

² O. JIROVEC, Exper. 6, 74 (1949).

³ H. KEILOVA, Exper. 6, 242 (1949).

⁴ W. A. BROOM et al., Brit. J. Exp. Pathol. 25, 195 (1944).

⁵ F. H. WANG, Bot. Bull. Academia Sinica 2, 265 (1948).