

Archiv
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. CIX. (Zehnte Folge Bd. IX.) Hft. 3.

XVI.

Untersuchungen zur Phagocytenlehre.

Von Dr. Carl Hess aus Mainz.

Aus dem pathologischen Institut der Universität in Strassburg.

(Hierzu Taf. XI.)

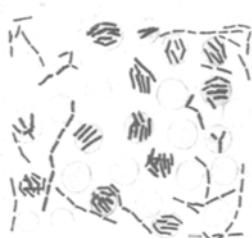
„Den Kampf der Zellen mit den Bacillen“ stellt Virchow¹ an die Spitze des Programms, das er den wissenschaftlichen Arbeiten der pathologischen Anatomie zu Grunde gelegt sehen will; und er erkennt den von Metschnikoff² in dieser Richtung eingeschlagenen Weg als „den zweifellos richtigen“ an. In dessen erhebt er doch gewichtige Bedenken gegen die Metschnikoff'schen Resultate, und es hat dessen Phagocytenlehre auch sonst unter den Gelehrten energischen Widerspruch auf der einen³, geringe oder gar keine Berücksichtigung auf der anderen Seite gefunden. Wird doch sogar von den Autoren, deren Resultate nach Metschnikoff's Meinung nur eine Bestätigung und Erweiterung seiner eigenen Lehre bilden, diese selbst heftig angegriffen⁴.

Metschnikoff hatte bekanntlich die Ansicht ausgesprochen, dass „lebende Zellen“ im Körper die Fähigkeit besässen, eingedrungene Mikroorganismen in sich aufzunehmen und zu vernichten, und er hatte dabei allerdings den weissen Blutkörperchen die erste Stelle eingeräumt; Wyssókowitsch⁴ hingegen

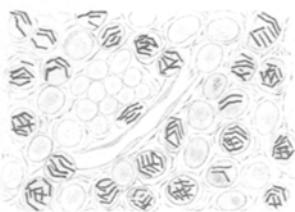
1.



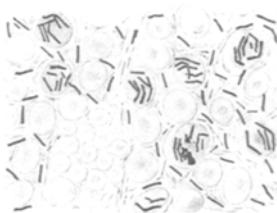
2.



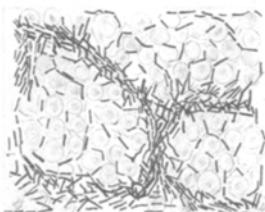
3.



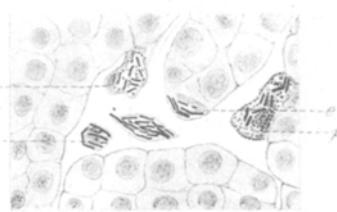
4.



5.



6.



sieht in den Endothelzellen der Gefäße allein die pilzvernichtenden Elemente, und es sollen die weissen Blutkörperchen nach ihm lediglich beim Transport zu jenen eine — ganz untergeordnete — Rolle spielen. Er verwirft die Consequenzen der Metschnikoff'schen Versuche, da diese „kaum ausreichen, um für die Warmblüter jene Hypothese wahrscheinlich zu machen“.

Von anderer Seite wird „die ganze Lehre von der Pilzvernichtung durch Phagocyten als eine durchaus ungenügend begründete“⁵ hingestellt und gilt es „für wenig wahrscheinlich, dass hierdurch allein eine Erklärung für das Wesen der Immunität gegeben sei“⁶ (Hanau, Klebs).

Eine definitive, auf Wiederholung und Vervielfältigung der Experimente gegründete Bestätigung oder Widerlegung der Phagocytenlehre im Allgemeinen und der Beziehungen derselben zur Immunitätsfrage insbesondere hat meines Wissens von keiner Seite stattgefunden; die Einwände Baumgarten's³ sind wesentlich theoretischer Natur; Metschnikoff hat einen Theil derselben bereits in der Arbeit über die Erysipelkokken⁷ zu widerlegen gesucht, welche erschien, als ich bereits einen Theil der vorliegenden Versuche ausgeführt hatte; wenn ich dennoch im Folgenden auf jene Einwände zurückkomme, so geschieht dies, weil meine Resultate zum grossen Theil auf anderem Wege und mit anderem Material gewonnen worden sind.

Zunächst erschien es mir wünschenswerth, zu untersuchen, in wie weit die Ansichten von Metschnikoff und von Wyssokowitsch in einem wirklichen Gegensatz zu einander stehen, ob nicht vielleicht „Gefässendothelien und Leukocyten als Pilzvernichter fungiren könnten, und eventuell das gegenseitige Verhältniss beider in ihrer Function als Phagocyten schärfer zu präzisiren; sodann wollte ich die Beziehungen der Phagocytenlehre zur Immunitätsfrage durch weitere Untersuchungen am Warmblüter studiren, und stellte zu diesem Zweck eine Reihe von Versuchen mit Milzbrand an dafür durchaus unempfänglichen Thieren an; denn gerade darin lag, wie mir scheint, eine gewisse Unvollständigkeit bei der Milzbrandarbeit Metschnikoff's, der solche Thiere mit congenitaler Immunität gar nicht in den Kreis seiner Untersuchung zog; an einem angeblich durch Präventivimpfung immunisirten Kaninchen hatte er einen Versuch

angestellt; wir werden später auf die dagegen zu erhebenden Einwände zurückkommen.

Ich ging zunächst von der Absicht aus, das Schicksal der Milzbrandbacillen im circulirenden Froschblut und in den verschiedenen Organen zu verfolgen; da es mir wesentlich auf das histologische Verhalten ankam, und ich mich auch mit meiner Methode über die Mengenverhältnisse der Bacillen wenigstens annähernd zu orientiren vermochte, so glaubte ich, von der Untersuchung des Blutes und der Organe nach der vortrefflichen Methode von Wyssokowitsch mittelst Anlegung von Culturen aus Organstückchen Abstand nehmen zu dürfen.

Ich verfuhr in der Weise, dass ich einem Frosch jedesmal 1 ccm einer sehr concentrirten Milzbrandreincultur mittelst Pra-vaz'scher Spritze in die Schenkelvene injicirte; dazu benutzte ich theils das Salzwasserinfuss einer Gelatinereincultur, theils filtrirtes Infus aus der Milz frisch gestorbener Meerschweinchen; zum Vergleich wurden nur Frösche, denen gleich grosse Mengen injicirt worden waren, herangezogen; die Injection geschah statt von der zu diesem Zweck zumeist benutzten medianen Bauchvene von der Schenkelvene aus, einmal, weil eine viel genauere Controle möglich ist, dass auch jeder Tropfen der Injectionsflüssigkeit wirklich in die Vene kommt, was für den späteren Vergleich der Mengenverhältnisse von grosser Wichtigkeit ist, dann wegen der leichten und sicheren Blutstillung vermittelst Ligatur des ganzen Schenkels, — bei einiger Uebung kann die Operation fast ohne Blutverlust vorgenommen werden, — und endlich umging ich so die an nicht curaresirten Fröschen oft unvermeidliche Verletzung des Peritonäums mit deren unangenehmen Folgen. Die Operation ist ziemlich leicht vorzunehmen und wird auch bei Injection sehr grosser Bacillenmengen von den Fröschen gut vertragen. — Die relativ enormen Massen spritzte ich ein, um bei der Untersuchung der Organe möglichst reiches Beobachtungsmaterial zu haben; wie wichtig dies auch in anderer Hinsicht sei, geht schon daraus hervor, dass Metschnikoff bei Wiederholung der Versuche Wyssokowitsch's mit grösseren Bacillenmengen zu ganz anderen Resultaten kam als dieser.

Meine Frösche nun wurden von 3 Stunden bis zu 6 Tagen nach der Injection in möglichst vielen verschiedenen Stadien

untersucht wie folgt: Dem decapitirten Thier wurde das schlagnende Herz unter aseptischen Cautelen herausgenommen und vom Inhalt jedesmal eine Reihe von Deckglasausstrichpräparaten angefertigt; diese wurden zunächst frisch durchgemustert, dann nach der Gram'schen Methode behandelt und mit Pikrocarmin nachgefärbt; ausdrücklich betonen möchte ich, dass ich die Deckgläser niemals erhitzte; ich erhielt so sehr viel schönere und brauchbarere Präparate als beim Erhitzen, denn einmal verlieren die Anthraxbacillen dadurch ihre Tinctionsfähigkeit und ändern leicht ihre Gestalt, dann aber wird beim Erhitzen gerade das so wichtige Verhalten der Bacillen zum Zellkörper in der unangenehmsten Weise gestört; die angeblich am nicht erhitzten Präparat leicht auftretenden Niederschläge konnte ich ganz vermeiden. Meine Resultate waren folgende:

3 Stunden nach einer reichlichen Injection ist die Zahl der frei circulirenden Bacillen, die unmittelbar nach der Operation in einem Tropfen Blut ausserordentlich gross war, schon eine ziemlich geringe, hingegen findet man sehr beträchtliche Bacillenmengen in Leukocyten eingeschlossen; nach 6 Stunden sind freie Bacillen geradezu eine Seltenheit, noch später werden sie nur noch intracellulär gefunden. Bald nach der Injection tritt eine hochgradige Leukocytose auf; aber keineswegs in allen Leukocyten finden sich Bacillen, sondern es enthält unter 6 bis 8 Blutkörperchen höchstens eines dieselben, und zwar in sehr wechselnder Menge; wenige deren nur einen oder zwei, nicht selten 15 - 20 einzelne Stäbchen zu einem Haufen zusammengeballt, so dass vom Leukocyt selbst nur noch der Kern zu sehen ist, in welch' letzterem ich niemals Bacillen gefunden habe.

Diese Beobachtung einer ausserordentlich raschen und vollständigen Aufnahme der Bacillen in die weissen Blutkörper bestätigt die Angaben Metschnikoff's, der im Gegensatz zu Wyssokowitsch Aehnliches mit anderen Bacillen beim Warmblüter fand, und zwingt uns anzunehmen, dass bei dem raschen Verschwinden der Bacillen aus dem Blut auch der Warmblüter — *Spirillum cholerae asiaticae* war nach Wyssokowitsch $\frac{3}{4}$ Stunden nach der Injection in die Blutbahn des Kaninchens, — *Micrococcus tetragenus* nach noch kürzerer Zeit nicht mehr

nachzuweisen — die Leukocyten viel mehr betheiligt sind, als Wyssokowitsch voraussetzt.

In den folgenden Stunden nun nimmt die Zahl der bacillenhaltigen Leukocyten gleicherweise rasch ab; nach 10—12 Stunden sind sie zum grossen Theil, nach 14—16 Stunden zumeist vollständig verschwunden, und in späteren Stadien sieht man nur ab und zu im Herzblut oder im Mesenterium einmal einen verstreuten bacillenhaltigen Leukocyten.

Bei der Untersuchung von Blutproben, die 12—14 Stunden nach der Injection entnommen sind, fällt es auf, dass man fast nur einzelne Bacillen in den Leukocyten findet, indess die in den früheren Stadien so häufigen mit Bacillen vollgepropften Blutkörperchen immer seltener werden. Hanau sowie auch Ullmann haben neuerdings wieder⁵, trotz der entgegengesetzten Angaben Metschnikoff's, darauf hingewiesen, die Milzbrandbacillen könnten in der lebenden Zelle einen günstigen Nährboden finden und vermöchten darin zu wachsen; ich glaube dies sowohl nach der eben gemachten Beobachtung, als auch besonders nach dem so gleich zu besprechenden Verhalten innerhalb der Organe entschieden in Abrede stellen zu dürfen; wo auch noch so viele Bacillen in einer Zelle getroffen werden, sind dieselben nie zu Fäden verbunden, sondern liegen immer ganz von einander isolirt in der Zelle; und nur am frischen ungefärbten Präparat können sie das Bild spiraling zusammengewundener Fäden vortäuschen.

In den Organen gestaltet sich das Verhältniss wie folgt: In der Leber fällt schon nach 5—6 Stunden die Anhäufung der Bacillen in den Capillarbezirken gegenüber den relativ bacillenarmen grösseren Gefässen auf; sie liegen wie im Herzblut zumeist zu grösseren Haufen in Leukocyten, deren charakteristischer, unregelmässiger Kern sie leicht von den anderen Zellen in der Umgebung unterscheiden lässt.

Daneben macht sich schon jetzt eine Erscheinung bemerkbar, die in den späteren Stadien noch viel prägnanter hervortritt, nemlich eine sehr reichliche Aufnahme der Bacillen seitens der Leberpigmentzellen, welche, ganz ähnlich wie die Leukocyten, nicht selten mehrere Bacillen zugleich enthalten, meist allerdings in nicht so grosser Menge als jene (Fig. 6).

Leider ist unsere Kenntniss über die wahre Natur dieser

Pigmentzellen noch zu unvollkommen, um aus dieser Beobachtung Consequenzen für die Phagocytenlehre zu ziehen. Eberth⁸ hält dieselben wesentlich für abfiltrirte Zellen lienalnen Ursprungs mit endogen entstandenen Pigment; er gesteht indess auch zu, dass „eine Entstehung des Pigments in den Endothelien der Gefässwand der Leber selbst nicht zweifelhaft“ sei. Man sieht nun in nicht seltenen Fällen die Pigmentzellen buckelförmig von der Wand ins Gefässlumen hineinhängen, andere wiederum in Gestalt langgestreckter Spindelzellen der Wand sich anschmiegen und andererseits findet man eben solche buckelförmig prominirende und langgestreckte spindelförmige aber nicht pigmentirte Zellen, gleichfalls Bacillen enthaltend in den Capillaren; doch zeigen diese regelmässig einen mächtigeren Zellleib als die typischen Endothelien; man kann sich danach der Ansicht vielleicht nicht verschliessen, dass die Pigmentzellen doch in noch engerer Beziehung zu den Gefässendothelien stehen, als Eberth anzunehmen scheint, vielleicht eine besondere, nur der Leber eigene Modification derselben darstellen. Die Bacillenaufnahme in der Froschleber erfolgt also wie wir sehen bis in die Details genau so, wie die Zinnoberaufnahme von v. Recklinghausen, (Pigmentzellen) später von Ponfick u. A. beschrieben worden ist.

Ein ganz analoges Verhalten finden wir in der Milz; 16 bis 20 Stunden nach einer reichlichen Injection bietet diese ein überaus zierliches Bild (Fig. 3), indem der grösste Theil der Pulpa-zellen mit dichten Bacillenhaufen vollgepropft erscheint; dazwischen bleiben die Haufen von kleinen Rundzellen, die auch hier, wie beim Säugethier, als Malpighi'sche Körper beschrieben werden —, ebenso wie bei der Zinnoberinjection — ganz frei von Bacillen.

Wir finden also beim Kaltblüter ähnlich, wie es Wyssokowitsch beim Warmblüter sah, eine Ablagerung der Bacillen in gewisse Zellen, die zur Gefässwand in naher Beziehung stehen; nur dürfte, wenn Wyssokowitsch von einer Pilzvernichtung durch „die Endothelzellen der Gefäss“ spricht, diese Bezeichnung zu allgemein sein; er hält die Verlangsamung des Blutstroms für den wesentlichen Factor, der die Wirkung der Zellen auf die Bacillen ermögliche; wogegen jedoch die Thatsache spricht, dass ich in einer Reihe von Fällen am entzündeten Mesenterium mit

Milzbrand injicirter Frösche trotz der verlangsamten Strömung nie eine Aufnahme in Endothelien wahrnehmen konnte; und ähnlicher Weise hebt Siebel⁹ für die Endothelien der Hautgefässe ausdrücklich hervor, dass auch bei künstlich äusserst verlangsamter Strömung niemals Zinnoberaufnahme in dieselben statt hat.

In wie weit Wyssokowitsch's Bezeichnung „Endothelzellen der Pulpa“ für die fressenden Zellen der Milz berechtigt ist, muss bei der unvollständigen Kenntniss der feineren Histologie des Organs dahingestellt bleiben; ich möchte aber darauf hinweisen, dass Ponfick in den spindelförmigen Zellen, die er als Pulpaendothelien ansieht, niemals Zinnoberkörnchen fand und dass auch ich niemals Bacillen selbst in den feineren Capillaren der Wand eingelagert sehen konnte.

Vielmehr erscheinen neben den frei bleibenden Malpighischen Körperchen die ganzen Pulpazellen als Phagocyten, und auch bei den Leberendothelien dürfte, wie das ebenso von anderer Seite hervorgehoben wurde, ein von den Gefässen anderer Organe ganz differentes Verhältniss vorliegen.

Endlich fand ich in den übrigen Organen trotz der hier zum Theil nicht unbeträchtlichen Stromverlangsamung niemals Bacillen in Endothelien liegend. In der Niere sind die Bacillen schon bald nach der Injection nur spärlich anzutreffen und sie liegen dann innerhalb von Leukocyten in der Gefässbahn; in der Lunge häuft sich zunächst nach der Injection eine beträchtliche Menge intracellulärer Bacillen in den Capillaren an; später beobachtete ich häufig ein Auswandern solcher mit Bacillen beladener Blutkörper durch das Epithel hindurch in's Alveolarlumen, wie es ähnlich von Siebel für Zinnoberkörnchen beschrieben wurde, der solche farbstoffhaltige Leukocyten aufwärts bis in die Mundhöhle verfolgen konnte; auf diese Weise entledigt sich der Organismus also auch einer, allerdings verschwindend kleinen Menge von Bacillen.

In Uebereinstimmung mit Wyssokowitsch konnte ich weder am Darm, noch an den Nieren, trotz Untersuchung grosser Schnittserien, eine Elimination von Bacillen durch die Epithelien dieser Organe, sei es mit oder ohne Vermittelung von Leukocyten, constatiren, was ich glaube, besonders hervorheben zu sollen, weil auch neuerdings eine solche wieder behauptet worden ist.

Endlich untersuchte ich noch Schnittserien vom Knochenmark des Femur; ich fand die Bacillen zumeist in grosse einkernige Zellen eingelagert, doch war die Zahl derselben regelmässig viel geringer als in der Leber und der Milz zu den gleichen Zeiten.

Auf welche Weise und in welcher Zeit nun verschwinden die Bacillen definitiv aus dem Froschorganismus? Dass es intracellulär geschieht, ist zweifellos; niemals trifft man in späteren Stadien wieder freie Bacillen an. Degeneriren sie nur in den Zellen der betreffenden Gefässabschnitte oder auch in Leukozyten?

Metschnikoff hat die Degenerationen in Froschleukocyten ausführlich beschrieben und abgebildet, wesentlich nach den am frischen Präparat gemachten Beobachtungen; da man indess hier durch die ungleiche Dichte des Protoplasma, durch dessen Körnung etc. leicht Täuschungen ausgesetzt ist, da in Sonderheit beim Warmblüter, wie wir sehen werden, die intracellulären Theile der Bacillen absolut unsichtbar sind, so bemühte ich mich, die Degenerationserscheinungen am gefärbten Präparat zu untersuchen.

Man wirft ja, und mit Recht, der Gram'schen Methode Unsicherheit und Ungleichmässigkeit der Färbung vor; und ich wollte selbst anfangs den gewonnenen Bildern nicht zu grosses Vertrauen schenken; nachdem ich aber eine grössere Reihe von Präparaten degenerirter Bacillen untersucht hatte, wie sie sich in nicht zu stark erhitzten Culturen, insbesondere aber in den nach Pasteur's Methode von Bontroux in Paris hergestellten „vaccins“ reichlich finden, ergab sich, dass die Milzbrandbacillen in vielen Degenerationsstadien ihre Tinctionsfähigkeit nur in geringem Maass einbüssen, und dass die Involutionsformen zum grossen Theil wenigstens sich in gleich schöner Weise färben, wie die frischen Bacillen; da diese gefärbten Degenerationsformen den frischen auf's genaueste glichen und die Untersuchung so bedeutend erleichtert wurde, so gab ich dieser Methode, als der sichereren, den Vorzug.

Ich ging von der Degeneration in der Froschmilz aus, die dafür ein besonders günstiges Object bietet. Nur selten sieht man die Bacillen in der Zelle gleichmässig kleiner und dünner

werden; vielmehr beobachtet man zunächst das Auftreten eines unregelmässigen Contours, geringe Verdickungen an einer, starke Einschnüruungen an einer anderen Stelle. Oft ist der Bacillus an einem Ende wie zugespitzt, unregelmässig angefressen, und dem Contour der Zelle nach verbogen; oder es wird das ganze Stäbchen zusammengedrückt, in späteren Stadien der Degeneration geradezu in der Mitte entzwei gebrochen und schliesslich findet man nur noch eine Reihe von Krümeln neben einander; endlich werden diese nicht selten zu einer kleinen scharf begrenzten Kugel zusammengeballt — alles genau so wie es an extracellulär degenerirenden Bacillen in frischen Präparaten bekannt ist und leicht gesehen wird (Fig. 1).

Etwas weniger übersichtlich, doch gleichfalls häufig zu beobachten, sind die Prozesse in der Leber, besonders in den grossen wenig Pigment führenden Zellen. Viel seltener fand ich solche Formen in den Leukocyten selbst, obschon ich sie auch hier — an den in den Lebercapillaren gelegenen Blutkörperchen — zweifellos in einer Reihe von Fällen constatiren konnte.

Noch ist die Frage der Zeit, in welcher die Degeneration erfolgt, zu erörtern. Metschnikoff meint, es seien auch bei Ausschluss jeder Verunreinigung durch andre Mikroorganismen die Bacillen eines in den Froschlymphsack eingeschobenen milzbrandigen Lungenstückes in 3—5 Tagen gefressen, bezw. unschädlich gemacht, — ausschliesslich durch die Froschleukocyten; nach meinen Beobachtungen scheint indessen diese Zeit zu kurz zu sein.

2 Tage nach einer Injection sind in der Leber und Milz wohl erhaltene Bacillen mit regelmässigem Contour reichlichst vorhanden, Degenerationsformen spärlich; nach 4½ Tagen ist die Zahl der normal geformten und gefärbten Bacillen zwar etwas geringer, doch lassen sie sich noch in jedem Schnitt leicht finden. Nach 6 Tagen noch waren, allerdings wenig reichlich, ganz unveränderte Bacillen in Leber und Milz aufzufinden, daneben unregelmässige, verkümmerte Formen häufig. Impfversuche konnte ich in den letzteren Fällen nicht anstellen, da ich zur Injection kein sporenfreies Material hatte verwenden können.

Wenn ich also auch nicht zweifle, dass durch die Leukocyten die Bacillen in dem Lungenstück vernichtet werden, so

halte ich es doch für wahrscheinlich, dass bei einer Wiederholung des Versuchs mit sorgfältigem Ausschluss aller Fehlerquellen eine längere Zeit zur Abtötung aller Bacillen nöthig sein dürfte. Diese verhältnissmässig sehr langsam vor sich gehende Vernichtung der Anthraxbacillen giebt auch, wie mir scheint, die Erklärung dafür, dass die Zellen in der Leber und Milz des Kaltblüters in so ganz hervorragender Weise bei der Pilzvernichtung betheiligt sind; denn in der That scheinen beim Frosch die Leukocyten wesentlich für den Transport der Bacillen nach den Organen in Betracht zu kommen, innerhalb deren sie nach und nach die Bacillen an die betreffenden Zellen abgeben, obschon sie selbst — nicht ganz unbetheiligt sind bei der Vernichtung jener.

Es war nun meine Aufgabe zu untersuchen, ob auch beim Warmblüter die Leukocyten den Bacillen gegenüber eine solche verhältnissmässig doch unbedeutende Rolle spielen, oder ob ihnen hier vielleicht mehr als beim Frosch, die Fähigkeit zukomme, Bacillen zu vernichten, und damit der Immunitätsfrage in ihren Beziehungen zur Phagocytenlehre näher zu treten.

Die Hypothese Metschnikoff's stützt sich für den Warmblüter auf wenige Versuche, welche er mit abgeschwächten Bacillen am Kaninchen und am Meerschweinchen angestellt hatte; flüchtig erwähnt er — ohne die Art der Untersuchung anzugeben, — die Aufnahme der Bacillen bei der etwas weniger empfänglichen weissen Ratte, sowie bei einem Versuche, den er auf dem erwärmteten Objectträger mit seinem eignen Blut machte.

Das Experiment mit dem angeblich immunisirten Kaninchen angehend, müssen wir bemerken, dass nach den von Koch, Gaffky und Löffler¹⁰ an einer grossen Reihe von Thieren angestellten Versuchen die Immunisirung von Kaninchen und Meerschweinchen überhaupt nicht möglich ist. Auch ich habe es wiederholt versucht — ohne Erfolg; zur Impfung benutzte ich theils eignes Material, theils von dem Pasteur'schen premier und second vaccin, das ich von Boutroux in Paris erhielt; Gaffky hat schon auf die Unzuverlässigkeit dieser Präparate, welche zur Impfung grosser Heerden allenthalben gebraucht werden, hingewiesen; die mir zugesandten Flüssigkeiten enthielten beide eine ganze Reihe fremder Mikroorganismen neben

stark degenerirten Milzbrandbacillen und waren beide auf Kaninchen wie Meerschweinchen völlig unwirksam — Immunität wurde in keinem Fall erzielt. Wegen der Unzuverlässigkeit dieser Impfimmunität, und da mir andere Thiere nicht zu Gebote standen, bei denen die Präventivimpfung — wie beim Schaf und Rinde, — mit mehr Erfolg ausgeführt werden soll, nahm ich die Immunitätsfrage zunächst durch das Studium der für Milzbrand überhaupt unempfänglichen Thiere in Angriff, da solche Versuche von Metschnikoff eigentlich gar nicht angestellt worden sind.

Als fast oder ganz immun werden in der Regel¹¹ Hund, Ratte und „die meisten“ Vögel angegeben, doch widersprechen sich auch hierin die Angaben vielfach; so gingen Wyssokowitsch 3 Hunde, denen er Milzbrandbacillen in die Blutbahn injicirte, daran zu Grunde, während nach Bollinger¹² u. A. der Hund auch gegen intravasculäre Impfung immun sein soll; Oemler¹³ hat in seiner vielcitrten Arbeit den Hund und viele Arten von Vögeln für Anthrax empfänglich gefunden; doch dürfen wir, wie mir scheint, seinen Angaben keinen zu grossen Werth beilegen, da er es nach den Sectionsprotocollen zweifellos in einer Reihe von Fällen mit malignem Oedem zu thun hatte, wofür die Vögel ja in hohem Maass disponirt sind; und ferner giebt Oemler an, sogar den Frosch vielfach mit Erfolg geimpft zu haben. Roloff¹⁴ nennt das Geflügel unter den empfänglichen Thieren; Klebs⁶ sagt: „Schwieriger haftet das Milzbrandvirus bei Vögeln, doch gelingt die Impfung beim Sperling.“

Ich benutzte zu meinen Versuchen Hund, Hahn und Taube, die ich durchaus immun fand; das Verhalten der Ente wird besonders besprochen werden; den Sperling fand auch ich in hohem Maass empfänglich; endlich kam ich im Lauf der Untersuchung in den Besitz eines Kaninchens, das selbst nach oft wiederholter Impfung gesund geblieben ist.

Es handelte sich nun darum, eine Methode zu finden, die bei verschiedenen Thieren in gleicher Weise anwendbar, Bacillen und Leukocyten in genügender Menge übersichtlich mit einander in Berührung zu bringen gestattete; kam es doch gerade darauf an, die Mengenverhältnisse beider zu übersehen, was bei der von Metschnikoff geübten Art und Weise — Einbringung von den Impfstoff enthaltenden Hollundermarkstücken oder Glasröhren

unter die Haut, — unmöglich war. Bevor ich zur Wiedergabe meiner Resultate komme, möchte ich einige Vorversuche erwähnen, die in einer anderen Richtung nicht ohne Interesse sind, von welchen ich Aufklärung auch für unsere Frage erwartet hatte.

Ich hatte Kaninchen in die vordere Augenkammer einige Tropfen milzbrandigen Blutes injicirt; bei der nach dem Tod des Thieres vorgenommenen Untersuchung zeigte sich das Fibrinnetz des geronnenen Blutes in der vorderen Kammer von Leukozyten stark durchsetzt, dazwischen lagen grosse Knäuel ausgewachsener Milzbrandfäden, aber fast niemals fand ich Bacillen intracellulär; bei einem anderen Versuche wurde die Cornea mittelst eines durchgezogenen (aseptischen) Seidenfadens in Entzündung versetzt, das Thier dann an einer entfernten Körperstelle mit Milzbrand geimpft. Nach dem Tode fanden sich in der Cornea reichlich eingewanderte Leukocyten, nirgends in denselben Bacillen, überhaupt solche nicht extravasculär gelagert, — obschon die Randgefässe der Cornea dieselben reichlich enthielten. Die Beobachtung ist eine Bestätigung und Erweiterung der Experimente Hubers¹⁴, der die Bacillen bei Crotonöleiterung am Kaninchenohr extravasculär vermisste. Ich hatte den Versuch in der oben erwähnten Weise modifizirt, um einen etwaigen schädigenden Einfluss des Crotonöls ausschliessen zu können. Nachdem sich für unsere Frage auch diese Methode einer ausgedehnteren Anwendung nicht fähig erwiesen hatte, kam ich nach einigen missglückten Versuchen auf folgende Weise zum Ziel:

Ich richtete mir mit Benutzung der Ziegler'schen Idee eine kleine Glaskammer so her, dass ich ein 15 qmm grosses Deckglas auf einen ebenso grossen Objectträger kittete; doch so, dass der capillare Spaltraum zwischen beiden auf 3 Seiten ganz geschlossen war und nur von der vierten Seite eine Communication nach aussen bestehen blieb; zuweilen wurde eine ganz kleine Oeffnung an der einen der geschlossenen Seiten angebracht. Der Spaltraum wurde nun mittelst Platinöse mit einer virulenten oder beliebig veränderten Bacillencultur gefüllt und alsdann der kleine Apparat den Thieren unter die Rückenhaut gebracht — natürlich unter aseptischen Cautelen, was bei einiger Uebung leicht gelingt; nachdem die Kammern

verschieden lange Zeit dort gelegen, wurden sie zunächst unmittelbar nach der Herausnahme durchgemustert, dann löste ich das Deckglas vom Objectträger und stellte von beiden Trockenpräparate her, die behandelt wurden, wie oben angegeben.

Auf diese Weise wurde eine grosse Reihe von Versuchen ange stellt, deren wesentliche Resultate ich im Folgenden wiedergebe.

Zunächst machte ich einige Experimente so, dass dem Thier eine leere Kammer unter die Rückenhaut gebracht wurde, dann impfte ich an einer ganz entlegenen Körperstelle Sporen ein. Nach 15—20 Stunden fanden sich dann regelmässig in der Kammer reichlich Leukocyten eingewandert und in lebhafter Thätigkeit begriffen, eingestreute Zinnoberkörnchen aufzunehmen; in den peripherischen Theilen der Kammer zeigten sich massenhaft Milzbrandbacillen, nur als kurze Stäbchen, niemals ausgewachsen, alle zwischen Leukocyten, nur ganz selten innerhalb derselben gelegen; das umgebende Gewebe zeigte geringe entzündliche Röthe und seröse Durchfeuchtung; grosse Mengen von Bacillen lagen auch hier zwischen den Leukocyten. War dagegen die Kammer 4 Tage oder länger unter die Rückenhaut gebracht, bevor die Impfung erfolgte, so fand ich in ihr keine Bacillen; demnach liefert die frisch verletzte Stelle einen günstigen Boden für Ansiedlung und Entwicklung der Bacillen, ein Resultat, das wohl nicht ohne Interesse ist für die Frage des Uebertritts von Mikroorganismen aus der Blutbahn in subcutane Wunden.

Wird eine mit frischer Reincultur gefüllte Kammer einem gesunden Kaninchen unter die Rückenhaut gebracht, so zeigen sich in der Regel nach 6—8 Stunden die Leukocyten in mässiger Menge eingewandert, die Bacillen sind ausgewachsen und bilden lange Fäden, die sich zwischen den Leukocyten hindurchschlingen; auch hier sieht man nur selten intracelluläre Bacillen; dies Verhältniss, das in gleicher Weise bei den anderen empfänglichen Thieren constatirt wurde, ändert sich nicht wesentlich in den späteren Stadien, bei stärkerer Einwanderung der Leuko cyten; nur das eine immune Kaninchen zeigte ganz anderes Ver halten, worüber unten mehr.

Beim Hund beobachtet man Folgendes: Die Umgebung der Kammer zeigt regelmässig eine viel intensivere Röthe und stär

kere seröse Durchtränkung. Die Leukocyten sind in bedeutend grösserer Menge eingewandert, mindestens 5—6 mal mehr als in der gleichen Zeit beim Kaninchen. Sie bilden einen förmlichen dichten Wall, der sich gegen die Mitte der Kammer verschiebt; und nun entwickeln sie hier eine so ausserordentlich energische Thätigkeit der Bacillenaufnahme, dass in den vordersten Reihen des Walles fast jeder Leukocyt einen oder mehrere Bacillen ganz oder theilweise in sich aufgenommen hat, und am gefärbten Präparat zeigt sich die Zahl der gefressenen Stäbchen noch viel grösser als am frischen. In anderen Fällen ist die Einwanderung mehr unregelmässig in verschiedenen Theilen der Kammer; constant findet man dann eine Abnahme der freien Bacillen in dem Maass als die Leukocyten reichlicher sind; sie nehmen dieselben so vollkommen auf, dass in den leukocytenreichen Partien regelmässig freie Bacillen ganz oder fast ganz vermisst werden. Ein Unterschied von den Froschleukocyten besteht darin, dass man selten mehr als 4 oder 5 Bacillen in einer Zelle findet, während dort häufig 12—15 gezählt werden konnten; auch hier werden sie zusammengeknäult, der runden Form des Leukocytens entsprechend verbogen und manchfach verändert, ganz ähnlich so, wie wir es in der Froschmilz verfolgen konnten; besonders instructiv sind die nicht eben selten sich findenden Fälle, in welchen ein Bacillus zur Hälfte von einem Leukocyt aufgenommen ist; der freie Theil zeigt scharfen, geraden Contour, indess der intracelluläre dünn, zugespitzt, oft wie angefressen erscheint. (Ich hebe nochmals hervor, dass alle Färbungen am nicht erhitzten Präparat und stets in genau gleicher Weise vorgenommen wurden, und dass ich zum Vergleich nur solche Präparate wählte, in welchen die noch frei liegenden Bacillen absolut normale Form und Färbung zeigten.) Nicht selten traten als Endstadien die öfter beschriebenen kleinen runden sich noch intensiv färbenden Kugeln auf. In der die Kammer umgebenden Flüssigkeit fanden sich die Bacillen meist in spärlicher Zahl, fast alle lagen intracellulär.

Dieser ganze Prozess geht nun in verhältnissmässig sehr kurzer Zeit vor sich: während beim Frosch in einer in den dorsalen Lymphsack eingebrachten Kammer erst nach 24—36 Stunden die Zahl der eingewanderten Bacillen einigermaassen beträchtlich

wird, findet man hier schon nach 3—4 Stunden eine sehr grosse Menge Leukocyten, die meisten bacillenhaltig; die Bacillen zeigen nach 7 Stunden — innerhalb der Zellen — oft noch normale Gestalt und Grösse, nach 12—14 Stunden sind die Degenerationserscheinungen am schönsten und deutlichsten, und in manchen Fällen fand ich schon nach 24 Stunden in der ganzen Kammer kaum mehr freie Bacillen.

Ich modifizierte nun die Versuche in verschiedener Weise: ich liess z. B. eine anthraxgefüllte Kammer während 7 Stunden liegen, schloss, nachdem ich eine reichliche Aufnahme in Leukocyten constatirt, die offene Seite der durch einen zwischengelegten Glassplitter etwas geräumiger angelegten Kammer und liess dieselbe weitere 12 Stunden bei Körpertemperatur; es waren dann die meisten Bacillen verschwunden; einzelne frei gebliebene hatten unverändertes Aussehen, woraus hervorgeht, dass die anderen intracellulär zu Grunde gegangen sein mussten.

Den Einfluss des Jodoforms auf die Leukocyten suchte ich zu beobachten, indem ich in eine Kammer ausser den Bacillen etwas Jodoformstaub brachte, zum Vergleich eine andere Kammer mit Campher beschickte. Nach 20 Stunden waren in der ersten die Bacillen mächtig gewachsen, die Leukocyten dagegen nur spärlich eingewandert; doch waren intracelluläre Bacillen nicht eben selten. In der mit Campher beschickten Kammer waren zur gleichen Zeit gar keine freien Bacillen mehr, dagegen vielfach intracelluläre in allen Degenerationsstadien nachzuweisen; der Versuch bestätigt die neueren Angaben über die geringe antiseptische Wirkung des Jodoforms — wenigstens dem Milzbrand gegenüber.

Aehnlich wie beim Hund gestalten sich die Verhältnisse beim Vogel; die Untersuchung ist etwas schwieriger, weil die in die Kammer eindringende Flüssigkeit grosse Tendenz zu gerinnen zeigt, wodurch dann den Leukocyten die Einwanderung unmöglich wird; doch konnte ich in einer Reihe von Fällen anschauliche und unzweideutige Präparate erhalten.

Meine Taube überstand im Verlauf von 14 Tagen 10 verschiedene Impfungen mit virulentem Material ohne Beschwerde, ebenso der Hahn; diesem injicirte ich außerdem einmal $\frac{1}{2}$ Pra-vaz'sche Spritze einer sehr concentrirten Reincultur, aber selbst

nach so starker Infection traten nicht die geringsten Krankheitssymptome auf.

Bei diesen Thieren, sowie bei der Ente, über welche ich unten ausführlicher berichten werde, verlief der Prozess in wesentlich gleicher Weise; ich lasse den Auszug aus einem Versuchsprotocoll beim Hahn folgen:

12 Stunden nach Einbringung einer mit Reincultur gefüllten Kammer ist das umgebende Gewebe stark geröthet, wenig feucht; die Leukocyteneinwanderung hat in noch erheblicherem Maass stattgefunden als beim Hund; freie Bacillen sieht man nur in den Kammertheilen, in denen sich die Leukocyten spärlicher finden; wo dieselben reichlicher vorhanden sind, umgeben sie die Bacillen in dichten Haufen oder sind an denselben perl schnurartig aufgereiht; so zählte ich einmal 22 Leukocyten an einem langen Anthraxfaden; die intracellulären Theile der Bacillen sind wegen starker Körnung des Protoplasma der Leukocyten nicht zu unterscheiden.

Der gleiche Versuch wurde mit wesentlich gleichem Resultat öfter wiederholt; wofern nicht besondere Hindernisse, Gerinnungen u. s. w. eintreten, sind nach 24 Stunden die Bacillen aus der Kammer meist vollständig verschwunden.

In der Umgebung der Kammer findet man die Bacillen stets in geringer Menge, zumeist innerhalb von Leukocyten.

Es handelte sich nun darum, zu erfahren, ob nicht das Blut, bzw. Serum an sich die Bacillen schädige; zu dem Behuf entnahm ich der Taube unter aseptischen Cautelen einen Tropfen Blut, vermischt denselben mit einer geringen Bacillenmenge auf dem Deckglas und brachte dieses auf den hohlen Objectträger; nachdem das Präparat 2 Tage gelinde erwärmt worden war, fand ich die Bacillen zu langen sich verfilzenden Fäden ausgewachsen und in vielen derselben war reichliche Sporenbildung aufgetreten. Man könnte nun einwenden, dass an dem Blut nach der Herausnahme aus dem Körper Veränderungen eingetreten seien, die das Wachsthum der Bacillen begünstigten; hat doch Klebs dem von Metschnikoff mit positivem Resultat angestellten Versuch, Bacillen auf sterilisiertem Froschserum zu züchten, mit Recht entgegengehalten, dass sich die Eigenschaften des Serum durch das Sterilisiren verändert haben möchten. Dem genannten Einwande

suchte ich dadurch zu begegnen, dass ich eine Kammer zur Hälfte mit Milzbrandreincultur füllte und diese dann in eine frische, blutende Hauttasche des Hahnes brachte, so dass die andere Kammerhälfte sich mit Blut füllte; der Versuch wurde in gleicher Weise auch bei den anderen Vögeln, sowie auch beim Hund wiederholt, immer mit dem Resultat, dass im Blut die Bacillen rasch auswuchsen; selbst in unmittelbarer Nähe des Leukocytenwalls sah ich häufig die langausgewachsenen Fäden sich hinziehen. Niemals konnte ich Degeneration an diesen constatiren, wenn das Eindringen von Fäulnissbacillen vermieden war; in einer grossentheils mit Blut gefüllten Kammer, die 3 Tage unter der Rückenhaut gelegen hatte und in welche wegen Gerinnung des Blutes in der Umgebung Leukocyten nur spärlich hatten eindringen können, fanden sich noch unveränderte Bacillen, zum Theil hatten sich Sporen in ihnen entwickelt; wenn demnach Klebs — im Anschluss an eine von Nencki aufgestellte Ansicht — die Möglichkeit hervorhebt, dass die Ursache der Immunität gewisser Thiere in einer höheren Sauerstoffspannung des Blutes zu suchen sei, so hat diese Hypothese nach unserem Versuche wenig Wahrscheinliches.

Pasteur erklärt die Immunität der Vögel durch die hohe Temperatur ihres Blutes, und sucht einen Beweis für diese seine Ansicht darin, dass durch Eintauchen in kaltes Wasser abgekühlte Thiere „an Milzbrand“ zu Grunde gehen; nun verlieren aber die Bacillen bei 43° erst in 6 Tagen ihre Virulenz, und diese Temperatur wurde von meinen Vögeln nie erreicht (die Taube maass $42,0^{\circ}$, die Ente $41,8^{\circ}$ im Rectum); war also die Pasteur'sche Ansicht an sich schon unwahrscheinlich, so wird sie durch das vorerwähnte Experiment direct widerlegt. Dagegen liesse sich die Empfänglichkeit dieser Thiere, wie mir scheint, ungezwungen dadurch erklären, dass durch die Wärmeentziehung die Energie der weissen Blutkörper in so hohem Maass herabgesetzt wird, dass sie nicht mehr im Stand sind, die Bacillen aufzunehmen.

Auf eine nähere Beschreibung der Versuche bei der Taube und bei der Ente gehe ich nicht ein, da im Wesentlichen der gleiche Prozess sich abspielt: Wachsen der Bacillen im Blut, Abnahme derselben, in dem Maass als die Leukocyten reichlicher

vorhanden sind. — An dieser Stelle sei mir gestattet, einige Beobachtungen anzuführen, die ich an einem immunen Kaninchen angestellt habe, welches erst gegen Schluss meiner Untersuchungen in meinen Besitz kam. Ich hatte dem Thier zu Anfang April eine geringe Menge Milzbrandsporen eingeimpft, von deren Virulenz ich mich durch wiederholte Impfungen an anderen Thieren überzeugt hatte; es erkrankte sehr heftig, sieberte 14 Tage lang, magerte stark ab und erholte sich dann nur langsam. 6 Wochen später brachte ich ihm in eine blutende Hauttasche zwei mit virulenter Reincultur gefüllte Kammern. Ein zur Controle mit dem gleichen Material geimpftes Meerschwein starb nach 36 Stunden und ich fand in der Kammer massenhaft freie, spärlich gefressene Bacillen.

Bei dem Kaninchen hingegen waren nach 16 Stunden in der Kammer ganz ausserordentlich grosse Mengen intracellulärer, zu dichten Klumpen zusammengeballter Bacillen vorhanden, daneben waren die extracellulären Bacillen zum Theil zu längeren Fäden ausgewachsen; das Thier zeigte nur geringe Krankheitsercheinungen und war nach 2 Tagen völlig hergestellt. 8 Tage später brachte ich demselben Thier eine ausschliesslich mit Sporen gefüllte Kammer unter die Rückenhaut.

Ein gleichzeitig auf die gleiche Weise geimpftes Kaninchen starb nach 36 Stunden, in der Kammer fanden sich reichlich ausgewachsene Milzbrandfäden.

Das erste Thier blieb ganz gesund; in der Kammer war von Bacillen nicht eine Spur zu sehen. (Auch bei öfterer Wiederholung der Impfung blieb das Kaninchen ganz gesund.)

Der Fall bietet in mehrfacher Beziehung besonderes Interesse; er zeigt, dass die schon an sich etwas weniger empfänglichen Thiere durch einmaliges Ueberstehen der Milzbranderkrankung viel mehr befähigt werden, erneuten Infectionen zu widerstehen, dass bei diesen die Leukocyten in hohem Maass die Fähigkeit besitzen, Bacillen aufzunehmen, und dass endlich nicht blos die Bacillen, sondern auch die Sporen, welche in den Gewebssäften doch offenbar auszuwachsen vermögen, durch den Einfluss der Zellen in ihrer Entwicklung gehemmt werden. — Ein unwesentlicher Unterschied von dem beim Hund und Kaninchen beobachteten Prozess der Bacillenaufnahme ist bei den

Vögeln bedingt durch die auch anderen Beobachtern aufgefallene Tendenz der Vogelleukocyten, aneinanderzukleben. Oft werden ganze Haufen von Bacillen von einem Klumpen Leukocyten umgeben, so dass diese nur an einzelnen Stellen hervorragen oder überhaupt erst durch die Färbung sichtbar zu machen sind; ich hebe noch ganz besonders hervor, dass ich beim Meerschwein, obschon ich darauf mein Augenmerk richtete, fast nie Leukocyten in unmittelbarer Berührung mit solchen Bacillenhaufen fand.

Während der Hahn und die Taube ganz gesund blieben, trat bei der Ente, nachdem sie 5mal mit grossen Mengen virulenten Materials geimpft war, am 6. Tag nach der ersten Impfung der Tod ein.

An der Zungenwurzel fand sich ein starkes sulziges Oedem, das Milzbrandbacillen in enormer Menge enthielt. Milz und Leber waren etwas vergrössert und enthielten Bacillen in mässiger Menge, doch waren nur die wenigsten frei im Blut, vielmehr fand sich die weitaus grösste Menge derselben, oft in Klumpen zusammengeballt, intracellular gelegen. Schnitte aus der Milz erinnern durchaus an das Bild bei der Froschmilz: kleinere intracelluläre Bacillenhaufen, zumeist ausserhalb der venösen Capillaren, wiederum in solcher Vertheilung, dass die den Malpighi'schen Körpern entsprechenden Zellanhäufungen von den Bacillen frei bleiben. In der Leber waren die Bacillen ziemlich zahlreich, fast alle intracellular; ich bemühte mich besonders, Beziehungen zu Endothelzellen zu finden; ich will nicht in Abrede stellen, dass manche Bilder auf eine Einlagerung in Endothelien gedeutet werden möchten, kann jedoch auf's Bestimmteste versichern, dass die bei weitem grösste Menge innerhalb der Blutbahn in Leukocyten lag. Desgleichen waren im Herzblut freie Bacillen kaum, intracellular reichlich zu finden.

Die grosse Bedeutung dieses interessanten Befundes leuchtet ein; während beim milzbrandigen Meerschwein trotz der enormen Bacillenmenge diese intracellular so ausserordentlich selten gefunden werden, ist solches bei der offenbar nur in geringem Grad empfänglichen Ente die Regel; ein vergleichender Blick auf eine Meerschweinmilz lehrt die auch im Grossen total differente Anordnung der Bacillen; hier folgen sie ausschliesslich der Gefässbahn, „erfüllen die venösen Capillaren, sowie alle zwischen den Zellen des Pulpagewebes übrig bleibenden Hohlräume“ und werden auch innerhalb der Malpighi'schen Körper in den dieselben durchsetzenden Gefässen gefunden; bei der Ente sind die Gefässbahn und die Malpighi'schen Körper ganz oder fast ganz

frei von den Bacillen, und diese finden sich fast ausschliesslich innerhalb der Zellen des Pulpagewebes.

Diesem Befund schliesst sich derjenige bei einer von mir untersuchten weissen Ratte eng an.

Sie war 2mal kurz nacheinander mit grossen Mengen virulenten Materials geimpft worden, und starb $3\frac{1}{2}$ Tage nach der ersten Impfung; Aufnahme von Bacillen in Leukocyten in der Kammer konnte ich wenn auch nicht in grosser Menge, doch wiederholt mit Sicherheit constatiren. Die Section ergab starken Milztumor, geringe Leberschwellung; Fig. 4 giebt die Abbildung eines Schnittes aus der Milz; reichliche Mengen von Bacillen finden sich in- und ausserhalb der Gefässbahn, die Malpighi'schen Körper sind zumeist ganz frei; daneben sieht man relativ häufig grössere Bacillenmengen in den Pulpazellen zusammengedrängt.

Vergleicht man dieses Bild einmal mit dem Bild, das die Milz eines in hohem Grade empfänglichen Thieres bietet — Fig. 5 — andererseits mit dem aus der Milz eines ganz immunen Thieres — Fig. 3 — (auf eine Abbildung der Entenmilz verzichtete ich wegen der relativ geringen Zahl der vorhandenen Bacillen), so ergiebt sich daraus unmittelbar, dass die Zahl der in der Milz intracellulär gefundenen Bacillen im umgekehrten Verhältniss zur Empfänglichkeit des Thieres für Milzbrand steht.

In den Gefässen der Leber fanden sich bei der weissen Ratte-intracelluläre Bacillen nicht selten; daneben lagen solche in ziemlich grosser Menge frei in der Gefässbahn, und zwar ganz besonders reichlich an die Gefässwand angelagert, spärlicher in der Mitte des Lumens. Dasselbe sieht man indessen auch in den Lebern von Kaninchen und Meerschweinchen; dass bei der weissen Ratte eine wirkliche Einlagerung in Endothelzellen vorkommt, kann ich mit absoluter Sicherheit nicht behaupten; doch halte ich es nach Untersuchung einer grossen Reihe von Schnitten allerdings für wahrscheinlich.

In der Milz der grauen Ratten waren die Bacillen auffallend spärlich, trotz ziemlich beträchtlicher Schwellung derselben; ein Befund, auf den bereits Gaffky und Löffler aufmerksam gemacht haben. — Von besonderem Interesse war folgende bei der grauen Ratte gemachte Beobachtung: $7\frac{1}{2}$ Stunden nach Einführung der Kammer waren die Bacillen in nicht geringer Menge intracellulär aufzufinden, indessen keineswegs in dem Maass, wie es z. B. beim Hund der Fall war. Wachsthum innerhalb von Zellen konnte nie constatirt werden; eine zweite, gleichzeitig mit der ersten eingeführte Kammer wurde nach 22 Stunden untersucht; die stark gewachsenen Bacillen bildeten verfilzte Rasen, doch vermochte ich nirgends mehr innerhalb der ziemlich reichlich vorhandenen Leukocyten, weder am frischen noch am gefärbten Präparat, Bacillen aufzufinden; die Ratte starb 26 Stunden nach der Impfung.

Dieses anscheinend auffällige Verhalten erklärt sich wie ich glaube in durchaus genügender und einleuchtender Weise durch die neuesten (noch nicht publicirten) Arbeiten von Wyssokowitsch; danach soll, wie Flügge¹⁶ angiebt, die Widerstandsfähigkeit der Zellen des Organismus gegen eine Mikroorganismen-invasion auf verschiedene Weise herabgesetzt werden können; in erster Linie aber durch die giftigen Producte der betreffenden Bacillen selbst. In unserem Fall wären also die später einwandernden Leukocyten bereits derartig durch das inzwischen im Körper entwickelte Anthraxgift geschwächt gewesen, dass sie nicht mehr fähig erschienen, die Bacillen aufzunehmen. — Vielleicht gelingt es in ähnlicher Weise auch, durch chemische Agentien die Energie der Zellen im Organismus so zu steigern, dass sie in höherem Maass befähigt wären, der Bacilleninvasion zu begegnen; in diesem Sinne ist eine in allerjüngster Zeit mitgetheilte Beobachtung von Wooldridge¹⁷ von besonderem Interesse. Derselbe züchtete Milzbrandbacillen einige Zeit auf einer alkalischen Lösung von aus der Thymus gewonnenen Protein-substanzen, trennte dann die Bacillen von der Nährflüssigkeit, und es gelang ihm angeblich durch Injection der bacillenfreien Flüssigkeit Kaninchen zu immunisiren; er hebt noch ausdrücklich hervor, dass der Bacillus selbst keine Schutzwirkung (no protective influence) habe, vielmehr entweder tödtlich oder ganz wirkungslos sei.

Einige wenige Versuche machte ich mit durch Erwärmung abgeschwächten Bacillen; ich erhitzte die mit Milzbrand beschickten Kammern im Salzwasserbad und fand nach Erwärmung auf 55° während 15 Minuten, dass nach mehrstündigem Verweilen unter der Kaninchenhaut die Bacillen in nicht geringer Zahl gefressen worden waren; eben dasselbe bei einem am Meerschweinchen angestellten Versuch, nachdem die Kammer $\frac{1}{2}$ Stunde auf 50° erhitzt worden war; die Thiere blieben gesund. — Nach ganz kurzem Erhitzen auf 65—68° war eine Aufnahme in Leukocyten nicht zu constatiren und die Bacillen hatten ihre Wachstumsfähigkeit nicht eingebüßt; Versuche, durch Campherinjection in die Umgebung der Kammer die Thätigkeit der Leukocyten zu steigern, waren nicht von Erfolg begleitet.

Welche Stellung müssen wir nun nach den Ergebnissen unserer Versuche den gegen die Phagocytenlehre erhobenen Einwänden gegenüber einnehmen?

Baumgarten hebt hervor: „Es fehlen sichere Beweise, dass die Bacillen von den sie einschliessenden Leukocyten und zwar ausschliesslich kraft und in Folge dieses Einschlusses abgetötet werden“, was bei der von Metschnikoff geübten Methode nicht ohne Berechtigung ist, denn „der Nachweis fehlt, dass ähnliche Formveränderungen wie bei den abgeschwächten Bacillen innerhalb der Leukocyten nicht auch an den extracellulären vorkommen;“ so dass man die Frage aufwerfen könne: „ob die veränderten Bacillen nicht als solche von den Zellen aufgenommen werden“ und . . . „es bleibt dahingestellt ob der Verlust der Infectiosität durch die Aufnahme in Zellen oder auch — oder allein — durch andere Ursachen bedingt ist“; Metschnikoff's Anschauung finde in seinen thatsächlichen Beobachtungen nur geringe Stütze.

Unsere Versuche haben vielleicht dazu beigetragen, diese Anschauung wahrscheinlicher zu machen. — Wir sehen, dass im Blut und in der ganzen die Leukocyten umspülenden Flüssigkeit die Bacillen in hohem Maass die Fähigkeit besitzen zu wachsen und Sporen zu bilden; noch in unmittelbarer Nähe der Leukocyten zeigen sie normale Gestalt und Wachstumsenergie; Veränderungen werden stets erst nach erfolgter Aufnahme in den Zellkörper beobachtet; und zwar treten dieselben beim Warmblüter schon nach verhältnissmässig kurzer Zeit, sehr viel später erst beim Kaltblüter auf. — Wenn Baumgarten meint, Metschnikoff scheine selbst nicht zu glauben, „dass die in die weissen Blutkörper von Meerschweinchen und Kaninchen eingelagerten virulenten Bacillen von ersteren getötet werden, so übersieht er, dass Metschnikoff die aufgenommenen Bacillen thatsächlich nicht für virulente hält, und es fänden sich wohl in jeder Cultur vereinzelte abgeschwächte Bacillen.

Die Ansicht Baumgarten's, „durch die hypothetische Giftabsonderung der Bacillen“, durch welche Metschnikoff die pathogene Wirkung auf empfängliche Thiere erklärt, müssten „die weissen Blutkörper aller gleich temperirten Thiere in den gleichen Zustand der Lähmung versetzt werden“ — ist dadurch

auf's Schlagendste widerlegt, dass wir sehen, wie die Leukocyten verschiedener Thiere gegen dieselben Bacillen, im gleichen Medium (Salzwasser) suspendirt sich grundverschieden verhalten; und dies Verhalten ist mit der Gifthypothese doch wohl in Einklang zu bringen.

Neuerdings hat diese ja auch durch Hoffa¹⁸ eine experimentelle Stütze erhalten; zwar erkennt er selbst die chemische Wirksamkeit der Bacillen nicht sowohl „in der Absonderung eines fermentartigen, im Blut löslichen Giftes“, als vielmehr in „der Abspaltung toxischer Stoffe aus complexen im Organismus vorhandenen Verbindungen“; aber abgesehen davon, dass der Gegensatz zwischen diesen beiden Ansichten doch wohl kein so fundamentaler ist, wie es Hoffa anzunehmen scheint, so spricht doch gerade der Umstand, dass auch im Salzwasserinfus die Kaninchenleukocyten die Bacillen nicht angreifen — wo doch von einer Abspaltung toxischer Stoffe nicht wohl die Rede sein kann —, eher zu Gunsten der ersteren Ansicht.

Noch einen Einwurf Baumgarten's möchte ich berühren, dem Metschnikoff schon zum Theil begegnet ist: „Wenn die Phagocytenlehre richtig wäre“ meint Baumgarten, „so müssten die Amöboidzellen gerade in den Fällen ihre Thätigkeit am Lebhaftesten entfalten, in denen dem Organismus von Seiten der Bacillen wirkliche Gefahr drohe“; das Gegentheil finde statt — denn abgesehen von anderen Momenten „würden gerade die abgeschwächten Bacillen, die für den Organismus ganz schadlos sind, weil sie in ihm nicht zu wachsen vermögen, von den Leukocyten gefressen;“ — nach den Versuchen mit abgeschwächtem Material an Kaninchen und besonders nach denen mit virulentem an immunen Thieren müssen wir, glaube ich, gerade umgekehrt argumentiren, denn nur weil sie gefressen werden, vermögen sie nicht zu wachsen.

Wie gestaltet sich nun nach unseren Versuchen das Verhältniss zwischen den Ergebnissen von Wyssokowitsch und denjenigen Metschnikoff's?

Wyssokowitsch verwirft die Metschnikoff'sche Hypothese vollständig und Flüg'ge giebt an, dass Wyssokowitsch „in Betreff der Thätigkeit der weissen Blutkörper zu gerade entgegengesetzten Resultaten gekommen sei wie jener“.

Es ist uns möglich gewesen zu zeigen, dass allerdings den Begrenzungszellen gewisser Gefässabschnitte, — für welche die Bezeichnung Endothelzellen indessen nur mit Reserve gebraucht werden darf — unzweifelhaft, beim Kaltblüter sogar in hohem Maass die Fähigkeit zukommt, Mikroorganismen aufzunehmen und zu vernichten. Weiter sahen wir, dass die Leukocyten verschiedener Warmblüter — ja sogar verschiedener Individuen derselben Thierspecies denselben Bacillen gegenüber ein ganz verschiedenes Verhalten zeigen, dass die Bacillen extracellulär im Blut der immunen Thiere in der Regel mächtig auszuwachsen vermögen, dass sie dagegen intracellulär niemals wachsen; dass in der Circulation in dem Maass, als die Empfänglichkeit des Thieres für Milzbrand abnimmt, die Zahl der in Leukocyten und Milzzellen eingeschlossenen Bacillen zunimmt; wir konnten bei den immunen Warmblütern eine Einlagerung in Wandzellen der Lebergefässe höchst wahrscheinlich machen.

Und somit haben unsere Versuche zu einer Vermittelung jener einander scheinbar entgegengesetzten Anschauungen geführt; die Immunität gegen Milzbrand erscheint im Wesentlichen bedingt durch die Thätigkeit lebender Zellen — Gefässzellen so gut wie weisser Blutkörper; doch mussten wir den letzteren dabei eine sehr viel grössere Bedeutung vindiciren, als dies von Wyssokowitsch geschehen war. Es liegt ja nahe, die beim Milzbrand gewonnenen Erfahrungen auch auf andre Krankheiten zu übertragen, und es sind solche Analogieschlüsse vielleicht nicht ohne Berechtigung; in wie weit solche wirklich Geltung haben mögen, welche besonderen Verhältnisse — vielleicht ganz andere Factoren, — bei anderen Infectionen in's Spiel kommen, — das zu ergründen, muss die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein; jedenfalls ist das Studium der uns bekannten Infectionskrankheiten von diesem Standpunkt aus dringend nothwendig geworden.

Die vorliegenden Untersuchungen habe ich auf Anregung des Herrn Prof. v. Recklinghausen vorgenommen, und es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer an dieser Stelle für die vielfache Anregung und Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen innigsten und aufrichtigsten Dank zu sagen.

Strassburg im Mai 1887.

Während des Druckes der vorliegenden Arbeit ist es mir möglich gewesen, einige Untersuchungen mit *Staphylococcus aureus* auszuführen, welche auf's Neue die Phagocytenlehre bestätigen; ich hoffe darüber bald ausführlicher berichten zu können.

Auf die inzwischen erschienenen Arbeiten von Metschnikoff und von Prazmowsky habe ich leider nicht mehr Rücksicht nehmen können.

L i t e r a t u r.

- 1) Dieses Archiv Bd. 101.
- 2) Dieses Archiv Bd. 96, 97.
- 3) Baumgarten, Pathol. Mykologie. Berl. klin. Wochenschrift. 1884.
- 4) Flügge, Arbeiten aus dem hyg. Instit. Göttingen 1886.
- 5) Hanau, Zeitschrift f. klin. Medicin. 1887.
- 6) Klebs, Allgem. Pathologie. 1887.
- 7) Dieses Archiv Bd. 107.
- 8) Dieses Archiv Bd. 40.
- 9) Dieses Archiv Bd. 106.
- 10) Mittheilungen aus dem Reichsgesundheitsamt. I.
- 11) C. Fränkel, Grundriss der Bakterienkunde.
- 12) Ziemssen, Spec. Pathol. 1874.
- 13) Oemler, Archiv f. Thierheilkunde. 1876 — 1878.
- 14) Dieses Archiv Bd. 106.
- 15) Roloff, Milzbrand. Berlin 1883.
- 16) Flügge, Lehrbuch. 1887.
- 17) British Medical Journal. May 1887.
- 18) Hoffa, Die Natur des Milzbrandgiftes. 1886.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XI.

- Fig. 1. Degenerationsformen aus einer mit Milzbrand beschickten Ziegler'schen Kammer nach 14stündigem Verweilen unter der Hundehaut.
- Fig. 2. Aus einer mit Milzbrand beschickten Kammer nach 8stündigem Verweilen unter der Haut des immunen Kaninchens (massenhaft intracelluläre Bacillen).
- Fig. 3. Froschmilz 48 Stunden nach Injection von 1 Prav. Spritze concentrirter Reincultur in die Schenkelvene.
- Fig. 4. Milz der weissen Ratte, gestorben an Milzbrand.
- Fig. 5. Aus der Milz eines an Anthrax gestorbenen Meerschweinchens.
- Fig. 6. Aus der Leber des Frosches 48 Stunden nach Injection von 1 Prav. Spritze conc. Reincultur in die Schenkelvene. p Pigmentzellen; e Endothelzelle; l Leukocyt, alle reichlich Bacillen enthaltend.

Alle Präparate waren nach der Gram'schen Methode behandelt und mit Pikrocarmin nachgefärbt worden.