

(Aus der parasitologischen und vergleichend pathologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin [Direktor: Geheimrat Prof. O. Lubarsch].)

Studien zur Ätiologie und Pathogenese des Fleckfiebers.

Von

Max H. Kuczynski.

Mit 44 Abbildungen im Text und auf Tafel I—III.

(Eingegangen am 29. Januar 1923.)

Die ätiologische Erforschung der Infektionskrankheiten ist trotz ihrer scheinbar glänzenden Erfolge über ein in gewissem Sinne primitives Stadium nicht hinausgekommen. Dies ist durch den „ontologischen“ Standpunkt gekennzeichnet, der die „Ätiologie“ für geklärt erachtet, wenn der „Erreger“ entdeckt ist. Es ist charakteristisch, daß die Mehrheit der Erreger denn auch entdeckt wurde, ehe mehr als die Rudimente einer pathogenetischen, auf Beobachtung und Versuch begründeten Vorstellung bestanden. Aber auch nachdem ein „Erreger“ anerkannt worden ist, hat die Forschung, abgesehen von dem wichtigen Studium seiner „Toxine“ oder seiner Beziehungen zu bestimmten cellulären Leistungen wie der Phagocytose, nicht viel dazu beigetragen, eine allgemeine *Lehre vom Infektionsprozeß* aufzubauen.

Jede Lehre beruht auf gegenständlicher Erfahrung und *ordnet* die derart gewonnenen *Erkenntnisse* nach *Prinzipien*. So hat die allgemeine Infektionslehre zum Ziele, aus möglichst intimer Kenntnis der *Lebensbedingungen* und *-erfordernisse* von Wirt und Parasit den Krankheits- und Heilungsprozeß gewissermaßen als ein *Interferenzphänomen* in seinen wichtigsten Etappen abzuleiten. Es bedarf keines besonderen Hinweises, daß hierzu ebensosehr genaue Kenntnisse der morphologischen wie rein funktionellen Verhältnisse nötig ist und daher eine solche Unternehmung weit über den Rahmen des Bakteriologen hinausreicht und ureigenes Gebiet der Pathologie betrifft, wie es von *Rokitansky*, besonders aber von *Virchow* für immer vorbildlich behandelt worden ist.

War *Rokitansky*, wie *Wunderlich* hervorhob (vgl. *Neuburger* 1921, Die Wiener Medizinische Schule im Vormärz) noch gefährlich „ontologisch“ eingestellt, so wissen wir, wie sehr *Virchow* die Gefahren eines solchen Standpunktes gefürchtet hat. *Löhlein* (*Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* 1921, S. 235) hat darauf hingewiesen, daß er *nur einmal* unter dem gewaltigen Eindruck der Entdeckung des *Cholera*vibrio diesem Prinzip untreu geworden ist. Er hat aber auf die für Krankheits-

erkenntnis in ihrer Erfüllung primitive Natur der *Koch*schen Forderungen (welche schon der Pathologe *Henle* ausgesprochen hatte!) hingewiesen; denn vor einer Theorie des Kontagiums könne man erst dann reden, wenn jemand die Wirkung des Kontagiums cellularpathologisch begründet habe!

Der Pathologe befindet sich noch zumeist beim Studium der Infektionskranken in einer eigenartigen Lage. Der Nachweis des „Erregers“ im Körper, besonders im „Produkt“, befriedigt und muß leider noch häufig aufs höchste befriedigen. Daneben tritt dann eine Reihe anatomischer Daten, die nicht unmittelbar als „Produkte“ des Erregers angesehen werden können und in eine kaum engere Verbindung zu ihm treten als eine statistische. Gewiß gibt es nicht wenige bemerkenswerte Ausnahmen einzelner wichtiger Erkenntnisse, aber das Wesentliche bleibt doch bisher, daß wir nicht nur für keine einzige Krankheit aus dem Infektionsverhältnis heraus die pathologisch-anatomischen oder -physiologischen Daten zu entwickeln vermögen, noch daß überhaupt dieser traurige Mangel tieferer Erkenntnis bei vielen Ärzten und Forschern als ein schwerer Mangel empfunden wird. Seit *Rokitansky* ist die statistische Methode zur ehernen Grundlage der pathologischen Morphologie geworden. Die analytische Methodik, durch welche *Roux* die Normologie zu höchstem Leben geweckt hat, ist, abgesehen von der Teratologie, noch nicht so tief in die pathologische Wissenschaft eingedrungen, wie es im Interesse der Sache dringend wünschenswert erscheinen muß und wie es auch schon *Virchow* als notwendig erachtet und vorbildlich betrieben hat. Erst wenn wir im Gedanken wohlbegründet den Krankheitsprozeß so nachzeichnen können, daß wir auch seine Diagnostik voll umfassen, dürfen wir sagen, daß wir ihn verstanden haben und seine „Ätiologie“ kennen. Dies muß *allmählich* planmäßig betrieben, seine Früchte tragen, sowohl hinsichtlich des Krankheitsprozesses, wie auch der Lehre von seinem Erreger. Diese ist aber nicht, wie es heute zuweilen noch aussieht, mit jenem identisch. Das *klinische* Moment des kranken Organismus übersteigt die Gerechtsame des Parasitologen durchaus.

In dem gekennzeichneten Sinne habe ich seit längerer Zeit versucht, dem Problem des Fleckfiebers nachzugehen. Hier mußte die gewählte Form der Betrachtung ihren Wert besonders bekunden, da die fast hoffnungslose Verwirrung der Meinungen und das Dunkel, welches über dem gemutmaßten Erreger einerseits, den von ihm ausgelösten diagnostischen Reaktionen andererseits schwebte, meines Erachtens jedes Vorgehen aussichtslos erscheinen ließ, welches nicht die Gesamtheit der biologischen Phänomene berücksichtigt.

In Hinsicht auf die neueren Mitteilungen von *Kraus* und *Barrera* (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 34, 1922) möchte ich

an den Anfang meiner Ausführungen die Versicherung stellen, daß unter europäischen Bedingungen bei Meerschweinchen und Kaninchen spontane Übertragungen — *Kontaktinfektionen* — *niemals* vorkommen. Ich habe in den letzten Jahren mehr als 6000 Versuchstiere ganz genau verfolgt. Obwohl es uns unmöglich war, von diesen Tieren Ungeziefer, insbesondere *Wanzen*¹⁾, fernzuhalten und obwohl wir stets mehrere Tiere in einem Käfig gemeinsam halten mußten, entspricht diese unsere negative Feststellung stets wiederholter Erfahrung. Wäre es nämlich nicht so, so hätten viele Feststellungen experimenteller Natur keine volle Gültigkeit mehr und bedürften erneuter Bearbeitung.

In zwei früher von mir veröffentlichten Arbeiten (Med. Klinik 1920 und Berl. klin. Wochenschr. 1921) habe ich die biologischen Grundlagen einer Zucht des Virus ausführlich erörtert. Ich ging dabei von dem Dualismus seiner Existenz aus, wie er sich aus dem Leben in der *Laus* und im *Wirbeltierkörper* zu ergeben scheint. Anscheinend *irrig* war nur, wie bereits aus den Angaben der vorläufigen Mitteilung meiner letzten Untersuchungen (Klin. Wochenschr. 1922) hervorgeht, die von mir aus dem intracellulären Sitz abgeleitete Anaërobie als notwendiger Faktor der Existenz. Dieser Berichtigung meiner eigenen früheren Annahme entspricht sehr gut das Ergebnis *P. Olitzkys*, welcher feststellte, daß die Absterbezeit unter aëroben Bedingungen sehr viel länger ist als unter anaëroben, mithin aërober Zustand für das Virus günstiger zu sein scheint (Journ. of exp. med. 35, 1922).

Demzufolge blieb von den früher als nötig bezeichneten Lebensbedingungen die fast neutrale Reaktion des Mediums, die Ernährung vom Blutplasma und die Gegenwart niederer Abbaustufen des Eiweißes zu Recht bestehen. Bereits 1920 schrieb ich: „Für unseren Zweck hat sich als beachtenswertes Ergebnis praktischer Versuche ergeben, daß nur vollwertiges Plasma, also Serum plus Faserstoff, das Wachstum der empfindlichen Parasiten . . . in der Regel gewährleistet.“ Wir werden der Wichtigkeit des Fibrins späterhin in einer sehr eigenartigen neuen Beleuchtung begegnen.

In einer älteren histologischen Arbeit (Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 30, 1919) habe ich zuerst den Nachweis *rickettsia*artiger Gebilde innerhalb der als *spezifisch* angesehenen Produkte des Fleckfiebers beim Versuchstier geführt. Das Ergebnis war, daß ich in einer Reihe frischer Knötchenbildungen die *Rickettsia* nachweisen konnte, und zwar unter Bedingungen, die ihre ätiologische (nosogene) Bedeutung für das Fleckfieberknötchen und damit das Fleckfieber selbst sicherstel-

¹⁾ Ich kann dieser Aussage besonderen Nachdruck verleihen, nachdem ich neuerdings zusammen mit *Böttcher* planmäßige Untersuchungen über Wanzen angestellt habe, welche längere Zeit an hochinfektiösen Tieren gesogen hatten. Hierüber werden wir gesondert berichten.

len. In voller Bestätigung der Befunde von *Gg. Herzog* (Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1918) erschien als Grundlage des Gefäßprozesses eine Endothelzellnekrose. „Sie wird ausgelöst durch das Eindringen von einer oder sicher sehr selten von zwei Rickettsien in diese Zelle.“ Vermehrungen in dem befallenen Bezirk wurden *nicht* gesehen. „Eher möchte ich glauben — beweisen läßt es sich vorläufig nicht —, daß die Rickettsia durch den Entzündungsprozeß, den sie auslöst, selbst zugrunde geht.“ Eine weitere Möglichkeit, diese Bilder zu klären, fehlte mir



Abb. 1. Meerschweinchen 1943, kulturell infiziert. Viruszelle. Stark geschwellte, z. T. basophil gefärbte Endothelzelle mit kugligem Virushaufen, dessen granuläre Zusammensetzung deutlich erkennbar ist. Fixierung: Susa-Heidenhain. Paraffin 3 μ . Färbung Giemsa. Optik: Zeiss Ap. Imm. 2 mm Num. 1,4. K.—O. 8.

damals noch. Sie läßt sich dahin kurz zusammenfassen, daß nicht der Entzündungsprozeß den Untergang der Rickettsia, sondern umgekehrt der Untergang der Rickettsia den Zelltod und sekundären Entzündungsprozeß bewirkt. Der Untergang der Rickettsia fiel dann mit dem Einsetzen der *Immunleistung* zusammen, und so fände dann auch der in jener Arbeit bereits besprochene *Zeitpunkt des ersten Auftretens der Herdbildungen*, beim Menschen etwa um den 6., beim Meerschweinchen um den 4.—5. Fiebertag, seine ungezwungene Erklärung. Sinn erhielten diese eigenartigen

histologischen Beziehungen des angenommenen Virus zu den geweblichen Entzündungsprodukten durch den bereits früher von mir geführten Nachweis von Virusvermehrungen innerhalb von Lebergefäßwandzellen (zuerst Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 24, 1918). In dieser Untersuchung wurden innerhalb dieser Zellen einmal ziemlich „große stäbchenförmige, bald aufgequollene, bald grobklumpige Bakterien beschrieben, die außerordentlich den Erscheinungsformen des Bacterium Proteus gleichen, die ich früher (Arch. f. Protistenk. 38, 1918) als beginnende Quellung und Fadenbildung auf Blutagar beschrieben und abgebildet habe“. Dann sah man geballte Rickettsienhaufen innerhalb einer Anzahl meist losgelöster Endothelzellen.

Diese kugelförmigen Virusherde innerhalb der Leberendothelien habe ich in seltener Schönheit in einigen Fällen experimentellen Fleckfiebers wiedergesehen, bei denen Gewebskulturen virushaltiger Organe

eingespritzt wurden. Hierüber habe ich bereits (Berl. klin. Wochenschr. 1921 und Klin. Wochenschr. 1922) berichtet. Ich möchte hier nachträglich die damals wiedergegebenen Bilder in natürlichen Farben reproduzieren, um einen genauen Vergleich zu ermöglichen. Auch in diesen Fällen — ich habe *drei* derartige im Laufe der Zeit gesehen — waren unzweifelhaft lediglich Gefäßwandzellen, sog. Endothelien, befallen. Allerdings erschwert die kuglige Auftreibung durch das Virus und die damit gegebene konzentrische Zusammendrängung benachbarter Endothel- und Epithelzellen öfter die Übersicht und Deutbarkeit. Zuweilen besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit Megakaryocyten. In Wirklichkeit handelt es sich jedoch mit Sicherheit *nicht* um solche. Entscheidend ist in meinen Augen die in dem dargestellten Falle sehr schön zum Ausdruck gelangende *Ausschüttung des Virus aus den befallenen Zellen!* Neben den stark gefärbten und prall gefüllten Zellen sieht man solche, welche entweder ganz leer sind oder in der schwach färbaren *leeren Zone der früheren Virusentwicklung lediglich vereinzelte Exemplare*, diese aber besonders deutlich erkennen lassen. (Die Bilder sind, wie alle übrigen, in objektiver Weise von *Landsberg-Berlin* dargestellt worden.)

Wenn auch der histologische Anblick dieser *Viruszellen* ein sehr eigenartiger ist, so läßt diese deutliche Entleerung der Zellen keinen Zweifel an ihrem Charakter zu. *Wolbach* und seine Mitarbeiter (Etiology and Pathology of Typhus, Harvard University 1922) haben diese Leberbefunde nicht erhoben. Ihre Beobachtung verlangt auch ein sehr eingehendes Studium, und man muß stets dessen eingedenk sein, daß sie, wie ich mehrfach hervorgehoben habe, *diskontinuierlich* über die Leber verteilt sind.

Häufiger übrigens begegnet man einem anderen Typus der intracellulären Virusvermehrung, welcher in den üblichen Passagetieren der bisher allein beobachtete ist und hier manchmal stärker, manchmal auch nur ganz schwach ausgebildet erscheint, in jedem Falle das Studium

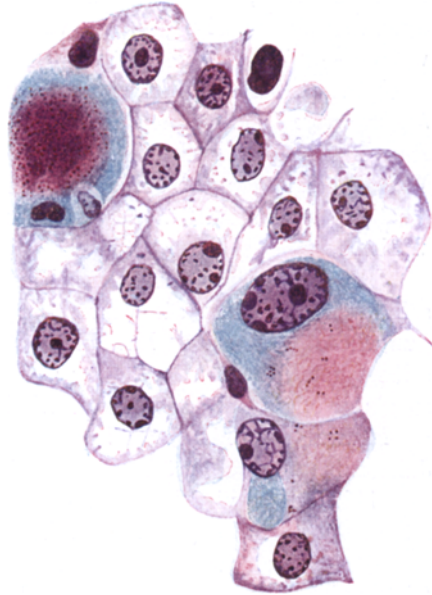


Abb. 2. Wie bei Abb. 1. Gruppe von Viruszellen. Die eine enthält noch das Virus, während es aus den zwei anderen größtenteils entleert ist. Man sieht die blaß gefärbten Höfe der früheren Ansiedlung und in ihnen noch einzelne Erreger.

zahlreicher Blöcke tadellos erhaltenen und verarbeiteten Materiales erfordert (siehe die Abbildungen 1 und 2 der Tafel I). Man sieht stellenweise die Capillaren völlig *verstopft* von stark hypertrophischen Wandzellen, welche vielfach gut färbbare, aber gewöhnlich auffallend vergrößerte Kerne zeigen. In gut gefärbten Giemsa-präparaten ist ihr Protoplasma häufig ganz dicht mit azurophilen Granulis erfüllt, welche öfter zu zweit liegen, auch kettenartige Verbände erkennen lassen. Neben den vorherrschenden ganz kleinen Formen, welche — wie Vergleichspräparate lehren — ganz in die Größenordnung der Läuseparasiten fallen, sieht man vereinzelt fast *gono-* oder *meningokokkenartige* Quellformen, die nach den später zu behandelnden Erfahrungen mit Kulturen als *Degenerationsformen* aufzufassen sind. Der Vergleich mit den vorzüglichen Bildern von *Wolbach*, *Tood* und *Palfrey* lehrt die volle Identität des Vorkommens solcher Gebilde in Laus und Wirbeltier.

Jede Histoparasitologie des Fleckfiebers muß ganz unbefriedigend sein, wenn sie nicht die Vermehrung des Virus *außerhalb* der Entzündungsherde der späten Krankheit studiert und nachweist. Diese ganz selbstverständliche Überlegung zeigt die Unvollkommenheit der sonst so glanzvollen Untersuchungen *Wolbachs*¹⁾.

Es war für mich von besonderem Interesse, mit diesen mir seit Jahren bekannten Veränderungen die histologischen Befunde innerhalb der bebrüteten virushaltigen Organe zu vergleichen. Ich habe dies früher kurz getan (Berl. klin. Wochenschr. 1921). Hier möchte ich einige ganz charakteristische Bilder dieses Verhaltens wiedergeben (siehe die Abbildungen der Tafel II). Einmal beobachtet man stark geschwellte Endothelien, welche ganz gleich den intravitalen Zuständen in den Leberendothelien, auf das dichteste mit Rickettsien erfüllt sind, dann sieht man innerhalb der früheren Sinus außerhalb von Zellen dichte thrombenartige Ausfüllungen aus Rickettsien, so zwar, daß diese sich nur als dichtgedrängte, azurrot gefärbte Pünktchen darstellen. Solche Kulturen bzw. ihre Parallelkulturen erwiesen sich noch nach 10 tägigem Aufenthalt im Brutschrank, zuweilen sogar noch beträchtlich später, als *hochinfektiös*, wie früher ausführlich von mir dargelegt worden ist.

¹⁾ Es war mir eine besondere Genugtuung, daß die genaue histologische Aufarbeitung unseres Materiales, die ich in Gemeinschaft mit meinen Mitarbeitern, *Ferency* und *Böttcher*, durchführte, uns im Sinus des *Knochenmarks* größere Mengen von „Rickettsien“ in thrombusartigen Ausfüllungen gezeigt haben. Dies stimmt für das Virus unserer Untersuchungen — es mögen Unterschiede bestehen! — sehr schön zu der besonderen *ernährungsphysiologischen Bedeutung* des medullären Gewebes, auf welche ich jüngstens besonders hingewiesen habe (Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **239**. 1922: „Edwin Goldmanns Untersuchungen“ usw.). Darüber wird der histologische Teil genauere Ausführungen bringen.

Da die Bebrütung der Wirtsgewebe diese „auskämmt“ und die meisten Elemente aus dem explantierten Stück entfernt, so lag darin für mich ein recht überzeugender Beweis, daß diese unzweifelhaft während der Bebrütung aufs stärkste zur *Vermehrung* gelangten Gebilde vom Rickettsiahabitus zugleich das Virus darstellen.

Ich brauche hier nicht erneut darauf hinzuweisen, daß diese Kulturen bakteriell — aerob und anaerob! — völlig steril sind. Es wäre aber zu den früheren Beschreibungen hinzuzufügen, daß positive Plasmakulturen sich durch einen eigenartig süßlichen, zuweilen an Jasmin erinnernden *Geruch* auszeichnen, mit dem wir nicht recht etwas anzufangen wußten, bis wir den gleichen bei den späteren festen Agar- und Serumkulturen usw. antrafen. Er beruht auf der Bildung sehr flüchtiger Stoffe aus dem Nährsubstrat, darunter nach dem Geruch unzweifelhaft auch flüchtigen hochmolekularen Fettsäuren, die in großer Konzentration höchst widerlich wirken, wenn sie auch nie den Gestank der Kulturen des *Proteus vulgaris* annehmen. In hohen Verdünnungen jedoch, wie sie bei dem immerhin beschränkten Wachstum innerhalb der Plasmakulturen vorliegen, riechen sie nicht ganz unangenehm süßlich und *scheinen mit dem eigenartigen Schweißgeruch nicht unähnlich*, der — wie seit langem bekannt ist — *die Fleckfieberkranken derart auszeichnet*.

Ich hatte, wie bereits erwähnt, ursprünglich aus der Biologie des Virus gemutmaßt, daß es anaerob sein optimales Gedeihen findet. So nahm ich zunächst auch noch an, daß *innerhalb des bebrüteten Gewebes*, unter dem Einfluß der ringsum wachsenden Zellen, eine gewisse Anaerobiose gewährleistet wäre. Aber abgesehen von den im wesentlichen negativen späteren Zuchtversuchen auf festen Nährböden unter anaeroben Bedingungen im Gegensatz zu der gleichen aeroben Zucht lehrten mich auch gelegentliche günstige Kulturen aus Plasmakulturen von Gehirn, daß dem kaum so sein könne, weil hier das sprossende Wachstum so rudimentär blieb, daß es sicherlich nicht diese Nebenwirkung entfalten konnte.

Ganz systematische Nährbodenversuche, die ich gemeinsam mit meinem chemischen Mitarbeiter *W. Ferner* unternahm, führten dann, wie ich bereits kurz mitgeteilt habe (Klin. Wochenschr. Nr. 28, 1922), zu einem praktisch zu handhabenden und äußerst befriedigenden Kulturergebnis.

In dieser vorläufigen Mitteilung ist bereits einiges über die *Anzucht des Fleckfiebertvirus* gesagt worden¹⁾. Ich möchte daher hier nur das

¹⁾ Es ist zu wiederholten Malen gegen meine Ausführungen gesprochen und geschrieben worden. Soweit es sich hier um Einwände handelt, die auf Grund meiner ersten kurzen Mitteilung gemacht sind, bin ich auf sie nicht eingegangen, weil die ausführliche Darstellung, wie sie im Grundriß mein zweiter Vortrag gebracht hat, der natürliche Ort und der allein gegebene Zeitpunkt ihrer Erledigung

Wesentliche hervorheben, zumal da ich sehe, daß auch hier grundsätzliche Irrtümer in der Verwertung der züchterischen Methodik mehrfach geäußert worden sind.

Die rohe Zusammensetzung der von mir gewählten Nährsubstrate ergab sich mir aus früheren Überlegungen, die ich bereits kurz gestreift habe. Sie fußen auf den *Lebensbedingungen*, denen das Virus in Laus, Mensch und Meerschweinchen unterworfen ist. Die Kombination nativer und weit abgebauter Eiweißstoffe erwies sich in Gestalt des zu $\frac{1}{3}$ Vol.-Proz. mit Serum versetzten Aminosäureagars („Ams-Agar“) als richtig. Seine Zusammensetzung geht aus folgender tabellarischen Übersicht zur Genüge hervor. Das erprobte Verfahren der Herstellung im großen hat uns stets gleichbleibende Präparate geliefert.

Die Güte dieses Nährbodens zeigt sich weiterhin durch die stets bestätigte Erfahrung, daß es nicht gelingt, auf verschiedensten Nährböden, welche sich sehr gut zur *Fortführung* einmal gewonnener Kulturen eignen, eine erste *Anzucht* zu erzwingen. Auf unserem Serum-Ams-Agar gelingt dies, wenn vorzüglich eine bisher nicht erwähnte physiologische Bedingung erfüllt ist.

Vom Anfang meiner künstlichen Zuchtungsversuche auf Schrägagar an habe ich, beinahe möchte ich sagen, *instinktiv*, das Nährsubstrat nach *Levinthal* behandelt. Die Technik und ihr hoher Wert ist vom Influenzabacillus her wohl bekannt. Verzeichnen wir zunächst das Ergebnis einiger Tausende von Kulturversuchen, so läßt sich sagen, daß es ohne vorherige Anreicherung, etwa auf dem Wege der von mir angegebenen Plasmakultur infizierter Organe, *niemals gelingt, aus infizierten Organen Fleckfiebertivirus zu züchten, sofern nicht diese Vorbehandlung des Substrates nach Levinthal vorgenommen wird!* Dieses Kriterium gestattet uns, Angaben anderer Autoren über gelungene Kulturen auf festen Nährböden mit größter Skepsis zu begegnen. Es ist jedoch hiermit nichts gesagt über flüssige Kulturen *mit Organzusatz*, denn hier

ist. Soweit aber im unmittelbaren Anschluß an diesen Vortrag Bemerkungen gemacht sind, welche sich gegen meine Ausführungen wenden, so kann ich besonders auf Grund der dokumentarischen Ausführungen des Sitzungsprotokolls (wie sie von den betreffenden Opponenten selbst festgelegt sind) nur feststellen, daß sie dem Vortrag und seinen wesentlichen Ausführungen nicht gefolgt sind. Besonders die Ausführungen von *Schnabel* betreffen von ihm angenommene Lücken meiner Arbeit, die in Wirklichkeit recht ausführlich behandelt wurden, wie der Vergleich meiner Ausführungen in der Med. Klinik mit seinen Bemerkungen dazu zeigt. Es ist natürlich zuzugeben, daß es nicht leicht ist, namentlich wenn die Zeit zusammengedrängt ist, eine Fülle von Material so darzustellen, daß es ohne stete Wiederholungen völlig aufgenommen wird. Besonders beim Fleckfieber allerdings kommt noch der Umstand hinzu, daß zahlreiche Forscher nur schwer imstande erscheinen, gewisse *grundsätzliche Urteile hinsichtlich der Fleckfieberätiologie* und der *Fleckfieberproblematik* zu überwinden; es handelt sich mit anderen Worten um das, was *Kant* einmal *Vorurteile aus logischem Egoismus* genannt hat.

sind in heute noch nicht hinreichend bekannter Art und Weise unzweifelhaft Verhältnisse physiologischer Art dargeboten, die das Levinthalprinzip zu ersetzen vermögen. Hierauf komme ich in anderem Zusammenhang ausführlich zu sprechen. Inzwischen ist diese unsere Erfahrung von Kondo (Tohoku journ. exp. Med. 3, 1922) gleichfalls gefunden und veröffentlicht worden.

Ganz systematische Versuche haben gezeigt, daß es auch bei feinsten Technik nicht möglich ist, dieser besonderen Präparation zu entraten. Die Ergebnisse sinken auf 0%! Verwendet man sie jedoch, so gelingt es unter Beachtung aller sonst nötigen technischen Rücksichten, auf mindestens 50% Kulturausbeute zu gelangen, selbst wenn man nur 2—3 Kulturen von jedem kranken Tier anlegt. Es ist klar, daß man diese Zahl noch viel günstiger gestalten würde, wenn man die absolute Zahl der Kulturröhrchen vermehrt.

Ich halte es mit Olsen (Zentralbl. f. Bakteriologie 84/85, 1920) u. a. für sehr wahrscheinlich, daß diese Behandlung dem Substrat einen *Katalysator* einverleiht, welcher zwar in keiner

Nährböden: 1 Teil Serum; 2 Teile Nährbasis (Nr. 21 der analyt. Serie) nach Levinthal behandelt.

Pepton	21,4	Asche: Na	9,66	28 g Trockenpräparat werden in 1000 ccm Wasser gelöst.	Pepton	5,99 g (‰)
Aminosäuren	41,9	K	2,10		Aminosäuren	11,73 g
Traubenzucker	3,6	Ca	0,61		Anorganische Subst.	8,42 g
Asche	30,1	Fe	0,09		Traubenzucker	1,00 g
Wasser	3,1	Mg	0,02			$p_H = 7,3$.
	<u>100,1</u>	Cl	13,95			
		SO ₄	1,96			
		CO ₂	1,03			
		P ₂ O ₅	0,43			
			<u>29,85</u>			
Aminosäuren:		1 l Nährlösung enthält:				
Glykokoll	2,5	Cystin	0,5			
Alanin	3,0	Prolin	1,0			
Valin	1,0	Asparagin	1,0			
Leucin	10,5	Glutaminsäure	8,5			
Phenylalanin	1,0	Arginin	1,5			
Tyrosin	1,5	Histidin	2,5			
Tryptophan	0,5	Lysin	1,0			
Serin	0,5		<u>36,5</u>			

Weise spezifisch an die roten Blutkörperchen gebunden ist, aber aus ihnen im Laboratorium besonders billig und sauber hergestellt werden kann. In anderem Zusammenhang werde ich diese Frage in Kürze ausführlich behandeln. *Levinthal* hat bereits die weiter gerichtete Bedeutung dieses Prinzips hervorgehoben. Besonders für Meningo- und Gonokokken bewährt es sich. Betrachtet man näher, auf welche Mikroorganismen es sich erstreckt, so sieht es so aus, als ob vor allem *Schleimhaut*-, dann *Zellparasiten* diesem Prinzip physiologisch unterliegen.

Berücksichtigt man die Verhältnisse des Nährbodens, so könnte es sich, wie auch *Levinthal* auf Grund der positiven *Benzidinreaktion* darlegt (vgl. 1921 *Levinthal, Kuczynski, Wolff*: Grippepandemie 1918), um kolloid gelöste Eisensalze katalytischer Potenz handeln, welche durch die *Levinthalpräparation* aus den Zellen oder dem Hämoglobinkomplex befreit werden bzw. in eine physikalisch aktionsfähige Form versetzt werden. In dieser Richtung habe ich gemeinsam mit meinem chemischen Mitarbeiter *Ferner* Untersuchungen angestellt, welche zu einem sehr bemerkenswerten Ergebnis geführt haben. (Siehe auch unsere Nährbodenstudien an Bakterien.) Seit fast zwei Jahren war uns der Umstand bekannt, daß die Influenzabacillen auf unseren Standard-I-Nährböden, wenigstens in flüssigem Zustande, leidlich gedeihen, und wir konnten durch Vergleich unserer sehr zahlreichen Wachstumsproben mit bekannten Substraten mit Sicherheit sagen, daß dies an einem gewissen Gehalt an *Aminosäuren* liegen mußte, eine Anschauung, die inzwischen durch die bekannten Arbeiten von *Jakoby* und *Frankenthal* (*Biochem. Zeitschr.* 122, 1921) eingehend begründet worden ist. Andererseits haben wir selbst festgestellt, daß eine größere Menge verschiedener Aminosäuren *nicht* geeignet ist, das Leben der Influenzabacillen zu gewähren, im Gegenteil, daß diese bei einem Ams-Überschuß trotz *Levinthalbehandlung* der Substrate *nicht* gedeihen. Besonders das Histidin mußte von den Influenzabacillen leicht verarbeitet werden. Da wir außerdem unabhängig von *Kondo* gefunden hatten, daß Bouillon mit Nieren- oder Leberstücken als Zusatz gleichfalls ein Wachstum gestattet, so lag der Schluß sehr nahe, daß die Organstücke dem Nährboden etwas einverleiben, *was die Verwendung der in dem Nährboden gegebenen Substanz im Influenzabacillenstoffwechsel ermöglicht*. Diese Überlegung führte also zu dem geraden Gegensatz der Vorstellungen, welche besonders von amerikanischen Forschern entwickelt worden sind und darin gipfeln, daß die verschiedenen Präparationen *einen akzessorischen Nährstoff dem sonst insuffizienten Nährmedium hinzufügen*.

Ich halte die Bearbeitung dieser Fragen für um so wichtiger, weil sie das *Noguchische* Forschungsgebiet in sich schließt, wie auch aus der

neueren Darstellung von *C. Funk* (Vitamine, 1922) hervorgeht. Das gleiche Wachstum in zweigliedrigen Verbänden (*Satellitentum*), welches wir z. B. beim Influenzabacillus und anderen Bakterien finden, sehen wir auch bekanntermaßen in der biologischen Gruppe der Spirochäten. Hier fehlten aber bisher entsprechende physiologische Versuche, über die *Ferner* und ich in anderem Zusammenhange berichten werden.

Es ist uns nun gelungen, den *Levinthaleffekt* durch Gewebs- und andere „Oxydasen“ typischer Art vollwertig zu ersetzen. Wir wissen, daß den sog. Oxydasen im allgemeinen eine beträchtliche Hitzeresistenz zukommt (cf. *Euler*, Chemie der Enzyme, 1920). Sie vertragen daher, namentlich im Gewebsbrei eine kurzdauernde stärkere Erwärmung. Sie werden bei der Autolyse, also in Gewebsbouillon, freigemacht. Ist das Medium gallertig fest, so erklärt sich das in der Bakteriologie empirisch festgelegte Prinzip, daß die Satellitenwirkung sich stets nur über einen kleinen Radius hin erstreckt.

Seit den Untersuchungen von *Bach* und *Chodat* herrscht größere Klarheit über die Verhältnisse dieser Oxydationsprozesse vermittelnden Systeme, zu denen einmal der Katalysator, dann eine sauerstoffübertragende Substanz gehört. Dazu tritt als „autoklavstabiler Faktor“ die dieser Oxydation zugängliche Substanz, während die Peroxydase oder ihr anorganisches Äquivalent als labiler Faktor auftritt. Unsere Nährböden enthalten durch ihren Aminosäurebestand den stabilen Faktor ohne weiteres. Hier bedarf es in der Tat, wie in den Nährbodenstudien gezeigt wird, nur des Zusatzes eines entsprechenden Katalysators. Nur muß die Gesamtkonzentration sorgfältig so eingestellt sein, daß keine Giftwirkungen entfaltet werden. So ist der Ams-Gehalt unseres Fleckfiebernährbodens z. B. für den Influenzabacillus viel zu hoch. Die gleiche Basis ernährt jedoch in geeigneter Verdünnung des organischen Anteiles auch dies Bacterium in Verbindung mit Peroxydasen oder homolog wirkenden Stoffen.

Wenn Infektionserreger innerhalb des Infektionsprozesses durch Wirtsfermente befähigt werden, ihre Nahrung im weiteren Umfange des Begriffes zu bestreiten, so stellt dies die höchste Form von Parasitismus dar, welche bekannt ist. Hier wird nicht allein Wirtsmaterial dem Schmarotzer zugänglich und dienstbar gemacht, sondern unter Zuhilfenahme wirtseigener Hilfsquellen zur Erschließung des Materiales. Dies eröffnet neue Ausblicke in die pathogene Bedeutung und parasitologische Beziehung der Zell- und Gewebssaftschmarotzer.

Hieraus wird jetzt ohne weiteres ersichtlich, auf Grund welches Mechanismus es gelang, in der Gewebeskultur eine Anzucht zu erhalten, ebenso, warum bei der „Bauchkultur“ die Ergebnisse der Versuche [meine eigenen und die von *Otto* und *Winkler* (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 93, 1921)] so verschieden ausfielen. Bei der Gewebs-

kultur besorgt die stets vorhandene autolytische Zersetzung empfindlicher Organzellen die örtliche Oxydasenanreicherung, welche das extracelluläre Wachstum der Rickettsien innerhalb des Zellgürtels des bebrüteten Gewebsstückes ermöglicht. Wir verstehen auch, warum sich einzelne Virusstämme verschieden verhalten, einige so oder beinahe so wie der *Influenzabacillus*, welcher auf unseren Nährböden stets fremder Oxydasen bedarf, andere wie *Bordets* Bacillen und viele andere, die anfangs Oxydasen gebrauchen oder doch in ihrem Fortkommen durch sie gefördert werden, sich aber dann an die Ernährung ganz saprophytärer Art ohne fremde Oxydasen gewöhnen. Es scheint mir klar zu sein, daß man unter solchen Umständen nicht von *Vitaminen* reden kann. Was z. B. die Influenzabacillen gebrauchen, ist eine Oxydase samt den mit ihrer Hilfe zu veratmenden Substraten. Ganz das gleiche trifft für den Fleckfiebererreger zu. Ich kann hier die interessante Frage, wie solche Ernährungsgewohnheiten als Arterkmale zu bewerten sind, nicht einmal streifen. Dies Problem wird zu sehr verwickelt durch die anscheinend immer noch ganz ungeklärte Frage, wie die Bakteriengenerationen im Verhältnis zu pflanzlichen und tierischen Generationen zu bewerten sind, also durch die noch nicht abschließend erörterte Frage der Generationszyklen.

Jedenfalls gibt es unter den gezüchteten Fleckfieberstämmen solche, welche ohne Zuhilfenahme fremder Oxydasen zu leben verstehen und somit von Passage zu Passage auf unseren Ams-Nährböden fortzuchtbar sind. Zahlreiche andere aber haben wir verloren, weil wir zunächst nicht an die Unentbehrlichkeit der Fremdoxydasen glaubten und sie zwingen wollten, ohne Levinthalprinzip bzw. Fremdoxydasen auszukommen.

Daß das *Fleckfieberproblem* als Ganzes gleicherweise in besonderem Maße ein solches der *Anpassung eines Mikroben* an ein bestimmtes ökologisches Verhältnis darstellt, braucht kaum besonders betont zu werden. Wie die ausführliche Darstellung von *Czapek* (Biochemie der Pflanzen III, 1921) zeigt, besteht noch keine Einhelligkeit über das Wesen und die Wirkung der oxydationsbeschleunigenden Agentien. Nur die Wichtigkeit bestimmter *Metallsalze* (besonders Mangan und Eisen) ist seit langem bekannt. Sie wird auch auf dem Gebiete der Bakterienzüchtung eine stets größere Rolle einnehmen, nachdem *Walbum* (Biochem. Zeitschr. 129/30) in wichtigen Arbeiten zeigen konnte, daß ganz geringe Mengen von Manganochlorid die Diphtheriegiftbildung ganz beträchtlich fördern. Auch *Gräff* (Ziegl. Beitr. 70, 1922) hat der katalytischen Wirkung von Eisensalzen im Haushalt der Zelle an Hand der Arbeiten von *Warburg* und auf Grund bemerkenswerter Beobachtungen eine ausführliche Studie gewidmet. Es ergab sich für die intracelluläre Leistung gleichfalls die sichere Schlußfolgerung,

daß auch hier die katalytische Wirkung des Eisens an eine „gewisse Erhaltung der Struktur“ geknüpft ist. Leider aber kennen wir bisher weder vital noch supravital diese *Struktur* hinreichend. Jedenfalls lassen sich Körper von Oxydasewirkung aus den Zellen und Geweben extrahieren, und es ergibt sich die Möglichkeit, für die vitale und extravitale Leistung gleiche Prinzipien geltend zu machen, wie sie das *Levinthalprinzip* in unsere Nährböden bringt.

Es ist sicher von besonderem Interesse, daß *Nöller* (Arch. f. Schiffsu. Tropenhyg. **21**, 1917) die erste „Rickettsienkultur“ auf Trypanosomen-nährböden gelang. Ich darf daran erinnern, daß sich besonders bei *Trypanosoma cruci* im Anschluß an die ersten Beobachtungen *Hartmanns* (Arch. f. Protistenk. **38**, 1917) ein den Rickettsien sehr ähnliches biologisches Verhalten im Infektionsverhältnis hat feststellen lassen. Auch hier liegt eine fast ausschließlich intracelluläre Vermehrung vor. Während diese beim Flecktyphus *intraendothelial* oder in verwandten Zellen stattfindet, *beim Fieber der Felsengebirge in den Muskelzellen* (siehe *da Rocha-Lima*, Spotted fever im Handb. d. pathol. Protozoen, 1920, S. 1027f), kommt bei *Trypanosoma cruci* beides tatsächlich vor. *M. Mayer* (1920 ebenda) hat diese Verhältnisse kurz zusammengestellt.

„Die Ansiedlung der Parasiten selbst, deren Prädispositionsstellen oben angeführt sind, schädigt nach unseren Untersuchungen, die *Torres* für den Herzmuskel bestätigt, in der Regel die Gewebe nicht. Die beobachteten allgemeinen Degenerationserscheinungen stehen damit in keiner ursächlichen Beziehung zur Ansiedlung der Parasiten selbst, dagegen fand *Rocha-Lima* eine solche nur, wenn die Parasiten massenhaft zugrunde gehen, was eine Zerstörung der Wirtszellen und oft auch ausgedehnte Entzündungserscheinungen zur Folge hat. Diese, auf eine toxische Wirkung hindeutenden Läsionen, der unveränderte Zustand der Zellen trotz der Entwicklung von Parasiten im Protoplasma und die Tatsache, daß in den parasitierten und degenerierten Zellen oft unfertige zerstörte Parasiten gefunden werden, sprechen dafür, daß bei dem Untergang von *Schizotrypanum* giftige Stoffe frei werden, die von den lebenden Parasiten nicht sezerniert werden.“

Das hier beschriebene (wenn natürlich auch nicht „erklärte“) Verhalten der Trypanosomen besitzt für uns ein besonderes Interesse in Hinblick auf die ganz unabhängig von seiner Kenntnis von mir in mehreren Arbeiten dargelegten Verhaltensweisen der Fleckfieber-erreger. Wir werden daher danach trachten, durch die Aufklärung ihres Zustandekommens die Pathogenese der Trypanosomiasis *cruci* zu fördern. Auch in kultureller Hinsicht werden wir vielleicht wertvolle Gesichtspunkte gewinnen können, wenn wir die biologischen Ähnlichkeiten dieser systematisch so sehr verschiedenen Gruppen richtig berücksichtigen.

Wir sehen ja, worauf leider nicht sinngemäß geachtet worden ist, daß auch die Fleckfiebererreger im Zwischenwirt die Tendenz intracellulärer Entwicklung zeigen, ganz ebenso, wie es für die Trypanosomengruppe nach den Untersuchungen von *Minchin*, *Nöller* u. a. Gültigkeit hat. Es war ein grundlegender Irrtum, von dem sich *Nöller* selbst stets freigehalten hat, hieraus die „protozoäre“ oder „chlamydozoäre“ Natur dieser Virusformen erschließen zu wollen. Für alle solche Bilder kommt, wie ich früher andeutete, nur das physiologische Element in Frage, so daß man die ganze Frage umdrehen könnte, ob nicht durch ähnliche physiologische Erfordernisse viel eher ein ähnlicher („ethologischer“, *Dollo*) Habitus erzeugt wird, als daß solche Scheingruppen einer intimen Verwandtschaft ihrer tatsächlichen oder vermuteten Erreger entspräche.

Ich möchte in diesem Zusammenhange besonders darauf aufmerksam machen, daß auch *Nöller* für die Trypanosomenzucht das *Levinthalprinzip* nutzt, indem er die Mischung von Blut und Agar in nahezu kochendem Zustand vorschreibt (vgl. zuletzt: Die wichtigsten parasitischen Protozoen. S. 104, 1922). Allerdings liegt hier anscheinend keine absolute Notwendigkeit vor. Immerhin wird erst die Ausdehnung des Kulturverfahrens auf die bisher nicht züchtbaren pathogenen Formen zeigen, wie weit etwa für sie das Levinthalprinzip eine notwendige Bedingung der Anzucht darstellt. *Levinthal* (a. a. O., S. 36) hat unter Anführung der Literatur darauf hingewiesen, daß das heiße Mischen von Blut und Nähragar (*Voges*, *Grassberger* u. a.) im Prinzip zu den gleichen Ergebnissen führt wie die Behandlung des Nähragarblutgemisches nach seiner Vorschrift.

Wenn aber *Nöller* die *Rickettsia melophagi* auf seinen Trypanosomennährböden züchten konnte, so dankt er diesen Erfolg, wie mich sehr zahlreiche vergleichende Versuche belehrt haben, der unbewußten Durchführung des *Levinthalprinzipes*.

Ehe ich jetzt dazu übergehe, die vorläufigen Mitteilungen zum Kulturverfahren weiter auszuführen, erscheint es mir hier nötig, einiges über unsere experimentelle Technik einzufügen.

Als Material dienten mir im wesentlichen drei Stämme, welche ich selbst aus Fleckfieberkranken auf das Meerschweinchen gebracht habe und von denen zwei, nämlich „*Rudolph Virchow*“ und „*Reinickendorf*“, in der Hand zahlreicher anderer Untersucher sind. Alle drei Stämme sind in ihrem tierexperimentellen, histologischen und kulturellen Verhalten gleich. Zeitweilig habe ich noch mit anderen Stämmen gearbeitet, die mir von anderen Herren freundlichst zur Verfügung gestellt wurden, so früher mit dem Stamm „*Wilna*“ von *Otto*, den ich aber eingehen ließ, weil er nur mehr sehr abgeschwächte Infektionen vermittelte, und einem von *da Rocha-Lima* zur Verfügung gestellten. Meine eigenen Stämme wurden derart gewonnen,

Stamm „*Reinickendorf*“, am 18. V. 1920 durch intraabdominale Impfung von hirudinversetztem Blut des Patienten KA. auf Meerschweinchen (je 1,5 ccm) gewonnen.

Inkubationstag	Mschw. Nr. 36	Mschw. Nr. 57	Mschw. Nr. 97	Mschw. Nr. 69	Mschw. Nr. 8
1.	37/4	38/2	38/4	38/5	37/4
2.	37/4	38/0	38/3	38/1	38/2
3.	37/7	38/6	38/3	38/4	37/6
4.	—	—	—	—	—
5.	35	38/1	37/8	37/7	37/6
6.	Gestorben. Weiterführung <i>kein</i> Fleckfieber	37/3	37/5	37/2	37/6
7.		38/1	37/8	37/5	37/1
8.		37/7	37/7	37/4	37/3
9.		38/5	38	38	37/7
10.		37	38	37/3	37/3
11.		37/7	37	38	37
12.		38/2	38/9	37/3	36/8
13.		37/1	38/8	38	38/2
14.		37/7	39/4	38/1	38/3
15.		38	40/2	37/5	38/8
16.		38/2	39/4	37/4	39
17.		38/5	Passage T. e.	38	38/6
18.		38/1		38/1	39 Passage T. e.

Stamm „*Rudolf Virchow*“, am 24. V. 1920 in gleicher Weise verimpft.

Tag	Mschw. Nr. 43	Mschw. Nr. 42	Mschw. Nr. 46	Mschw. Nr. 60
1.	35/2	35/2	37	36/9
2.	37/4	37/6	36/7	36/9
3.	37/3	37/1	37	37/2
4.	37/7	37/5	36/9	38/3
5.	—	—	—	—
6.	38/7	38/5	37/8	38/1
7.	38/2	38/2	37/3	38/2
8.	38/7	38/8	38/1	38/2
9.	38/6	38/3	38/4	38/3
10.	38/1	38/3	38/2	37/8
11.	38	38/1	38	38/3
12.	38/1	38	37/3	38/3
13.	38/1	38/3	38/1	38
14.	38/6	38/5	38/2	38/7
15.	38/8	37/7	38/5	39
16.	37/7	38	37/6	39/4
17.	38/7	38/9	40/2	40/3
18.	38/5	38/5	39/5	39/7
19.	39	38/7	40/1	40/3
20.	39	38/2	39/3	39/5
21.	38/5	38/3	Passage T. e.	39/6
22.	38/6	38/7		Passage T. e.

daß Venenblut, mit *Hirudin* am Gerinnen verhindert, zu etwa 2,5 ccm intraperitoneal auf eine größere Reihe von Meerschweinchen verimpft wurde. Während hierbei die Ausbeuten über 70% der geimpften Tiere betrug, schlugen Verimpfungen mit defibriniertem Blut durchweg fehl, Citratblut versagte häufig. Dieser Befund entspricht später erörterten Versuchen, aus denen hervorgeht, daß auch größere Virusmengen bei längerem Verweilen in citrathaltigen Medien bis zur Abtötung geschädigt werden. Es unterliegt daher für mich keinem Zweifel, daß das Virus beim Defibrinieren praktisch an die Gerinnsel fixiert wird und — in den großen in Betracht kommenden Verdünnungen — auch von Citraten geschädigt wird.

Daß tatsächlich sehr große Verdünnungen im menschlichen peripheren Blut die Regel darstellen, ergibt sich ohne weiteres aus den beträchtlichen *Inkubationszeiten* bei der Überimpfung vom Menschen auf das Meerschweinchen.

Diese *lange* Inkubation wird uns zum sicheren Indicator einer hohen Virusverdünnung, wenn wir dessen eingedenk sind, daß andererseits mit steigender Virusmenge die Inkubation immer mehr und mehr abgekürzt wird, wie ich selbst (1921) in Übereinstimmung mit *da Rocha-Lima* und *Weil* und seinen Mitarbeitern genau nachgewiesen habe.

Die infizierten Meerschweinchen werden bei etwa 15° C gehalten und möglichst gleichmäßig gefüttert. Die reichliche Ernährung spielt bei dem experimentellen Studium des Fleckfiebers eine besondere Rolle. *Lediglich an der reichlichen Ernährung liegt es, ob die Tiere die Infektion überstehen.* Man kann durch ungeeignete oder unzureichende Kost ohne jede Schwierigkeit einen beträchtlichen Prozentsatz von Todesfällen erzielen, während bei guter Tierhaltung Todesfälle an Fleckfieber ganz außerordentlich seltene Vorkommnisse darstellen. Verfüttert wurde als Grundkost Hafer, dazu im Winter Heu und Rüben, im Sommer Grünfutter und Kohl.

Die Messung erfolgte stets zu gleicher Zeit früh zwischen 7 und 9 Uhr mit bestimmten Thermometertypen, mit häufigen Kontrollen unter Beachtung der bekannten, von *Friedberger* u. a. hervorgehobenen Gesichtspunkte; nach Bedarf auch später noch einmal. Die Messungen wurden stets von mir und einer bestimmten erfahrenen Mitarbeiterin gemeinsam vorgenommen.

Die Tötung erfolgt durch Chloroformnarkose. Nach Durchtrennung der gut mit Spiritus durchfeuchteten Haut wird die Muskelwand des Bauchraumes gleichfalls mit Alkohol abgespült und das Abdomen eröffnet. Von der Leber und Milz werden je ein Stück in eine hochwertige Nährbouillon versenkt und diese Kulturen mindestens 3 Tage bebrütet, danach in der Regel ausgestrichen, wenigstens im Präparat auf Wachstum von Bakterien geprüft. Die Lunge wird auf pneumonische Herde

geprüft. Atelektasen sind häufig und bedeutungslos. Kleinste infarktartige Nekrosen sieht man häufig in der Leber, auch bei ungeimpften Tieren. Sie sind wohl größtenteils die Folge früherer Infektionen spontaner Entstehung, zuweilen allerdings können ähnliche Herde (in geringer Anzahl) durch die Resorption von eingespritztem Material bedingt werden. In beiden Fällen besteht bakterielle Sterilität.

Zur Anlegung von Plasmakulturen wird die Milz entfernt und bis zu ihrer Verarbeitung auf Eis aufbewahrt.

Um das Hirn zu entfernen, wird die Kalotte sorgfältig freigelegt, abgewaschen und hernach mit dem Bunsenbrenner abgeflammt. Die wie alle übrigen Instrumente durch Kochen sterilisierte Schere wird in der Flamme ordentlich getrocknet und durchtrennt nach rechtwinkliger Abbeugung des Kopfes mit einem Schlage die Nackenmuskulatur so, daß das Foramen occipitale magnum klappt. Jetzt wird die Schere erneut durch die Flamme gezogen und trennt in zwei Zirkelschnitten, anfangend vom Foramen die Schädeldecke ab. Will man ein Hirnstück zur mikroskopischen Untersuchung behalten, so geht man jetzt, nach vorheriger Abtrennung der Medulla cervicalis durch einen Querschnitt, unter das Kleinhirn, so daß man den *Hirnstamm* vor der Rautengrube quer durchtrennt und entnimmt das so gelöste Hirn unter leichtem Spreizen der Scherenbranchen. Die im Schädel gebliebene Oblongata reicht für die mikroskopische Prüfung vollkommen aus.

Das Gehirn wird gemörsert, indem es aus der sterilen Schale, in die es zunächst gelegt ist, mit steriler Pinzette in einen vorher völlig eingeschlagenen Mörser übertragen wird, welcher durch eine große Glasschale während der ganzen Arbeit nach oben abgedeckt ist. Die Hände sind wie zu einer chirurgischen Operation kunstgerecht desinfiziert, bevor man mörsert. Dies ist für die Anlage von Kulturen *un-erläßliche Vorbedingung*. Ebenso haben die allgemeinen Bedingungen des Raumes den elementaren Anforderungen sterilen Arbeitens zu genügen. Das Hirn wird mit wenigen Stößen eines kräftigen Pistylls zerquetscht. Dann werden 40 ccm Ringerlösung zugefügt und die Mischung in einer 20-ccm-Rekordspritze vorgenommen. Schnelles Ansaugen durch die verhältnismäßig enge Öffnung, welche das Hirn durchlaufen muß, sorgt für genügend feine Verteilung. Die gröberen Bestandteile senken sich in der Spritze, es bleibt eine stark getrübe Flüssigkeit darüber stehen, die zur Anlage der Kulturen auf Schrägagar der beschriebenen Zusammensetzung und zur Verimpfung auf Tiere — Meer-schweinchen und Kaninchen — dient.

Jedes Kulturröhrchen erhält etwa einen halben Kubikzentimeter dieser dünnen Aufschwemmung. Sehr dicke Suspensionen sind ebenso zu widerraten wie zu starke Beimpfungen. Die Röhrchen werden sofort schräg gelegt, so daß das Material in innige Berührung mit der

Nährbodenoberfläche kommt. Nach etwa einer Stunde werden die Röhrechen aufgerichtet und gelangen dann in den Brutschrank, wo sie bei 37–38° bebrütet werden.

Meerschweinchen werden in den Bauchraum (ip) geimpft, nachdem die Haare an kleiner Stelle gerupft sind und die Haut jodiert ist. Kaninchen impfe ich gern intramuskulär. Kulturen werden fast immer bei Meerschweinchen in dieser Weise eingespritzt. Nur aus besonderem Anlaß mache ich hier von der ip-Impfung Gebrauch. Dagegen kann man Kaninchen oft vorteilhaft intravenös mit Kulturen impfen, weil man so öfter anscheinend schnellere und ausgiebigere Serumreaktionen erreicht als bei andersartiger Zuführung.

Vielfach habe ich den Schrägagarröhren noch nach der Beimpfung einige Tropfen neutraler Caseinlösung zugesetzt.

Plasmakulturen werden derart auf Schrägagar gebracht, daß die bebrüteten Stücke dem Plasma entnommen und möglichst innig auf der Oberfläche verrieben werden.

Die ersten Kulturen bedürfen zum Anwachsen, daß sie makroskopisch sichtbar sind, einiger Tage (3–5 bei optimalen Bedingungen). Es kann auch etwas länger dauern. Bei der täglichen Kontrolle werden die Röhrechen *erneut schräg gelegt*. Das erste Wachstum sieht man meist am Boden der Röhrechen über dem eingesäten Material. Ich habe aber bereits früher darauf hingewiesen, daß man öfters ein-, auch zweimal den ganzen Inhalt des beimpften Röhrechens auf ein neues durch *Überkippen* weiterführen muß, um Kulturen zu erhalten (Tafel III Abb. 5–7).

Besonders auffallend ist das bei direkter Betrachtung sehr *polymorphe Verhalten der Viruskulturen*. Es äußert sich zuweilen schon bei der Anzucht, um bei der weiteren Zucht in den Tochterkulturen (Passagen) besonders sinnfällig zu werden. Wir sahen bereits, daß zuweilen die allerersten Kulturen schon als einzelne gelblich-schleimige Bildungen erscheinen. 8 derartige gelb-schleimige, erhabene, meist nicht ganz regelmäßig rundliche Kulturen sind die höchste Zahl, die ich zuweilen in der Anzucht beobachtet habe.

In anderen Fällen zeigt sich ein ganz dünner, kaum eigengefärbter, höchstens grau getönter Rasen, soweit wie das virushaltige Material innig mit der Oberfläche des Schrägagar in Berührung gekommen ist (Abb. 6 Tafel III).

In noch anderen Fällen sind die einzelnen Kulturen zunächst fast durchsichtig, einzeln gestellt, fallen aber dem erfahrenen Beobachter sogleich durch ihre große *Unebenmäßigkeit* auf. In der Durchsicht gegen eine mäßig helle Fläche zeigen einige eine merkliche Körnung, wobei die einzelnen Kolonien nicht allein in der Größe, sondern auch in ihrer Lichtdurchlässigkeit voneinander abweichen, andere sind glas-

klar (Abb. 5 Tafel III). So unterscheiden sie sich leicht und sicher von zuweilen täuschenden Hirnteilchen, welche nach mehrfacher schräger Lagerung der Röhrechen dem Agar wie kleinste Perlen auflagern können. Diese Art von Kolonien geht dann bei weiterer Verimpfung mit der Öse oder durch Überkippen des Röhrechens in rasenartige Wuchsform unschwer über. Die meisten Kulturen verfärben sich weiterhin gelb (Abb. 7 Tafel III).

Hand in Hand mit dieser gelblichen Verfärbung kommt es zu einer sehr deutlichen, schließlich vollkommenen Lösung der im Nähragar vorhandenen hitzegeflockten Serumglobuline sowie anderer beigemischter Proteine, wie z. B. von Casein, so daß man auf Grund dieser ganz regelmäßigen Beziehungen sagen darf: die gelbliche Verfärbung ist ein eindeutiger Indicator einer starken Bildung und Diffusion von Proteolysinen in den Nährboden.

Die Kulturen selbst wachsen in den Agar nicht hinein. Gleichzeitiges Studium der mikroskopischen Verhältnisse der gelben Kulturen zeigt, daß zugleich ein erheblicher Teil der Individuen unzweifelhafte Degenerationserscheinungen als Quellungsphänomene, färberische Veränderungen u. a. aufweist. Sie sind sehr mannigfach. Ich habe sie in der kurzen Mitteilung bereits erwähnt und will sie hier durch naturgetreue Abbildungen versinnbildlichen (vgl. Abb. 11 und 12 Tafel III). Während die junge Kultur auf den Ams-Böden ein sehr gleichmäßiges, feines Bild darbietet, ist das Degenerationsbild äußerst mannigfaltig. Die frische Kultur scheint bei nicht sehr starker Giemsa-Färbung aus lauter feinsten rötlichen Granulis zu bestehen, welche sich bei stärkerer Färbung als nicht ganz ebenmäßig erweisen und zumeist eine *Hüllschicht* erkennen lassen derart, daß sie, teils einzeln gelagert, Mitte oder Ende eines schwach blau gefärbten, ein- oder beiderseitig zugespitzten, auch gekrümmten Gebildes von großer Zartheit einnehmen oder aber, zu zweit gelagert, selten einander innig genähert, meist in beträchtlicher Entfernung von einander (mindestens $1\frac{1}{2}$ Durchmesser) in eine solche Hülle eingeschlossen erscheinen. Ist diese Hülle sehr zart und schwach, so ergibt sich ein sehr typisches „Rickettsiabild“ (Abb. 8 und 10 Tafel III). Aber wir ersehen aus den Abbildungen von *Wolbach*, daß auch in der Laus zuweilen ganz gut ausgebildete Hüllschichten zu sehen sind.

In sehr jungen Kulturen sehe ich häufig *langfädige Bildungen*, wie sie gleichfalls aus der Laus seit den ersten Beobachtungen von *Otto* und *Dietrich*, besonders aber aus den neuen gründlichen Darlegungen der amerikanischen Kommission zum Studium des Fleckfiebers bekannt sind (Abb. 9 Tafel III). Die azurroten, meist in Diploform gelagerten Granula sind oft unregelmäßig paarig auf die sehr langen Fäden verteilt. Sind hier die Granula als die zweifelsfreien Träger der Individualität — denn diese kann sich ja allein auf ihre Existenz

gründen! -- so klein, daß sie, an genauen Zeichnungen ausgemessen, unter 1μ Größe bleiben, so sieht man in den erwähnten degenerierenden Kulturen weit größere Bildungen bis zum Durchmesser eines Pneumokokkus etwa. Solche Formen können auch Kokken weitgehend ähneln. Meist allerdings sind sie unregelmäßiger. Viele sind ganz unebenmäßig geformt, manche bilden Ringformen.

Ich möchte hier nicht näher auf die früher erwähnte Ähnlichkeit mit den Beschreibungen von *Löwe*, *Ritter* und *Baehr* eingehen, weil die ausführliche Arbeit dieser Autoren noch nicht vorliegt (Journ. of the

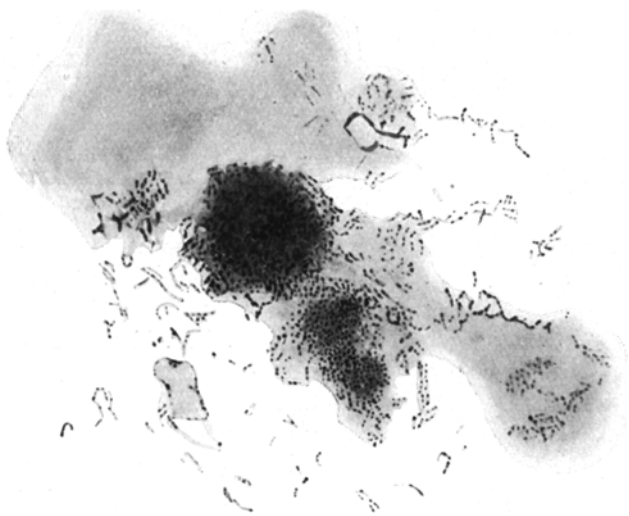


Abb. 3. Teil d. Stammes 4405 Nr. 2. Originalkultur auf 20 proz. Ams-Serumagar. Man beachte den hier überwiegend rickettsiaartigen Habitus der Kultur, darunter nur verhältnismäßig spärlich vertreten Individuen mehr stäbchenartigen Aufbaues. Giemsa. Zeiss Apochr. Imm. 3 mm. Komp.-Ok. 12.

Americ. med. assoc. 77, 1921). Uns selbst sind einige Versuche mit ihrer Technik nicht geglückt. Zu ausgedehnteren Nachprüfungen hatten wir keine Veranlassung, weil einmal die von uns angewandte Methodik der Züchtung infizierter Gewebe uns bereits die Anreicherung im Gewebe selbst in befriedigender Weise gezeigt hatte und weil ferner die Kultur auf festen Nährboden große Vorteile darbietet. Zudem entsprach die anaerobe Methodik nicht unserer Erfahrung, die sich stetig mehr bewährt und ausgebaut hat. Ich möchte mich daher eines Urteiles enthalten.

Während es uns nun nicht zweifelhaft ist, daß auch das lebende Individuum wie der gewöhnliche *Proteus* ein Ektoenzym bildet [vgl. z. B. *Kendall*, *Cheetham* und *Hamilton*. Journ. of infect. dis. 30, 1922¹⁾]

¹⁾ Bereits aus dem Jahre 1903 liegen ausgezeichnete Untersuchungen über unser Gebiet aus dem *Rubnerschen* Institut von *Nawiasky* (Arch. f. Hyg. 64) vor.

muß dennoch als wesentliches Ergebnis unserer zahlreichen einzelnen, darauf gerichteten Untersuchungen verzeichnet werden, daß beim Fleckfiebertivirus diese Erscheinung *besonders stark in die Erscheinung tritt, wenn eine Degeneration und vermutlich autolytische Zersetzung der Keime statthat.*

Es gibt aber auch Kulturen, denen von vornherein dauernd diese Ektoproteolysinproduktion völlig abgeht, andererseits sehen wir öfters, daß Kulturen, die sie durch viele Tochterzuchten hindurch bewährhaben, sie plötzlich verlieren; wie uns scheinen will, wenn sie aus irgendt einem Grunde, z. B. infolge zu seltener Überimpfung, einmal geschädigt sind. Es könnte also sein, daß diese *dann grau wachsenden* (nicht globulinlösenden) Kulturen aus gefestigten, widerstandsfähigen Individuen bestehen. Jedenfalls ist daran festzuhalten, daß wir bisher nur verhältnismäßig selten gesehen haben, daß eine graue Kultur plötzlich gelb wuchs. Aber auch dies kommt, wenn auch sehr viel spärlicher als das Gegenteil, zur Beobachtung. Es wird noch später darauf hingewiesen werden, daß der Aminosäurestoffwechsel für die Proteolysinproduktion von hohem Belang ist, insofern seine optimale Gestaltung eine Voraussetzung einer kräftigen Proteolysinsbildung ist. Diese an Kulturen gesammelte Erfahrung verdient gleichfalls eingehende Berücksichtigung bei der Bewertung der pathomorphologischen Erscheinungen.

Es scheint mir nämlich, als ob gerade die Beziehung der Ektoproteolysine eine sehr bemerkenswerte Aufklärung der pathologischen Beziehungen gestatte. Ich habe in den früheren Arbeiten genau ausgeführt, *daß dort eine starke Wucherung der Rickettsia im Wirtsorganismus stattfindet, wo die besonderen ernährungsphysiologischen Bedingungen sie zu einem Kommensalen der befallenen Zelle machen, während sie dort,*

„Beim Proteus liegt die umfangreichste Verwertung N-haltigen Materials vor, doch muß auch hier dasselbe Argument wie bei Bac. mesentericus Geltung haben: die erste Periode liefert reichlich Spaltprodukte der Albumosen, die späterhin erst mehr und mehr in die flüchtigen Basen übergehen. Auch hierbei wird ein tryptisches Ferment erst die Spaltung der Albumosen einleiten, Pepton- und Rest-N, selbst wertvolle Nahrungsstoffe treten zuerst im Überschuß auf, um dann stufenweise zu zerfallen.“ Wichtig ist ferner, daß schon *Naviasky* zu der Annahme geleitet wurde, daß Proteus zuerst „Albumosen“ und Aminosäuren aus der Nahrung fortnimmt, später erst werden „Peptone“ und „Rest-N“ angegriffen. — Diese kardinalen Tatsachen werden von *Kendall* und seinen Mitarbeitern im wesentlichen bestätigt. Sie treffen auch durchaus für unser Virus zu. Wir verstehen daher, daß einmal dies Virus auf den verschiedensten Eiweißtrümmern, dann auf reinen Proteinlösungen, wie z. B. Caseinsalzen, in anorganischer Lösung leben kann, wobei sich alle möglichen Abbaustufen bis zu den deutlich schon durch Geruch feststellbaren aromatischen Säuren vorfinden. Darüber gibt es bereits Untersuchungen für den Proteusbacillus von *Taylor* (Zeitschr. f. phys. Chemie **36**. 1902). Es ist aber besonders bemerkenswert, daß eine starke Proteasenproduktion in Agarkulturen nur bei Gegenwart verhältnismäßig reichlicher Mengen von Aminosäuren nachzuweisen ist.

wo dies nicht möglich ist, außerordentlich schnell zerstörend wirkt. Es ist vielleicht nicht allein deshalb, weil sie, wie ich früher meinte, „als echter Parasit der Zelle ihren Bestand angreift“; der Vergleich mit dem Wachstum in den Leberendothelien legt jetzt eine andere Vorstellung sehr nahe, die sich uns aus der Kenntnis der Virusphysiologie ergibt. Wir sehen die *Herdbildung* erst einsetzen, wenn das Auftreten der Immunreaktion beim Menschen anzeigt, daß der Körper bereits in vollem Umfange auf das Eindringen des Virus reagiert. Ich selbst sah stets nur im Gebiete der zentralen Nekrose einzelne oder doch spärliche Rickettsien, welche zudem durch Größe und Gestalt damals bereits als *Degenerationsformen* angesprochen wurden, eine Annahme, der unsere neueren kulturellen Erfahrungen durchaus zu Hilfe kommen. Es liegt sehr nahe, in der Verbindung der strukturellen Eigentümlichkeit und dem zeitlichen Moment Anhaltspunkte einer beginnenden Immunleistung des Körpers zu sehen. Sie führt innerhalb der phagozytierenden Zelle zu *Degeneration*, *Autolyse*, *erhöhter Proteolysinproduktion* des Parasiten. Dies würde dann direkte Ursache der Zellstörung, der sekundären Thrombose und der reaktiven Entzündung.

Es ist natürlich heute noch nicht möglich, hier das für die Pathogenese zentrale Problem erschöpfend zu behandeln; aber es scheint mir in den von dem Morphologischen ganz unabhängig erfolgten physiologischen Erfahrungen eine sehr wesentliche Stütze der Vorstellungen gegeben zu sein, die ich früher in einer Reihe histologischer Arbeiten entwickelt habe. Dies weiter auszubauen, wird Aufgabe ausführlicher histologischer Bearbeitung eines zweckmäßig hierauf eingestellten Tiermaterials sein, über die später in diesem Archiv berichtet werden wird.

Es ist wahrscheinlich so, daß ganz bestimmte physiologische Bedingungen erfüllt sein müssen, um die schnelle Degeneration und autolytische Fermentbefreiung in Massen zu verhüten. Unsere Kulturen entsprechen jedenfalls in Gestalt der Ams-Kulturen dieser Anforderung nicht, es mag hiermit zusammenhängen, daß sie *praktisch uninfektiös* sind. Sicher gründet sich aber hierauf auch die ausgezeichnete *vaccinale Eignung gerade dieser Kulturen*.

Wir müssen noch näher die *Formmannigfaltigkeit* ins Auge fassen, welche unsere Kulturen auszeichnet, allerdings nicht als wesentlich unterscheidender Zug gegenüber dem „Läusevirus“, nachdem die Arbeiten *Wolbachs* und seiner Mitarbeiter eine früher vielfach gültige Anschauung erschüttert haben, derzufolge die Physis der Rickettsia als einförmig galt, so daß *Rocha-Lima* im Gegensatz zu uns sogar versucht, eine *Art Diagnose auf Messung* zu gründen!

Wir sehen in unseren verschiedenen Kulturmedien *alle Varianten*, die aus der Laus beschrieben sind, *und einige mehr*. Legt man eine

einzigste, die Diagnostik künstlich einengend, orthodox einer „Lehre“ zugrunde, so kann dies Vorgehen nur im tiefsten Wesen als unexakt bezeichnet werden. Der eigentliche Fortschritt unserer naturwissenschaftlichen Erkenntnis der Lebewesen beruht darauf, daß wir gelernt haben oder gelernt haben sollten, die *Phänotypen* von den *Genotypen* zu scheiden. Die Morphe eines Individuums, namentlich eines so primitiven wie eines Bacteriums, ist nur so lange als konstant zu betrachten, als die Konstanz der biologischen Zustandsgleichung, seiner Lebensbedingungen, gewahrt bleibt. Es ist eine völlig unberechtigte Annahme, diese formale Stabilität werde über die stabilen, ursprünglich dem Beobachter gegenwärtigen Zustände hinaus festgehalten. Wie außerordentlich scharf solche biologisch bedingten Formvarianten ausgeprägt sein können, zeigen jedem Bakteriologen mühelos Nährbödenversuche an wohlbekannten Bakterien, z. B. an Rotz- oder Diphtheriebacillen oder Streptopneumokokken. Diese Unterschiede haben aber in noch viel höherem Maße Geltung, wenn so intime Infektionsverhältnisse wie im Falle des Fleckfiebers vorliegen. Man erinnere sich nur der Formvarianten, die z. B. die mehrfach vergleichend herangezogenen Trypanosomen im kalt- und warmblütigen Wirt unter den verschiedenen Bedingungen aufweisen. Vollends die Bilder der „Rickettsien in der Laus“, wie sie von *Wolbach*, *Tood* und *Palfrey* gegeben werden, müssen eine Illusion zerstören, als entspräche der Idealtypus der streng bipolaren „Rickettsia“ erschöpfend der Wirklichkeit. *Aber über dieser Betonung einer tatsächlichen Mannigfaltigkeit darf nicht vergessen werden, daß — ihre Existenz und ihr Umfang als berechtigt und gegeben hingenommen —* von einem „*Pleomorphismus*“ keine Rede sein kann. (Hierzu vgl. die ausführlichen Darlegungen bei *Hueppe* [1886], Formen der Bakterien, *Migula*, *Richter* u. a.).

Wesentlich ist, daß unter gleichen Bedingungen gleiche Verhaltensweisen innegehalten werden. Dies ist der Ausdruck des Genotypus. Alles andere ist demgegenüber mehr „zufällig“. Mit gutem Grunde hat *Ernst Haeckel* im vierten Kapitel seiner generellen Morphologie an die Worte erinnert, mit denen *Karl Ernst von Baer* sein unvergängliches Werk einleitend kennzeichnet: *Beobachtung und Reflexion*. Es gibt in der Tat keine Morphologie ohne Reflexion, d. h. ohne möglichst erschöpfende gedankliche Verknüpfung der beobachteten Gegenstände unserer Wahrnehmung. Schlüsse auf dem Gebiet der organismischen Wissenschaft erreichen nie den Grad von Evidenz, den wir auf anorganischem Wissenschaftsgebiet fordern. Sie arbeiten mit viel mehr Unbekannten und als Konstanten willkürlich angenommenen Größen. Sie sind daher in besonders hohem Maße dem Regulativ philosophischer Denkart unterworfen. Dies ist auch zugleich die hohe Bedeutung, welche einer Betrachtungsform wie der *Drieschs* zukommt gegenüber

den karikaturistisch zeichnenden Versuchen, Lebensprozesse in die Dimensionen physikalisch-chemischer Gleichungen zu transponieren. *Beides* ist unerläßlich.

Man hat nicht zu Unrecht die Bakterien kleinste Fabriken genannt. Die Anforderungen an sie wechseln, mit ihnen die Leistungen. Als Folge hiervon können wiederum gestaltliche Umstellungen auftreten. Der Vergleich mit einem vielzelligen Wesen als Ganzes ist völlig unmöglich, da dies *niemals* unter so außerordentlich wechselnde Verhältnisse gelangen könnte. Aber man könnte als unzulänglichen Vergleich etwa die Wandlungen einer Leberzelle bei ganz verschiedener Ernährung heranziehen, um die ganz gewaltigen Schwankungen der anatomischen Merkmale unter dem Einfluß des funktionellen Reizlebens zu beleuchten.

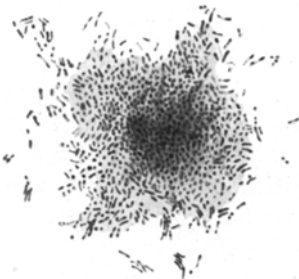


Abb. 4. Fleckfieber-Kultur 4330 in Serum - Ringerlösung. (1 Teil Meer-schweinchenserum, 2 Teile Hammel-serum, 3 Teile Ringerlösung.) Eines der typisch gewachsenen Flöckchen aus Mikroorganismen. Feine rickettsia-artige und diphtheroide Gebilde agglomeriert. An einigen Stellen sieht man fingerförmige Lagerungen. Giemsa. Zeiss Apochr. Imm. 2 mm 1,4. Komp.-Ok. 12.

Bedeutungsvoll scheinen bei unserem Virus *zwei Komponenten der Formbildung* zu sein: 1. *Turgor*; 2. *Speicherung*. Schwankungen im Turgor bewirken schon in der Laus, viel deutlicher und häufiger in den Ams-Kulturen, das Hervortreten einer Hüllschicht, welche die — im Giemsa-Bild — azurroten Granula der kondensierten Rickettsiagestalt meist zugespitzt schwach bläulich gefärbt umgibt. So also kommt das geschilderte Bild einer oder von zwei rötlichen Kugeln mit einer ein- oder beidseitig spindlig verjüngten Hüllschicht zustande. Es ist um so deutlicher, je schneller der Teilungsrythmus ist.

Daher wird diese Form auch wahrscheinlich mit der Teilung und ihren Erscheinungen zusammenhängen.

Den zweiten umgestaltenden Faktor hat man in den verschiedenen Möglichkeiten des *Thesaurierungsstoffwechsels* zu suchen, um uns dieses glücklichen Ausdruckes *Oppenheimers* zu bedienen.

So gibt es von der Grundform der Ams-Kultur zwei Entwicklungsmöglichkeiten. Die erste vollzieht sich *im Körper, in Serumringerlösungen und in der Plasmakultur*. Hier rudimentiert sich alles. Sichtbar bleibt nur das zentrale Kügelchen, bei gehäufte Vermehrung meist in Diploform oder in kettenartigen Verbänden gelagert. Auch hierbei sieht man nicht unerhebliche Größenunterschiede, wenn auch selbst die größten Individuen unter einem Durchmesser von $1\ \mu$ bleiben. Aber sieht man sehr genau zu, so erscheinen neben der großen Mehrheit der einigermaßen gleich großen Körnelungen außerordentlich zarte. Der Gesamthabitus ist aber ganz der feine, der in virushaltigen Läuse-

darmzellen wachgerufen wird. Auch die Tönung dieser stets geballt wachsenden Virusmassen ist ganz die gleiche wie dort. Wir verwenden zu Serumkulturen meist Serumringergemische zu gleichen Teilen. Als Serum dient uns meist Pferde- oder Hammelserum, dem wir häufig etwa 10% der Gesamtmenge Meerschweinchenserum zusetzen. Diese Serumlösungen werden wie alle anderen flüssigen Nährmedien in ganz dünner Schicht verwendet (höchstens 1 cm Höhe). Wir benutzen kleine Kolben besonderer Herstellung mit besonders breiter Bodenfläche, so daß die einzelnen Kolben 4—10 ccm Inhalt fassen. Diese Anordnung machte sehr breite Versuche möglich.

Die zentralen Granula, welche höchstwahrscheinlich nucleinartigen Aufbau besitzen (hierauf gehe ich in anderem Zusammenhang ein), sind also der Zellbestandteil, welcher am zähesten festgehalten wird.



Abb. 5. Fleckfieber-Stamm 4330 auf Traubenzucker-agar P₁. Man beachte die starke Quellung und Vergrößerung im Vergleich mit dem Bilde 4.



Abb. 6. Der gleiche Stamm auf Ams-Agar.

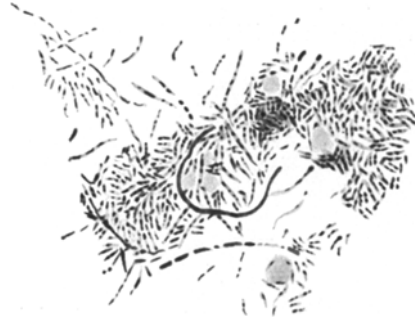


Abb. 7. Fleckfieber-Stamm 4412. Originalkultur auf Ams-Serumagar. Man beachte die nicht häufige Polymorphie in der Anzucht! Zeiss Ap. 3 mm. Komp.-Ok. 12.

Sie sind der *Kern*- bzw. Kondensationspunkt der gesamten möglichen Organisation. Dennoch wird es untunlich sein, sie etwa dem Nucleus der gewöhnlichen Zellenlehre zu homologisieren.

Unter bestimmten physiologischen Bedingungen vergrößern sie sich, so daß scheibenartige oder stäbchenförmige längs-, schräg- oder aber vorwiegend quergestellte Bildungen zustande kommen. Dies sieht man z. B. auf zuckerhaltigen Nährböden, wobei zugleich durch wesentliche Erhöhung des Zellurgors die Hüllenbildung mächtig zunimmt. Dieser Prozeß kann weitergehen und die strenge Differenzierung zwischen einer plasmatischen Schicht und den azurfärbbaren Innkörpern aufheben. Solches sieht man in Barsiekownährböden und auf den Traubenzuckerpassagen als die Regel. Alle diese Veränderungen sind aber vollkommen umkehrbar, wenn man auf Ams-Böden zurückkehrt.

Auf Serumnährböden erscheinen nicht selten unmittelbar neben azurfärbbaren, fast streng rickettsiaartigen Häufchen bakterienähnliche

Formen, ganz wie sie von Wolbach, Tood und Palfrey in der Laus abgebildet sind. Auch sie zeigen noch die zentralen Granula, aber die Hüllschicht ist, vermutlich durch *Einlagerung*, färbbar geworden. In den blauvioletten Hüllen, die jetzt ganz den Eindruck von *Stäbchen* vermitteln, sieht man noch deutlich die azurroten Granula. Zuweilen wachsen diese Gebilde *fädig* aus, wodurch eigenartig wirbelige Figuren erzeugt werden. Bleiben sie kurz stäbchenartig, *so lagern sie sich sehr häufig ganz charakteristisch pallisaden- und fingerförmig*, ganz so, wie es der *Diphtheriebacillus* tut. Es sei hier gleich bemerkt, daß wir die gleiche Erscheinung auch beim *Proteus X 19* finden, wenn er konsequent auf dem gleichen Nährboden gezogen wird. Auf die dabei bestehenden Unterschiede gehe ich erst später ein.

Viel schärfer noch als in Serum-Ringerlösungen paßt sich das Ams-Virus in unmittelbarster gestaltlicher Reaktion dem Infektionshabitus



Abb. 8. Fleckfieber-Stamm 3699
3. Passage auf Meerschweinchen-Hammelserum-Ringerlösung. Rickettsiaformen. Vereinzelte Quellformen.

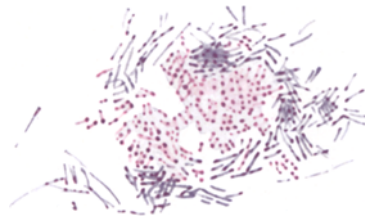


Abb. 9. Der gleiche Stamm *P.*. Typisches Nebeneinander ganz lichtazurophiler „Rickettsien“ und mehr bläulich-violetter granulierter „Stäbchen“, ganz entsprechend dem Verhalten in der Laus. Man beachte die Lagerung ähnlich der typischer Diphtheriebacillen! Zeiss Apochr. Imm. 2 mm 1,4. Komp.-Ok. 12.

aus Laus und Mensch in der Plasmakultur (Menschen- bzw. Kaninchenplasma) an. Ich möchte behaupten, daß es unmöglich ist, eine ganz späte Ams-Agarpassage, nachdem sie zwei Tage in dem Plasma eines nichtimmunisierten Menschen oder Kaninchens gewachsen ist, von dem Läusevirus zu unterscheiden. Jede Hülle ist verschwunden, nur dichtgeballte feinste granuläre Formen bieten sich in Haufen gelagert dem Beobachter. Am Rande erscheinen feinste Diphtheroide.

Schon in Serumkulturen kann man selten daneben noch gröbere Formen sehen, welche aber immer noch an die zuletzt beschriebenen sich nahe genug anschließen. Sie treten in bestimmten Caseinlösungen zuweilen auf und haben sich in einigen Fällen isolieren lassen. Es ergaben sich hierbei Stämme, welche den *X*-Stämmen von Weil-Felix ganz außerordentlich nahestehen und als Abspaltungen solcher aus dem Virus angesehen werden müssen.

Schon auf den Ams-Kulturen sieht man, wie eingangs erwähnt ist, besonders auf früheren Kulturstadien fadenartige Formen wie aus aneinandergereihten Rickettsien. Sie entsprechen den Bildern aus der

Laus. Auf *Peptonlösungen* verhüllt das Virus ganz seine Grundstruktur. Hier herrschen färberisch nicht differenzierbare Fäden und Schläuche vor. Die Sonderung im Zelleib ist verschwunden.

Aus diesen hier kurz entworfenen formalen Modifikationen unter dem Einfluß bestimmt gerichteter Ernährung ergibt sich für unsere Organismen gegenüber anderen Bakterien, wie etwa den Typhus-Coliarten, eine große Abhängigkeit von ihrem nutritiven Stoffwechsel, und man kommt schon auf Grund dieser Erfahrungen mit großer Wahrscheinlichkeit zu dem Schlusse, daß sowohl die Virusentstehung aus de facto nicht infektiösen Formen, ebenso wie die Abspaltung völlig abgeänderter und alles, was dazwischen liegt, ein *Problem der bakteriellen Ernährung und des bakteriellen Stoffwechsels* ist.

Ich darf hier an die Schilderung erinnern, die ich 1918 von dem *Proteus X 19* in der Kleiderlaus gegeben habe. Bei dieser Gelegenheit habe ich an diesen Bakterien zunächst auf Blutagar die Sonderung roter ring- und bandartiger Gebilde von einer blauen plasmatischen Substanz beschrieben. Also unter dem Einfluß eines dem Fleckfiebernährboden grob ähnelnden Mediums vollzog sich eine zwar unvollkommene, aber doch dem Ausbildungsgrad der *Rickettsia* sich nähernde Umstellung der vorher „typischen“ *Proteus*struktur. Sie war vielleicht noch deutlicher bei jenen *Proteus*formen, die ich experimentell der Laus einverleibt hatte.

Wenn wir uns jetzt fragen, was wir bisher erreicht haben, so wäre dies etwa derart zusammenzufassen: Wir haben aus dem Gehirn fleckfieberkranker Meer-schweinchen verschiedener Herleitung Kulturen von hohen Ansprüchen an die Nährsubstrate gewonnen, welche als *Rickettsienkulturen* anzusprechen sind. Sie weisen gestaltlich wohl charakterisierbare Reaktionen auf verschiedene Ernährungstypen auf. Unter bestimmten Bedingungen nehmen sie ganz den Habitus des Läusevirus des Fleckfiebers an. Auf welchen Nährböden wachsen diese Parasiten überhaupt? Lassen sie sich klassifikatorisch näher abgrenzen und bestimmen? Wodurch läßt sich ihre angenommene „Erregernatur“ näher ergründen? Diesen Fragen müssen wir uns jetzt zuwenden.

Zunächst will ich nur unter Hinweis auf meine eigenen und die zahlreichen fremden Untersuchungen, welche einer strengen Kritik



Abb. 10. Teil d. Stammes 3699 in Albumose-Pepton, Kolben streng aërob (1 cm Schichthöhe) gezüchtet. Typisch strukturarme Fäden.



Abb. 11. Der gleiche Stamm in 2 % Kal-seinnatriumlösung (mit Sachs'scher Lösung angesetzt). Wirtelartige Lagerung meist bipolar zugesp. hastiliförmig. Stäbchen. Giemsa. Zeiss Apochr. Imm. 3 mm. Komp.-Ok. 12.

ihrer jeweils gegebenen Bewertung standhalten, die Tatsache verzeichnen, daß die meisten anderen Zuchtmethoden praktisch versagt haben. Eine ganz andere Frage ist, ob sich die Massenkulturen, als welche sich unsere Ams-Kulturen darstellen, nun auf andere Nährböden erfolgreich verpflanzen lassen. Für Serumlösungen ist dies bereits bejaht

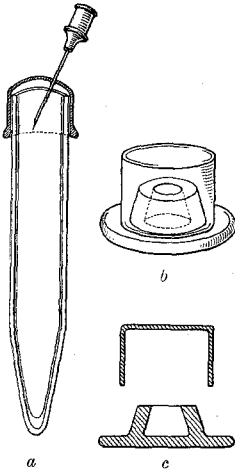


Abb. 12. a Zentrifugenröhrchen gebräuchsfertig für die Aufnahme des Blutes zur Plasmagewinnung. Der Innenraum ist völlig mit Paraffin ausgekleidet; in der Verschlusskappe steckt eine Kanüle. Zur Beschickung wird die Kanüle der mit Blut gefüllten Entnahmespritze gleichfalls durch die Kappe gestoßen. Zum Ausschleudern werden beide Kappen entfernt. Für Meeresschweinchenplasma kann man vorteilhaft breitere abgerundete Gläser in gleicher Technik verwenden. $\frac{1}{3}$. b = „Plamakammer“ $\frac{1}{3}$ natürliche Größe. c = Durchschnitt. Für Gewebeskulturen gelangen auch größere Modelle zur Verwendung. Nach Beschickung wird die Kammer mit Paraffin luftdicht verschlossen.

worden. Man kann auch zeitweilig aus den Ams-Böden das Serum fortlassen und nur auf diesen tief abgebauten Eiweißbruchstücken züchten. Aber viele Stämme sind, wie bereits angedeutet wurde, sehr empfindlich, so daß sie nicht einmal die Unterdrückung des Levinthalprinzipes längere Zeit schadlos ertragen.

In der Tat ist es mir bisher nicht gelungen, auch nur in vereinzelt Fällen auf solchen festen oder flüssigen Medien eine *Anzucht* zu erreichen.

Diese gelingt bekanntlich in *Plasmakulturen*, und man kann auch jederzeit das Virus wieder in nativem Plasma zum Wachstum bringen, indem man es nach der *Freundschen* Methodik gewinnt und in den von mir öfter erwähnten Plasmakammern in dünner Schicht erstarren läßt. Dabei kann recht schnell durch das Wachstum eine Verflüssigung des Fibrinnetzes stattfinden (innen 1—4 mal 24 Stunden). In der Ankultur tritt sie dagegen nicht in die Erscheinung, weil hier, wie beschrieben, sich das Viruswachstum in Gestalt einzelner Kolonien *innerhalb* des explantierten Gewebstückes abspielt.

Im Hinblick auf die späteren Erörterungen über die Eigenschaften des Immunsersums bzw. Immunplasmas will ich hier ganz kurz unsere Technik erwähnen unter Hinweis auf die vorzügliche Darstellung des Gebietes bei *Rh. Erdmann* (1922, Praktikum der Gewebepflege) und meine früheren Ausführungen (*Kuczynski und Wolff, Streptokokkenstudien IV. 1921*). Die zugespitzten Zentrifugenröhrchen werden mit einer hinreichenden Menge harten Paraffins versehen und mit einer Paragummikappe verschlossen. Durch diese steckt man eine mittelstarke Kanüle (Rekord 12—15). Dann werden die Röhren so 1 Stunde bei 100° sterilisiert. Hernach werden sie

nach Entfernung der Kanüle in üblicher Weise durch Drehen mit einer gleichmäßigen Paraffinschicht ausgekleidet. Zur Beschickung mit Blut wird zunächst nach Abreiben der Kappe mit Alkohol wieder eine Kanüle durch die Kappe gestoßen und das Blut aus der Vene oder dem Herz des Versuchstieres mittels dicker Kanüle in eine gut mit Paraffinum liquidum benetzte Spritze aufgezogen und sofort in das paraffinierte Zentrifugenrohr gespritzt. Dabei bildet

dann das überschüssige flüssige Paraffin einen Spiegel über dem Blut, welches nach guter Eiskühlung etwa 3 Minuten, evtl. mit Unterbrechungen, scharf ausgeschleudert wird. Bei der Verarbeitung von Meerschweinchenblut empfiehlt es sich dringend, die meist geübte Verdünnung mit Ringerlösung usw. bereits bei der Entnahme des Blutes vorzunehmen, weil dadurch die hier besonders leichte Gerinnbarkeit herabgesetzt wird. Die Konstruktion unserer Zuchtgefäße geht aus der Skizze deutlich hervor. Je nach ihrer Bestimmung verwenden wir verschiedene Größen, die wir von Müller-Ilmenau beziehen. Sie haben sich bei zahlreichen Arbeiten sehr bewährt. (Vgl. die Untersuchungen von *Mitsuda*, *Akamatsu*, *Nasu*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.)

Auf dem *gewöhnlichen Nähragar* wächst das Virus zumeist *nicht*, selbst wenn man für optimale Zusammensetzung, beurteilt nach dem Verhalten der üblichen pathogenen Bakterien, Sorge trägt. Auch *Blutzusatz* ändert hieran in der Regel nichts. Nur selten kommt es nach meist mehr als einem Tage zu einem sehr beschränkten Wachstum und nur, wenn man sehr beträchtliche Aussaaten verwendet.

Unter zahlreichen gezüchteten Stämmen haben sich nur ganz wenige, bei strenger Prüfung nur 2, etwas weniger empfindlich gezeigt, indem diese auch vorübergehend wenigstens auf unserem hochwertigen „Standardnährboden 1“ zum Wachstum zu bringen waren. Jedenfalls bestehen die größten Schwierigkeiten, sobald als man eine zweite oder gar dritte Subkultur auf diesen Substraten anzulegen versucht. Man soll also sein Urteil über die Eignung eines gewählten Substrates — wie üblich — sub specie dauernder Bewährung abgeben. In diesem Sinne soll unser einschränkendes Urteil vorzüglich auch Gültigkeit beanspruchen.

Auf Löfflerserum gelingt es im allgemeinen *nicht*, ein Wachstum zu erzielen. In den meisten Fällen bleibt die Platte sogar gänzlich steril, und selbst sehr große Aussaaten führen höchstens zu einer lokalen Verflüssigung geringen Grades. *Kulturextrakte*, von denen später noch ausführlich die Rede sein wird, vermögen jedoch, tiefe Dellen in Löfflerplatten hervorzurufen, so daß man auf diese Weise die Wirksamkeit und damit auch den Gehalt gewisser Kulturen an Proteasen *messen* kann.

Es ist bemerkenswert, daß es sehr wohl gelingt, eine Kultur des Virus aus dem Körper dagegen zu erhalten, wenn man in unserer Zusammensetzung den Aminosäuregehalt auf den 5. Teil herabsetzt (sog. 20%-Ams-Agar). Hierauf wuchsen allerdings die Kulturen *grau* und, ältere Stämme auf diesen Boden verpflanzt, zeigten eine wesentlich verringerte Proteolysinproduktion. Diese hängt also mit einer gewissen optimalen Aminosäurekonzentration zusammen, so daß man annehmen kann, daß der Amidstoffwechsel zu der Fermentproduktion erforderlich ist. Auf diesen 20%-Böden wachsen die Stämme im allgemeinen dürrig, so daß wir von ihnen abgekommen sind, obwohl wir große Hoffnung auf sie setzten, nachdem es so aussah, als ob diese Ernährung die Virulenz besonders gut erhalte.

Der *Conradi-Drigalski-Nährboden* versagt auch unter so günstigen Umständen häufig. In einem geringen Teil der Fälle glückt jedoch die Überführung. Allerdings verwenden wir Nährböden eigener Herstellung (in Gemeinschaft mit *Ferner*), die wesentlich günstigere Wachstumsverhältnisse für Bakterien darstellen als die üblichen Laboratoriums- bzw. Fabrikpräparate (vgl. hierzu *Kuczynski* und *Ferner*, Praxis der Bakteriennährböden I u. II Klin. Wochenschr. 1923). Zudem erscheint es zumindestens zweckmäßig, eine *Vorkultur* auf Barsiekow-nährböden anzulegen.

Überhaupt brachte die Verimpfung unserer Kulturen auf die sog. „bunten Reihen“, also zuckerhaltige Nährböden mit Molke und Caseinlösung angesetzt, einen wesentlichen Fortschritt in unserer Erkenntnis



Abb. 13. Teil d. Stammes 3699. *P.* auf Traubenzuckeragar. Gramfärbung. Man beachte die leichtgekrümmte Form d. meisten Bakt.



Abb. 14. Bac. OX 19 Standardagar. Giemsa-färb. Zeiß Ap. Imm. 3 mm. K.—O. 12.



Abb. 15. Bac. OX 19 Ams-Serumagar *P.*. Giemsa-färbung. Optik wie bei Abb. 26.

ihres Wesens. Die verschiedenen zuckerhaltigen Nährböden, mit Agar gesteift, und in hoher Schicht in Reagensgläser gebracht, zeigen kein merkliches Wachstum, also auch keinerlei Gasbildung. Im flüssigen Zustand gelingt es dagegen, auf ihnen die meisten Virusstämme zu einem diffus trübenden Wachstum zu bringen, wobei in den Röhren mit Trauben- und Malzzucker eine deutliche Rötung und Trübung statthat. Die Röhren mit Lactose und Mannit sind zwar durch schwaches diffuses Wachstum getrübt, aber es ist keine Säuerung eingetreten. Auch Lammusmolke wird ohne Farbänderung diffus getrübt.

Die *Formveränderungen* auf Zuckernährböden wurden bereits gestreift. Während das *Gramverhalten* der Ams- sowie der Serum- und Plasmakulturen *ein streng negatives ist*, sehen wir hier neben gramnegativen auch gramschwankende, zuweilen sogar positive meist kurze und etwas gekrümmte Stäbchen auftreten. (Es ist auf jedem einzelnen Objektträger zugleich eine Negativ- und eine Positivkontrolle!) In den Grenzfällen zwischen positiver und negativer Reaktion färbt sich vor allem jeweils der *granuläre Bestandteil* violett, während die Hülle farblos bleibt.

Eisenberg hat soeben (*Kraus-Uhlenhuth* Bd. I, 1922) eine kritische und ausführliche Übersicht über die Problematik der *Gramfärbung* ge-

geben. Es ist hier nicht der Ort, ausführlicher darauf einzugehen. Jedenfalls zeigt das Fleckfiebertivirus in recht bemerkenswerter Weise, wie sehr die färberischen Qualitäten von den biologischen Faktoren, also auch der Ernährung, abhängen. Ebenso wie in der Laus und in den tierischen Geweben ist das Virus streng *gramnegativ*, wenn es in tierischen Flüssigkeiten, in gelatiniertem Plasma oder auf unseren Ams-Gemischen gezogen wird. Hier entfärbt es sich fast augenblicklich unter der Einwirkung des Alkohols. Nur auf den mit 1—2% eines vergärbaren Zuckers (Traubenzucker, Maltose) versetzten Nährböden werden manche Individuen resistenter in der gekennzeichneten Art.

Allerdings hat auch die Richtigkeit dieser Feststellung ihre Grenzen in unseren — leider — noch recht unvollkommenen Kenntnissen der Zustandsformen in Laus und Mensch. Ich habe selbst proteusartige Fäden in menschlichen Gefäßwandzellen der Leber beschrieben. *Wolbach*, *Tood* und *Palfrey* bilden in den Läusedarmzellen ganz grobe fädige Formen ab. Über ihre genauen färberischen Eigenschaften besitzen wir noch keine hinreichende Kenntnis. Der für die *Gesamtheit* nötige Gebrauch der GiemsaLösung könnte sehr wohl die Schwankungen im Gramverhalten seitens eines Teiles der Individuen völlig unauffindbar gemacht haben.

Von den Barsiekownährböden aus erreicht man, wie gesagt, auch leichter, wenn auch nicht immer, ein Wachstum auf Drigalskiplatten sowie auf zuckerhaltigem Standardnährboden, schließlich auch, wenn auch nur selten und nicht immer von längerer Dauer, ein solches auf reinem Standardagar. Seine Zusammensetzung wird a. a. O. von *Ferner* und mir (Klin. Wochenschr. 1923) veröffentlicht. Meist rissen jedoch diese Fortführungen schon bei der dritten Passage ab. Das Wachstum ist im positiven Falle grau und etwas schleimig.

Auch diese Formen sind, soweit wir bisher sehen konnten, *durchweg unbeweglich*.

Weil und *Felix* haben 1920 in zwei grundlegenden Untersuchungen nachgewiesen, daß das Meerschweinchenpassagevirus im Kaninchen einen konstanten *Agglutinationstiter gegen Proteus X 19* hervorruft. (Verwendung fanden die älteren von mir gezüchteten Stämme, die auch diesen vorliegenden Untersuchungen größtenteils als Material gedient haben.) Inzwischen sind insbesondere durch zahlreiche Arbeiten von *Friedberger* und seinen Mitarbeitern, von *Schiff* u. a. die Verhältnisse des Fleckfieberkrankenserums und der X-19-Sera weitgehend aufgeklärt worden. Ihr wesentliches Ergebnis wird dahin zusammengefaßt, daß Fleckfieber-Patientenserum nicht nur dem OX-19-Kaninchen-Immunserum, sondern auch in allen Punkten dem *Fleckfiebertivirus*-Kaninchenserum entspricht (vgl. *Schiff* u. *Nathorff*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 30, 1920, und zuletzt *Friedberger*, *Zorn*,

Meissner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 34, 1921). Wir haben hier keine Veranlassung, auf die gewundenen „Erklärungsversuche“ der verschiedenen Autoren einzugehen, die sich serologisch mit dem Fleckfieberproblem beschäftigt haben. Ich kann auf die großen Berichte von *Slocisti* und *Wolff* (*Weichardts* Ergebnisse 1920/22, Bd. IV und V) verweisen.

Ich selbst habe früher (1918) die Stäbchen- und Fadenformen in der Laus, die zuerst von *Otto* und *Dietrich* (Deutsch. med. Wochenschr. 1917) beschrieben wurden, als in den Formenkreis des *Proteus* gehörig angesehen. Ich ging dabei von der falschen Annahme eines sehr einheitlichen Typus der *Rickettsia* in der Laus aus. Auf Grund unserer augenblicklichen Kenntnisse ist allerdings auch diese Vorstellung gar nicht so unsinnig, denn wir sehen immer mehr, daß die sog. *Rickettsia* nur eine bestimmte Form des Virus ist, selbst innerhalb der Läusezelle! (*Wolbach* usw.) Leider ist aber die folgerichtige Prüfung meiner Hypothese unterblieben, die Untersuchung nämlich, ob die bacillären Formen aus der Fleckfieberlaus in den Kreis des *Proteus* gehören.

Schon damals kam ich denn zu dem Schlusse: „Natürlich ist es heute nicht möglich, sich eine Vorstellung davon zu machen, welchen Anteil der X 19 an dem klinischen Bilde des Fleckfiebers nimmt. Nur Experimente mit Reinkulturen von *Rickettsien* (in der Laus oder im Reagensglas) könnten darüber endgültige Klarheit bringen.“

Wir sind jetzt im Besitze solcher Kulturen. Dadurch hat eine große Zahl spitzfindiger Arbeiten nur mehr historischen Wert. Wäre die gleiche Mühe und Sorgfalt, die man auf den Indizienbeweis verwendet hat, auf das Studium der *Biologie* des Erregers konzentriert worden, so hätten wir wohl schneller die vornehmste Aufgabe unserer Wissenschaft: Hilfe zu leisten — erfüllen können.

Da das stets proteusfreie Gehirn des fleckfieberkranken Meerschweinchens einen „*Proteus* X 19“-Titer im Kaninchen weckt, so mußte angenommen werden, daß das Virus selbst im Sinne der *Weil-Friedbergerschen* Auffassung Ursache der agglutinatorischen Reaktion ist. Es war für mich selbst seit langem wahrscheinlich, daß die sog. O-Form des X 19 und die *Rickettsia* nahe verwandt wären. Aber, wie ich dies in gelegentlichen Gesprächen mit *Slocisti* und *Felix* sowie mit *Friedberger* betonte: leider fehlten bisher die direkten Beweise völlig. Leider hat auch *Friedberger* dieses wichtige Teilproblem völlig vernachlässigt, sodaß seine ganze Arbeit am Fleckfieberproblem auf einen Indizienbeweis für den X 19 hinausläuft.

Im Gegensatz zu den stillen und offenen Verfechtern der Erregernatur des *Proteus* konnte ich auf Grund meiner eigenen Untersuchungen nicht den mindesten Zweifel an der *Spezifität* der „*Rickettsia*“ für das Fleckfieber hegen. Auch *Wolbach* und seine Mitarbeiter kommen auf

Grund ihrer sehr sorgsamten Studien zu dem Schlusse, daß das Fleckfiervirus und *Rickettsia Prowazeki* untrennbar miteinander verbunden sind.

Wie verhält sich danach das von uns gezüchtete Virus zum *Proteus-X-19*?

	Gelatine	Serum-globuline	Indol	Lackmusk-molke	Barsiekow				Phenol	Tellurit-Selenit
					Trauben-zucker	Milch-zucker	Maltose	Man-nit		
Pr. <i>Rickettsia</i> Pr.	verflüss.	gelöst	(+)	blauviol.	stark ger.	unverändert	stark gerötet		fest	red.
Pr.-X-2	"	"	+	"	schwach "	"	dto. + geronnen	unver-ändert	"	"
Pr.-X-19	"	"	+	"	"	"	" + "	"	"	"

T.-e.-Stämme [Pr. Rickettsia] aus Barsiekow von 1 proz. Traubenzucker-Agar aus agglutiniert mit OX-19-Serum-Titer 1:3000.

	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560		1:1000	1:3000	NaCl
Stamm 3699...	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	OX 19	+++	+	—
Stamm 3790...	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±				—

Ein unmittelbarer Vergleich zwischen dem Verhalten der verschiedensten Fleckfieberstämme und dem *Proteus X* zeigte sofort eine überraschende Ähnlichkeit. Diese wurde dadurch erweitert, daß die Fleckfieberstämme die Gelatine — wie zu erwarten war — ganz so wie der *Proteus X* zu lösen imstande sind, wenn die Gelatine mit unserer Ams-Basis angesetzt wird. Es entsteht 48—72 Stunden nach einfacher Stichbeimpfung ein kleiner konischer Verflüssigungstrichter. Das Wachstum ist sehr begrenzt, da ja die Temperatur höchstens 22° beträgt; aber wir wissen ja, daß weniger das Wachstum als die Zerstörung der Zellen die diffusiblen Proteolysine freimacht. Demgemäß ist es auch ohne weiteres möglich, diese lösenden Fermente zu extrahieren, wie wir später bei der Besprechung der Immunphänomene sehen werden.

Weiterhin zeigte sich in voller Übereinstimmung mit dem *Proteus X*, daß es nur sehr langsam gelingt, durch Phenol das Virus zu töten, wenn man die Aufschwemmung der Kulturen auf einen Gehalt von 0,5% bringt. Erst am Ende des dritten Tages konnten wir eine sichere Abtötung feststellen.

Indolbildung zeigen lediglich die abgespaltenen Stämme, von denen bereits kurz die Rede war. Die originalen Virusstämme geben dagegen weder eine Indol- noch Indolessigsäurereaktion, was mit ihrem parasitären Stoffwechsel ebenso zusammenhängen mag, wie mit ihrem geringen Wachstum auf zuckerfreien Medien passender Zusammensetzung. (Reine Peptonlösungen usw.) (Vgl. Frieber, Zeitschr. f. Bakteriologie. Orig. 87, 1921.)

Sowohl Natriumselenit wie Tellurit wird von den Viruskulturen reduziert. (Ansatz: Ams-Agar + Serum 2:1 + 1 Tropfen einer 2-proz.-

Lösung des Salzes, Schrägagar.) Im Falle des Selenits sind bereits nach 24 Stunden die Kulturen selbst purpurrot. Auf dem Telluritboden war das Wachstum viel schwächer. Demgemäß war nach 24 Stunden nur das Kondenswasser geschwärzt. Auch hier bestehen nur *quantitative Unterschiede* gegenüber dem Verhalten des X 19.

Wir haben also aus dem bakteriell sterilen (mit den gewöhnlichen Methoden!) Meerschweinchenhirn nach Infektion mit sicherem Passage-fleckfieber in mehr als der Hälfte der Fälle unter ganz bestimmten Bedingungen Kulturen gezogen, die unzweifelhaft „Rickettsien“ darstellen. Diese Kulturen verhalten sich in ihren physiologischen Leistungen ganz ähnlich den originalen X-19-Stämmen von Weil und Felix.

Fleckfieber-Virus-Stamm 3699, Passage 49.

Eingesät in	Gramverhalten	Rückimpfung auf Ams-Agar Wachstum nach 24 Std.
Barsiekow-Maltose	zweifelhaft	grau, ohne Proteolyse
Barsiekow-Mannit	negativ	gelb, mit <i>Proteolyse!</i>
Barsiekow-Dextrose	zweifelhaft	grau, ohne Proteolyse

Wachstumsprüfung auf Standardnährboden ergibt kein Wachstum. Wachstum auf Standardnährboden mit 1% Zuckerzusatz ergibt grauschleimiges Wachstum, welches in der dritten Passage abreißt.

Davon Agglutinationsprüfung gegen OX-19-Serum, Titer 1:3000.

Nach 2 Stunden:

Stamm	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	Serum + OX-19-Stamm
a	++	++	++	+/++	+	+	+	+	++++; Normalserum + Stamm
b	+++	++	++	+/++	+/++	+	+	+	—
c	+++	+++	++	++	+	+	+	+	Kochsalz + Stamm
d	+++	+++	++	++	+/++	+/++	+	+	—

Nach 24 Stunden:

a	++++	++++	++++	++++	+++	++	++	++	—
b	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	Kontrollen w. oben
c	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	—
d	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	—

Wachstum auf solchen Nährmedien, welche *unvergärbare* Zucker (z. B. Mannit) enthalten, lassen also die Proteolysinproduktion bei unmittelbarer Überpflanzung auf unseren Fleckfiebernährboden *unverändert*, während angreifbare Zucker sie zunächst stark einschränken bzw. verhindern. Dementsprechend ist wieder das Wachstum das eine Mal *gelb*, das andere Mal *grau*.

Ihr agglutinatorisches Verhalten löst das Rätsel ihres Wesens. Die ursprünglichen Ams-Kulturen sind ebenso wie die Serumkulturen völlig ungeeignet zum Studium, weil sich ihre klumpige Wuchsform

durch keines der in der Literatur bekanntgegebenen Mittel aufheben ließ, so daß die starke und auf jedweden Serumzusatz noch verstärkte spontane Klumpung keinerlei Schlüsse zu ziehen gestattet.

Unsere ersten Erfolge erhielten wir, als wir zu den Barsiekownährböden entsprechende Zusätze von OX-19-Serum machten. Bereits hier zeigte sich *Agglutination bis zur Titergrenze des angewandten Serums*. Sie war nach 2 Stunden ganz schwach und nur in den stärksten Konzentrationen ausgesprochen (1 : 60—1 : 120 ++). Nach 24 Stunden dagegen war bis zur Titergrenze des Serums die diffuse Trübung beseitigt, und es hatte sich unter völliger Klärung der darüberstehenden Flüssigkeit ein flockiger Bodensatz gebildet¹⁾.

Die weiteren Versuche zeigten, daß es gelingt, agglutinable Stämme zu erhalten, wenn man von den Barsiekownährböden (flüssig) auf festen 1proz. Traubenzuckeragar (Standard, nicht Ams!) geht. Auch hier ist die agglutinatorische Ausflockung (die Bildung der sichtbaren Micellarverbände) nach 2 Stunden nur unvollkommen, derart, daß Agglutinationen zwischen 1 : 80 und 1 : 320 ++ verzeichnet werden. Am nächsten Morgen ist sie jedoch wiederum vollständig. Prüfung zahlreicher Kontrollsera aller möglichen Tiere zeigte uns die Spezifität dieses Flockungsvorganges. Spontane Flockungen wurden ganz sorgfältig ausgeschlossen.

Der Typ der Flockung ist der reine, jetzt allgemein bekannte feinkörnige O-Typ nach Weil und Felix.

In guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Weltmann* und *Seufferheld* (Wien. klin. Wochenschr. 1918) und *Schiff* (Münch. med. Wochenschr. 1919) für den Proteus X 19 fanden wir wiederholt, daß unsere Fleckfieberstämmen vom *Standardnährboden ohne Zucker schwer oder überhaupt nicht agglutinabel* waren. Zum Zwecke der Agglutination führen wir sie daher fort bzw. züchten sie von den flüssigen Ausgangsmaterialien aus auf Standardnährboden mit 1proz. Traubenzucker.

¹⁾ Wenn neuerdings *Otto* und *Chou* (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1922) eine gleicherweise späte Ablesung anempfehlen, so darf hierzu bemerkt werden, daß wir sie bereits seit langem üben, nicht allein, weil sie sich aus der unmittelbaren Erfahrung der Arbeiten am Fleckfieber mit Notwendigkeit ergibt, sondern da *Weil* und *Felix* darauf bereits bei der Abgabe ihrer Stämme nachdrücklich aufmerksam gemacht hatten. Auf die anderen Angaben dieser Arbeit vermag ich nicht einzugehen, weil ich weder zweigipflige Agglutinationskurven als eine regelmäßige Erscheinung bei fleckfieberkranken Organismen zu beobachten imstande war (wenn die gewöhnliche einmalige Virusinverleibung gewahrt bleibt!) noch einzusehen vermag, was die X-Agglutination mit dem von *Berger* beschriebenen Phänomen zu tun hat, es sei denn, man könne diese Verhältnisse zu einer allgemeinen Theorie der agglutinatorischen Reaktionen ausgestalten, eine Möglichkeit, für die jedenfalls im Augenblick noch alle Unterlagen fehlen. Eine spätere serologische Arbeit wird hierzu ausführlicher Stellung nehmen.

Es wurde erwähnt, daß wir mehrfach aus unseren Kulturen die Abspaltung solcher vom vollendeten X-Typus sahen. Über sie wird in einer besonderen Arbeit ausführlich berichtet werden. Ein Stamm, den *Moll* im Laboratorium von *Eichholz* aus unseren Kulturen isoliert hat, diente zu zahlreichen serologischen Untersuchungen, weil auf ihn die Patientensera noch *feiner reagierten* als auf die üblichen X-19-Stämme. Er wird bei uns als „*Stamm Moll*“ geführt.

Demgemäß agglutiniert das Kaninchenkrankenserum die agglutinablen Fleckfieberstämme sowie den Stamm *Moll* und seinesgleichen annähernd ebenso wie den OX-Stamm von *Weil* und *Felix*.

Als Beispiel führe ich an:

Kanin 4852 am 9. X. ip. Passagevirus Gehirn Stamm Reinickendorf.
Titer T. e. —; O X 19 $\frac{1}{5}$ \pm .

Am 20. X.	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
Titer T. e. (Nr. 3790) . . .	+++	++	+	\pm	—
Titer OX 19	++++	++	+	\pm	—

Andererseits sehen wir, daß Kaninchen, welche mit Viruskulturen gespritzt sind, *außer einem Titer gegen den Infektionsstamm und seinesgleichen auch einen solchen gegen den Proteus OX 19 erlangen!*

Kanin 4663 am 21. IX. eine Kultur von Zuckeragar iv. —; am 6. X. iv. je eine Kultur von Traubenzucker und eine Caseinkultur.

	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
T.-e.-Stamm Nr. 3790 am 4. X.	+++	++	+	+	+	—	—
am 17. X.	+++	++++	++++	++	+	—	—
X 19 am 4. X.	\pm	—	—	—	—	—	—
am 17. X.	\pm	++	++	+	—	—	—

Kanin 4715 am 26. IX. eine Caseinkultur iv.; am 5. X. je eine Casein- und Traubenzuckerkultur iv.

	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
T.-e.-Stamm Nr. 3790 a. 5. X.	+	+++	+	+	+	—	—
a. 17. X.	++++	++++	++++	++++	++++	++	+
OX 19 a. 5. X.	—	—	—	—	—	—	—
a. 17. X.	++	+	+	—	—	—	—

Normalserum und Kochsalzkontrollen negativ; OX-19-Serum + Stämme positiv.

Es bedarf nur stets sorgsamster Aufmerksamkeit, daß die geprüften Virusstämme ihre volle Agglutinabilität besitzen.

Es ist jetzt ganz allgemein anerkannt, daß das fleckfieberkranke *Meerschweinchen* keinen X-19-Titer erlangt. Das Virus wird am Ende der Krankheit zuweilen in niederem Grade agglutiniert. Dieser Titer ist aber flüchtig. Ebenso erlangen *Hammel* und *Pferd* bei Immunisierung mit lebenden Kulturen einen agglutinatorischen Titer gegen die verschiedensten Virusstämme.

Tabelle. Stamm 3790 aus Nutrosenährmedium mit $\frac{1}{3}$ promill. Pepton-Aminosäure-zusatz über Traubenzuckeragar agglutinabel gemacht: P 3.

Sera	1:20	1:40	1:80	1:160	X-Serum	NaCl	Bemerkungen
Hammel 852	++++	++++	+	±	++++	—	Immunisierter Ham- mel.
Pferd 1076	++++	++++	+	+			Beginn der Immuni- sierung.
Meerschweinchen 4528	++	+	±	(±)			Passagefleckfieber 7 tägig.
" " 4514	++	++	+	+			Dsgl. nach 11tägigem Fieb. entnommen.
" " 4503	+++	++	±	±			3 Tage nach 7tägig- em Passage-T.-e. entnommen.

Hiermit vergleiche man die Verhältnisse *normaler Tiere*, deren wir eine sehr große Anzahl prüfen konnten.

Tabelle.

Der gleiche Stamm wie in der vorangehenden Tabelle P 3 auf 1% Zuckerstandardagar.

Sera	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	X-Serum	NaCl	Be- merkungen
Normal-Hammel .	±	±	—	—	—	++++	—	
Normal-Pferd . .	+++	+++	++	+	—			
Normal-Meer- schweinchen . .	+	±	—	—	—			
Normal-Mensch .	+	+	±	—	—			

Bemerkenswerterweise besitzt das Pferd normalerweise einen niedrigen, aber deutlichen Agglutinationstiter sowohl gegen das Virus wie gegen X-Stämme. (Meist etwa 1 : 80.) Während nun die verschiedenartigste Immunisierung, wie *Eichholz* und ich fanden, den Agglutinationstiter gegen X-Bacillen *nicht* steigert, gelingt dies bei gewissen Formen der Immunisierung ganz einwandfrei. Aber auch hier ist nach

Agglutinationskurve des Pferdes 1089 im Beginn und auf der Höhe intensiver Immunisierung mit reinen Viruskulturen.

	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	NaCl
Pf. 1. IX. OX 19 . .					—	—	—	—	—	—
X-Stamm:										
3. X. { Moll . . .						±	—	—	—	—
{ OX 19 . .					—	—	—	—	—	—
8. XI. { Moll . . .									+	—
{ OX 19 . .								—?	—	—

	1:1000	1:2000	1:4000	NaCl
Serum OX 19 { Moll			+	—
{ OX 19		+	±	—

unseren bisherigen Erfahrungen die Kurve eine typische, indem sie einige Zeit nach der immunisierenden Einführung der Kulturen sich hebt, einem Maximum zustrebt, um dann nach einer gewissen Zeit, während der deutlich gehobene Titerwerte bestehen bleiben, wieder ungefähr normale Werte anzunehmen.

Unsere Untersuchungen über die Möglichkeit, durch massive Virusdosen einen zweiten Titeranstieg zu erzwingen, sind noch nicht abgeschlossen.

Bereits aus einer Tabelle ging hervor, daß die Titer gegen das Virus und gegen X 19 nicht parallel ansteigen müssen, sondern daß sogar in der Regel der X-Titer *später* einsetzt als jener. Wie ist dies zu erklären?

Wir haben gezeigt, daß man aus fleckfieber-infizierten Meerschweinchen in großer Regelmäßigkeit einen physiologisch sehr anspruchsvollen Keim züchten kann, welcher formal in engster Beziehung zu dem Läusevirus und den „Rickettsien“ steht, welche ich und Wolbach in den infizierten Geweben nachgewiesen haben. Er steht in seinen physiologischen Leistungen den Proteus-X-Keimen sehr nahe, so daß er als eine Erscheinungsform betrachtet werden könnte, die ihre Besonderheiten der Einengung ihrer (früher) weiteren Potenzen durch ein eng gestecktes Infektionsverhältnis verdankt. Die angeführten Beispiele seines antigenen Verhaltens zeigen, daß die X-Stämme und die Virusstämme in engster, wenn auch eigenartiger Beziehung zueinander stehen.

Hätten wir es lediglich mit dem Umstande zu tun, daß zwischen dem Virus und den X-Stämmen kreuzweise agglutinatorische Beziehungen bestünden, so könnte man immer noch eine Auffassung des Phänomens verteidigen, welche an die *Paragglutination* anklingt, wie sie von Otto (Med. Klinik und andere Arbeiten, vgl. Wolff 1922 l. c.) zuerst aufgestellt ist, der auch jetzt noch versucht, sie gegen so zahlreiche Angriffe zu stützen. Da aber gleichzeitig die Untersuchung der Massenkulturen so außerordentlich große Übereinstimmungen im physiologischen Verhalten aufgedeckt hat, kann diese Hypothese, die bereits 1920 (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 29) von Schiff besprochen und widerlegt ist, als völlig erledigt bezeichnet werden. Die *Artdiagnose* stützt sich auf eine nie ganz erschöpfbare Summe formaler und Leistungseigenschaften. Wenn wir aber den *Steckbrief* (Zeiss) unserer Virusstämme und der X-Stämme vergleichen, so ergibt sich ohne weiteres, daß hier Formen allernächster Verwandtschaft vorliegen. Der *unsichere Indolnachweis* hat nach den Untersuchungen von Loghems ebenso seine unbedingte Artharakteristik eingebüßt wie das Moment des *Schwärmens*. Zeiss hat jüngst noch (Weichardts Ergebnisse 1922) die Frage des „Schwärmens“ mit den Worten Heims geschlossen: „*Was aber nicht schwärmt und was man niemals schwärmen gesehen hat, darf man so lange nicht als Proteus erklären.*“ Aber diese bis vor kurzer Zeit gültige Aussage

haben die „O-Formen“ von *Weil-Felix* doch erschüttert, indem gerade die X-Stämme mit verhältnismäßiger Leichtigkeit die Isolierung von praktisch konstant *hauchlos*, unschwärmend wachsenden Stämmen ermöglichten. Damit ist aber implizite die Möglichkeit gegeben, daß wir Stämmen begegnen, die lange Zeit hindurch dies früher typognomische Merkmal vermissen lassen. Bisher ist es denn auch bei unseren Virusstämmen stets vermißt worden.

Daß die Virusstämmen *gramnegativ* sind, wurde bereits ausführlich besprochen. Es ist daher bemerkenswert, daß die Schwankungen dieses Charakters bei Virus- und X-Stämmen *ganz parallel gehen*.

Ich habe monatelang X-Stämme in genau der gleichen Weise kultiviert wie die Virusstämmen. Dabei haben sich sehr interessante Beobachtungen ergeben. Zunächst verschwindet auf reinen Casein-, noch mehr auf Serum-Ringerlösungen, die hohe Giftigkeit der saprophytären X-Stämme in verhältnismäßig bedeutendem Umfange derart, daß man aus solchen Nährlösungen heraus Meerschweinchen und Kaninchen viel gefahrloser impfen kann als von gewöhnlichen Standard-Schrägagarkulturen ausgehend. Zugleich nähert sich der betreffende X-Stamm *formal* weitgehend dem Virus, wenn er auch stets in dem gleichen Abstand von ihm bleibt, den auch abgespaltene Stämme, wie der Stamm *Moll* z. B., innehalten. Diese sind gegenüber dem Virus ganz allgemein *stark vergrößert*. Beide aber wachsen z. B. in Serumlösungen (in flacher Schicht!) als kleinere oder größere, oft laichartig schleimige Flocken und Klumpen. Die Einzelindividuen können auch bei X-Stämmen ganz punktförmig klein sein, wenn auch der wesentliche, sofort diagnostizierbare Unterschied darin gegeben ist, daß die Viruskultur ganz „rickettsia“-artig auftritt, oder neben solchen Diploformen die besprochenen und auch aus der Laus bekannten fädig-stäbchenartigen Gebilde aufweist, während bei den X-Stämmen daneben, und zwar vorwiegend größere, oft kommaartige, wie Diphtheriebacillen gelagerte unregelmäßige Stäbchen sichtbar sind.

Geht man auf dem beschriebenen Wege über Barsiekowböden auf Zuckeragar, so erhält man auch beim Virus jene kleinen, oft gebogenen Stäbchen, welche man auf entsprechenden Nährböden beim X-Stamm *regelmäßig* antrifft.

Es ist uns aber eine Überführung des saprophytären Typus in den des Virus nie gelungen. Wir möchten dies besonders hervorheben, weil daraus klar hervorgeht, daß der X 19 *nicht* „der Erreger des Fleckfiebers“ ist, wie *Friedberger* es noch immer darstellt. Insgesamt 72 Tierversuche können heute als völlig fehlgeschlagen in diesem Sinne verzeichnet werden. Auch wachsen alle X-Stämme auf dem Fleckfiernährboden grau schleimig, und die gelbe Eigenfärbung der Kolonien wird vermißt, wenn auch im Gegensatz zu den grauen Viruskolonien die

Proteolyse eine sehr bedeutende ist und der Nähragar im ganzen schmutzig gelb durchfärbt erscheint.

Wie gesagt, erscheinen auf reinen Serumnährböden auch aus X-Stämmen konstant kleinste körnchenartige Individuen in großer Zahl. Weder diese noch die Virusstämme aber stehen zu den saprophytären X-Stämmen in einem Verhältnis, welches die allergeringste Beziehung nur zu dem D'Herelleschen Phänomen aufweist. (Bail, Wien. klin. Wochenschr. 1922.)

Wenn wir somit die Unterschiede und die Übereinstimmungen gegeneinander abwägen, müssen wir uns zu der Überzeugung bekennen, daß wir keine andere Deutungsmöglichkeit sehen als die, *derzufolge die Virusstämme selbst Proteusstämme, allerdings besonderen Verhaltens, darstellen und auch ihrem antigenen Aufbau zufolge den X-Stämmen am nächsten stehen.*

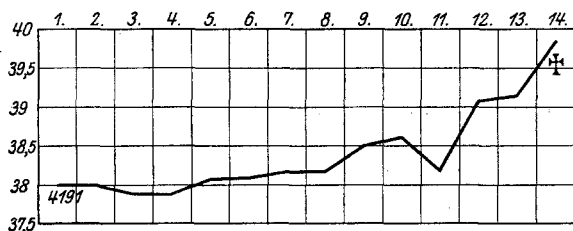


Abb. 16. (Kurve 1.) Verimpfung von 4112 P₆ T. e. ausgehend von 20 proz. Ams-Agar auf Meerschweinchen 4191. Inkubation 11 Tage. Fieber.

Nun erzeugt das Passagevirus konstant beim Menschen und Kaninchen einen X-Titer, beim Meerschweinchen *keinen*, trotzdem es zu echten Infektionen auch bei diesem Tier kommt. Die Injektion des abgetöteten Virus erzeugt bei verschiedenen Tieren Agglutinationen gegen das Virus, *nie gegen X 19!* Die Injektion schließlich der lebenden Ams-Stämme erzeugt beim Kaninchen Virusagglutination, niemals X-Titer. Ich habe dies an 21 Kaninchen durch 6 Wochen völlig vergeblich versucht, ehe ich imstande war, mit potentiell virulenten Kulturen zu arbeiten.

In der Tat sind die Ams-Kulturen zumeist völlig avirulent. Ich habe bereits kurz angedeutet, daß eine starke Herabsetzung des abgebauten Eiweißes im Nährboden (auf $\frac{1}{5}$) die sonst völlige Unterdrückung der Virulenz nicht sicher zwar, aber bei frühzeitiger Anwendung häufiger verhindert.

Man erhält in solchen Fällen zunächst bei der Verimpfung der Kulturabschwemmung (*früher* Passagen!) einen fieberhaften Zustand mit stark verlängerter *Inkubation* gegenüber dem normalen Passagevirus bei der gewöhnlichen Übertragungsart (Mee. 4191 nach Verimpfung von Kultur 4112 P₆ auf 20% Ams-Serumagar). Führt man

das Gehirn eines solchen Tieres auf weitere Meerschweinchen fort, so bekommt man ganz abortive Fieberzustände, die sich, zumal da anatomisch sichere Veränderungen zumeist vermißt werden, nicht recht deuten lassen (Mee. 4303 und 4357). *Prüft man aber diese Tiere oder die von ihnen aus geimpften bezüglich ihres Immunitäts-*

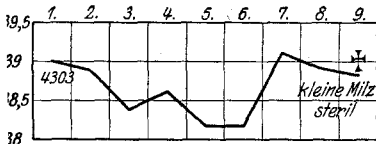


Abb. 17. (Kurve 2.) Gehirnpassage von 4191 auf 4303. Abortives Fieber. Keine deutliche anatomische Reaktion.

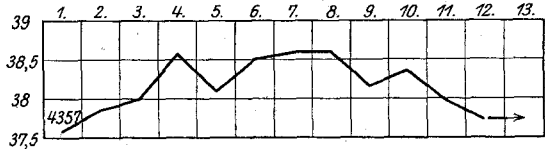


Abb. 18. (Kurve 3.) Gehirnpassage von 4303 auf 4357. „Inapparente Infektion.“

zustandes gegen eine sichere Nachimpfung mit Passagevirus, so sieht man, daß sie einen bestimmten Immunitätsgrad erreicht haben, welcher sich in einer „Infection inapparente“ offenbart, wie sie von Nicolle treffend bezeichnet worden ist. Es handelt sich um klinisch kaum merk-

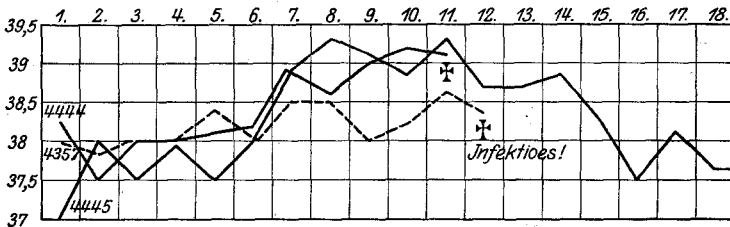


Abb. 19. (Kurve 4.) Immunprüfung von 4357. Keine deutliche Erkrankung im Gegensatz zu den Kontrollen (nur 2 sind wiedergegeben).

bare, vielleicht mit geringen Gewichtsverlusten, aber fieberlos ablaufende Infektionen (Mee. 4443). Aber man ist imstande, aus solchen Tieren in der üblichen Weise der Verimpfung ihrer Organemulsionen *Fleckfiebertivirus* zu gewinnen und neue, empfängliche Meerschweinchen in typischer und durchaus der Natur des Virusstammes entsprechender Weise zu infizieren (Mee. 4443). Hierüber geben die folgenden Temperaturkurven einigen Aufschluß.

Das Meerschweinchen 4191 wurde mit der 6. Passage des Stammes 4112, auf 20 proz. Ams-Agar gezüchtet, geimpft. Es erkrankte nach 11-tägiger Inkubation, rief nach 6-tägiger Inkubation bei dem Meerschweinchen 4303 ein abortives Fieber hervor. Die weitere Verimpfung seines Gehirnes auf das Meerschweinchen 4357 zeitigte keine sichtliche Erkrankung. Dies Tier erwies sich nun bei nachträglicher Impfung mit Passagevirus als durchaus immun, insofern es bei gutem Wohlbefinden

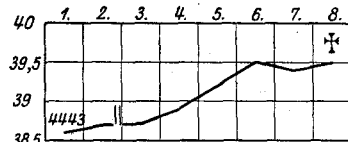


Abb. 20. (Kurve 5.) Die typ. Gehirnpassage von 4357 auf 4443 ergibt wieder Fleckfieber.

nicht fieberte. Während die Kontrolltiere (3 Meerschweinchen) am 6. Tage fieberten, wurde es getötet und übertrag ein typisches Fleckfieber auf mehrere gesunde Meerschweinchen.

Hier hat also etwas stattgefunden, was man eine *abblassende Infektion* nennen könnte. Virus ist da, es infiziert, aber von Passage zu Passage schwächer, um schließlich nur noch *vaccinalen Charakter zu zeigen*. Es hat sich *abgeschwächt*. Diese Kulturen bilden den vollkommenen Übergang zu den nur mehr vaccinalen Ams-Vollkulturen, besonders späterer Passagen.

Ehe ich auf diese eingehe, möchte ich kurz zusammenfassen, worauf sich die Diagnose *Fleckfieber* bei unseren Meerschweinchen gründet.

Ich kann mich hier deshalb sehr kurz fassen, weil ein zweiter Teil dieser Arbeit wesentliche Punkte der Morphologie des Fleckfiebers ausführlich behandeln wird. Kennzeichnend sind vorzüglich bei bestimmter Impftechnik durch Gehirnübertragung unschwer und fast in 100% auf Meerschweinchen übertragbare Fieberzustände, verbunden mit Abmagerung, monocytärer Blutreaktion (*Friedberger und Schiff*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 35, 1922), bakterieller Sterilität der Organe. Früher bereits hatte ich ganz im Sinne der wesentlichen Feststellung von *Friedberger und Schiff* „Continua ohne Hyperleukocytose“ beim Meerschweinchen angegeben (Med. Klinik 1920). 1921 (Klin. Wochenschr.) habe ich sodann in Erweiterung früherer eigener Untersuchungen und unter Bezugnahme auf ähnliche Feststellungen von *Aschoff* beim fleckfieberkranken Menschen die histologisch nachweisbare endotheliale Reizung ausführlicher beschrieben. Sie ist das anatomische Korrelat der *Friedberger-Schiffschen* seither erfolgten Beobachtungen! Die bei Meerschweinchen schon häufiger gegenüber den Lymphknötchen der Milz stärker entwickelte Pulpa tritt bedeutend hervor. Immersionsbetrachtung zeigt eine wesentliche *Steigerung* der endothelialen Proliferation, starke Schwellung der Sinuswandzellen, Phagocytose und Pigmentbeladung seitens dieser und zahlreicher frei in den Lumina nachweisbaren „Makrophagen“. Die Leberveränderungen habe ich eingangs bei der Besprechung des Virusnachweises bereits gestreift. Stärkere Resorptionen aus dem Bauchraum können oberflächliche Zellanhäufungen bedingen, die makroskopisch durch blaßgelbe Farbe hervortreten. Sonst sieht man innerhalb des Lebergefäßes hier und dort kleine *Wucherungen*, zumeist von *Endothelzellen* ausgehend, wobei diese durch ihr stark basophiles Plasma auffallen und sich früheren Untersuchungen von mir gemäß als *tätige, vermutlich resorptiv tätige Zellen* ausweisen (vgl. Virchows Archiv 234 und 239). Zum kleineren Teil handelt es sich auch um zellige Reaktionen im unmittelbaren Anschluß an *Viruszellen*, wie ich sie früher (Klin. Wochenschr. 1922) beschrieben habe. Von den feineren histologischen Verän-

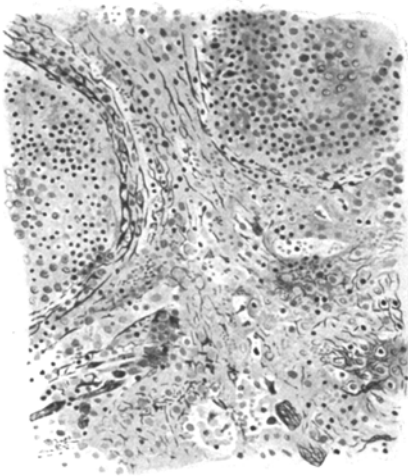


Abb. 21. Übersichtsbild der Fleckfiebermilz (2493). Starkes Hervortreten der Pulpa. Hier noch verhältnismäßig kräftige Milzknötchen.

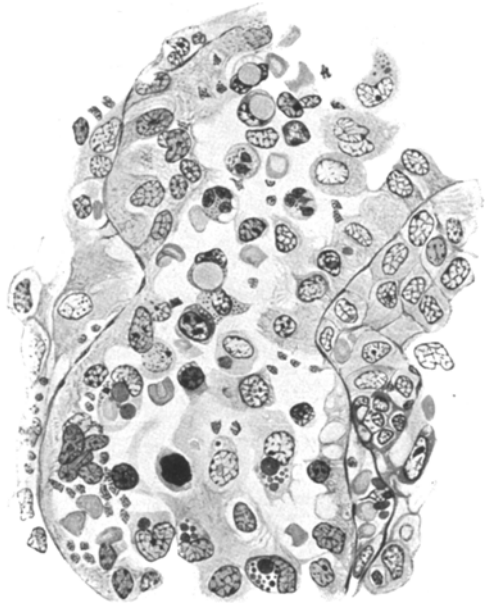


Abb. 22. Sinusbild bei starker Vergrößerung. Hypertrophie und Hyperplasie der Wandzellen. Phagocytose und Pigmentspeicherung makrophager Zellelemente.

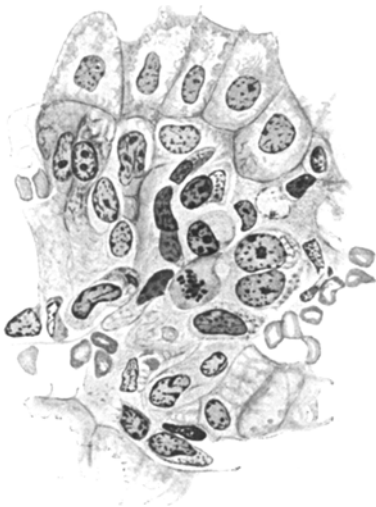


Abb. 23. Zellknötchen der Leber (2511) aus basophilen endothelialen Zellen, darunter eine mitotische Teilung.

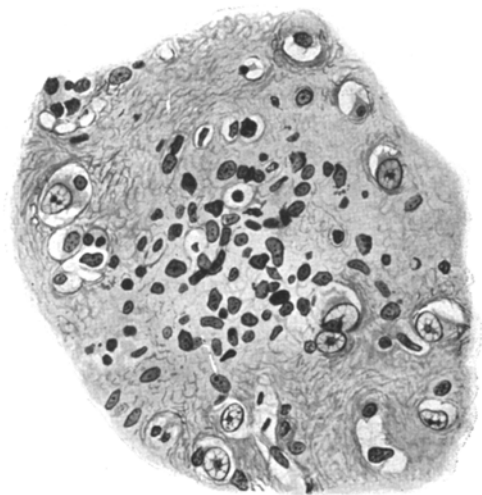


Abb. 24. Mee. 5133. Kulturell infiziertes Meerschweinchen. Encephalitischer Herd im diagnostischen Präparat. Gefrierschnitt.

derungen im Gehirn, den *Fränkelschen Knötchen*, habe ich in früheren Arbeiten so genaue Beschreibungen und Abbildungen gebracht, daß ich hierfür auf jene verweisen kann bzw. im zweiten Teil dieser Untersuchungen erst weitere Einzelheiten bringen möchte. Hier genüge eine etwas rohe Abbildung, wie sich Knötchen im Gefrierschnitt, zu diagnostischen Zwecken hergestellt, beim Passage- und Kulturtier darstellen.

Die Knochenmarksveränderungen finden im zweiten Teile ausführliche Darstellung.

Insgesamt ergibt sich ein tierklinisch und pathologisch-anatomisch so klar umrissenes Bild wie für irgendeine andere Infektionskrankheit.

Passagevirus 4581.
Intrakard. Transfusion je 1,5 ccm ohne Zusatz.

4723	4724 (3 mal Gefrierextrakt)
38,2	37,7
39,1	37,8
37,8	38,9
38	38,7
38	38,3
37,9	38,1
38,9	38,5
39	38,6
39,3	38,5
39,2	38,3
39,1	38,5
39	39
38,7	38,4
38,5	38,2
38	37,6

1.Tag nach der Impfung

2. " " " "

3. " " " "

5. " " " "

6. " " " "

7. " " " "

8. " " " "

9. " " " "

10. " " " "

11. " " " "

12. " " " "

13. " " " "

14. " " " "

15. " " " "

16. " " " "

Man muß es nur studieren! Es geht nicht an, sich pathologischen Fragen so cursorisch zuzuwenden, wie dies vielfach zum Schaden der Sache geschieht. So wenig als der Pathologe die Arbeit des Hygienikers übernehmen wird, kann dies umgekehrt geschehen, und es dient nur der gemeinsamen Sache, wenn sich hier die Erfahrungen zweier Disziplinen ergänzen. Hierzu liefert die Geschichte unserer Wissenschaft Beiträge, die sich leider immer wiederholen.

Bereits der Ablauf der abblasenden Infektionen zeigte uns, daß die Ams-Kulturen sich zu *Vaccinationen* zu eignen scheinen. Hierüber wurden sehr ausgedehnte Versuche unter

mannigfacher Variation der angewandten Technik angestellt.

Zahlreiche Einzelversuche zeigten mir, daß es gelingt, mit den für Meerschweinchen völlig aninfektiösen Ams-Kulturen Meerschweinchen gegen nachfolgende Passagevirusinfektionen derart zu immunisieren, daß in der Regel wieder eine „Infection inapparente“ zustande kommt. Jedoch kann auch seltener eine Nachinfektion völlig unterdrückt werden. Sorgfältige Kulturversuche haben uns immer wieder gezeigt, daß es schon nach 48 Stunden zumeist *nicht* gelingt, aus den vaccinierten Tieren das Vaccin herauszuzüchten. Die Form der Einverleibung ist im allgemeinen gleichgültig. Wichtig für den Erfolg ist nur die Dosierung der Nachimpfung. Setzt man sehr große Mengen, so gelingt es nur selten, einen schönen Erfolg zu erzielen. Namentlich ist die Überpflanzung von Gewebsbrei selbst in gröberen Brocken gefährlich, weil so durch Verlagerung in das Netz und die lymphatischen regionären Bildungen Nester mit den bekannten Folgen schwerer Zugänglichkeit

für die Abwehrleistungen des Körpers geschaffen werden. Man muß also möglichst feine Aufschwemmungen in geringer Menge unter Einsatz reichlicher Kontrolltiere verimpfen. Ich nehme in der Regel etwa 0,5 ccm einer abgesetzten Emulsion eines ganzen Hirnes in 40 ccm Ringerlösung. Auch dies ist noch eine sehr konzentrierte Virusaufschwemmung, aber ich habe lieber ein prozentual schlechteres Ergebnis

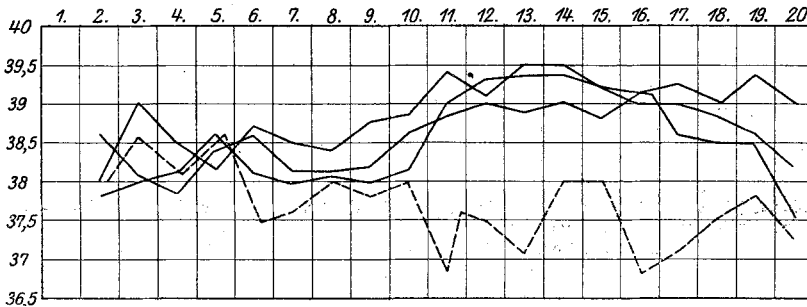


Abb. 25. (Kurve 6.) Passagevirus 4229 auf Meerschweinchen 4294—4296 (normal) und 4297, welches zweimal mit Ams-Virus geimpft ist. Ausgezogene Kurven = norm. Tiere. Gestrichelte Kurve = Vaccintier.

in Kauf genommen, ehe ich durch zu hohe Verdünnungen die absolute Sicherheit der Virusübertragung gefährden wollte.

Bei dieser Form der Immunisierung und der Nachimpfung erzielte ich nach 3- bis 4maliger vaccinaler Vorbereitung etwa 40% völlig unterdrückte Infekte, während etwa ebenso viele zwar angingen, aber deutlich

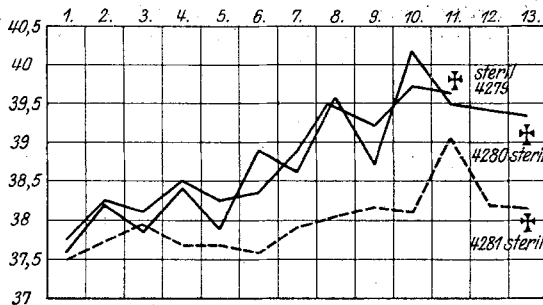


Abb. 26. (Kurve 7.) Passagevirus 4194 auf Meerschweinchen 4279/80 (normal) und Meerschweinchen 4281, das vorher 4 Einspritzungen vom Ams-Virus (0,3 ccm Aufschwemmung im.) erhalten hatte. Die Weiterführung des Immuntieres, das eine ganze abortive Fieberbewegung zeigte, ergibt ein in jeder Hinsicht typisches Fleckfieber.

abgeschwächt verliefen. Ein Teil der Tiere versagte stets. Dies liegt unzweifelhaft an der sehr großen Ungunst unserer Impftechnik. Die natürliche Übertragung durch die Laus auf den Menschen schafft sehr viel günstigere Bedingungen eines Erfolges vorangegangener vaccinaler Behandlung! Hier gelangen mit dem Stich sicherlich nur sehr geringe Mengen in den Kreislauf und werden sehr schnell in den Capillargebieten mit ihren eigenartig physiologischen Bedingungen der Einwirkung des

Blutes ausgesetzt, über die hernach ausführlicher zu berichten ist. Ich habe versucht, solche günstigen Verhältnisse auch im Tierversuch herzustellen und verwandte dazu direkte *Blutübertragungen mittels paraffinierter Spritze (Herzpunktion)*. Es gelingt bei einiger Sicherheit mühelos, hintereinander mit der gleichen Spritze einem Tier Blut zu entnehmen und dies auf zwei weitere zu übertragen. Nur müssen die

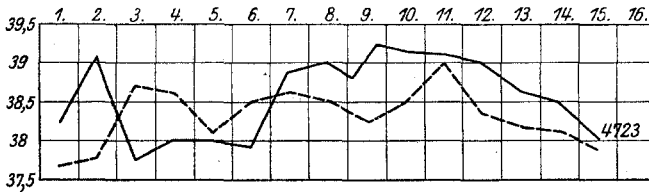


Abb. 27. (Kurve 8.) Direkte Bluttransfusion (intrakardial) von Meerschweinchen 4581 aus. Das Vaccintier (4724) hat in den vorangegangenen 15 Tagen dreimal je 1,2 ccm Kulturextrakt intramuskulär erhalten. Stark verlängerte Inkubation, abortives Fieber.

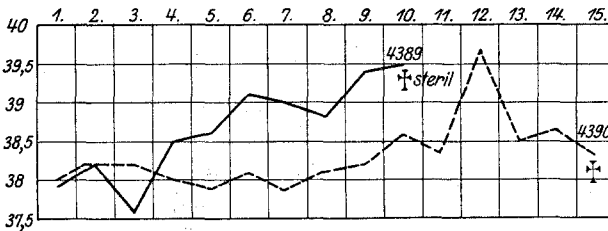


Abb. 28. (Kurve 9.) Intrakardiale Impfung. Das Vaccintier 4390 hat zuvor zweimal Ams-Vaccin (abgetötet und karbolisiert) erhalten. Sehr verlängerte Inkubation. Ganz abortives, eintägiges Fieber. Weiterführung ergibt typisches Fleckfieber.

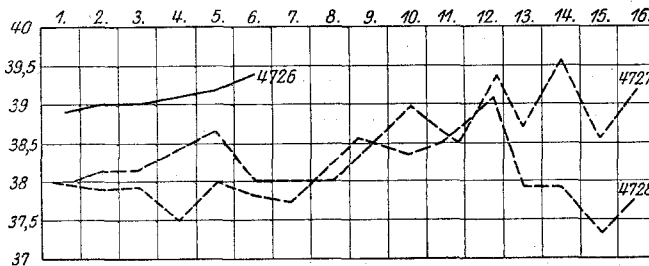


Abb. 29. (Kurve 10.) Direkte Bluttransfusion. „Massive Transfusion“. Inkubationsloses Fieber der völlig bakterienreinen Kontrolle (4726). Die vorher dreimal mit totem Vaccin immunisierten Tiere fiebern spät und stark intermittierend bzw. abortiv (4727, 4728).

Tiere schnell und zweckmäßig auf Operationsbrettern gefesselt sein. Auch das Ergebnis dieser Versuche war interessant, wenn es auch nicht das hielt, was ich mir von solchen Anordnungen versprach.

Die Virusverteilung ist nämlich beim fleckfieberkranken Meerschweinchen sicher keine auch nur annähernd gleichmäßige, weder zeitlich noch räumlich. Ich habe 2 mal erlebt, daß 0,8 ccm unveränderten Blutes keine Übertragung zustande brachten, obwohl die betreffenden Meer-

schweinchen später sehr infektiös waren und die Impflinge hernach ihre Empfänglichkeit durch erneute Impfung kundtaten. Es kommt zu *Ausschüttungen in das zirkulierende Blut*. Ich habe nämlich andererseits Fälle reinsten Fleckfiebers gesehen, wo die entsprechende Bluttransfusion eine fast inkubationslose Erkrankung beim Impfling auslöste.

Die Verarbeitung dieses Kontrolltieres ergab völlige bakterielle Sterilität der Organe in verschiedenen flüssigen Nährböden und tadellose Weiterführungen sowie im Kaninchen einen *Weil-Felix* ganz typischer Art. Es muß sich also um eine ganz reine, aber ganz ungewöhnlich massive Infektion gehandelt haben. Die vorvaccinierten Tiere erkrankten in diesem Falle, aber nach einer *sehr beträchtlichen Inkubation*

Passagevirus 4737				Passagevirus 4800.		
4892	4893	4894 4 × Extrakt	4895 4 × Extrakt	5008	5006	5004
38,5	38,1	38	37,9	38,4	38,4	38
37,6	37,5	37	37,9	38,2	38,3	38,2
38	38,3	38,5	38,1	38,9	38	38,9
38,5	37,9	38	38	38,9	37,9	38,4
38,6	38,1	38,2	37,9	38,3	38	38,7
38,3	38	38,3	38	39	37,9	37,7
39	39	37,9	38	38,9	38,8	37,5
39,2	38,9	37,5	38	39,4	38,5	37,9
39	39,2	38,5	39,6	39,5	39	37,5
39,2	38,7	38,2	39	39,9	39,6	38
39	39	38,6	38,2	38,9	39,5	38,5
39,4	39,2	39,1	38,6	38,5	39,3	39,1
38,6	39,2	39,2	39,8	38,5	39,9	38,5
38,8	39	39	38,3	38,6	39,7	39,7
39,4	39,1	38,1	37,5	38	+	38,2
38,3	39,2	38,1	37,8			39,3
37,8	37,5	38	38			38,7

und mit *stark intermittierendem* Fiebertypus, so wie wir dies bei nicht gut gelungenen Vaccinationen sehr häufig beobachten können.

Diese weiteren Beispiele zeigen in ganz charakteristischer Weise die gute vaccinale Leistung unserer Ams-Kulturen, die sich in *Verlängerung der Inkubation und wesentlicher Veränderung des Krankheitsbildes ausdrückt*. Zugleich aber zeigt das Tier 4724, daß auch *Extrakte aus Viruskulturen die gleiche Wirksamkeit zu üben vermögen wie die Ams-Kulturen*. Diese Extrakte hat Eichholz-Darmstadt nach einem besonderen Verfahren dargestellt, welches in anderem Zusammenhange veröffentlicht werden wird.

Hinsichtlich der direkten Bluttransfusion ist erneut zu betonen, daß Citratzusätze zu verwerfen sind, da sie bei größeren Verdünnungen schon in verhältnismäßig kurzer Zeit das Virus abzutöten imstande sind.

Auch bei der Immunisierung mittels der *Kulturextrakte* sieht man, daß die intraabdominelle Nachverimpfung zuweilen schlechtere Versuchsbedingungen schafft, und man erhält dann nur verzögerte und rudimentäre bzw. stark intermittierende Fieberbewegungen bei den vorbehandelten Tieren.

Schließlich habe ich noch zahlreiche Versuche darüber angestellt, ob die Vaccination *innerhalb bereits bestehender Fleckfieberinkubation* für die vaccinierten Tiere eine *Gefährdung* bedeutet. *Diese Befürchtung ist außer acht zu lassen!* Es gelingt keineswegs oft, aber zuweilen sieht man noch ganz gute Vaccinationswirkungen, wenn man die Vaccination in kurzen Intervallen, unmittelbar nach der Impfung einsetzend, wirken läßt.

Die Ams-Kulturen brauchen nicht unbedingt *lebendig* zu sein, um eine vaccinatorische Rolle zu erfüllen. Es gelingt auch mit abgestorbenen und mit 0,4% Phenol versetzten Kulturen, einen Schutz zu verleihen, wenn man auch etwas größere Mengen einverleiben muß, wie mir scheint. Jedoch soll die Abtötung keineswegs durch Hitze erfolgen, weil dies nach darauf gerichteten Untersuchungen die Wirkung *stark* beeinträchtigt. Diese Form des Vaccins dient zunächst zu größeren Serienversuchen. Sowohl das Vaccin selbst, lebend wie abgetötet, und auch der Kultur-extrakt bewirken beim Menschen subcutan recht schnell einsetzende Entzündungen örtlich umgrenzten Charakters, die innerhalb weniger Stunden ihren Höhepunkt erreichen, um dann langsam binnen einiger Tage abzuklingen. Ich habe mir z. B. selbst bis zu 2 ccm lebender Kultur und Extrakt eingespritzt, ohne mir mehr als binnen zwei Stunden vorübergehende örtliche Schmerzen zuzuziehen. Das erhebliche Infiltrat nach derartig großen Injektionen braucht etwa 8 Tage zur Resorption. Fieberhafte Zustände traten in unseren bisher nicht sehr ausgedehnten Menschenversuchen nicht ein.

Wir haben jetzt also gezeigt, daß die Virusstämme nicht allein im agglutinatorischen Verhalten den X-Stämmen äußerst nahe stehen; wir sehen jetzt andererseits, daß sie in recht befriedigender Weise — bei Innehaltung einer vorsichtigen Technik — gegen das Virus zu immunisieren imstande sind, und zwar nicht allein im lebenden Zustande, sondern auch im abgetöteten und in Gestalt ihrer Extrakte.

Die Infiltration beruht zum Teil zweifellos auf dem beträchtlichen Gehalt solcher Extrakte an Proteasen, die imstande sind, auf der Löfflerplatte tiefe Dellen zu erzeugen.

Jetzt fehlt uns vorzüglich die Kenntnis derjenigen Bedingungen, die erfüllt sein müssen, damit die lebende Viruskultur ihrerseits einen agglutinatorischen Titer gegen X 19 hervorruft. Wir sahen, daß die tote Kultur dazu unter allen Umständen *nicht* befähigt ist. Die lebende Ams-Kultur vermag es gleichfalls nicht zu leisten. Da wir aber bereits wissen, daß

auch nur bestimmte Infektionsabläufe die *Weil-Felix*sche Reaktion zeitigen, nämlich die des Menschen und Kaninchens (wozu sich nach unseren Untersuchungen auch das Pferd gesellt), nicht die des Meerschweinchens, so lag die Vermutung nahe genug, daß bestimmte Infektionsbedingungen eine derartige Umwandlung des physiologisch so „proteenhaften“ Virus hervorrufen, daß es sich ganz oder teilweise zum X-Agglutinin wandelt. Dies böte zugleich eine sehr ansprechende Erklärung für den Umstand, daß es zwar mehrfach gelungen ist, aus fleckfieberkranken Menschen, niemals aber aus den infizierten Meerschweinchen X-Bacillen zu züchten. Mit anderen Worten entstünden im kranken Menschen und Kaninchen „durch Abspaltung“ X-Stämme, im Meerschweinchen dagegen nicht. Demzufolge müßten also Kulturen, welche das Meerschweinchen erfolgreich infizierten, auch im Kaninchen einen *Weil-Felix* hervorrufen. Da die gewöhnlichen Kulturen jedoch das Agglutinin vermissen lassen, muß es im Infektionsprozeß neu geschaffen werden.

Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß eine Herabsetzung des Gehaltes der Nährböden an abgebautem Eiweiß die Virulenz der Kulturen vorteilhaft beeinflusst. Dennoch gelangt man nicht dadurch zu infektiösen Kulturen, daß man in Serumlösungen kultiviert. Wie angeführt, wächst das Virus in ihnen, aber ihre Einspritzung vermittelt kein Fleckfieber, soweit meine bisherige Erfahrung reicht (ungefähr 200 Einzelversuche).

Ich habe selbst in einer ganzen Reihe von Fällen fieberhafte Zustände beobachtet, nachdem Meerschweinchen Fleckfieberviruskulturen, auf Serum oder auf Aminosäuren + Serum gewachsen, eingespritzt waren. Immer wieder glaubte ich, endlich einer Ausnahme hinsichtlich der strengen Bedingungen der Infektiosität zu begegnen. Niemals bewahrheitete sich die anfängliche Vermutung. Ich muß davon absehen, auch hierüber protokollarisch zu berichten. Teils wurde in der bei Fleckfieber üblichen Weise die Prüfung vorgenommen, indem das Gehirn auf eine Reihe anderer Meerschweinchen weitergespritzt wurde, teils derart, daß die Immunität gegen ein wohlbekanntes Passagevirus untersucht wurde. Es ergab sich stets und unwandelbar, daß solche Fieber kein Fleckfieber darstellten.

Ich möchte hier noch einmal nachdrücklich auf einen besonderen, oft angedeuteten, aber vielfach mißdeuteten Umstand hinweisen. Die serienweise Überpflanzbarkeit des Meerschweinchenfleckfiebers mit winzigen Bruchteilen der Gehirnemulsion derart, daß in fast 100% der geimpften Tiere die gleiche Krankheit mit fast monotoner Inkubation, Fieberbewegung, *afebriler Rekonvaleszenz* angeht, bietet, von allen anderen Kriterien abgesehen, ein sehr sicheres Anzeichen reinen Fleckfiebers. Es wird häufig gesagt, mit vielen Keimen ließe sich bei

stets peinlich innegehaltener Impftechnik *ähnlich* ein gleichbleibendes Ergebnis im Tierversuch erreichen. Wer dies behauptet, vergißt aber, daß hier nicht eine greifbare infektiöse Materie stets erneut verimpft wird, sondern ein *Hirn* gespritzter Tiere, welches bei bakteriellen Impfungen mannigfacher Art zwar Keime birgt, aber diskontinuierlich und daher mit *typisch* schwankendem Ergebnis der weiteren Verimpfung. So sieht man nach zunächst sehr ansprechenden Reaktionen von Meerschweinchen auf X-19-Impfungen, teils fast inkubationslose Fieber mit tödlichem Ausgang, teils späte und ganz uncharakteristische Fieber, teils gar keine Reaktion, und dies sogar häufig! Darin liegt ein scharf ausgeprägter Gegensatz zum echten Fleckfieber, ganz abgesehen von der „Sterilität“, den pathologischen Veränderungen usw.

Obwohl die Plättchen im strömenden Blut beim Fleckfieberkranken keineswegs wesentlich vermindert zu sein scheinen, fiel uns doch bei systematischen histologischen Untersuchungen, die im zweiten Teile dieser Untersuchungen ihre Darstellung finden werden, frühzeitig auf, daß die Knochenmarksriesenzellen in eigenartiger Weise beeinträchtigt erscheinen. *Ceelen* (Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1919) hat bereits in seinem zusammenfassenden Bericht ältere und jüngere Angaben erwähnt, wonach beim Fleckfieber eine *erhebliche Störung im Gerinnungsprozeß* wahrnehmbar ist. Merkwürdigerweise liegen hierzu wenige genaue Untersuchungen vor, obwohl die Frage allgemein-pathologisch und daher auch für die Pathogenese anderer einheimischer Krankheiten von prinzipieller Bedeutung ist.

Es ist mir immer wahrscheinlicher geworden, daß die Megakaryocyten und das Fibrinogen in einer sehr innigen, wenn auch funktionell zunächst noch ungeklärten Beziehung zueinander stehen. In den „Vergleichenden Untersuchungen zur Pathologie der Abwehrleistungen“ habe ich die Frage der Megakaryocyten, soweit mir dies möglich war, erörtert. Es konnte bereits die Bedeutung der Riesenzenellen für nicht ganz scharf zu umschreibende *resorptive Prozesse* hervorgehoben werden. Besonders der *Zerfall* bestimmter Bildungen, wie der normaler oder kranker Körperzellen, führt zu Reizungen dieser Zellelemente. Leider lagen bisher über ihr Verhalten bei infektiösen Prozessen keine genaueren Untersuchungen vor. Es liegt natürlich sehr nahe, daran zu denken, daß *lytische Prozesse* auch *anderer Art* an ihre Funktion gebunden sind.

Wir wissen (vgl. *Edwin Goldmanns* Untersuchungen usw.), daß Caseinogenlösungen die Riesenzenellen positiv reizen, während Plättchen Caseine ganz wie Fibrinogenlösungen zur Gerinnung bringen, wenn die allgemeinen Systembedingungen es gestatten. Daraus läßt sich folgern, daß im Körperhaushalt Caseinogen und Fibrinogen eine ähnliche Rolle spielen *können*, daß auch im Körper *Fibrinogen* und *Riesenzenellen* des Knochenmarkes in einem nur bisher nicht erkannten Zusammenhange

stehen, mag derselbe darin zu suchen sein, daß die Plättchen den Megakaryocyten entstammen und den Umsatz des Fibrinogens regeln oder mag die Beziehung eine andere und mittelbarere sein. Darüber

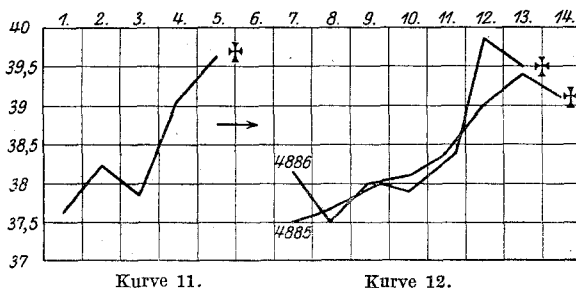


Abb. 30 (Kurve 11.) Die Kultur 3649 wird nach 54 Passagen über Ams-Serumagar und einer weiteren Passage über 2proz. Caseinlösung intramuskulär eingespritzt. Fieber nach dreitägiger Inkubation. (Kurve 12.) Die Hirnpassagen ergeben beim Meerschweinchen nach 6 tägiger Inkubation Fieberbewegungen. Anatomisch: Milz vergrößert, Organe frei von Bakterien. Das parallel geimpfte Kaninchen 4884 erreicht nach 11 Tagen einen Weil-Felix 1 : 40 +.

gehen unsere Untersuchungen weiter. Schon bei der Anlage der „Bauchkulturen“ hatte ich auf die Notwendigkeit des Vollplasmas aufmerksam gemacht, nur auf Erfahrung fußend. Die Verbreitung fibrinogenartiger Stoffe im Körper, besonders innerhalb der Zellen, ist nicht genügend bekannt, nur für den Muskel sind wenigstens ähnliche Stoffe bekannt. Hier wachsen bekanntermaßen nahe verwandte Erreger, und auch bei der Trypanosomengruppe haben wir ein ähnliches Alternieren der Vegetationsstätten im Körper bereits erwähnt. Auch hierin kann man eine Stütze einer Vorstellung erblicken, welche

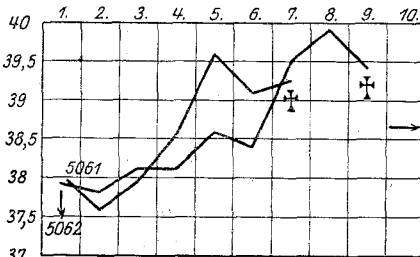


Abb. 31 (Kurve 13.) Passage 2 des Caseinversuches.

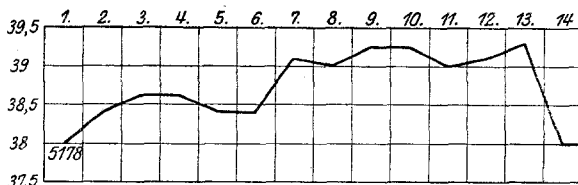


Abb. 32 (Kurve 14.) Zeigt die gesamte Fieberbewegung des Meerschweinchens 5178 (P_3 dieser Serie). Das parallel geimpfte Kaninchen 5177 erreicht die Agglutinationstiter gegen X-19 und gegen Moll = 1 : 160 +, gegen den agglutinablen T.e. Stamm 3790 = 1 : 320 + +.

in fibrinogenartigen Stoffen natürliche Nährsubstrate des parasitierenden Virus sieht.

In Durchführung dieser Gedankengänge habe ich systematisch Zuchtversuche unserer Viruskulturen auf Caseinogenlösungen durch-

geführt. Dabei verhalten sich verschiedene Caseine recht verschieden, und ich bin im Augenblick noch nicht sicher imstande, die wesentlichen Momente guter Erfolge festzulegen. Jedenfalls aber hatten wir in zahlreichen Versuchen dieser Art recht erfreuliche Ergebnisse. Ich möchte die Zahl positiver Versuche zu ungefähr $\frac{1}{5}$ der angesetzten berechnen. Zeitweilig allerdings waren die Resultate beträchtlich günstiger, so daß hier noch weitere Aufklärung erstrebt wird.

In kleine Kolben mit breitem Boden wurde Caseinlösung in niederer Schicht (1 cm etwa) eingefüllt und mit Aufschwemmungen von Ams-Kulturen, zum Teil sehr hohen Passagen (60 und mehr!), beimpft. Eine sehr sorgfältige Sterilisierung ist wegen der oft vorhandenen sehr resistenten Keime des Rohcaseins unerläßlich. Am besten sind Kulturen von 3—4 Tagen Alter.

Es kann nach allem dem kein Zweifel mehr daran bestehen, daß unsere Kulturen sich in allen wesentlichen Charakteren als zur Proteusgruppe gehörig kennzeichnen. Sie entsprechen ihrer Charakterisierung nicht allein in den wichtigen Stoffwechselleistungen, sondern sie zeigen auch nach Ausweis der serologischen Reaktionen in ihrem antigenen Aufbau mit bestimmten Angehörigen der Proteusgruppe, nämlich den X-19-Stämmen, weitgehende Verwandtschaft. Die Fleckfieberinfektionssera agglutinieren die Virusstämmen ähnlich den X-Stämmen. Die X-Sera agglutinieren die Virusstämmen. Die Virussera können die X-Stämme agglutinieren, sofern eine Infektion zustande kommt.

Einmal steht es fest, daß das Läusevirus, die sog. *Rickettsia Prowazeki Rocha Lima* der Erreger des Fleckfiebers ist. Dann aber hat sich jetzt herausgestellt, daß eine Gattung *Rickettsia* nicht zu Recht besteht, sondern daß die *Rickettsia* eine besondere Form von *Proteusbacillen* vorstellt, wie sie sich aus bestimmten biologischen Verhältnissen heraus gestaltet.

Auch der X 19 ist nicht eigentlich der Erreger des Fleckfiebers, wenn er auch zu ihm in näherer verwandtschaftlicher Beziehung steht.

Unsere bisherigen Erfahrungen am Fleckfieber gestatten uns nicht, zu der Frage der artlichen Gruppierung innerhalb der Proteusgruppe im besonderen, bei Bakterien überhaupt in fördernder Weise Stellung zu nehmen.

Wir sehen jedenfalls, daß das Moment der Infektiosität so lange nicht als Kennzeichen artlicher Abgrenzung dienen darf, als nicht sehr erschöpfende Untersuchung über die Potenz zur Infektiosität bei zahlreichen Angehörigen dieser Bakteriengruppe vorliegen; zumal da, wie wir sehen, vielleicht Infektiosität verloren geht.

Sehr treffend sagt hierzu Hueppe (1886, Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten, S. 70): „Manche der physiologischen Wirkungen sind nach unseren Erfahrungen schlechthin

konstant und werden durch keinen Eingriff alteriert. Diese konstanten physiologischen Eigenschaften und die konstanten morphologischen Merkmale geben zusammen einen Anhalt, welche Bakterien wir als die ursprünglichen Arten und welche wir nur als Ernährungsmodifikationen dieser Arten anzusehen haben. Im allgemeinen erweisen sich gerade die am meisten imponierenden Eigenschaften, spezifische Fermenttätigkeit und Parasitismus, als die am leichtesten zu beeinflussenden, so daß im allgemeinen wohl der Schluß gerechtfertigt ist, *die spezifische Fermenttätigkeit und den Parasitismus als eine erworbene Eigenschaft, eine Anpassung, eine Ernährungsmodifikation anzusehen*. In diesem Sinne ist die Abnahme der Virulenz eine atavistische Erscheinung, ein Rückschlag auf den Ausgang des einfachen Saprophytismus.“

Streng genommen müßte man heute auf eine artliche Bezeichnung Verzicht leisten. Aber wir brauchen eine Bezeichnung, um uns zu verständigen. Es ist klar, daß eine solche für das Fleckfiebertoxin die Gattung *Proteus* zum Ausdruck bringen muß. Ich halte es für ganz sicher, daß die Rickettsiaform keinerlei Spezifität birgt. Dies zeigt schon die Existenz so zahlreicher „Rickettsien“. Dennoch möchte ich aus mehreren Gründen vorschlagen, zunächst von „**Proteus Rickettsia Prowazeki**“ zu sprechen, weil die Nominierung des Läusevirus zum Allgemeingut der wissenschaftlich arbeitenden Welt geworden ist und sich mit diesem Namen eine reiche Literatur für und wider verbindet. Praktisch wird man damit eine Bezeichnung erhalten, die nicht minder fehlerhaft, aber auch nicht schlechter begründet ist als die meisten Speziesbezeichnungen im Bakterienreich, die ja leider, zumeist aus der täglichen Handhabung geboren, den Stempel des Notbehelfes nur zu oft und zu deutlich an sich tragen. Dies kann natürlich erst aufhören, wenn wir eine viel eingehendere Kenntnis der fast unerschöpflichen natürlichen Verhältnisse besitzen. Aber selbst dann wird die medizinische Bakteriologie sich erst in gründlichster Arbeit mit dem Problem auseinanderzusetzen haben, was *Infektionsverhältnisse für die bakterielle Artbildung bedeuten*. Vorläufig sehe ich keine Möglichkeit, diese Frage zu entscheiden, die auch *Wolff* soeben für die Strepto-Pneumokokkengruppe (siehe dieses Archiv) anschneiden mußte. So möge die neue Artbezeichnung die beiden bisher so feindlichen Prinzipien des *Proteus* und der *Rickettsia* versöhnend verbinden und an die Problematik erinnern, die sich mit diesen Bezeichnungen so lange verband.

Die Inkubationen der primären Fieberzustände nach Kulturverimpfungen können sehr verschieden sein, sie können sehr kurz sein, aber auch bis zu 18 Tagen betragen, was dafür spricht, daß doch nur eine *Auslese* von Keimen sich erneut dem Infektionsverhältnis anpaßt. In dem kurvenmäßig dargestellten Falle war die primäre Inkubation sehr kurz. Die typisch vorgenommene Weiterführung des Gehirns auf zwei weitere

Meerschweinchen ergab bereits eine Inkubation von 6 Tagen, und das parallel mit den Meerschweinchen geimpfte Kaninchen erlangte nach 11 Tagen einen *Weil-Felix* von einer Titerhöhe 1 : 40. Nun ist der dargestellte Stamm durch 8 weitere Passagen geführt worden. Er war stets bakteriell steril. Er bewirkte mehrfach sehr beträchtliche Serumreaktionen beim Kaninchen (5177—1 : 160). Die durchgefieberten Tiere dieser Serie wurden gegen beide zur dauernden Verfügung stehenden Virusstämme auf Immunität geprüft und erwiesen sich als *vollimmun*. (Im ganzen wurden 5 Meerschweinchen dieser Serie auf Immunität geprüft.) Diese Virustiere bieten den anatomischen Befund des Fleckfiebers dar.

Die Viruskulturen vermögen also im Falle der Infektiosität tatsächlich im Kaninchen einen positiven *Weil-Felix* hervorzurufen. Die schon im Anfang dieser Arbeit angeführten Protokolle zeigten, daß dies auch *ohne den Umweg über das Meerschweinchen* möglich ist. Auch bei den Pferden trat die positive Serumreaktion ein, nachdem wir ihnen Caseinkulturen eingespritzt hatten. Wir dürfen also mit großer Wahrscheinlichkeit folgern, daß auch in diesen Fällen unserer Annahme gemäß eine Infektion dieser Tiere vorgelegen hat.

Ganz so, wie sie den typischen anatomischen Befund aufweisen, so unterliegen die Caseinkulturtiere auch der für Fleckfieber charakteristischen *Kachexie*, kenntlich an stärkster Abmagerung, Gewichtsabnahme, herabgesetzter Widerstandsfähigkeit gegen neue, andersgeartete Schädigungen. Man kann diesen traurigen Zustand sehr schnell heben, indem man für reichliche Zufuhr von Casein, den Ernährungsgewohnheiten dieser Tiere gemäß am besten parenteral, Sorge trägt. Ausgesprochen ist die *Fleckfiebererkrankung* (im Gegensatz zu gelegentlich geäußerten entgegengesetzten Meinungen *Weils*) vorzüglich beim Meerschweinchen, kaum beim Kaninchen. Auch beim Meerschweinchen gibt es individuell viele Unterschiede. Ältere Tiere werden viel leichter kachektisch. Jugendliche, gut genährte 300-g-Tiere überstehen die Infektion am besten. Säuglinge fleckfieberkranker Meerschweinchen fanden wir öfters kaum betroffen, obwohl wir mehrfach die intrauterine Infektion durch den Tierversuch bestätigen konnten.

Wenn wir einerseits sehen, daß die Zuführung von Caseinen in der Rekonvaleszenz beim Versuchstier einen ganz ausgezeichneten Einfluß auf den Grad und die Schnelligkeit der Erholung ausüben, so werden wir andererseits eingedenk sein, daß in eigenartiger Weise die ärztliche Erfahrung lehrt, daß auch menschliche jüngste und junge Kinder nur rudimentäre Fleckfieber durchmachen. Wenn unsere Grundvorstellung richtig ist, wonach enge Beziehungen zwischen dem Leben des Virus und dem Fibrinogen-Riesenzellensystems bestehen, dieses aber auf Milch-Käse-diät spezifisch anspricht, so läßt sich zunächst vermutungsweise, aber

hinreichend begründet aussprechen, daß diese *Altersdisposition zur Krankheit alimentär begründet sein kann*, indem die besondere Ernährung spezifisch einen Zustand erhöhter Abwehrbereitschaft gegen gerade die besonderen Krankheitsgifte bewirkt. Erst weitere Ausdehnung unseres Beobachtungsmateriales und unserer experimentellen Erfahrung kann hier sicherere Kenntnis vermitteln. Es wird aber außerordentlich lehrreich sein, unter ähnlichen Gesichtspunkten die Altersdisposition der Krankheiten zum Gegenstand einer exakten Analyse zu machen.

Für den Fall des Fleckfiebers sehen wir also im Fibrinogensystem eine *Materia peccans* im Sinne der Alten. Nur ist hier die alte, ehrwürdige Krasenlehre gewissermaßen umgekehrt. Nicht etwas Rohes und Ungebändigtes wird ausgeschieden als schuldbelastete Materie, sondern die Störung ureigenen Bestandes durch die parasitäre Interferenz wird unmittelbare Ursache der Krankheit. Nicht Ausscheidung, sondern Regeneration wird erstrebt. Wir entfernen uns immer mehr von der Vorstellung der Krankheitserreger als unmittelbarer Ursachen des Krankseins. Parasiten sind nur insoweit Krankheitserreger, als sie lebenswichtige Prozesse des Körpers über ihre normale Variabilität hinaus verändern. Daher ist *Immunität* keineswegs identisch mit *Aparasitismus*, weil damit nicht zugleich verhindert wird, daß ein Parasit eindringt und sich sogar behauptet und vermehrt. Es wird nur damit gesagt, daß er aufhören muß, krankmachend zu wirken. Man hat mit Recht dies Infektionsstadium gelegentlich ein *sekundäres Latenzstadium* genannt, weil zwar — wie vor der Krankheit in der Inkubation — die Symptome fehlen, die Erreger jedoch in gleicher oder ähnlicher Weise noch im Bannbereich des Makroorganismus leben, allerdings, ohne in gleicher Weise zu wirken. *Gendrin* (De l'influence des âges sur les maladies. Paris 1840):

„De même se rattachent à la succession physiologique des âges le développement, l'état et le déclin de certains organes, de certaines fonctions, de conditions physiologiques, particulières, de tout l'organisme; de même il faut y rapporter, le développement, l'état et le déclin de maladies déterminées, et d'états morbides composés de plusieurs actes pathologiques, tantôt de même nature et différant seulement par leur siège et leur intensité, tantôt de nature, différente et n'ayant de commun que leur connexion réciproque et leur dépendance de l'influence des âges.“

Bouchut fügt diesem Satz die treffenden Worte an (Pathol. générale 1857, S. 33): „Das Lebensalter bestimmt nicht die Krankheiten, aber es konstituiert die schicksalsschwere Disposition ihrer Entwicklung. Die Krankheiten bilden die besonderen bestimmenden Ursachen, die vollenden, was die physiologische Leistung des Lebensalters vorbereitet hat.“

Der *Proteus bacillus* gilt als Typus des aeroben Fäulniserregers. Eine eigentliche Pathologie der Proteuserkrankung gibt es, wie die neuen sorgfältigen Studien von *Zeiss* (*Weichardts Ergebnisse* 5, 1922) zeigen, bislang nicht. *P. von Baumgarten* definiert in seinem „Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen“ (1911) die Fäulnis als die *Zersetzung stickstoffhaltiger Produkte des Pflanzen- und Tierlebens*. Insbesondere verweist er auf die reichliche Produktion von Stinkstoffen und die Fähigkeit des vollständigen Abbaues von Eiweiß.

Dadurch träten die echt „saprogenen“ Bakterien, wie der *Proteus* und der *B. putrificus*, zwar in die Nähe der „trypsinogenen“ und der „saprophilen“ Bakterien *A. Fischers*, die aber keine Fäulniserreger seien, weil sie teils Fäulnis *einleiten* (prototrophe trypsinogene Bakterien), teils aber die einmal von anderen Bakterien eingeleiteten Prozesse nur vollendeten (metatrophe saprophile B.).

Wie wir an unseren Ernährungsversuchen gesehen haben, ist eine solche Trennung *nicht* streng durchführbar. Unser Fleckfiebererreger, der unzweifelhaft in die *Proteus*-Gruppe hineingehört, kann sowohl von ganz hochwertigem Material leben und sich wie ein echter Fäulniskeim betätigen. Er kann aber auch ganz „metatroph“ vegetieren. Setzen wir andererseits die Menge der Aminosäuren herab, so sehen wir ein Stadium, wo zwar noch deutlicher Angriff auf das Substrat zustande kommt, aber von stinkender Fäulnis auch nicht andeutungsweise die Rede sein kann. Dies ist besonders auf festen Nährböden, aber auch deutlich genug auf Serum-Ringerlösungen erkennbar.

Nawiasky (Arch. f. Hyg. 64 1908,) hat beim Studium der Ernährung des *Proteus* eine erste Periode unterschieden, in der vorzüglich Spaltprodukte der Albumosen, sog. „Peptone“, entstehen. Die zweite Periode steht unter dem Zeichen der Peptonspaltung, während die Albumosen und die Kreatingruppe zurücktreten, in der dritten schließlich wird nur noch Rest-N und Pepton verarbeitet. Es ist beachtlich, was schon *Nawiasky* auffiel, daß *anfangs Aminoverbindungen gelöst werden*. Dies deckt sich ganz mit unserer Erfahrung, daß eine optimale Aminosäurekonzentration *nötig ist, um die Proteolysinproduktion kräftig einsetzen zu lassen*. Je nachdem also, auf welcher Stufe der Prozeß der Auflösung des Nährsubstrates zum Stillstand kommt, wird man ein ganz verschiedenartiges Bild erhalten. Allerdings ist die Kennzeichnung *Baumgartens* natürlich dennoch richtig, weil ja gerade die *Potenz* zu diesen vielgestaltigen Leistungen wesentlich ist. Aber man muß bedenken, daß das aktuelle Fehlen eines Teiles dieses langwierigen Prozesses unter irgendwelchen Bedingungen nicht zu Ausschließungen berechtigt.

Ganz besonders interessant ist es, daß wir durch unsere Versuche und Beobachtungen nachgewiesen haben, daß auch im Körper dieser saprogene Keim „klassengemäß“ lebt. Das Infektionsverhältnis bedingt zwar Leistungsspezifizierung und daher zum Teil auch -einkennung, aber die prinzipielle Betätigung bleibt *gleich*, ein *Abbau* höchstwertiger Proteine, wodurch der Körper in die schwerste Gefahr gelangt, bei lebendigem Leibe an wichtigen Stoffen zu verarmen. Wir glauben, die Anschauung sehr wahrscheinlich gemacht zu haben, daß das Wesen der Inkubation darauf beruht, daß hier der Körper sich auf Grund seiner weitgehend „metatrophen Potenz“ von weniger wichtigen Bestand-

teilen ernährt, wozu ihm sein Eindringen in reichlich ernährte Zellen Gelegenheit gibt. Dabei kommt es durch teilweisen Zerfall von Keimen zu einer antiinfektiösen *Immunleistung des Wirtskörpers*. Diese wieder führt zu ganz schnellem Zerfall bzw. Abtötung von Mikroben, wodurch ihr Proteolysin in erhöhtem Maße *frei* wird. Das Ferment übt nun seinen vernichtenden Einfluß auf den Körperbestand aus, das *klinische Krankheitsstadium des Fleckfiebers*! Ein anatomisches Nebenergebnis sind die lokalen Gefäßzellnekrosen und ihre weiteren Folgezustände, dort, wo der Untergang sich *innerhalb von Zellen* vollzieht.

Nun tritt eine Immunleistung gegen diesen proteolytischen Angriff ein, und wenn sie eine genügende Höhe erreicht hat, wird der Erreger „atreptisch“ außer Kurs gesetzt, d. h. sein Proteolysin verliert seine Wirksamkeit. Er vegetiert noch ganz kurze Zeit im Wirtskörper und schwindet schnell unter Hinterlassung eines sehr hochwertigen Immunzustandes. Die Rekonvaleszenz füllt die arg erschöpften Reserven auf.

Alle diese so verschiedenen Verhaltensweisen des Erregers hängen an seiner so vielgestaltigen *Ernährungsmöglichkeit*. Nur bestimmte Ernährungstypen gestatten ihm die Entfaltung seiner furchtbaren Waffe. Ohne diese ist er recht banal.

Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß es ohne besondere Mühe gelingt, aus Kulturen des Fleckfiebererregers hochtoxische Substanzen zu gewinnen. Unsere Extrakte enthalten allerdings zumeist das im Tierkörper höchst wirksame Proteolysin, dazu teils Abbaustufen des Eiweißes, soweit die Bakterien solches selbst bewirkt haben, teils Umwandlungsprodukte der bereits im Nährmedium ihnen angebotenen Abbaustufen. Es ist also im Augenblick nicht möglich, etwas Bestimmtes über die Natur des wirksamen Agens auszusagen. Vielmehr wird man sogleich an die ebenfalls noch ungeklärte Frage des „putriden Giftes“ denken müssen.

In diesem Zusammenhange darf einer Erfahrung gedacht werden, die man macht, wenn man Tiere mehrfach mit Vaccine vorbehandelt und dann eine größere Menge Virus, sei es eine Vollöse Kultur oder aber Passagegehirn, in beträchtlicher Menge besonders intravenös injiziert. Man erlebt dann ganz akut einsetzende, zum Teil gefährliche Reaktionen, die nur so gedeutet werden können, daß die bereits gut ausgebildete Grundimmunität zu einer sehr plötzlichen Lyse und damit Befreiung hochwirksamer Leibesbestandteile führt. Man sieht nämlich ohne vorherige Immunisierung derartige Reaktionen nicht bzw. sie halten sich in viel bescheideneren Grenzen. Wenn wir hier unserer latenten Infekte eingedenk sind, so sehen wir also jedenfalls, daß im Immunisierungsprozeß zweierlei zu unterscheiden ist, die Aufhebung der *schädlichen Wirkung*, z. B. gemessen an der Fiebererzeugung, und die Aufhebung der Vermehrung im Körper, die *antiinfektiöse Immunität*. Sie ist zweifellos die vollkommenere Leistung.

Es kann von großer Wichtigkeit sein, über ein bestimmtes Individuum eine sichere Aussage machen zu können, *ob es für Fleckfieber empfänglich ist oder nicht*. Zuweilen können wir ja besonders in gefährdeten Gegenden nicht einmal zuverlässig feststellen, ob jemand bereits die Krankheit durchgemacht hat oder nicht. Ebenso ist es sicher wünschenswert, für besonders wertvolle Persönlichkeiten, welche sich vacciniert haben, etwas Bindendes über den erreichten Immunisierungsgrad aussagen zu können. Hierzu scheinen mir unsere Kulturen ein Mittel an die Hand zu geben. Diese Methodik knüpft eng an die *VBK-Methode*, wie sie von *E. K. Wolff* und mir angegeben worden ist, um den Immunitätsgrad Streptokokkenkranker außerhalb des Körpers zu prüfen.

Die „VBK“ (= Vollblutkultur) prüft den Grad der *Störung*, welche die Überlebensfähigkeit des nach Art einer *Plasmakultur* in dünner Schicht geronnenen Blutes erleidet, wenn sie der intimen Einwirkung bestimmter Mikroben ausgesetzt ist. Fassen wir den besonderen Fall ins Auge, daß wir in das Blut normaler Menschen *Streptokokken* (des Hämolyse bewirkenden α -Typus) einsäen. Ganz allgemein gesprochen kommt es nur dann zu einer Wachstumshemmung und damit Abtötung, sofern wir eine ziemlich niedere Individuenzahl innehalten. Darüber kommt es zu einer üppigen Entwicklung von Kokkenkolonien derart, daß nun die VBK zu einem *Nährboden* wird, daß — wie ich es früher ausdrückte (Klin. Wochenschr. 28. 1922) — jetzt der Kokkus Gegenstand der Kultur wird, während zuvor das Vollblut ihr Objekt bildete. Unsere Prüfung erstrebt, die Interferenz der Lebensfähigkeit der Keime und der Vitalität des Blutes außerhalb des Körpers, also *unabhängig von dem für den Menschen überhaupt nicht gangbaren Infektionsversuch, kenntlich zu machen*. Für die Streptokokken muß auf Grund einer nunmehr sehr ausgedehnten Beobachtung klinischer Fälle gesagt werden, daß diese Methode in der Hand eines sehr kritischen und technisch erfahrenen Untersuchers Wertvolles zu leisten vermag. Allerdings erreicht sie ihre besten Erfolge dort, wo die Gunst der Sachlage ein Alles- oder -Nichts-Verhältnis schafft. Wie ich bereits kurz mitgeteilt habe (Klin. Wochenschr. 1922) und in anderem Zusammenhange ausführlicher darstellen werde, gelang es mir insbesondere zu zeigen, daß sich die von uns zuerst genau beschriebene und zeitlich wohl umgrenzte „*Viridanshemmung*“, die Unfähigkeit bisher hämolytisch wachsender Keime, rote Blutkörperchen zu lösen, im *Immunblut* einstellen kann. Auch hier ließ sich das von uns beschriebene und seither mehrfach bestätigte Verhalten feststellen, daß nur innerhalb eines ganz bestimmten Zeitraumes dies V-Phänomen eintritt, während nachher nur mehr die resistenteren H-Formen wachsen.

Versuch. Kanin Se-Serie Nr. 24.

1. 3 mal binnen 4 Tagen bei 60° abgetöt. Ascitesbouillonkultur d. Sr. häm. (515) iv.

2. Am 6. Tage $\frac{1}{3}$ A.-B.-Kultur 515 lebend iv. Nach 10 Minuten Entnahme von Blut nach *Freund* und Prüfung.

Als *Zählplatte*: 164 Kol. in 1 cem.

3. Am 8. Tage eine Vollkultur iv. Als *VBK* nach 24 Stunden unverändert, auf Schottmüllerplatte verarbeitet: *Steril*.

Entnahme nach	Zählplatte	VBK	Schottmüllerplatte
10 Min.	474 Kol.	unverändert?	reines <i>Viridanswachstum</i>
24 Std.	2 500 „	„	starkes hämol. Wachstum
48 „	mehr als 30 000 „	fleck. aufgeheilt	„
72 „	300 „	?	steril
120 „	1 „	unverändert	steril

Ich habe dies Beispiel aus unserer Erfahrung gegeben, weil es wohl verständlich macht, daß man in dieser Weise nachweisen kann, daß auch das *überlebende Blut imstande ist, wichtige fermentative Leistungen eines Infektionserregers überraschend schnell zu paralysieren* und ihn damit auf den Stand eines verhältnismäßig harmlosen Schmarotzers zu bringen, dessen weitere Erledigung dem Makroorganismus dann nicht mehr schwer fällt. Im Falle der Streptokokkose zeigt die zeitlich enge Umgrenzung an, daß der Körper dies nur gegen *verhältnismäßig schwache Keime bewirken kann*, während sich zunächst widerstandsfähigere der Abwehrleistung *entziehen*. Außerdem zeigt es uns, daß die *Sperrung wichtiger ernährender Fermente* eine besondere Form der meist schwer physiologisch zu determinierenden *Bactericidie* ist. Die zweite prinzipielle Möglichkeit der Bactericidie durch Ernährungshemmung: die Sperrung des angegriffenen Materiales durch Änderungen seiner Angreifbarkeit — ist noch nicht ernsthaft studiert.

Nachdem einmal feststand, daß das Fleckfiebertoxin in reinem Serum und in reinem Plasma zu leben und sich zu vermehren imstande ist, lag es für mich besonders nahe zu prüfen, ob diese Möglichkeit im Blute immuner Individuen eine Hemmung oder Aufhebung erfährt. Zunächst mußte das Verhalten des *zellfreien* bzw. *zellarmen Plasmas* geprüft werden, weil im Falle eines deutlichen Unterschiedes gegenüber dem Verhalten im Normalplasma sich hieraus unmittelbare Schlüsse für das Gesamtblut und den Infektionsprozeß ergeben.

Über das Verhalten des Citratplasmas möchte ich keine bindenden Angaben machen, weil wir so häufig eine ganz entschiedene Schädigung des Virus durch Citrierung der Flüssigkeiten gesehen haben, daß die Ergebnisse nicht zuverlässig auf Eigenschaften der Flüssigkeiten selbst zurückgeführt werden können. So habe ich auch eine Abtötung erheblicher Virusmengen in citriertem Plasma gesehen, wenn dies noch nach mehreren Stunden infolge einer absolut nicht ausreichenden Citratmenge nachträglich gerann. Dennoch wuchs im richtig geronnenen unbeeinflussten Plasma das Virus üppig.

Insgesamt habe ich Versuche an 9 Kaninchen angestellt, welche ein richtiges Fleckfieber mit irgendwann positivem Weil-Felix überstanden hatten. Daneben treten etwa ebensoviele Normalkaninchen. Ganz übereinstimmend konnte für diese Rekonvaleszenten, deren Erkrankung 4—8 Wochen zurücklag, festgestellt werden, daß *in ihrem zellfreien bzw. an Zellen äußerst armen, aber plättchenhaltigen Plasma das Virus nicht gedeiht, sondern in der Regel nach etwa 48 Stunden auch mikroskopisch nicht mehr nachweisbar ist*. (Das gleiche sah ich in einigen Versuchen bei citriertem Plasma, ohne aber diese Versuche aus dem angeführten Grunde verwerten zu wollen.) Es wurden jeweils ungefähr 2 Teilen des nach der *Freund'schen* Methodik gewonnenen Plasmas

1 Teil einer Virusaufschwemmung in Ringerlösung zugesetzt. Diese wurde von Ams-Schrägagar aus mittels Abschwemmung durch 4 ccm Ringerlösung gewonnen und stellt eine ziemlich dichtgetrübte Flüssigkeit dar.

Nur in seltenen Fällen fanden sich besonders noch nach 24 Stunden vereinzelte feinste, meist fädige Formen, schlecht färbbar. Im Gegensatz hierzu wuchs in den Kontrollen in Normalplasma das Virus besonders nach 48, meist schon nach 24 Stunden in Gestalt wohlunterschiedener kleiner, auch größerer Häufchen. Das gleiche Verhalten zeigten die Plasmen aller geprüften Menschen, die *kein* Fleckfieber in ihrer Individualgeschichte zu verzeichnen wußten. Dahingegen zeigten wieder einige sichere Fleckfieberrekonvaleszenten genau das Verhalten der Immunaninchen. Leider fällt aus dieser Reihe ein einziges Individuum, welches als Kriegsgefangener in Rußland seiner Angabe zufolge ein sicheres Fleckfieber durchgemacht hat. Es muß jedoch dahingestellt bleiben, ob diese Angabe, ohne sichere Serumreaktion, jede Möglichkeit einer Verwechslung mit Abdominaltyphus ausschließt, die auch in unseren Lazaretten häufig — wenigstens anfangs — nur durch das verschiedene serologische Verhalten beseitigt wurde. Es ist bei einem einzelnen Falle auch immer mit der seltenen, aber sicher gegebenen Möglichkeit einer erneuten Empfänglichkeit zu rechnen. Dies ist natürlich im Einzelfall durch das *experimentum crucis* zum Glück nicht aufzuklären. Es sind daher weitere Erfahrungen am Menschen abzuwarten, über die ich hoffe, berichten zu können.

Auch Meerschweinchen, deren ich eine Reihe prüfte, zeigten das gleiche prinzipielle Verhalten. Während einige Tiere nach überstandener Krankheit ganz erstaunliche Virusmengen abtöteten, versagten wenige bei so starken Einsaaten. Bei vorsichtigerer Dosierung allerdings blieb der Unterschied zwischen dem immunen und normalen Tier ganz außerordentlich groß.

Hinsichtlich der technischen Durchführung muß überhaupt betont werden, daß selbstverständlich auch hier im Falle des Fleckfiebers die Einsaat *nicht zu hoch* getrieben werden darf. Es gibt schließlich für jedes Individuum eine Grenze, wo seine Abwehr der Masse der Gegenwirkung gegenüber versagt. Es muß daher daran gedacht werden, daß die wenigen Fälle schlechterer Bactericidie im Plasma auf eine individuell zu plumpe Dosierung zurückzuführen sind. Immerhin stehen in unseren Plasmakammern nur Mengen von etwa 1 ccm Plasma einigen Millionen von Keimen gegenüber. (Eine exakte Zählung ist hier ganz ausgeschlossen.)

Selbst wenn also diese Methodik bei weiterer Durchprüfung keine Möglichkeit bieten sollte, den Immunitätsgrad eines Individuums *stets* aus seinen plasmatischen Reaktionen abzulesen, so ist das Er-

gebnis für die Bewertung der vorliegenden Immunitätsphänomene recht bemerkenswert. Auch die homologen Seren lassen deutlich eine bactericide Wirkung erkennen, die nur im nichterhitzten Zustand erhalten bleibt. Immerhin ist die Wirksamkeit der Plasmen deutlich stärker als die der Seren. Wir haben, wenigstens unter bestimmten Bedingungen der Immunisierung, die gleiche Feststellung auch in *therapeutischer* Hinsicht gemacht.

Wir wissen seit langem, daß die Plättchen die Träger zahlreicher, leider im einzelnen nicht sehr genau studierter Fermente sind. Betrachtet man nebeneinander ein und dasselbe Plasma, das eine Mal nativ und geronnen, das andere Mal mit Citratsalz versetzt und flüssig, so erkennt man im ersten Falle *nichts* von Plättchen, während sie im zweiten zwar beschädigt, verklumpt und sehr unregelmäßig, aber dennoch ohne weiteres mikroskopisch nachweisbar sind. Also ist hier die Auflösung eine verhältnismäßig unvollkommene. Wir wissen gleichfalls, daß reichlich Fermente im Blutkuchen beim Gerinnungsprozeß eingeschlossen sind, wie schon aus dem Zersetzungsprozeß unter Toluol aufbewahrten Fibrins sinnfällig wird. Auch bestehen hierüber physiologische Angaben, die in diesem Zusammenhang nicht näher interessieren.

Besonders für die Kokkensepticämien ist durch zahlreiche Arbeiten von *Govaerts, Roskam, Le Fèvre de Arric* u. a. bekanntgeworden, daß ähnliche Beziehungen zwischen Plättchen und Bakterien bestehen, wie sie als maßgeblich für die Phagocytose durch Leukocyten erkannt sind. Insbesondere heften sich angreifbare Bakterien den Plättchen schnell an (Thigmophilie), oder dies geschieht nach den vorliegenden Angaben unter dem Einfluß opsonisierender Kräfte.

Beim Fleckfieber haben die Arbeiten von *Segal* und *Bacot* sowie von *Segal* den Beweis erbracht, daß das Virus im Blute den Plättchen beigesellt ist und sich mit diesen aus dem Blut anreichern läßt (*Brit. journ. exp. med.* 3. 1922). Die Frage, ob nun die Blutplättchen in eine innigere als nur mechanische Beziehung zu dem anscheinend häufig anhaftenden Virus treten, kann zur Zeit nicht exakt beantwortet werden. *Es ist aber sehr auffallend, daß* — wie bereits bemerkt wurde — *in einzelnen Beobachtungen an Plättchen angereicherte Seren immunisierter Tiere eine ganz unverkennbare stärkere therapeutische Wirkung entfalteten als „einfache“ Sera der gleichen Versuchstiere.* Hierüber werde ich später noch eingehend berichten.

Theoretisch besteht die Möglichkeit, daß infolge des Infektionsprozesses enzymhemmende Potenzen, sog. Antienzyme, entstehen, für die wir allerdings eine — vielleicht nicht unbedingt erforderliche — Flüchtigkeit ihrer Existenz im Wirtsorganismus anzunehmen gewohnt sind. Oder aber, der Infektionsprozeß führt zu einer winzigen, aber physiologisch entscheidenden Substratänderung derart, daß das Virus

nunmehr nicht imstande ist, es anzugreifen. Dies wäre etwa identisch mit einer (erworbenen) atreptischen Immunität, wie sie *v. Baumgarten* für die natürlich gegebenen Immunitätszustände in Anlehnung an die *Ehrlichsche* Namengebung vertreten hat. Hiergegen spricht jedoch in unserem Falle vielleicht die außerordentliche Vielgestaltigkeit der dem *Proteus Rickettsia Prowazeki* als *Proteus* zugänglichen Nahrung. Er ist nicht so unbedingt wählerisch, wenn auch sein Spezialistentum innerhalb eines historischen Infektionsverhältnisses nicht zu unterschätzen ist. Nahe liegt die Annahme einer direkten Gegenwirkung gegen die Parasiten, an welcher die Plättchen stärker beteiligt zu sein scheinen, die jedenfalls im Plasma und Serum deutlich ist. Nun werden die eingesäten Keime meistens nicht allein an der Vermehrung gehindert, sondern man gewinnt gerade in den Fällen eines sehr ausgesprochenen Virusschwundes auch den Eindruck einer *Auflösung*, wenn ich solche auch nicht direkt beobachten konnte. Jedoch ist auch dies nicht bindend, denn wenn derartige Keime hungern, so ist es nach unseren Erfahrungen an anderen Mikroben nicht ausgeschlossen, daß schon der Nährmangel bei Brutschranktemperatur zu einer Auflösung führt. Immerhin ist es auffallend, daß so dichte Einsaaten, wie die von uns verwandten, vielfach binnen 24 Stunden spurlos verschwinden. Diese Erscheinung spricht sehr für eine Bakteriolyse des gewohnten Sinnes. Aber auch dieser Schluß muß berichtigt werden, weil, wie bereits angegeben wurde, eine ganz entsprechende Erscheinung im Citratplasma beobachtet wird, welches infolge unvollkommener Citrierung nachträglich gerinnt. Auch hier verschwindet die gleiche Viruseinsaat in der gleichen Zeit. *Also spricht diese Erscheinung nicht für eine aktive Lösung. Sie kann jedenfalls auch dadurch bewirkt werden, daß irgendeine Schädigung auf die Einsaat einwirkt. Damit aber wird zugleich für das Fleckfieber die Möglichkeit unmittelbar erwiesen, daß unter den gegebenen Bedingungen auch Hunger allein, Abschneidung von der Nahrungsquelle, die Auflösung des Virus in der Plasmakammer bewirkt, an der sich eigene bakterielle Fermente, das Blutplasma und die Körpertemperatur beteiligen können.*

Es darf natürlich nicht außer acht gelassen werden, daß unsere Prüfungsmethode nur einen eng umgrenzten Ausschnitt des Geschehens im Körper wiedergibt. Hier ist besonders die Ausschaltung des gesamten Zellapparates zu beachten. Desto klarer bringt diese Plasmakammeranordnung die rein humorale Leistung zur Abbildung, weil sie sich aus bereits früher erörterten Gründen den physiologischen Bedingungen, wie sie innerhalb der Capillargebiete herrschen, sehr nähert. Ich möchte daran erinnern, daß die Hemmung von Streptokokken die Anwesenheit von *Zellen* voraussetzt. Für sie glaubte ich, antifermmentative Immunleistungen geltend machen zu müssen, und brachte mit

ihnen auch die im Individuum flüchtige Immunität in nahen Zusammenhang. Beim Fleckfieber liegt bekanntermaßen das gegenteilige Phänomen einer meist lebenslänglichen Immunität *nach überstandener Krankheit* vor. Hier müssen also tiefgreifende und dauerhafte Veränderungen im Körper angenommen werden. Die Betrachtung der *Serumwirkung* ergänzt die bereits vorliegenden Beobachtungen.

Es gelingt auf verschiedene Art, Großtiere derart zu immunisieren, daß ihre Sera *Heilwirkungen* ausüben, wenn man sie kranken, bereits fiebernden Meerschweinchen einverleibt. Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß solche Versuchstiere bei bestimmten Arten der Immunisierung anscheinend selbst erkranken. Da diese langwierigen Versuche noch weiter ausgebaut werden, will ich mich hier darauf beschränken, einige Belege für diese Angabe zu geben, um später die therapeutischen Fragen, welche das Fleckfieber aufgibt, in anderem Zusammenhange zu behandeln.

In sehr günstigen Fällen bewirkte die intramuskuläre Einverleibung von 1,5 ccm Serum am 1. oder 2. Fiebertage eine kritische Entfieberung dauernden Charakters. Häufiger dagegen sieht man, daß der Fiebertypus in ähnlicher Weise beeinflußt wird, wie wir dies zuweilen bei vaccinierten Tieren beobachten: Das Fieber nimmt intermittierenden Charakter an oder es löst sich in einzelne Fieberzacken auf.

Passagevirus 4548.

4729	4780	4781	4782	
38	38,9	38,4	37,8	1.
38	38,3	38,3	38,4	2.
38,3	38,3	38,1	38,3	3.
38,2	38	38,4	38,1	5.
38,2	37,9	38	37,9	6.
39,2	39	38,3	39	7.
38,7	39	39,3	39,5	8.
39,3	39,4	39	39	9.
39,2	38,5	39,2	40	10.
39,5	38,6	39,1 ¹⁾	39,8	11.
39,4	38,8		39,2 ¹⁾	12.
39,2	38,5			
38,9	38			
38,2	38,3			
37,5	37,8			

¹⁾ Steril.

Passagevirus 4732.

4864	4865	4867	4868	4869
38	38,6	38	37,8	38,6
38,3	38,5	38,3	37,4	38,3
37,5	38	37,8	38,1	38,1
37,3	37	37,9	38,2	37,3
38,5	38	38	38,5	37,8
3 ccm Serum 1076 i.m.	38,9	39	38	3 ccm Serum 852 i.m.
	39,7	39,9	40	
38,5	38,7	39,7	38,9	37,9
38,8	39,1	39,7	39,8	39,4
38,3	39,5	39,1	39,2	38,4
38,5	39,6	39,3	39	37
39,2	39	38,4	39,5	39
38,1	38,3	38,2	38,4	37,8
38,3	38,2	37,7	38,6	38,3
39,2				38,5
38,8				

Für diese Versuche wurden stets größere Tierserien angelegt, so daß die Zahl der Kontrollen ein Vielfaches der Versuchstiere ausmachte. (Dargestellt sind stets nur Beispiele der gleichartigen Kontrolltiere!)

Ein und dasselbe Serum übt häufig innerhalb einer Versuchsreihe bei verschiedenen Versuchstieren eine differente Wirkung aus, wie die nachfolgende Kurve klar erkennen läßt.

Außerordentlich kräftige Wirkungen sah ich zuweilen von Seren, welche mit Plättchen angereichert waren. Diese in jeder Hinsicht schwierige Frage verfolge ich weiter. Besonders bei den kleinen Versuchstieren muß man nämlich recht vorsichtig in der Richtung sein, schnelle und vollkommene lytische Vorgänge auszulösen. Ich wies bereits darauf hin, daß dies sogar bei größeren Tieren stärkere Reaktionen bewirken kann als erwünscht ist. Bei Meerschweinchen ist mit diesem

einer Heilung entgegengesetzten Phänomen besonders zu rechnen.

Wenn auch die theoretische Erforschung der Fleckfieberimmunität noch eine sehr viel gründlichere Arbeit erfordert, als sie von uns gleichzeitig mit der Erforschung der Problematik der kulturellen Eigenart geleistet werden konnte, so geht doch aus den vorgetragenen Verhältnissen bereits einiges Wissenswerte hervor. *Eine wesentliche Ergänzung bringt der Umstand, daß auch solche Meerschweinchen, deren Fieberbewegungen durch Serumwirkung unterdrückt sind, noch eine ganze Reihe von Tagen Virus bergen derart, daß eine erfolgreiche Ver-*

Passagevirus 5303.				
5406	5408	5409	5410	5411
—	—	—	—	—
38	37,6	38,6	38	37,8
37,8	38	38,4	38,4	38,1
38,2	38	38	37,8	38,2
38	38,7	38,5	38,2	37,7
38,7	38,5	38,5	39,5	38,7
39,1	39,1	39 ¹⁾	39,2	39,5
39,4	39,4	37,8	38,8	39,6
39,4	40	38,1	38,9	39,3
39,3	40,1	37,5	39,1	39,7
39,1	39	38,4	39,3	39,3
39,1	38,9	38,3	38,5	39,5
38	39,5	37,9	38,4	—

¹⁾ 0,8 ccm angereichertes (Plättchen-) Serum i. m.

impfung auf weitere Tiere möglich ist. Wir sehen also hier genau die gleiche Erscheinung, wie wir sie im Gefolge einer ganz oder teilweise erfolgreichen Vaccination feststellten. Unser Eingriff beseitigt einige wichtige Krankheitssymptome, darunter die Fieberbewegung. Wir können wenigstens vermuten, daß dies so zustande kommt, daß fiebererzeugende Prozesse innerhalb des erkrankten Organismus durch unsere Eingriffe beschränkt oder beseitigt werden. Die Vollimmunität ist dann erst ein sekundäres Produkt. Bei der Vaccination tritt sie nach einer 2. Viruseinverleibung mit Sicherheit auf. Bei der Serumbehandlung natürlicher Infekte bildet sie sich im unmittelbaren Anschluß an die endgültig abgelaufene Infektion. Nachimpfungen haben gar keinen Erfolg. Virusvermehrungen finden in diesem Falle nicht mehr statt. Also läßt sich auch im Gegensatz zu manchen Fällen vaccinierten und reinfizierter Tiere bei der erneuten Infektion serumbehandelter Tiere aus diesen *kein Virus mehr auf neue Tiere übertragen.*

Wenn wir nun bedenken, daß auch Extrakte imstande waren, die besprochenen Wirkungen unvollkommener Immunisierung (latente Infektionen) herbeizuführen, so können wir jetzt wenigstens einen *Wahrscheinlichkeitsschluß hinsichtlich des vorliegenden Mechanismus ziehen*.

Die unsichtbaren Infekte, wie immer sie zustande kommen mögen, beruhen im wesentlichen auf einer *Fermenthemmung* des Parasiten. Es ist charakteristisch, daß sie *Olitzky* (Journ. of exp. med. 1922) *durch Organfiltrate hochinfizierter Tiere hervorgerufen hat*. Hier muß der Mechanismus derart sein, daß die Organextraktion und -filtration zugleich eine Virusextraktion bewirkt hat. *Diese Versuche stimmen also völlig zu unseren auf ganz anderem Wege gewonnenen Erfahrungen!*

Der Dauererfolg der *Vollimmunität* dagegen muß darauf beruhen, daß das gesamte Substrat verändert wird. Ob dies für bestimmte Blutplasma- und Zellstoffe, oder nur für diese dauernde Geltung hat, wird erst die Ausdehnung und Vertiefung unserer Untersuchungen lehren. Hierüber hoffe ich später ausführlich berichten zu können, wenn unsere Untersuchungen abgeschlossen sind.

Wir messen den erörterten physiologischen Verhältnissen deshalb eine so prinzipielle Bedeutung bei, weil es bisher kaum möglich ist, für irgendeinen Infektionsprozeß in strenger Form auszusagen, wodurch der Wirt eigentlich (chemisch) krank wird. Der Angriffspunkt der parasitären Waffen ist durchweg unbekannt; selbst bei Protozoen kennen wir eigentlich nur räumliche Beziehungen. Nur bei den reinen „Toxinbakterien“ liegt der Sachverhalt vielleicht etwas klarer, wenn auch z. B. beim *Di-Bacillus* die unerläßlichen Bedingungen der Toxinbildung nicht völlig geklärt sind und nur immer wieder (zuletzt v. *Wassermann* und *Ficker*, Zeitschr. f. Hyg. 35. 1922) klar wird, daß das Toxin der Nährböden und des Körpers identisch ist.

Unter dem erschütternden Eindruck der *Kochschen* Entdeckungen hat sich ein Studium der pathogenen Bakterien und Parasiten schlechthin entwickelt, welches in morphologischen, diagnostischen und therapeutischen Aufgaben und Lösungen wesentlichen Inhalt der Bakterienkunde erblickte, soweit sie Krankheiten des Menschen und der Tiere behandelt. Die Entdeckung immer neuer beschreibbarer Bakterienformen hat die ältere Richtung ganz überholt, welche im Virus etwas wie ein *Ferment* sah. Man kann den Wandel unserer Bedürfnisse kaum schärfer beleuchten, als wenn man sagt, daß wir heute die Umkehr erleben. Gewiß bleibt die Gestalt, die Zucht, die Diagnose der „Erreger“ wichtig, unerläßlich sogar; aber sie befriedigen unser wissenschaftlich kausales Bedürfnis gar nicht. Wir lernen in immer höherem Grade wiederum die überragende Bedeutung der fermentativen Prozesse kennen, und man kann ohne Übertreibung sagen, daß es für den klinisch tätigen

Arzt ganz gleichgültig hinsichtlich Krankheitserkenntnis und Bekämpfung ist, wie ein Keim aussieht, während es höchste Bedeutung für ihn besitzt, seine Fermente, seine Interferenz mit dem Stoffwechsel des Wirtes, seine schwachen Seiten kennenzulernen. Das Wesen der sog. Chemotherapie ist zum Teil sicher nichts anderes als (allerdings nicht immer planvolles) Studium dieser Beziehungen und ihrer Beeinflussung unter möglichst natürlich herstellbaren Bedingungen. *Duclaux* (Microbiologie 1898, T. 1) hat in dieser Hinsicht auf *Cl. Bernard* verwiesen, der bereits „in seinem intuitiven Genie“ gefordert hatte, die *physiologische Rolle eines Parasiten seiner pathogenen Leistung gegenüberzustellen* und sie zu vergleichen.

Damit wird aber ein heute noch gar nicht genügend gewürdigter Umstand bzw. ein Problem berührt, welches bei dem weiteren Studium der Pathogenie die größte Bedeutung haben dürfte. In den meisten Fällen züchten wir unter einer großen Breite der Lebensbedingungen; derart, daß sich der Keim aussuchen kann, was er will. Er kann seine Fähigkeiten spielen lassen. Wir züchten ihn *saprophytär*. Im Gegensatz hierzu schlägt ihn der Organismus in die Fesseln seines Leibes mit seinen zahllosen Hemmnissen durch natürliche Gegenwirkungen, Bedingungen der Atmung, Konzentration, der anderen physikalischen Beziehungen. Er engt in charakteristischer Weise seine allgemeinen Potenzen ein. Das Verhalten der verschiedenen Keime ist ein sehr verschiedenes. Manche ertragen beide Prozesse leicht und unmerklich. Sie kehren aus dem Körper ohne weiteres in unsere Bouillon zurück und umgekehrt. Andere verhalten sich hier zunehmend ablehnender. Sie gewöhnen sich an den einen oder anderen Zustand. Gewiß sind diese Verhältnisse erkannt und z. B. in der Strepto-Pneumokokkengruppe oft berücksichtigt worden, aber doch eigentlich nicht derart, daß die Bedeutung solcher „parasitärer Kulturen“, wie ich sie früher genannt habe, voll erkannt wäre, nämlich dahin, daß sie die unerläßlichen fermentativen Leistungen üben und erhalten, welche zum Wiedereintritt in das Infektionsverhältnis nötig sind.

Dies gilt in besonderem Maße für die große Gruppe der proteinangreifenden Bakterien, wie die Strepto-Pneumokokken und für unsere Fleckfieberproteuskeime. Hier wie dort besteht die Möglichkeit, daneben von sehr viel tieferen und daher unspezifischen Abbauprodukten zu leben. Dieser vikariierende Stoffwechsel, hier wie dort ein Aminosäurestoffwechsel, führt bei Streptokokken zu wesentlichen Einbußen in der Stärke und Qualität der Proteasenproduktion. So konnte ich zeigen, daß mit steigendem Aminosäuregehalt, ganz so wie mit steigendem Kohlenhydratgehalt, die Hämolyse graduell abnimmt. Und ausgedehnte Tierversuche haben mich zu der sicheren Annahme geführt, daß bei der Abwandlung hämolytischer Streptokokken in „grünwach-

sende“ innerhalb des immunisierten Organismus die *Hemmung der Proteasenwirkung* einen, wenn nicht den wesentlichen Faktor darstellt. Die genaue Verfolgung der histologischen Vorgänge beim Infektionsprozeß mit solchen Keimen läßt zwanglos die Vorstellung zu, daß hier ein entscheidender „Kampf“ zwischen den Bakterienfermenten und den Wirtskräften entsteht: von der reaktionslosen Nekrose durch Diffusion ungehemmter, weil überlegener Fermente bis zur völligen Abdröhlung aller bakteriellen Fermente, so daß ihre Träger zu „Fremdkörpern“ herabsinken, finden wir alle Übergänge.

Ganz ebenso verhält es sich mit dem Fleckfieber. Wahrscheinlich werden sich auch, gemäß der verschieden schweren Ausprägung der einzelnen Epidemien, verschieden „virulente“ Keime mit unterschiedenen histologischen Reaktionen finden lassen, wenn man erst auf diese Dinge genauer achten gelernt hat. Tatsächlich ist von allen sorgfältigen Beobachtern z. B. der sehr verschiedene Gehalt der Herdbildungen an Leukocyten hervorgehoben worden, den ich selbst immer wieder feststellen mußte. Ich werde später im Zusammenhange prüfen, wieweit dem prinzipielle Unterschiede auch in der Wucherungsform der Erreger beizuordnen sind. So erklären sich wahrscheinlich die bestehenden Unterschiede der Angaben zwischen *mir* einerseits, *Wolbach* und Mitarbeitern andererseits. Es ist heute noch nicht möglich, eine erschöpfende Pathogenese des Fleckfiebers zu schreiben. Aber die Analysen der histologischen Reaktionen werden unzweifelhaft in Verbindung mit der Physiologie des *Proteus Rickettsia* gestatten, eine solche in exakter Form zu begründen.

Uns nützt weder die *Kenntnis formaler Abläufe* im Fleckfieberkranken noch die bestimmter Kennzeichen des Fleckfiebersvirus. Wir müssen diese beiden notwendigen Akzidenzien verschmelzen. Zuvor aber müssen wir obendrein dafür Sorge tragen, daß die leere *Kenntnis* einzelner Data zu einer Erkenntnis bestimmter Naturvorgänge wird, indem wir uns die *notigen Begriffe* bilden. Es kann keinem unbefangenen Naturforscher entgehen, daß bisher mit dem Worte „*Rickettsia*“ sich kaum mehr verband als die Koordination gewisser mikroskopischer Bilder zu der infektionstüchtigen Laus. Dazu tritt die Zellinvasion der Darmwand (*da Rocha-Lima*). Sonst hatte man den üblichen Darstellungen zufolge fast nur *negative* Kenntnisse, so daß sogar *da Rocha-Lima* immer noch seine Zweifel an ihrer ätiologischen Bedeutung durchblicken ließ. Am Fleckfiebersvirus erhärtet sich aufs neue die übertragende Bedeutung der *Reinkultur*, welcher *Richter* einst eine so eindringliche Studie gewidmet hat (Bornträger 1907). Aber auch die Kultur bleibt ein Phantom, wenn sie uns nicht zu einem analytischen Instrument wird.

Nachtrag während der Drucklegung. Die in der voranstehenden Arbeit entwickelten pathogenetischen Vorstellungen haben in der kurzen verstrichenen Zeit einige nicht unwichtige Bestätigungen aus den Grenzgebieten der reinen Physiologie erhalten, auf die ich kurz verweisen möchte. Ich ging theoretisch davon aus, daß innerhalb der Sternzellen der Leber besonders günstige Stoffwechselleistungen des Wirtes anzunehmen seien. In einer Reihe von Arbeiten (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 1922 122) haben inzwischen *Kotake* und *Mori* sehr wahrscheinlich gemacht, daß in diesen Zellen eine *oxydative Desaminierung* von Aminosäuren anzunehmen ist. Andererseits habe ich selbst auf die *Wichtigkeit des Levintalprinzipes hingewiesen*. Dies ist für die erste Kultur nahezu unerläßlich, später mindestens vorteilhaft. Hierfür wurde eine Zusammenarbeit zweier Prinzipien als notwendig erachtet. Ein „autoklavstabiler“ Faktor wird von Aminosäuren geliefert, die mit Hilfe des „labilen“ Faktors der „Oxydase“ verbrannt werden. Dies ist aber mit dem gekennzeichneten endothelialen Prozeß *wesensgleich*. Interessanterweise hat soeben *Warburg* (Naturwissenschaften, 1923, S. 159) bei der vorläufigen Mitteilung seiner Versuche über die antikatalytische Wirkung der Blausäure darauf hingewiesen, „daß Aminosäuren gegenüber aktiviertem Sauerstoff empfindlich sind“, so daß hiermit ein gewichtiger Beweis für unsere Theorie des „hämoglobinophilen“ Wachstums gegeben erscheint. Tatsächlich gestatten auch anorganische oxydationskatalytisch wirksame Stoffe z. B. das Wachstum von Influenzabacillen. Daß diesem Faktor der *Fremdfermente* aber eine weit umfassendere Bedeutung zukommt, zeigt die wichtige Feststellung von *Carrel* (J. exp. med. 1922, 36), daß *Leukocytenextrakte* erfolgreich an die Stelle von embryonalen Gewebsextrakten zu treten vermögen. Auf Grund ausgedehnter Versuche halte ich es für sicher, daß auch in diesem Falle lediglich die *Fremdfermente* der wirksame *Wachstumsfaktor sind*. Diesem Wachstumsfaktor kommt aber im Rahmen tatsächlicher pathologischer Abläufe eine noch nicht voll zu wertende Bedeutung zu. An allen Orten akuter und chronischer Entzündung trifft man eine erhebliche „*Phagolyse*“, die ja bei *Metschnikoff* eine so große theoretische Rolle spielt. *Rössle* (D. Pathol. Ges. 1914, XVIII) hat bereits „gelegentlich *atypische Epithelwucherungen* über entzündeten Gebieten mit dem spezifischen Ödem und der starken Hyperämie“ in Verbindung gebracht. Es liegt viel näher, an die Überschwemmung solcher Bezirke mit Zelltrümmern nebst ihren Potenzen zu denken. Wie *Carrel* gedanklich von der Wundheilung ausgeht und so in vitro den Nachweis führt, daß Leukocytenextrakte ruhende Zellen zu höchstem Wachstum befähigen, wird auch im Säugerorganismus durch örtlichen Zerfall örtlich Zellvermehrung in ganz akuter Weise ausgelöst. Die Besonderheiten aber der *epithelialen Aktivierung* sollen in anderem Zusammenhange in Kürze erörtert werden.

Erklärung zu den Tafeln.*Tafel I.*

- Abb. 1. T.-e.-Passagetier 2114. Typische Veränderung der Leberendothelien, welche unter starker Vergrößerung stellenweise die Lichtung der Capillaren ausfüllen. Im Protoplasma zahlreiche Rickettsia-Einschlüsse, darunter auch verquollene Degenerationsformen. 3. Fiebertag Susa-fixierung. Paraffin. 4 μ . Giemsa. Zeiß 2 mm u. Ap. 1,4. K. Ok. 12 um $\frac{1}{8}$ verkl.
- Abb. 2. T.-e.-Passagetier 873. Entsprechendes Bild. Gleiche Technik.

Tafel II.

- Abb. 3. Paraffinschnitt der 7 Tage bebrüteten Milz des Passagetieres 1843. Kultura. Thrombusartige Wucherung des Virus in einem sinuösen Raum. Gewebskerne zum Teil ausgelaugt.
- Abb. 4. Das gleiche Kulturbild. Intracelluläre Virusvermehrung. Zellhypertrophie. Kernwucherung der endothelialen oder histiocytären Zelle. Das Protoplasma ist dicht und gleichmäßig mit Virus ausgefüllt. Optik. Zeiß Ap. Imm. 2 mm 1,4 K. Ok. 12 um $\frac{1}{10}$ verkl. Histologische Verarbeitung wie im Falle der Abb. 1 und 2.

Tafel III.

- Abb. 5. Ganz junge Kultur von Proteus Rickettsia Prowaczeki. Schrägagar. Ams-Serumagar. Etwa 20 helle tautropfenartige Kolonien. Am Boden Gehirn-Ringeremulsion. Passage 1 der originalen Einsaat durch Überkippen des ersten Röhrchens.
- Abb. 6. Passage 2 einer frischen Kultur. Gleichfalls dadurch gewonnen, daß der Gesamtinhalt des Röhrchens überimpft ist. Es hat sich ein zarter Rasen gebildet, aus dem einzelne Kolonien körnig hervorragen. Wo beim Schräglegen das Material die Agaroberfläche nicht genetzt hat, sieht man den spiegelnden Agar.
- Abb. 7. Typisches Bild einer proteolysierenden (gelb wachsenden) Viruskultur. Üppig schleimiges Wachstum. Aufhellung des Nährbodens durch Lösung der koagulierten Serumflocken.
- Abb. 8. T.-e.-Stamm 3699. P_1 auf feuchter Plattenkultur. Giemsa. Zeiß Ap. 2 mm n. Ap. 1,4. Komp. Ok. 18. Die Zusammensetzung der einzelnen Individuen aus azurophilen Granulis (1—2) und schwach basophiler, meist spitz ausgezogener Hüllschicht ist besonders deutlich.
- Abb. 9. T.-e.-Stamm 3648 P_1 auf Ams-Serumagar. 24 Stunden alte Kultur. Rickettsiaformen neben langen Fäden. In diesen meist paarig angeordnete azurophile Granula. Giemsa. Zeiß Ap. Imm. 2 mm 1,4. Komp.-Ok. 12.
- Abb. 10. T.-e.-Stamm 3699 P_1 auf Ams-Serumagar. Typisches Bild. Stark überfärbt. Giemsa. Zeiß Ap. Imm. 2 mm. K. Ok. 12.
- Abb. 11. T.-e.-Stamm 3649 auf Ams-Serumagar P_1 4 Tage bebrütet. Starke Proteolysinproduktion. Typisches Bild der degenerierenden Kultur. Giemsa. Zeiß Ap. 2 mm m. Ap. 1,4. Komp. Ok. 12. Man sieht wenige normale Individuen, viele Quell- und Ringformen, sehr viele ganz schwach färbbare Formen.
- Abb. 12. T.-e.-Stamm 3448 P_2 auf Ams-Serumagar 4 Tage bebrütet. Gramfärbung. In dieser Fuchsinfärbung kommen die degenerativen Verquellungen der alten Kulturen gut zum Ausdruck. Zeiß Ap. Imm. 2 mm. K. Ok. 12.