

**ERGEBNISSE
DER HYGIENE BAKTERIOLOGIE
IMMUNITÄTSFORSCHUNG UND
EXPERIMENTELLEN
THERAPIE**

FORTSETZUNG DES JAHRESBERICHTS
ÜBER DIE ERGEBNISSE DER IMMUNITÄTSFORSCHUNG

UNTER MITWIRKUNG HERVORRAGENDER FACHLEUTE

HERAUSGEGEBEN VON

PROFESSOR DR. **WOLFGANG WEICHARDT**
WIESBADEN

ZWEIUNDZWANZIGSTER BAND

MIT 42 ABBILDUNGEN



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1939

ISBN-13: 978-3-642-90532-2 e-ISBN-13: 978-3-642-92389-0
DOI: 10.1007/978-3-642-92389-0

**ALLE RECHTE, INSBESONDERE
DAS DER ÜBERSETZUNG IN FREMDE SPRACHEN,
VORBEHALTEN.
COPYRIGHT 1939 BY JULIUS SPRINGER IN BERLIN.
SOFTCOVER REPRINT OF THE HARDCOVER 1ST EDITION 1939**

Einführung.

Eine Darstellung des Standes der neuzeitlichen Di.-Schutzimpfung mit hochaktiven Impfstoffen stammt aus der klassischen Stätte der Messung des Di.-Schutzes, dem Frankfurter Institute für experimentelle Therapie, aus der Feder von R. PRIGGE.

Die Leben-Tod-Reaktion mit exakt naturwissenschaftlichen Mitteln zu verfolgen und mathematisch zu behandeln, ist von besonderem Reiz. H. SCHUBERT, Hygienisches Institut Königsberg, hat einen umfassenden Beitrag darüber geliefert.

Vor allem zu begrüßen ist es, daß die pathologisch-anatomische Seite der Influenzaforschung von J. WÄTGEN und KL. WASMUHT Bearbeitung findet, hat doch gerade in Halle gleichzeitig diese Forschung durch P. SCHMIDT und seine Mitarbeiter am hygienischen Institute neuerdings wesentliche Förderungen erfahren. Es dürfte also hier eine Darstellung des jetzigen Standes der Influenzfrage vorliegen, die nach allen Richtungen hin gesichert erscheint und dem wirklichen Geschehen wohl am nächsten kommt.

Aus dem Hygienischen Institute Breslau hat W. BLUMENBERG die neuesten Gesichtspunkte über die WEILSche Krankheit grundlegend dargestellt.

Große Erfahrungen über die Herstellung konzentrierter Heilsera hat D. v. KLOBUSITZKY gesammelt und legt sie in diesem Bande nieder. Wie aus der Darstellung von E. KALLERT ersichtlich „erfüllt das Gefrierfleischverfahren eine äußerst wichtige Aufgabe innerhalb der Ernährungspolitik der Regierung“. Eine Darstellung der Erfahrung, die bei Konservierung von Fleisch durch Einfrieren gemacht worden sind, war deshalb für unsere „Ergebnisse“ besonders wichtig.

Die Fortschritte der Kenntnisse auf immunbiologischem Gebiete werden stets Hand in Hand mit den Fortschritten gehen, welche die Eiweißchemie erreicht. Diese sind seit den klassischen Arbeiten E. FISCHERS und seiner Schule und seit den Arbeiten der KOSSELSchen Schule bekanntlich große, und wie sich zeigt, dauernd wachsende. E. DIRSCHERL, vom Institut für vegetative Physiologie, Frankfurt a. M., hat sich dadurch sehr verdient gemacht, daß er neue Gesichtspunkte auf diesem Gebiete übersichtlich darstellte.

Wiesbaden, im Februar 1939.

Der Herausgeber.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. PRIGGE , Professor Dr. R., Diphtherie-Schutzimpfung mit hochaktiven Impfstoffen. (Mit 13 Abbildungen)	1
II. SCHUBERT , Dr. H., Über bakterielle Absterbekurven. (Mit 4 Abbildungen)	69
III. WÄTJEN , Professor Dr. J. und Dr. Kl. WASMUHT , Über das Vorkommen von Influenzabacillen in epidemiefreier Zeit am laufenden Sektionsgut während eines Jahres. (Mit 11 Abbildungen)	138
IV. BLUMENBERG , Professor Dr. W., Über den neuesten Stand der Epidemiologie der WEILSchen Krankheit	168
V. VON KLOBUSITZKY , Privatdozent Dr. D., Theoretische und praktische Grundlagen der Herstellung von konzentrierten Immunsera. (Mit 12 Abbildungen)	238
VI. KALLERT , Dr. E., Die Konservierung von Fleisch durch Einfrieren. (Mit 2 Abbildungen)	308
VII. DIRSCHERL , Professor Dr. Dr. W., Wirksame Eiweißkörper und Peptide	347
Namenverzeichnis	380
Sachverzeichnis	387
Inhalt der Bände 1—22	393

I. Diphtherie-Schutzimpfung mit hochaktiven Impfstoffen¹.

Von

R. PRIGGE-Frankfurt a. M.

Mit 13 Abbildungen.

	Seite
Einleitung	1
I. Theorie und Methodik der Antigenmessung	2
1. Messung des spezifischen Substrates	2
2. Messung der antigenen Wirksamkeit	6
a) Theoretische Grundlagen	6
b) Methodik	11
c) Die Fehlerquellen der Methode	19
II. Die Entwicklung der hochaktiven Impfstoffe	25
1. Die älteren Impfstoffe	25
2. Die Steigerung der antigenen Wirksamkeit der Diphtherieimpfstoffe	27
a) Spezifische Aktivierung	27
b) Unspezifische Aktivierung	28
c) Die Aluminiumimpfstoffe	29
d) Die Fabrikationsverfahren	31
e) Der Mechanismus der Aktivierung	32
3. Art- und Typenspezifität der antigenen Wirkungen	34
III. Die Ergebnisse der mit hochaktiven Impfstoffen durchgeführten Schutzimpfungen	35
1. Die einzeitige Impfung	37
2. Die fraktionierte Impfung	43
3. Die nasale Impfung	50
4. Die aktiv-passive Immunisierung (Simultanschutzimpfung)	50
5. Die Immunisierung mit Mischimpfstoffen	52
IV. Nebenwirkungen der hochaktiven Impfstoffe	53
Literatur	55

Einleitung.

Obwohl die *aktive Schutzimpfung gegen Diphtherie* erst vor wenigen Jahren ausführlich in den „Ergebnissen“ behandelt worden ist², macht die inzwischen zustande gekommene rasche Entwicklung schon wieder eine Darstellung der neugewonnenen Ergebnisse erforderlich. Die kurze Frist hat genügt, um die früher in Deutschland angewandten *Impfstoffe* völlig zu verdrängen und an ihre Stelle *wesentlich wirksamere und ungefährlichere Präparate* zu setzen. Den Impuls, von dem diese Entwicklung ausgegangen ist, brachte die Auffindung einer *exakten Methode zur Messung der antigenen Wirksamkeit der Impfstoffe*.

¹ Auf Wunsch der Schriftleitung.

² BÜRGER'S, J.: Epidemiologie der Diphtherie und aktive Schutzimpfung, Bd. 17, S. 231. 1935.

I. Theorie und Methodik der Antigenmessung.

Alle bis jetzt bekanntgewordenen Diphtherieimpfstoffe enthalten als wirksames „Substrat“, d. h. als Träger der Wirksamkeit das spezifische *Toxin* des Diphtheriebacillus in irgendeiner ungiftigen Verbindung oder Modifikation. Die Entgiftung wird entweder durch Bindung des Toxins an das spezifische Antitoxin oder durch chemische und andere Einflüsse bewirkt. Die Aufgabe der Antigenmessung besteht *einerseits* in der Ermittlung der in den Impfstoffen oder in den Ausgangsprodukten enthaltenen *Menge* an spezifischem Substrat, *andererseits* in der Bestimmung der *Wirksamkeit* des Substrates. Die beiden Aufgaben dienen ganz verschiedenen Zwecken und müssen streng unterschieden werden, zumal sich gezeigt hat, daß bereits geringfügige Änderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften die Wirksamkeit einer bestimmten Substratmenge in außerordentlichem Maße verändern können.

1. Messung des spezifischen Substrates.

Es darf vorausgesetzt werden, daß die älteren Methoden zur Messung des Diphtherieantigens den Lesern der „Ergebnisse“ bekannt sind. Es sei daher nur daran erinnert, daß die Bestimmung des „direkten Giftwertes“, d. h. der tödlichen Dosis lediglich der Messung des in den Kulturfiltraten des Diphtheriebacillus enthaltenen Toxins dient. Das *Gesamtantigen*, d. h. die Summe des in den Filtraten enthaltenen Toxins und des aus ihm entstandenen ungiftigen Toxoids, wird dagegen durch Feststellung des „indirekten Giftwertes“ ermittelt. Als „indirekter Giftwert“ ergibt sich diejenige Filtratmenge, welche das Äquivalent einer Antitoxineinheit darstellt, sei es nun, daß man die Dosis bestimmt, welche durch 1 AE gerade neutralisiert wird (L_0 -Dosis), sei es, daß man die Menge ermittelt, welche in Mischung mit 1 AE eben noch eine tödliche Dosis freiläßt (L_4 -Dosis). Da sich Toxin und Toxoid in gleicher Weise an Antitoxin binden, ist die L_0 - bzw. die L_4 -Dosis kein Maß für die Toxizität eines Giftes. Bei verschiedenen Filtraten ist die Anzahl der auf eine L_4 -Dosis entfallenden tödlichen Dosen also ganz verschieden. Dagegen ist die *Summe* der gebundenen Gruppen (Toxin *plus* Toxoid) stets die gleiche (P. EHRLICH).

Als Indicator dient freilich auch bei der Ermittlung des „indirekten Giftwertes“ stets die Toxizität des Filtrates. Wenn man fallende Dosen Gift in Mischung mit einer gleichbleibenden Antitoxinmenge prüft, so erkennt man das Vorhandensein von überschüssigen Antigenmengen („Antigenspitzen“) an den Giftwirkungen des in ihnen enthaltenen Toxins. Eine Messung des Antigengehaltes läßt sich daher nur bei solchen Präparaten durchführen, welche nicht ausschließlich Toxoid, sondern auch unverändertes Toxin enthalten: eine Antigen spitze, die lediglich aus Toxoid besteht, ruft im Tierversuch keine sinnfälligen Reaktionen hervor.

An dieser Stelle setzt die neuere Entwicklung ein. Zur Messung des Antigengehaltes völlig entgifteter Präparate wurde der „*Bindungsversuch*“ ausgearbeitet. Man läßt Gemische, welche 2 Einheiten Antitoxin und fallende Mengen atoxischen Filtrates enthalten, bei geeigneter Temperatur einige Zeit „binden“, fügt dann eine L_4 -Dosis unverändertes Gift zu und spritzt die Mischungen unter die Haut von Meerschweinchen. Es zeigt sich dann, daß in den Gemischen, welche die größten Toxoidmengen enthalten, alles Antitoxin gebunden ist, so daß die

Versuchstiere innerhalb kürzester Zeit sterben. In Gemischen mit kleineren Toxoidmengen bleibt dagegen eine mehr oder minder große Antitoxinmenge zur Neutralisation des nachträglich zugesetzten Giftes übrig; die Versuchstiere erliegen der Vergiftung daher erst später oder bleiben ganz am Leben. Als L_B -Dosis oder Bindungseinheit wird diejenige Toxoidmenge bezeichnet, welche gerade 1 AE bindet bzw. 1 AE freiläßt, so daß die Versuchstiere in einer gewissen mittleren Zeit zugrunde gehen (BÄCHER, KRAUS und LÖWENSTEIN). Die L_B -Dosis läßt sich bei unveränderten Giften selbstverständlich ebenso bestimmen wie bei Toxoiden; sie ist ein „indirekter“ Giftwert wie die L_0 - und die L_T -Dosis und liegt in der gleichen Größenordnung wie diese, ist aber mit dem L_0 -Wert nicht identisch. Die Darstellung der komplizierten Verhältnisse, die hier bestehen (DANYSZ-Phänomen, Dissoziation), ist im Rahmen der vorliegenden Darstellung entbehrlich.

Als besonderer Fortschritt darf es gelten, daß auch eine *Reagensglasmethode* zur Messung des Antigengehaltes der Toxine und Toxoide entwickelt werden konnte, welche den Tierversuch in zahlreichen Fällen überflüssig macht. R. KRAUS hat bekanntlich gezeigt, daß *Präcipitate* entstehen, wenn man in die keimfreien Filtrate von Bakterienkulturen ein homologes Immuserum einbringt, während sich heterologe Sera als unwirksam erweisen. Auch zum Studium der antitoxischen Sera, insbesondere der Schlangengiftsera ist die Präcipitation von mehreren Autoren verwandt worden (G. LAMB; CALMETTE und MASSOL). Zur *Wertbemessung der Diphtheriesera* wurde die Präcipitationsreaktion zuerst von NICOLLE, CÉSARI und DEBAINS herangezogen; sie bestimmten den Wert nach der Bildung des Präcipitationsringes, der im Serum beim Überschichten über eine erstarrte Gelatine-Toxin-Lösung entsteht. Ebenso zeigte GEORGI, daß sich durch Zusatz cholesterinierter Organextrakte zu einer bestimmten Toxin-Antitoxin-Menge die Antikörperfunktion des Diphtherieserums als Flockung sichtbar machen läßt. RAMON (1, 2, 3, 4) hat das Verfahren sehr vereinfacht und durch eingehende Arbeiten seine Einführung in die Praxis der Wertbemessung des Diphtherietoxins, -toxoids und -antitoxins gefördert. Die Flockung tritt unter geeigneten Bedingungen bereits in einfachen Gift-Serum-Gemischen auf.

Die Natur der Reaktion ist noch nicht völlig geklärt. Ein Teil der Untersucher nimmt an, daß es sich wirklich um eine spezifische Toxin-Antitoxin-Flockung handelt, während andererseits gezeigt werden konnte, daß die Präcipitatbildung ausbleibt, wenn Gift und Serum von Lipoiden befreit sind. Der Niederschlag bestünde hiernach aus Lipoiden, in welchen die Toxin-Antitoxin-Verbindung niedergerissen wird. Der Wert der auf der Flockungsreaktion beruhenden Methoden zur Messung der Toxine und Antitoxine wird durch diese Unklarheiten in keiner Weise beeinträchtigt.

Das ausschlaggebende Moment bei dem von RAMON angegebenen Verfahren ist die *Erwärmung* der Toxin-Antitoxin-Gemische. Es wird meist nicht genügend beachtet, daß eine sichtbare Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin auch bei niedriger Temperatur auftritt, allerdings meist nicht in Form einer eigentlichen „Flockung“. Immerhin kommt es bei der Prüfung hochwertiger Toxine in Zimmertemperatur zu einer leicht erkennbaren feinen Präcipitation, die dem unbewaffneten Auge zumindest als Trübung erscheint, und zu allmählicher *Sedimentation* des Präcipitates (s. Abb. 1). Die Trübung ist um so geringer, je geringwertiger die untersuchten Toxine sind, und ist bei schwachen oder verdünnten Giften nicht mehr deutlich wahrnehmbar. Eine charakteristische,

grobe Ausflockung tritt dagegen auf, wenn die Gemische *erwärmt* werden, am besten auf 37—40° C oder höher (bis 50°).

Die Reaktion wird sowohl durch einen Überschuß von Antitoxin wie von Toxin gehemmt; stellt man also Gemische her, welche gleiche Mengen Toxin oder Toxoid und fallende Mengen Antitoxin enthalten, so beobachtet man ein typisches *Zonenphänomen*, wie es für kolloidale Reaktionen charakteristisch ist. Innerhalb der „Zone“ tritt die Flockung nicht in allen Gemischen zur gleichen Zeit auf, sondern es kommt in einem bestimmten Gemisch zur „*Initialflockung*“. In den Gemischen, welche „*Initialflockung*“ geben, sind Toxin und

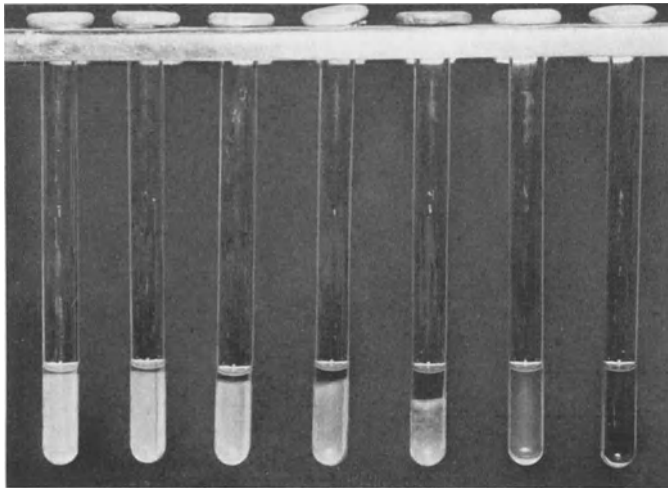


Abb. 1. Trübung und Sedimentation in nichterwärmten Toxin-Antitoxin-Gemischen (im 5. Röhrchen von links keine Flockung, sondern Schichtenbildung).

Antitoxin etwa im gleichen Verhältnis enthalten wie in den für Versuchstiere „neutralen“ Mischungen.

Auf der Initialflockung beruht die Messung des Antigengehaltes der Toxine und Toxide. Als L_f -Dosis (GLENNY) oder Flockungseinheit wird diejenige Toxin- bzw. Toxoid-Menge bezeichnet, welche mit 1 AE die Initialflockung gibt. Findet man z. B., daß zur Erzeugung der Initialflockung in 20 ccm Gift 160 AE erforderlich sind, so enthält das Gift in 1 ccm 8 L_f bzw. in 0,125 ccm 1 L_f .

RAMON verwandte zur Antigenmessung ursprünglich Mengen von 20 ccm Gift oder Toxoid. Die Erfahrung in zahlreichen Laboratorien hat aber gezeigt, daß man mit Mengen von 10, 5, 2 oder gar 1 ccm befriedigende Resultate gewinnt, namentlich wenn man die mit den verschiedenen Gemischen beschickten Röhrchen in der Weise im Wasserbad erwärmt, daß sich nur zwei Drittel der Flüssigkeitssäule unterhalb des Wasserspiegels befinden. Da der oberhalb des Spiegels befindliche Teil der Flüssigkeitssäule geringere Temperatur besitzt, kommt es zu einem Wirbel, in dem die auf- und absteigenden Flocken besonders deutlich zu erkennen sind (S. SCHMIDT, MÖRCH, RENAUX, SCHOLZ u. a.).

Ein erhöhter Grad von Genauigkeit läßt sich erzielen, wenn man den Messungen nicht nur die Initialflockung, sondern das gesamte *Flockungsdiagramm* zugrunde legt (PRIGGE und KLINCKHART, ined.). Das Versuchsergebnis hängt bis

zu einem gewissen Grade davon ab, in welcher Weise die Antitoxindosen abgestuft sind, die zum Gift zugesetzt werden. Je nach der Versuchsanordnung kann die Initialflockung bei recht verschiedenen Werten gefunden werden; es kommt auch vor, daß zwei Gemische, deren Antitoxingehalt vom optimalen Wert nach oben und unten ungefähr um den gleichen Betrag abweicht, etwa gleichzeitig flocken. Tabelle 1 erläutert diese Verhältnisse. Man könnte nun versuchen, die Serumdosen im kritischen Gebiet wesentlich dichter anzuordnen und die durch die Zufälligkeiten der

Abstufung bedingten Fehler zu verkleinern, indem man prüft, welches Gemisch einen kleinen zeitlichen Vorsprung der Flockung erkennen läßt. Es hat sich aber gezeigt, daß sich nicht mehr genau unterscheiden läßt, in welchem Gemisch die Flockung zuerst auftritt, wenn man das Dosenintervall allzu klein wählt. Günstiger liegen die Verhältnisse dagegen an den Rändern der Zone; kleine Unterschiede in der Dosis bedingen hier stärkere zeitliche Verschiebungen im Auftreten der Flockung, die bei sorgfältiger Beobachtung nicht zu übersehen sind. Werden also alle Serumdosen gleichmäßig um einen kleinen Betrag geändert, so ändert sich bei den in der Nähe des Optimums gelegenen Gemischen das Ergebnis nur wenig, bei den übrigen dagegen sehr deutlich (s. Tab. 1). Bei der Aufzeichnung kommt man so zu recht verschiedenen Flockungsdiagrammen.

Tabelle 1. Flockung eines Diphtheriegiftes durch Diphtherieantitoxin bei verschiedener Dosenfolge (schematisiert).

Ablesung nach Minuten	Antitoxineinheiten				
	9	8,1	7,3	6,6	5,9
90			+	+	
95			++	++	
105		±	+++	+++	
	8,8	7,9	7,1	6,4	5,8
90			+	+	
95			++	+	
105		+	+++	++	
	8,7	7,8	7,0	6,3	5,7
90			+		
95		±	++	±	
105		++	+++	++	
	8,6	7,7	6,9	6,2	5,6
90			+		
95		+	++		
105		++	+++	+	
	8,5	7,6	6,8	6,1	5,5
90		±	+		
95		+(+)	++		
105		++	+++	+	

Um möglichst genaue Resultate zu gewinnen, geht man in der Weise vor, daß man gleichbleibende Toxoid- bzw. Toxin-Mengen (z. B. 1 ccm) mit *geometrisch abgestuften Antitoxindosen* mischt und die Gemische auf gleiches Volumen (z. B. 1,1 ccm) bringt. Die Dosenfolge wird so oft geändert, bis sich ein symmetrisches Flockungsdiagramm ergibt (s. Tabelle 1, 3. Versuch). Auf diese Weise beträgt der Fehler der Methode nur etwa 2%.

Die als „Indicator“ dienende Diagrammform kann natürlich willkürlich gewählt werden; sie muß nicht unbedingt symmetrisch sein. Nur muß man bei allen Titrationen die gleiche Diagrammform beibehalten, um streng vergleichbare Werte für die Initialflockung zu erhalten. Darüber hinaus dürfte die symmetrische Diagrammform aber auch das tatsächliche Optimum, also die „wahre“ Initialflockung anzeigen. Es sei *ausdrücklich darauf hingewiesen*, daß das Flockungsdiagramm nur in seinen *oberen Abschnitten*, d. h. während der ersten Zeit nach Eintritt der Initialflockung *symmetrische Form* zeigen kann. Werden die Gemische längere Zeit erwärmt, so verbreitert sich die Zone nach links hin — also in den Röhren mit Antitoxinüberschuß — *schneller* als nach rechts

(DEAN und WEBB); die breiteren *unteren* Abschnitte des Diagrammes werden hierdurch stets *asymmetrisch*, und zwar auch dann, wenn die Antitoxindosen geometrisch abgestuft sind. —

Die Sedimentierungsgeschwindigkeit der in nichterwärmten Toxin-Antitoxin-Gemischen sich bildenden feinen Präcipitate ist um so größer, je geringer die in den Gemischen enthaltene Antitoxinmenge ist; jedoch bleibt die Sedimentierung in allzu stark unterneutralisierten Gemischen ganz aus. *Das Maximum der Sedimentierungsgeschwindigkeit fällt nicht mit dem Maximum der Flockungsgeschwindigkeit zusammen.* Bei dem in Abb. 1 wiedergegebenen Versuch enthielten die Röhren von links nach rechts:

	Toxin ccm	Antitoxin (Vol.: 0,2 ccm) AE
1.	1,0	220
2.	1,0	175
3.	1,0	140
4.	1,0	110
5.	1,0	90
6.	1,0	70
7.	1,0	55

Die Sedimentierungsgeschwindigkeit der in den *nichterwärmten* Gemischen gebildeten Präcipitate war im 5. Röhren am größten; die Initialflockung trat dagegen — auf die nachträglich vorgenommene Erwärmung hin — im 4. Röhren auf (das Gift enthielt etwa 110 L_f/ccm).

Auch die Trübungszone fällt nicht mit der Flockungszone zusammen, wenigstens nach links hin. In stark überneutralisierten Gemischen, welche noch deutliche Trübung zeigen, tritt — selbst nach lang dauernder Erwärmung der Gemische — keine Flockung mehr ein.

Die weitere Verfolgung der beschriebenen Divergenzen, die sich nur mit hochwertigen Toxinen (> 30 L_f/ccm) einwandfrei studieren lassen, verspricht eine Vertiefung unseres Einblickes in den Mechanismus der Toxin-Antitoxin-Bindung.

2. Messung der antigenen Wirksamkeit.

a) Theoretische Grundlagen.

Auf Grund eines sehr verbreiteten Irrtums wird vielfach angenommen, das *Ziel biologischer Messungen* sei die quantitative Bestimmung irgendwelcher für den Organismus wichtigen Substanzen, die mit chemischen Methoden nicht oder nicht zuverlässig nachgewiesen werden können. Jedoch ist das Problem hierdurch nur einseitig gekennzeichnet. Zum Beispiel lassen sich die in den Diphtherieantigenen enthaltenen Mengen an *spezifischem Substrat* mit Hilfe der *Flockungsreaktion* sehr genau und in sehr einfacher Weise bestimmen. Von allergrößter Wichtigkeit ist es dagegen, sich klarzumachen, daß durch Messung des spezifischen Substrates nicht allzuviel gewonnen ist, weil *ein und dieselbe Substratmenge ganz außerordentlich verschiedene Wirksamkeit* besitzen kann. So konnte die Wirksamkeit eines Impfstoffes durch Zusatz einer kleinen Menge Kalialaunlösung derartig gesteigert werden, daß 48 von 50 = **96%** der behandelten Tiere durch eine bestimmte Dosis immunisiert wurden, während die *gleiche* Impfstoffdosis *ohne* Kalialaun nur bei 8 von 50 = **16%** der Tiere die erstrebte Immunität erzeugte (s. S. 29). Der eigentliche Sinn der Messung von Antigenen kann also nur darin bestehen, uns über die *Wirksamkeit* der Impfstoffe zu belehren. Und gerade dieses Ziel mußte erreicht werden, wenn das Ergebnis der Laboratoriumsarbeit dahin führen sollte, daß die Messungsergebnisse dem *praktischen Arzt* bei der Anwendung der Impfstoffe genau so als zuverlässige Wegweiser dienen, wie er dies seit Jahrzehnten bei den Heilseren gewohnt ist.

Diesen Darlegungen entsprechend hat eine Methode, mit deren Hilfe die „Bewertung“ der Diphtherieimpfstoffe durchgeführt werden soll, nicht das spezifische Substrat, an welches die Immunisierungskraft der Impfstoffe

gebunden ist, sondern die *Wirksamkeit* zu messen, welche den Impfstoffen bzw. den in ihnen enthaltenen Substraten zukommt.

Ein einfaches Beispiel wird erläutern, was gemeint ist. Wenn wir 1 kg Eisen *wägen*, das eine Temperatur von 0° C besitzt, so finden wir genau das gleiche Gewicht, welches wir bei der Wägung von 1 kg Eisen ermitteln, das eine Temperatur von 100° C besitzt. Die *Substratmengen*, die gewogen werden, sind also in beiden Fällen die gleichen. Wenn es sich aber darum handelt, den *Energiegehalt* der beiden Eisenstücke zu ermitteln, so finden wir im zweiten Fall einen sehr viel höheren Wert.

In eigentümlicher Verknüpfung dieses Sachverhaltes wird die „eigentliche antigene Wirksamkeit“ („pouvoir antigène intrinsèque“, „valeur antigène intrinsèque“) dem Gehalt der Impfstoffe an spezifisch-präcipitabler Substanz vielfach gleichgesetzt; ja die beiden, so heterogenen Begriffen entsprechenden Bezeichnungen wurden nicht selten geradezu als Synonyma verwandt! Der Hinweis auf diese irrtümliche Gleichsetzung dürfte genügen, um weitere Verwechslungen unmöglich zu machen. —

Die *laufenden „Messungen“* der Wirksamkeit, die bei der Herstellung und Prüfung der Diphtherieimpfstoffe vorgenommen werden müssen, können selbstverständlich nicht am Menschen, sondern nur im *Tierversuch* durchgeführt werden, ebenso wie die Wertbestimmung zahlreicher anderen pharmakologisch und serologisch wichtigen Präparate vom Tierversuch auszugehen hat. Trotz mancher Einwände, welche den *Unterschied zwischen Mensch und Versuchstier* an *falscher* Stelle in Ansatz bringen, hat sich immer wieder gezeigt, daß die sichere klinische Anwendung der Digitalispräparate, des Insulins, des Salvarsans, der Sexualhormone, des Diphtherie- und Tetanusantitoxins und vieler anderen biologisch wirksamen Substanzen dadurch gewährleistet ist, daß die Wirksamkeit jedes einzelnen Ansatzes *im Tierversuch gemessen* wird. Die Voraussetzungen, die hier gültig sind, treffen auch für die Diphtherieimpfstoffe zu. Darüber hinaus darf festgestellt werden, daß diese Impfstoffe — ebenso wie die Mehrzahl der erwähnten Heilmittel — sogar ihre *Entdeckung* nur dem Tierversuch zu verdanken hatten.

Die Theorie der Messung von biologisch wirksamen Substanzen ging von der unausgesprochenen Voraussetzung aus, daß die *Tiere einer bestimmten Spezies auf gleiche Reize ziemlich gleichartig reagieren*. Diese Voraussetzung fand bei einer Reihe von Drogen und bakteriellen Toxinen, z. B. beim Salvarsan und beim Tetanospasmin, in analoger Weise auch bei verschiedenen antitoxischen Seren, ihre Bestätigung durch die Erfahrung, daß eine genau bemessene Dosis bei sämtlichen Versuchstieren eine bestimmte Wirkung, etwa den Tod, hervorruft, während sich bereits eine etwas geringere Dosis regelmäßig als unwirksam erweist, also alle Tiere am Leben läßt. Es ist ohne weiteres möglich, derartige Substanzen mit Hilfe des „einfachen Reihenversuches“ sehr genau zu *titrieren*. Hierzu wird die Wirksamkeit von abgestuften Dosen jeweils an einem einzelnen Tier geprüft und so der *Grenzwert* ermittelt, bei welchem der Tod eben noch eintritt bzw. nicht mehr eintritt.

Seit langem ist es allerdings bekannt, daß die Versuchstiere nur *annähernd* gleichartig reagieren und daß gewisse *individuellen Unterschiede* zwischen ihnen bestehen. Beim einen Tier benötigt man etwas mehr, beim anderen etwas weniger wirksame Substanz, um den erwarteten Effekt herbeizuführen. Hierdurch ist es bedingt, daß sich der obenerwähnte Grenzwert nicht völlig scharf bestimmen läßt und daß sich eine Dosis, die sich im einen Versuch als unwirksam erwiesen hat, bei der nächsten Prüfung gerade noch wirksam zeigen kann, wenn das

betreffende Versuchstier etwas empfindlicher ist. Man findet also im zweiten Falle einen etwas niedrigeren Wert als im ersten Fall.

Ein nennenswerter Fehler ist jedoch bei der Anwendung des „einfachen Reihenversuches“ nicht zu erwarten, wenn die Dosis, welche nur die empfindlichsten Tiere tötet oder überhaupt nicht mehr wirksam ist, und die Dosis, welche auch bei den widerstandsfähigsten (und somit bei *allen*) Individuen tödlich wirkt, sich nur wenig unterscheiden. PRIGGE und HARTOCH konnten zeigen, daß der Fehler höchstens + 11 bzw. — 10% des wahren Wertes beträgt, wenn diese beiden Dosen nur um 10% auseinanderliegen, d. h. wenn die einzelnen Individuen in ihrer Empfindlichkeit nicht sehr verschieden sind. Sie wiesen aber nach, daß *der Fehler des einfachen Reihenversuches außerordentlich groß wird, wenn die Spanne zwischen den erwähnten Dosen zunimmt*. Wenn die für alle Tiere wirksame Dosis (dosis certe letalis minima) z. B. viermal so groß ist wie die für alle Tiere unwirksame Menge (dosis certe tolerata maxima), so kann der Fehler + 300 bzw. — 75% des wahren Wertes ausmachen. Man kann unter diesen Umständen Überleben oder Tod des *einzelnen Versuchstieres* nicht mehr als Indicator für einen bestimmten Wert verwenden.

Wie sich gezeigt hat, liegen die Verhältnisse auch bei der Messung der Wirksamkeit von *Antigenen* so ungünstig, daß der einfache Reihenversuch durchaus versagt. Für die Meerschweinchen einer großen Frankfurter Tierfarm ergab sich, daß man zum Schutz der am besten beeinflussbaren Tiere nur etwa den 30000. Teil der Impfstoffmenge benötigte, die zum Schutz der „lässigsten“ Tiere erforderlich war. Dosen, die zwischen diesen beiden Grenzwerten lagen, erwiesen sich je nach der Individualität beim einen Versuchstier als wirksam, beim anderen als unwirksam. Unter solchen Bedingungen ist es nicht möglich, mit einzelnen Tieren auch nur annähernd genau die Dosis festzulegen, welche gerade Schutz gegen die Vergiftung mit einer bestimmten Toxindosis erzeugt. Derartige Versuche würden nicht nur völlig „unregelmäßige“ Reihen ergeben, sondern würden bei Wiederholung auch jedesmal ein ganz anderes Resultat liefern (PRIGGE und HARTOCH).

Der Weg, auf welchem die Überwindung dieser Schwierigkeiten gelang, war durch die von FECHNER geschaffene *Kollektivmaßlehre* gewiesen. Indem PRIGGE (5, 9) experimentell prüfte, welche Antigenmengen zur Immunisierung der Individuen einer großen Meerschweinchenpopulation erforderlich waren, konnte er feststellen, daß die *Immunisierbarkeit der Tiere im ganzen genommen einer einfachen Gesetzmäßigkeit unterliegt*.

Eine Vorstellung vom Wesen dieser Gesetzmäßigkeit gewinnt man, wenn man sich der berühmten Messungen entsinnt, die JOHANNSEN an Bohnen durchgeführt hat. Die Länge von 12000 Bohnen wurde gemessen, und auf Grund der Messungsergebnisse wurden die Bohnen in *Klassen* eingeteilt. Dabei ergab sich, daß sehr kleine, 17—18 mm lange und sehr große, 32—33 mm lange Bohnen richtige Seltenheiten waren. Bohnen von 18—19 und von 31—32 mm Länge waren schon weniger selten. 19—20 und 30—31 mm lange Bohnen waren wieder etwas häufiger, und so nahm die Zahl der in die einzelnen „Klassen“ gehörigen Bohnen um so mehr zu, je mehr sie sich einer gewissen durchschnittlichen Länge von etwa 25 mm näherten. Diese Verhältnisse lassen sich in sehr einfacher Weise zeichnerisch darstellen, indem man die Zahl der in jeder Einzelklasse gefundenen Bohnen durch Rechtecke wiedergibt; je mehr Bohnen in einer Klasse gefunden

wurden, desto größer wird das betreffende Rechteck. Reiht man die Rechtecke entsprechend der Länge der zugehörigen Bohnen hintereinander, so fügen sie sich zu einer Reihe zusammen, welche bis zum Durchschnittswert zunächst steigt und dann wieder fällt. Man gewinnt also eine *symmetrische Figur*, deren obere treppenartig an- und absteigende Begrenzung sich um so mehr einer glockenförmigen *Kurve* nähert, je feiner die Klasseneinteilung durchgeführt wird und je mehr Bohnen untersucht werden. Die Kurve, um die es sich hierbei handelt, wird als „normale“ oder (wegen ihrer Beziehung zum „binomischen“ Lehrsatz der Mathematik) „binomiale“ *Verteilungskurve* bezeichnet.

Eine Gesetzmäßigkeit, wie sie für die „Verteilung“ der Bohnen nach ihrer Länge gilt, trifft nun auch für die Verteilung der Meerschweinchen nach ihrer Immunisierbarkeit bzw. nach der *Größe der zu ihrer Immunisierung erforderlichen Impfstoffdosis* zu. Freilich läßt sich nicht feststellen, welche Antigendosis zur Immunisierung des einzelnen Meerschweinchens erforderlich ist. Trotzdem ist es ohne weiteres möglich zu prüfen, in welcher Weise ein Tiermaterial aus Individuen verschiedener Immunisierbarkeit zusammengesetzt ist, und diese Verteilung genau so wie in dem oben beschriebenen Beispiel zu analysieren. *Die Grundlage hierfür bietet ein von KISSKALT bereits im Jahre 1915 entwickeltes Prinzip, dessen außerordentliche Bedeutung für die Pharmakologie und Immunbiologie lange Zeit nicht erkannt wurde und dessen Fruchtbarkeit auch heute noch bei weitem nicht erschöpft ist.* Um das KISSKALTSche Prinzip anwenden zu können, hat man zunächst die „*Wirkungskurve*“ der in Betracht kommenden biologisch wirksamen Substanz zu ermitteln. Man injiziert verschiedenen Gruppen (Kollektiven) von Meerschweinchen steigende Antigenmengen, welche zwischen der für alle Tiere unwirksamen und der für alle Tiere wirksamen Dosis liegen (jedes Tier erhält nur *eine* Antigeninjektion), und prüft, in welcher Weise der Prozentsatz der gegen eine bestimmte Toxindosis geschützten Tiere von 0—100% mit der Antigendosis steigt. Stellt man den Prozentsatz der geschützten Tiere als Funktion der Antigendosis in üblicher Weise graphisch dar, so erhält man eine *f*-förmige, nicht ganz symmetrische, nach rechts oben stärker ausladende Kurve, die „*Wirkungskurve*“ des betreffenden Impfstoffes. Diese läßt zwar erkennen, wie hoch der Prozentsatz der *sämtlichen* auf eine bestimmte Antigendosis reagierenden Tiere ist, zeigt aber nicht den Prozentsatz derjenigen Tiere an, bei denen gerade die angewandte Dosis — nicht mehr, aber auch nicht weniger — zur Erzielung des Schutzes nötig ist. Dieser läßt sich jedoch ermitteln — und hierin beruht das Prinzip von KISSKALT —, indem man von dem aus der Wirkungskurve zu entnehmenden Prozentsatz der auf irgendeine Dosis reagierenden Tiere den Prozentsatz der auf eine kleinere Dosis reagierenden Tiere abzieht. Man erfährt so, wieviel Tiere gerade eben auf Dosen reagieren, die innerhalb eines bestimmten Intervalles liegen.

Wie PRIGGE (9) nach diesem Verfahren feststellen konnte, waren Tiere, zu deren Immunisierung Antigendosen von 1/625—1/125 SE (Schutzeinheit, Definition s. S. 13) ausreichend waren, sehr selten. Tiere, die durch Mengen von 1/125—1/25 SE bzw. von 1/25—1/5 SE geschützt werden konnten, kamen häufiger vor. Den größten Anteil bildeten die Tiere, die mit Antigendosen von 1/5—1 SE immunisiert werden konnten, während Tiere, die noch höhere Impfstoffmengen — 1—5, 5—25 oder gar 25—125 SE — benötigten, wieder weniger häufig waren.

Die Verteilungskurve, die auf diese Weise gewonnen wurde, entspricht vollauf der oben erwähnten Glockenkurve (s. Abb. 2). Diese Übereinstimmung ist jedoch, wie man leicht erkennt, nur durch die von der üblichen Darstellungsweise abweichende Abgrenzung der einzelnen Klassen erreicht. Den Erbbiologen ist seit langem bekannt, daß zahlreiche biologischen Verteilungen eine mehr oder weniger beträchtliche „Schiefheit“ aufweisen. *Eine sehr erhebliche Schiefheit würde sich auch geltend machen, wenn die beschriebenen Untersuchungsergebnisse in der üblichen Weise dargestellt würden.* Jedoch hat bereits FECHNER, der Begründer der Kollektivmaßlehre, erkannt, daß die Schiefheit biologischer Verteilungen bei Anwendung eines *logarithmischen Maßstabes* vielfach verschwindet.

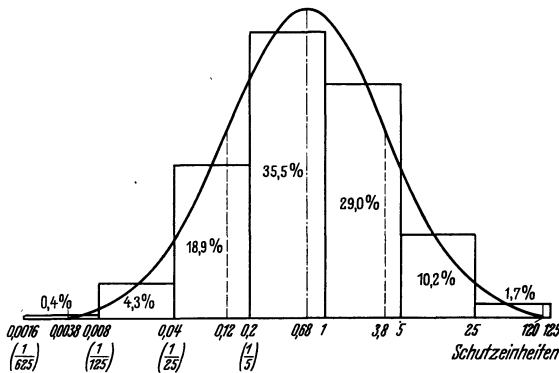


Abb. 2. Immunisierbarkeit von Meerschweinchen gegen Diphtherietoxin. Verteilung der Immunisierbarkeit beim Frankfurter Tiermaterial. Versuch vom Juli 1933. (Schematische Darstellung.)

Dieses Verfahren, das bei der Bearbeitung der verschiedensten Probleme mit Vorteil benutzt wurde (KARSTEN, WIECHOWSKI, KROGH und HEMMINGSEN, TREVAN u. a.), ließ auch bei der Darstellung der Immunisierbarkeitsverteilung eine *symmetrische Anordnung* erkennen.

Die Einsicht, daß die Unterschiede in der Immunisierbarkeit, welche zwischen den Individuen einer großen Tierpopulation bestehen, einer einfachen, für zahlreiche anderen

biologischen Merkmale gültigen Gesetzmäßigkeit entsprechen, wurde auf einem Wege gefunden, welcher die direkte Umkehrung des in der Erbbiologie üblichen Weges darstellt. Die Genetiker befinden sich in der vorteilhaften Lage, beim einzelnen Individuum das untersuchte Merkmal messen zu können. Auf Grund dieser Messungen werden ähnliche Individuen („Varianten“) in Klassen zusammengefaßt und wird das jeweils gültige Verteilungsgesetz gefunden. Aus der Verteilung ergibt sich nach einem in den größeren Lehrbüchern der Erbbiologie beschriebenen Verfahren durch die von einer Klassengrenze zur nächsten fortgesetzte Summation der Varianten die „Aufzählungskurve“ oder „Summenkurve“ bzw. „Ogive“ (GALTON, JOHANNSEN). Es versteht sich von selbst, daß sich aus der „Summenkurve“ auch rückwärts wieder die Verteilungskurve ableiten läßt. *Wesentlich und neuartig* ist nun die von KISSKALT begründete Erkenntnis, daß die „Wirkungskurven“, welche den Prozentsatz der in alternativer Weise, d. h. durch den Eintritt bzw. das Ausbleiben eines Phänomens (Tod, Krämpfe usw.) reagierenden Individuen als Funktion der angewandten Dosis darstellen, nichts anderes als „Aufzählungskurven“ sind und einen Einblick ermöglichen, wie die Individuen des geprüften Tiermaterials hinsichtlich ihres Reaktionsvermögens gegenüber der angewandten biologisch aktiven Substanz verteilt sind¹.

¹ Es gibt auch Wirkungskurven, welche *nicht* als Aufzählungskurven aufgefaßt werden können [PRIGGE (5, 11)].

Dabei ist zu berücksichtigen, daß die besondere *Form* der Wirkungskurve durch die jeweilige Art der Verteilung eindeutig bestimmt ist. Auf das Bestehen einer symmetrischen oder „normalen“ Verteilung darf nur dann geschlossen werden, wenn die Wirkungskurve symmetrisch oder „normal“ ist. Es konnte nun experimentell nachgewiesen werden, daß *die unter Verwendung eines logarithmischen Dosenmaßstabes gewonnene „Wirkungskurve“ der Diphtherieimpfstoffe einer „normalen“ Aufzählungskurve entspricht* (PRIGGE 5, 6). Hieraus ergab sich, daß auch die *Verteilung der Individuen nach der zu ihrer Immunisierung erforderlichen Antigendosis einer „normalen“ Binomialkurve entspricht, sofern man die Antigendosen in logarithmischem Maßstabe abträgt* (s. Abb. 2).

Dieser Sachverhalt hat einerseits — wie im nächsten Abschnitt näher ausgeführt wird — die Methodik der Antigenmessung sehr vereinfacht und hat andererseits noch einen bedeutungsvollen Zusammenhang zwischen immunbiologischen und *physiologischen* Tatsachen erkennbar gemacht. SCHÄFER (1) konnte nämlich in überzeugender Weise dartun, daß *eine normale Verteilung bei Anwendung eines logarithmischen Dosenmaßstabes nur dann zustande kommen kann, wenn für die Beziehung zwischen der Antigendosis und dem Immunitätsgrad des Einzeltieres das WEBER-FECHNERSche „psychophysische Grundgesetz“ gilt*.

Auf immunbiologische Verhältnisse übertragen ist das WEBER-FECHNERSche Gesetz etwa folgendermaßen zu formulieren: „Die Differenzen der Immunitätsgrade, die bei einem Individuum je nach der Größe der angewandten Antigendosis zu erwarten sind, sind proportional den Differenzen der Logarithmen der Antigendosen.“ (Eine einfachere Formulierung läßt sich deshalb nicht geben, weil ein und dasselbe Individuum bei Wiederholung der Antigeneinverleibung auf die gleiche Dosis ganz anders reagiert als bei der ersten Immunisierung.)

b) Methodik.

Die Tatsache, daß ein bestimmtes Tiermaterial sich in gesetzmäßiger Weise aus Individuen verschiedener Immunisierbarkeit zusammensetzt, bildet die Grundlage, welche eine Anwendung der Methodik des Reihenversuches (s. S. 7) *und eine Wertbemessung der Antigene ermöglicht*. Die hohe Variabilität der Versuchstiere bringt es zwar mit sich, daß die einzelnen Individuen nicht einheitlich reagieren und daß es infolgedessen keine scharfe Grenze zwischen wirksamen und unwirksamen Antigendosen gibt. Es liegt vielmehr, wie gezeigt wurde, eine überaus breite Übergangszone zwischen der für *alle* Tiere wirksamen und der für *alle* Tiere unwirksamen Dosis. *Eine eindeutige Beziehung besteht aber innerhalb dieser Übergangszone zwischen der Antigendosis und dem Prozentsatz der positiv oder negativ reagierenden (geschützten oder nichtgeschützten) Tiere*. Dieser Prozentsatz steigt mit der Antigendosis in einer durch die Immunisierbarkeitsverteilung des Tiermaterials bedingten *gesetzmäßigen Weise* von 0—100 an. Sofern man in der Lage ist, immer mit dem *gleichen Tiermaterial* zu arbeiten, kann man also bei der „Titration“ der Antigene in der Weise vorgehen, daß man abgestufte Antigenmengen prüft und diejenige Dosis ermittelt, welche einen bestimmten Prozentsatz der Tiere, z. B. 50% schützt. Auf diese Weise findet man *Dosen gleicher Wirksamkeit* und kann so das Wertverhältnis der verschiedenen Impfstoffe leicht festlegen.

Das Verfahren läßt sich sogar noch dadurch vereinfachen, daß man die Wirkungskurve ein für allemal genau ermittelt, welche sich für die zu prüfende Impfstoffart mit dem zur Verfügung stehenden Tiermaterial ergibt. Es genügt

alsdann, von einem Impfstoff unbekannter Wirksamkeit eine einzige Dosis zu prüfen. Sofern diese einen zwischen 0 und 100 liegenden Prozentsatz von Tieren schützt, läßt sich an Hand der Wirkungskurve ohne weiteres feststellen, welches Vielfache der für 50% wirksamen Dosis die geprüfte Menge darstellt.

In der Praxis liegen die Verhältnisse freilich sehr viel komplizierter, da es nicht möglich ist, mit immer gleichbleibendem Tiermaterial zu arbeiten. MADSEN und SCHMIDT haben festgestellt, daß die *Antikörperproduktion* von immunisierten Tieren unter der Wirkung von Saisoneinflüssen starken Schwankungen unterliegt. Die Richtigkeit dieser Beobachtung wird von den Serumfabriken allgemein bestätigt. Neben den *individuellen* Unterschieden der Tiere waren daher auch noch beträchtliche *zeitliche Unterschiede im Verhalten des gesamten Tiermaterials* zu erwarten. Daß diese tatsächlich bestehen, zeigt Abb. 3. Zur

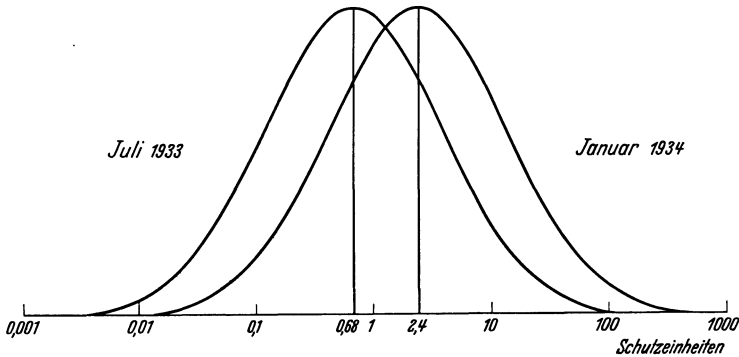


Abb. 3. Immunisierbarkeit des Frankfurter Tiermaterials zu verschiedenen Jahreszeiten.

Immunisierung des Tiermaterials, an dem die in Abb. 2 wiedergegebenen Untersuchungen angestellt worden waren, war z. B. im Januar 1934 wesentlich mehr Antigen notwendig als im Juli 1933; um 50% der Tiere zu schützen, waren statt 0,68 SE (Schutzeinheiten) im Winter 2,4 SE erforderlich, also ungefähr die 3—4fache Menge [PRIGGE (9)]. Neben den jahreszeitlichen Schwankungen der Immunisierbarkeit scheinen auch noch Schwankungsperioden vorzukommen, die eine größere Reihe von Jahren umfassen [PRIGGE (1, 4, 5, 9), SCHÄFER (2)].

Es steht keineswegs fest, daß das Maximum der Immunisierbarkeit bei allen Spezies in den Sommer fällt. Besonderes Interesse verdienen in diesem Zusammenhang die Feststellungen von SUGIE, HONDA und KAWAI, die im Winter sehr viel häufiger eine Umkehrung der SCHICK-Reaktion im Gefolge der Schutzimpfung feststellen konnten als im Sommer; allerdings sind diese Beobachtungen in dem subtropischen Formosa angestellt worden, also unter klimatischen Bedingungen, die in Europa im allgemeinen nicht anzutreffen sind.

Eine Überwindung der durch die Schwankungen der Immunisierbarkeit bedingten Schwierigkeiten gelingt nur dann, wenn man das für Antigenmessungen bestimmte *Tiermaterial bei jeder einzelnen Untersuchung mit Hilfe eines stabilen Maßpräparates „eicht“* [PRIGGE (5, 9)]. Jede Messung beruht auf einem Vergleich, gleichgültig, ob die Länge eines Tisches, der Durchmesser eines Moleküls oder die Energie eines bewegten Körpers gemessen wird. In allen Fällen handelt es sich um den Vergleich zwischen der zu messenden Größe und einer als Maßstab festgelegten Einheitsgröße oder Größen-, „Einheit“; das Messungs-*Ergebnis* besteht in einer zahlenmäßigen Angabe über das *Verhältnis* der verglichenen Größen. Längenmessungen sind z. B. nichts anderes als unmittelbare oder mittelbare

Vergleiche zwischen der Länge irgendeines Objektes und der Länge eines in Paris aufbewahrten „Maßstabes“ aus Platin, der durch internationale Vereinbarung als „Einheit“ definiert ist und „Meter“ genannt wird.

Ganz analog liegen die Verhältnisse bei der Wertbemessung der Diphtherieimpfstoffe. Als Maßstab dient hier die „Schutzeinheit“. Die „Schutzeinheit“ ist die *Wirksamkeit* einer genau bestimmten Menge (1,9 mg) eines absolut stabilen, in Vakuumröhrchen eingeschmolzenen, im Kühlschrank bei + 3° C unter Lichtabschluß aufbewahrten pulverisierten *Trockenimpfstoffes* (Formoltoxoids), der als „Maßpräparat“ dient [PRIGGE (5)].

Es ist besonders wichtig, die Begriffe „Wirkung“ und „Wirksamkeit“ streng zu trennen. Die „Wirkung“ des Maßpräparates unterliegt *erheblichen Schwankungen*; sie ist je nach den äußeren Bedingungen, unter denen der als Maßpräparat dienende Impfstoff angewandt wird, äußerst variabel. Zum Beispiel ist der *Prozentsatz* der durch eine bestimmte Menge des Maßpräparates gegen eine genau festgelegte Toxindosis *immunisierten Tiere* je nach der Rasse der Tiere, der Jahreszeit und einer Reihe von anderen Faktoren *ein ganz verschiedener* (s. Abb. 3).

Die „Wirksamkeit“ eines Diphtherieimpfstoffes wird nun *gemessen*, indem man diejenige Dosis bestimmt, welche die *gleiche Wirkung* besitzt wie eine unter den *gleichen äußeren Bedingungen* geprüfte Vergleichsdosis des Maßpräparates. Wie *groß* die Wirkung dieser Dosis im einzelnen Falle ist, ist hierbei von untergeordneter Bedeutung. Wichtig ist nur, daß die Wirkung mit derjenigen des Maßpräparates (Standardpräparates) übereinstimmt. Wenn man beispielsweise feststellt, daß 0,1 ccm eines Präparates X genau so wirkt wie 1,9 mg des Maßpräparates, so weiß man, daß die Wirksamkeit von 0,1 ccm des Präparates die gleiche ist wie die Wirksamkeit von 1,9 mg des Maßpräparates; und da die letztere als 1 Schutzeinheit (SE) definiert ist, ergibt sich auch für die erstere der gleiche Wert, nämlich 1 SE. In abgekürzter Form wird dies ausgedrückt: 0,1 ccm des Präparates X „enthält“ 1 SE. Hieraus geht dann ohne weiteres hervor, daß 1 ccm des Präparates X gerade 10 SE enthält.

Die Feststellung, daß 0,1 ccm des Präparates X die gleiche Wirksamkeit besitzt wie 1,9 mg des Maßpräparates M, hat allerdings nur dann einen vernünftigen Sinn, wenn man aus ihr folgern darf, daß z. B. auch 0,2 ccm des Präparates X die gleiche Wirksamkeit besitzen wie 3,8 mg des Maßpräparates M, oder allgemeiner: daß alle Multipla von 0,1 ccm X die gleiche Wirksamkeit besitzen wie die entsprechenden Multipla von 1,9 mg M. Eine *eigentliche „Messung“ der Wirksamkeit von Impfstoffen ist also nur dann möglich, wenn die „Wirkungskurven“ der nach verschiedenen Herstellungsverfahren gewonnenen Impfstoffe „parallel“ verlaufen*¹. Wie PRIGGE (11) nachweisen konnte, trifft diese Voraussetzung auch für ganz verschiedenartige Impfstoffe (native Formoltoxide und Aluminiumimpfstoffe) zu. *Alle Diphtherieimpfstoffe können daher in einem einheitlichen Maß gemessen werden*; sie können sich in *qualitativer* Hinsicht gegenseitig „vertreten“.

Alle Messungen müssen im Zeitpunkt des *Wirkungsmaximums* durchgeführt werden, etwa 4 Wochen nach der Injektion der Impfstoffe. PRIGGE (5) hat darauf hingewiesen, daß auch dann Meßschwierigkeiten auftreten könnten, wenn die Wirkungskurven der verschiedenen Präparate zwar parallel verliefen, wenn das Wirkungsmaximum aber zu verschiedenen Zeiten nach der Immunisierung erreicht würde; die Wirkungskurven hätten

¹ Durch Anwendung eines logarithmischen Dosenmaßstabes wird auch erreicht, daß ein „Parallelismus“ der Wirkungen *geometrisch anschaulich* wird (vgl. Abb. 4 und 5).

alsdann je nach dem für die Messung gewählten Zeitpunkt *verschieden großen Abstand* voneinander. Dieser Möglichkeit kommt jedoch nur theoretische Bedeutung zu, und es sind bisher keine experimentellen Tatsachen bekannt, welche für die Vorstellung sprächen, daß das *Wirkungsmaximum* bei verschiedenen Impfstoffen oder bei verschiedenen Dosen nicht zur gleichen Zeit erreicht würde. Unzutreffend ist vor allem die Auffassung, daß die Wirkung der depotbildenden Aluminiumimpfstoffe *verzögert* sei. PRIGGE (5) hat vielmehr gezeigt, daß die durch solche Antigene erzeugten hohen Wirkungen *innerhalb von 4 Wochen* zustande kommen, also ebenso schnell wie die wesentlich geringeren Wirkungen der Rohtoxoiden. Im Anschluß an Arbeiten von GLENNY, BUTTLE und STEVENS und von HARRISON hat BLAGOWESCHENSKY auch geprüft, ob eine Beziehung zwischen der Zeitspanne, während deren die durch Aluminiumimpfstoffe erzeugten Depots im Tierkörper belassen werden, und der Höhe des erzielten Antitoxinspiegels besteht. Seine Versuche lassen allerdings keine eindeutigen Schlüsse zu, weil die Mehrzahl der Tiere nur einmal, und zwar etwa 12 Monate nach der Immunisierung untersucht wurde; es läßt sich daher nicht entscheiden, wieweit die beobachteten Unterschiede dadurch bedingt waren, daß sich der Immunitätsanstieg je nach der Einwirkungsdauer der Antigendepots über die 4. Woche hinaus weiter fortgesetzt hatte, oder dadurch, daß der Antitoxinspiegel während der zwischen der Ex-cision des Antigendepots und der Untersuchung verstrichenen Zeit wieder abgesunken war. Aber schon vor BLAGOWESCHENSKY hat FARAGÓ (2) gezeigt, daß der Antitoxintiter — unabhängig von der Zeitspanne, während deren das Antigendepot im Organismus verbleibt — im allgemeinen um den 30. Tag nach der Injektion des Impfstoffes sein *Maximum* erreicht (vgl. S. 33), d. h. ebenso schnell wie nach der Einverleibung von Rohtoxoid. Selbstverständlich bezieht sich dies nur auf die für Kollektive sich ergebende *Durchschnittszeit*. Die *einzelnen Individuen* erreichen das Immunitätsmaximum zu ganz verschiedenen Zeiten, je nach ihrer Reaktionsfähigkeit.

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die bei der „Titration“ eines Alaunimpfstoffes durch Prüfung abgestufter Verdünnungen gewonnenen Ergebnisse.

Tabelle 2. Titration eines Diphtherie-Alaunimpfstoffes („Reihenversuch“).

Gegen 1,8 mg (= 12 dl ₁₀₀) ¹ Diphtherie-Trockentoxin T 172 pro 250 g Körpergewicht wurden am 16. 6./14. 7. 36 geschützt			
durch den Standardimpfstoff F 191		durch den Alaunimpfstoff J 5	
Dosis und Verdünnung	Zahl der Tiere %	Dosis und Verdünnung	Zahl der Tiere %
2 ccm 1/1 ² = 2 ccm	15/23 = 65,2	2 ccm 1/5 = 0,4 ccm	24/24 = 100
		2 „ 1/10 = 0,2 „	24/25 = 96
		2 „ 1/20 = 0,1 „	23/24 = 95,8
		2 „ 1/50 = 0,04 „	12/25 = 48
		2 „ 1/100 = 0,02 „	3/24 = 12,5
2 „ 1/4 = 0,5 „	3/24 = 12,5	2 „ 1/200 = 0,01 „	0/23 = 0
		2 „ 1/500 = 0,004 „	0/24 = 0

Wie schon die flüchtige Prüfung der in Tabelle 2 zusammengestellten Werte zeigt, besitzen 2 ccm einer 1/50-Verdünnung des Alaunimpfstoffes *geringere* Wirkung, dagegen 2 ccm einer 1/20-Verdünnung *höhere* Wirkung als 2 ccm der unverdünnten Normalstandardlösung. Die Wirksamkeit des Alaunimpfstoffes ist also 20—50mal so groß wie die Wirksamkeit der 1 SE/ccm enthaltenden Normalstandardlösung; mit anderen Worten: der Alaunimpfstoff enthält 20 bis 50 SE/ccm. Ein analoges Resultat ergibt sich durch den Vergleich zwischen der Wirkung von 2 ccm der 1/100-Verdünnung des Alaunimpfstoffes und 2 ccm der

¹ dl₁₀₀ = dosis certe letalis minima (die Dosis, welche eben ausreicht, um nichtimmunisierte Versuchstiere in 100% der Fälle innerhalb von 5 Tagen zu töten).

² 1/1 = unverdünnt; als 1/1-Verdünnung des Standardimpfstoffes F 191 ist eine „Normallösung“ bezeichnet, welche 1,9 mg = 1 SE in 1 ccm enthält.

1/4-Verdünnung der Normalstandardlösung; hiernach ist der Alaunimpfstoff etwa 25mal so wirksam wie die Normalstandardlösung, enthält also ungefähr 25 SE.

Angaben über Antigenmessungen, nach denen ein Impfstoff 0,25—0,5 oder 2,5—5 oder 25—50 oder 250—500 SE/ccm besitzt, haben sämtlich den gleichen Genauigkeitsgrad. Wenn sich also zwei Impfstoffe, die 0,25 und 0,5 SE/ccm enthalten, unterscheiden lassen, so darf man nicht erwarten, es müsse mit der gleichen Methode nun auch gelingen, Impfstoffe zu unterscheiden, welche 250 und 250,25 SE/ccm enthalten. Die Genauigkeit der Messung kann also nicht nach der absoluten, sondern nur nach der *prozentualen Differenz* der Titer beurteilt werden, die sich unterscheiden lassen.

Die in Tabelle 2 wiedergegebenen Resultate sind in Abb. 4 unter Verwendung eines logarithmischen Dosenmaßstabes graphisch dargestellt. Das Diagramm

läßt erkennen, daß die mit dem Alaunimpfstoff gewonnenen Werte dem Verlauf einer „normalen Aufzählungskurve“ folgen. Noch besserer Einblick läßt sich gewinnen, wenn man bei der graphischen Darstellung ein von HAZEN für technische Zwecke angegebenes, durch KARSTEN allgemein bekannt gewordenes Verfahren benützt, das in Amerika bei statistischen Untersuchungen vielfach verwandt wird.

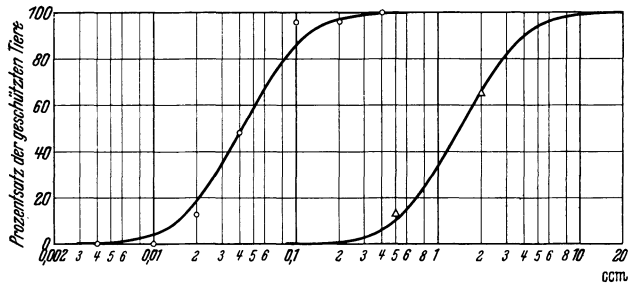


Abb. 4. Wirkungskurve des Diphtherie-Standardimpfstoffes F 191 \triangle - \triangle . Wirkungskurve des Diphtherie-Alaunimpfstoffes J 5 \circ - \circ . Immunisierung: 16. 6. 36. Intoxikation: 28 Tage nach der Immunisierung.

Hierbei werden die *Prozentsätze der geschützten Tiere* (Ordinaten) in der Weise abgetragen, daß ihre Abstände den Werten entsprechen, welche sich für die entsprechenden Vielfachen der Standardabweichung einer „normalen Aufzählungskurve“ ergeben.

Normale Aufzählungskurven gehen, wenn man die Ordinaten nach dem HAZENschen Verfahren abträgt, in Geraden über. In Amerika und in Deutschland kommt ein nach dem HAZENschen Verfahren eingeteiltes Kurvenpapier unter der Bezeichnung „*logarithmisches Wahrscheinlichkeitspapier*“ in den Handel, dessen Benützung jegliche Rechnung überflüssig macht (Bezeichnung des deutschen Papiers von SCHLEICHER und SCHÜLL: Nr. 297 1/2 A 3). In Abb. 5 sind die der Tabelle 2 entnommenen Ergebnisse nach dem HAZENschen Prinzip wiedergegeben (den Versuchen, in denen 0%iger oder 100%iger Schutz gefunden wird, sind bei der Darstellung nach HAZEN Werte von $-\infty$ bzw. $+\infty$ zugeordnet; sie bleiben daher unberücksichtigt).

Wie Abb. 5 zeigt, sind die mit dem Alaunimpfstoff gewonnenen Werte einer Geraden engstens angeschmiegt. Die Abweichung der beobachteten Werte von den theoretisch geforderten Punkten hält sich in allen Fällen innerhalb der üblichen Fehlergrenzen; sie entspricht selbst im extremsten Falle (0,1 ccm: $86,4 \pm 7,5\%$) nur knapp dem 1,3fachen positiven „mittleren Fehler“. Die mitgeteilten Versuchsergebnisse bzw. der Verlauf der Wirkungsgeraden lassen also sehr deutlich die Gesetzmäßigkeit erkennen, die im vorigen Abschnitt behandelt wurde. Aus Abb. 4 und 5 geht ferner hervor, daß die mit dem Alaunimpfstoff gewonnene Wirkungskurve bzw. Wirkungsgerade zur Wirkungskurve bzw. Wirkungsgeraden des Standardimpfstoffes in vorzüglicher Annäherung parallel verläuft.

Man könnte hiergegen einwenden, daß ein „mathematischer“ Parallelismus nicht besteht. Da jedoch alle experimentell bestimmten Werte mit einem „Fehler“ behaftet sind und infolgedessen stets gewisse Abweichungen von den theoretischen Werten erwartet werden *müssen*, ist ein solcher Einwand nicht stichhaltig. „Beobachten“ läßt sich ein „mathematischer“ Parallelismus überhaupt nicht, sondern nur induktiv erschließen. Eine *Divergenz* ist dagegen sehr leicht beweisbar; sie muß *dann* als erwiesen gelten, wenn die Zuordnung der beobachteten Werte zu einem Parallelenpaar nur unter der Annahme unwahrscheinlich großer Fehler vorgenommen werden kann. Hiervon kann aber im geprüften Fall keine Rede sein; vielmehr stellt nur die Annahme des *Parallelismus* der theoretischen Wirkungskurven eine „*ungezwungene*“ *Erklärungsmöglichkeit* dar. Wegen der näheren Begründung dieser Auffassung sei auf das berühmte Werk von F. KLEIN¹ über „Präzisions- und Approximationsmathematik“ verwiesen.

Der Vorteil des HAZENSchen Verfahrens besteht in der Hauptsache darin, daß man – sofern der Charakter der Wirkungskurve als einer „normalen Aufzählungskurve“ bekannt ist –

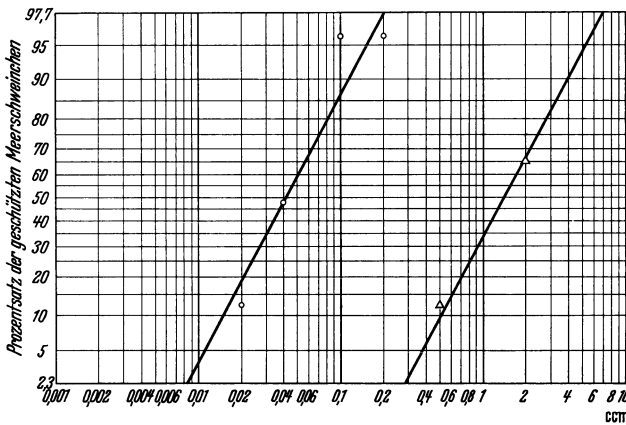


Abb. 5. Wirkungsgerade des Diphtherie-Standardimpfstoffes F. 191 Δ — Δ . Wirkungsgerade des Diphtherie-Alaunimpfstoffes J 5 \circ — \circ .

lediglich *zwei auf experimentellem Wege sorgfältig bestimmte Punkte durch eine Gerade zu verbinden* hat, welche ohne weiteres den Verlauf (Lage und Steilheit) der Gesamtkurve erkennen läßt. Es handelt sich hier also um nichts anderes als einen „Kunstgriff“, der auch dem mathematisch nicht orientierten Experimentator die Möglichkeit gewährt, auf

ganz einfache Weise zu entscheiden, ob eine „normale“ Verteilung vorliegt oder ob stärkere Abweichungen bestehen.

Zur Vermeidung von Irrtümern sei *ausdrücklich darauf hingewiesen*, daß auch zur Wiedergabe im üblichen Ordinatenmaßstab die experimentelle Bestimmung von nur zwei Punkten völlig ausreicht. Nur läßt sich der weitere Kurvenverlauf nicht wie bei dem HAZENSchen Kunstgriff mit Hilfe des Lineals ermitteln. Der Gesamtverlauf der Kurve muß vielmehr Punkt für Punkt konstruiert werden. Die für die Konstruktion erforderlichen Werte können einer beliebigen Tabelle der normalen Aufzählungskurve entnommen werden, wie sie z. B. in dem bekannten Lehrbuch der Erblichkeitslehre von JOHANNSEN (3. deutsche Auflage, S. 77) enthalten ist. Da die normale Aufzählungskurve in einem Bereich, welcher den Ordinaten von 20—80 entspricht, annähernd linear verläuft, dürfen die Wirkungskurven der Diphtherieantigene auch bei Verwendung eines normalen Ordinatenmaßstabes als Geraden behandelt werden, sofern man auf die Verwendung der extremen Werte verzichtet [PRIGGE (5, 6)]. Die amerikanische Methode der graphischen Darstellung von normalen Aufzählungskurven macht diesen Verzicht überflüssig.

Die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse in Abb. 5 (aber im Prinzip ebenso, wenn auch nicht so einprägsam, in Abb. 4) dient nun dazu, das Versuchsergebnis sehr viel genauer auszuwerten, als es mit Hilfe des auf S. 14 gegebenen groben Überschlages möglich war. Man kann den Diagrammen ohne weiteres entnehmen, daß 0,0295 ccm des Impfstoffes J 5 die gleiche Wirksamkeit besitzen

¹ KLEIN, F.: Präzisions- und Approximationsmathematik. Berlin: Julius Springer 1928.

wie 1 ccm des Standardimpfstoffes. Ebenso besitzen 0,059 ccm J 5 die gleiche Wirksamkeit wie 2 ccm des Standardpräparates usw. Zur Erzielung eines bestimmten Effektes muß also bei Verwendung des Standardimpfstoffes stets etwa das 34fache der Menge eingespritzt werden, welche bei Verwendung des Alaunimpfstoffes J 5 erforderlich ist. Der Impfstoff J 5 besitzt also die 34fache Wirksamkeit des Standardimpfstoffes. Da der letztere 1 SE (Schutz-Einheit) in 1 ccm enthält, sind *in 1 ccm des Alaunimpfstoffes 34 SE „enthalten“*.

Die Angabe, daß ein Impfstoff die *n*-fache „Wirksamkeit“ des Standardimpfstoffes besitzt, bedeutet, daß man mit irgendeiner Menge des betreffenden Impfstoffes die gleiche „Wirkung“ erzielt wie mit der *n*-fachen Menge des Standardimpfstoffes. Die Wertangaben dürfen also *nicht* in dem Sinne gedeutet werden, daß eine bestimmte Dosis des geprüften Antigens die *n*-fache Wirkung besitze wie die gleiche Dosis des Standardpräparates.

Es ist leicht zu zeigen, daß dies nicht zutrifft. Zum Beispiel vermochten 1,4 ccm des Standardimpfstoffes 50% der Versuchstiere zu schützen (s. Abb. 5). Die Behauptung, daß 1,4 ccm des 34mal so wirksamen Impfstoffes J 5 dagegen $34 \cdot 50 = 1700\%$ der Versuchstiere zu schützen vermöchten, führt sich selbst ad absurdum, da ein mehr als 100%iger Schutz nicht in Frage kommen kann. — Aus Abb. 5 ist leicht zu entnehmen, daß z. B. einer Verdoppelung des Wertes keineswegs eine Verdoppelung der Wirkung gegenübersteht; während 1,4 ccm des Standardimpfstoffes bei 50% der Tiere wirksam waren, hätte die *doppelte Dosis* des Standardimpfstoffes (2,8 ccm) bzw. die *gleiche Dosis* (1,4 ccm) eines doppelt so wirksamen Impfstoffes nicht 100, sondern 80% der Tiere geschützt! Der Prozentsatz wäre also nur etwa auf das $1\frac{1}{2}$ fache gestiegen. Aber auch diese Beziehung ist nicht konstant, sondern an den verschiedenen Punkten der Wirkungskurve ganz verschieden.

Es ist daher *nicht statthaft, aus dem Verhältnis der durch gleiche Dosen erzielten „Wirkungen“* (z. B. dem Verhältnis der geschützten Prozentsätze) *irgendwelche Schlüsse auf das Wertverhältnis der betreffenden Impfstoffe zu ziehen*. Solche Fehler sind in der immunbiologischen Literatur tatsächlich gemacht worden! Das Wertverhältnis der Impfstoffe muß vielmehr in jedem Falle an Hand der experimentell ermittelten Wirkungskurven festgestellt oder durch „Titration“ ermittelt werden.

Das gilt auch dann, wenn nicht der Prozentsatz der geschützten Tiere als Kriterium der „Wirkung“ benützt wird, sondern irgendein anderer durch die Immunisierung erzeugter Effekt, z. B. der *Antitoxintiter* der immunisierten Versuchstiere. Durch die eingehenden Untersuchungen von OTTO und von OTTO und BLUMENTHAL in Deutschland sowie von MADSEN und SCHMIDT, von JENSEN, SCHMIDT und FJORD-NIELSEN und von SCHMIDT und JENSEN in Dänemark ist im Prinzip gezeigt worden, daß eine Wertbemessung der Diphtherieimpfstoffe mit Hilfe des Antitoxinnachweises durchgeführt werden kann. Das Verfahren ist zwar bisher nicht bis zur Entwicklung einer eigentlichen Meßmethode ausgebaut worden, zumal es außer den zur Immunisierung benötigten Tieren nochmals weitere Tiere für die Titration der Immunsera erforderlich macht; jedoch konnte PRIGGE (5, 11) zeigen, daß sich auch auf diesem Wege exakte Messungen durchführen lassen, wenn die Wirkungskurven bekannt sind, welche die Beziehung zwischen dem (mittleren) Antitoxintiter und der angewandten Antigendosis erkennen lassen¹. Solange die hier bestehende Beziehung nicht genauestens bekannt ist, läßt sich allerdings aus einem Unterschied im mittleren Antitoxintiter, der durch gleiche Dosen zweier Impfstoffe erzeugt wird, nichts weiter schließen, als daß die beiden Impfstoffe verschiedene „Wirksamkeit“ besitzen. Ein Maß für die „Wirksamkeit“ ist durch das Verhältnis der mittleren Antitoxintiter dagegen *nicht gegeben*, und *es ist daher nicht möglich, aus diesem Verhältnis den Wert von Impfstoffen zu berechnen*.

¹ Diese Wirkungskurven sind *keine Aufzählungskurven!* Eine Messung der Wirksamkeit von Diphtherieantigenen könnte auch in der Weise durchgeführt werden, daß man *an gleichartigen Tiergruppen die durch eine geeignete Dosis des Standardpräparates und durch fallende Dosen des zu messenden Präparates erzeugten mittleren Antitoxintiter bestimmt und auf diese Weise wirkungsgleiche Mengen der verglichenen Präparate ermittelt*. Dieses Verfahren liefe im wesentlichen auf die oben beschriebene „Titrationmethode“ hinaus; lediglich wäre an Stelle des „Prozentsatzes der geschützten Tiere“ der „mittlere Antitoxintiter“ als Kriterium des Immunisierungseffektes zu verwenden.

Ebenso wie oben festgestellt wurde, daß der Prozentsatz der geschützten Tiere bei Verdoppelung der Dosis nicht auf das Doppelte steigt, ist nicht damit zu rechnen, daß eine Verdoppelung oder Verzehnfachung der Antigendosis gerade zu einer Verdoppelung oder Verzehnfachung des mittleren Antitoxintiters führt. Der Antitoxintiter kann schwächer, er kann aber auch stärker ansteigen, z. B. mit dem Quadrat der Antigendosis, also auf Vierfache bzw. auf Hundertfache usw. Hierüber kann nur das Experiment entscheiden.

Für die augenfälligste „Wirkung“ der aktiven Immunisierung, die Fähigkeit zur *Entgiftung bestimmter Toxinmengen*, gilt folgendes: Auch das *Verhältnis der Toxindosen*, welche von den mit zwei verschiedenen Impfstoffen vorbehandelten Tieren vertragen werden, dürfte nur dann dem *Wirksamkeitsverhältnis der beiden Impfstoffe* gleichgesetzt werden, wenn feststünde, daß die Toxindosis, welche infolge der Immunisierung entgiftet werden kann, der angewandten Antigendosis *proportional* ist. Diese Voraussetzung trifft aber nicht zu! Die bisher gewonnenen experimentellen Resultate zeigen vielmehr, daß die Toxindosis *stärker* wächst als die Antigendosis [PRIGGE (5), SCHÄFER (1)]. Wenn also gleiche Dosen zweier Impfstoffe A und B so wirken, daß die mit B immunisierten Tiere z. B. 10mal so viel Toxin vertragen wie die mit A immunisierten, so läßt sich daraus nicht schließen, der Impfstoff B sei dem Impfstoff A 10fach überlegen. Vielmehr genügt bereits ein *wesentlich kleinerer Unterschied der „Wirksamkeit“*, um die Tiere zur Neutralisation einer 10fachen Toxindosis zu befähigen. —

Aus den bisherigen Darlegungen geht bereits hervor, daß die Titration eines Diphtherieimpfstoffes im allgemeinen nicht nach dem in Tabelle 2 wiedergegebenen Schema durchgeführt zu werden braucht, sondern ganz erheblich vereinfacht werden kann. Da die Wirkung der Diphtherieimpfstoffe auf logarithmischem Wahrscheinlichkeitspapier durch *Geraden* dargestellt wird und da die für verschiedene Impfstoffe mit ein und demselben Tiermaterial sich ergebenden Geraden *parallel* verlaufen, hat man lediglich die *Neigung* (Steilheit) und die *Lage* der für die untersuchten Impfstoffe sich ergebenden „*Wirkungsgeraden*“ zu ermitteln. Ist die Wirksamkeit der zu messenden Impfstoffe durch grobe Vorversuche ungefähr festgestellt, so genügt es, *zwei* Punkte mit dem Standardpräparat und *einen* Punkt mit dem geprüften Präparat zu ermitteln, *die mit dem Standardpräparat gewonnenen Punkte durch eine Gerade zu verbinden und durch den dritten Punkt eine Parallele zu dieser Geraden zu ziehen*. Selbstverständlich kann man auch so vorgehen, daß man nur *einen* Punkt mit dem Standardpräparat und *zwei* Punkte mit dem geprüften Präparat ermittelt. Der Quotient der Abszissen, welche zu Punkten mit gleicher Ordinate gehören, gibt unmittelbar das Wertverhältnis der verglichenen Impfstoffe und — da 1 ccm der Normalstandardlösung 1 SE enthält — zugleich den *in Schutzeinheiten ausgedrückten Titer des geprüften Impfstoffes* an.

Dieses als „*Dreipunktmethode*“ zu bezeichnende Verfahren trägt den im Tiermaterial zu erwartenden Veränderungen Rechnung. Bei den zur Verwendung kommenden Tieren braucht weder die in der *Steilheit* der Wirkungsgeraden zum Ausdruck kommende Größe der *Variabilität* noch die durch die *Lage* der Geraden gekennzeichnete *mittlere Immunisierbarkeit* in den verschiedenen Versuchen die gleiche zu sein. Mit anderen Worten: es besteht die Möglichkeit, mit wechselndem Tiermaterial zu arbeiten.

In Laboratorien, in denen ein und dasselbe Tiermaterial zur ständigen Verfügung steht, läßt sich das Verfahren noch weiter vereinfachen. Zwar kommt es selbst bei genetisch völlig einheitlichen, während zahlreicher Generationen ingezüchteten Tieren (sog. „reinen Linien“) unter der Einwirkung jahreszeitlich bedingter Einflüsse zu beträchtlichen Schwankungen der mittleren Immunisierbarkeit, d. h. zu Verschiebungen in der *Lage* der Wirkungsgeraden [PRIGGE (9)].

Jedoch bleibt die *Steilheit* der Geraden stets unverändert. Hat man die letztere einmal experimentell bestimmt, so genügt es, *einen* Punkt mit dem Standardpräparat und *einen* Punkt mit dem geprüften Präparat zu ermitteln und durch jeden Punkt eine Parallele zu der ein für allemal festgelegten Wirkungsgeraden zu ziehen; durch den gegenseitigen Abstand der beiden Parallelen ist das Wirkungsverhältnis der Impfstoffe gegeben¹.

Eine weitere Vereinfachung dieser „Zweipunktmethode“ ist nicht möglich. Zwar ließe sich theoretisch eine „Einpunktmethode“ denken, wenn es „unveränderliches“, d. h. in den verschiedenen Jahreszeiten stets in gleicher Weise immunisierbares Tiermaterial gäbe. Da aber selbst die Immunisierbarkeit von Inzuchtlinien erheblichen Schwankungen unterliegt (s. oben), kommt ein solches Verfahren in Wirklichkeit nicht in Betracht.

e) Die Fehlerquellen der Methode.

Bei der Beurteilung der Messungsergebnisse ist zu berücksichtigen, daß alle experimentell ermittelten Werte mit einem unvermeidlichen „Fehler“ belastet sind, der durch die verhältnismäßig geringe Anzahl der zur Prüfung jeder Einzeldosis verwandten Tiere bedingt ist.

Hierunter ist folgendes zu verstehen: Die zur Prüfung einer bestimmten Dosis verwandte Tiergruppe wird jeweils aus einem größeren Tiermaterial ausgewählt. Wenn nun an Stelle der kleinen Gruppe das gesamte Tiermaterial mit der betreffenden Dosis behandelt würde, so fände man vielleicht, daß 50% der Tiere immunisiert wären, während 50% der zur Prüfung der Immunität vorgenommenen Vergiftung erlügen. Man käme also zu der Feststellung, daß die untersuchte Tierpopulation gerade zur Hälfte aus Tieren bestünde, die durch Anwendung der gedachten Dosis nicht zu immunisieren sind und infolgedessen bei der Immunitätsprüfung sterben müssen. Es wird aber in Wirklichkeit nicht die gesamte Population immunisiert, sondern nur eine kleine willkürlich herausgegriffene Tiergruppe (eine „Stichprobe“). Da man den Einzeltieren ihre Immunisierbarkeit nicht ansehen kann, ist bei der Zusammenstellung dieser Tiergruppe nun keineswegs damit zu rechnen, daß man genau so viel immunisierbare wie nicht immunisierbare Tiere herausgreift. Je nach dem Zufall können z. B. in eine Einzelgruppe von 20 Tieren einmal 10 immunisierbare und 10 nicht-immunisierbare Individuen hineingeraten, ein anderes Mal 8 und 12 oder 13 und 7 usw. PRIGGE (5) hat nachgewiesen, daß diese a priori zu erwartenden Unregelmäßigkeiten unter experimentellen Verhältnissen tatsächlich auftreten; das hierbei gewonnene reichhaltige Material wurde durch W. SCHÄFER (1) einer eingehenden variationsstatistischen Analyse unterzogen.

Der in den einzelnen Gruppen ermittelte Prozentsatz an geschützten Tieren muß also mit der erforderlichen Kritik beurteilt und nötigenfalls durch die von der Wahrscheinlichkeitsrechnung vorgeschriebenen Fehlerangaben ergänzt werden. Für die durch 2 ccm einer 1/50-Verdünnung des Alaunimpfstoffes J 5 (s. Tabelle 2) geschützten Tiere ergäbe sich z. B. auf Grund einer von PRIGGE (15) für die Beurteilung von Stichproben entwickelten Formel ein Wert von $48 + 9,9 - 9,7$ %. Diese Angabe bedeutet, daß der „wahre“ Wert (den man bei Unter-

¹ Diese „Zweipunktmethode“ bildet die Grundlage der „Vorschriften für die Staatl. Prüfung der Impfstoffe zur aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie“ vom 13. 12. 35 (Ministerialbl. f. d. Innere Verwaltung 1935, Nr. 52, S. 1525).

suchung des Gesamttiermaterials gefunden hätte) nicht genau 48 betragen muß, sondern daß er (mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit) zwischen 48 und $48 + 9,9 = 57,9$ oder zwischen 48 und $48 - 9,7 = 38,3$ liegen kann. Die Größe des „Fehlers“ ist weitgehend von der Anzahl der geprüften Tiere abhängig.

Einen ersten Ausgleich der den experimentell ermittelten Werten anhaftenden Fehler bringt bereits die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse. Während aus der groben rechnerischen Auswertung der in Tabelle 2 zusammengestellten Resultate nur hervorging, daß der Wert des geprüften Impfstoffes zwischen 20 und 50 SE/ccm lag, konnte durch graphische Auswertung eine sehr viel präzisere Angabe gefunden werden: 34 SE/ccm. Bei dem *rechnerischen* Verfahren wurde lediglich festgestellt, daß 0,1 ccm J 5 *mehr*, 0,04 ccm dagegen *weniger* Tiere schützten als 2 ccm Standardlösung. Die übrigen mit J 5 gewonnenen Resultate konnten bei der Rechnung nicht mitberücksichtigt werden. Bei der *graphischen* Darstellung wurden dagegen alle von 0 und 100 verschiedenen Werte einbezogen. Ein den mit 0,1 und 0,04 ccm J 5 gefundenen Werten anhaftender Fehler mußte das Ergebnis also im ersten Falle sehr stark beeinflussen, während er sich im zweiten Falle nur sehr viel weniger geltend machen konnte.

Ein *rechnerisches* Verfahren, welches gleichfalls die Verwendung aller von 0 und 100 verschiedenen Werte und zugleich die Berücksichtigung der ihnen anhaftenden Fehler ermöglicht, hat SCHÄFER (1) auf Grund bekannter *Ausgleichsmethoden* ausgearbeitet. Das Verfahren ist sowohl für den linearen Teil der normalen Aufzählungskurve als auch für die HAZENSche Gerade verwendbar; es beruht auf der Bestimmung des „*gewogenen*“ Mittels der beobachteten Werte. v. SCHELLING (3) hat auf Grund neuerer Untersuchungen über das Problem der Stichprobenbeurteilung [PRIGGE (15), SCHÄFER (4), v. SCHELLING (2)] darauf hingewiesen, daß die mathematischen Grundlagen, auf denen die bisherigen Verfahren zur Bestimmung des „*gewogenen*“ Mittels beruhen, aus den gleichen Gründen anfechtbar sind wie die üblichen Methoden der Stichprobenbewertung und hat eine verfeinerte Methode der *graphischen* Auswertung der bei Antigenmessungen gewonnenen Resultate angegeben. Da das Verfahren v. SCHELLINGS keine ganz befriedigende Behandlung der Werte 0 und 100 zuläßt, haben PRIGGE und SCHÄFER mit etwas anderen mathematischen Voraussetzungen ein Verfahren entwickelt, welches diesem Umstand Rechnung trägt und sowohl eine rechnerische wie eine graphische Behandlung der experimentell gewonnenen Resultate ermöglicht. Das graphische Verfahren verdient — nicht nur wegen seiner größeren Einfachheit — den Vorzug. Es beruht darauf, daß man mit Hilfe der oben (S. 19) erwähnten, von PRIGGE angegebenen Formel die Bereiche ermittelt, innerhalb deren die zu den beobachteten Prozentsätzen zugehörigen „*wahren*“ Werte mit einer gewissen vorgegebenen Wahrscheinlichkeit liegen, diese Bereiche graphisch abgrenzt und die Wirkungsgerade möglichst dicht bei den beobachteten Werten so konstruiert, daß möglichst alle Bereiche geschnitten werden. Abb. 6 zeigt, in welcher Weise die in Tabelle 2 zusammengestellten Werte zu behandeln sind. Das hiernach bestimmte Resultat betrug 37 SE/ccm für den geprüften Impfstoff J 5, stimmte also mit dem oben (S. 17) angegebenen Werte von 34 SE/ccm gut überein.

Die bisher mitgeteilten Verfahren erstreben einen *rechnerischen bzw. graphischen Ausgleich der den experimentell gewonnenen Daten anhaftenden Fehler*, sind aber selbstverständlich ohne Einfluß auf den Fehler selbst. Es gibt jedoch

zwei biologischen Verfahren, mit deren Hilfe der mit den Messungen verknüpfte Fehler selbst weitgehend eingeschränkt oder sein Einfluß auf das Messungsergebnis verringert werden kann.

Am einfachsten lassen sich die Verhältnisse an Hand von Resultaten erläutern, wie sie mit Hilfe der Zweipunktmethode (s. S. 19) gewonnen werden. Es möge ein Impfstoff zur Prüfung gelangen, der gerade 10mal so wirksam ist wie die Normalstandardlösung, also 10 SE/ccm enthält. Durch 1 ccm (= 1 SE) der Normalstandardlösung mögen 50% der für die Untersuchungen verwandten Tiere geschützt werden. Es sei angenommen, daß 50% gerade den „wahren“ Wert darstellen. Erweisen sich nun auch 50% der mit 0,1 ccm des geprüften

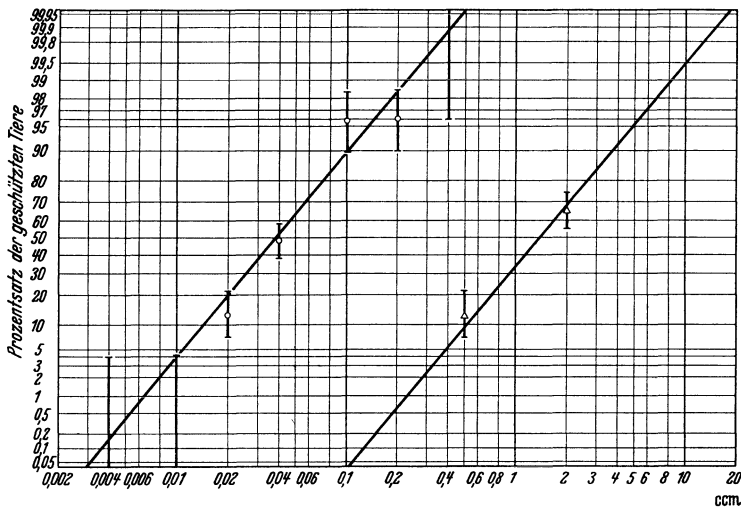


Abb. 6. Bestimmung der Wirkungsgeraden und des Wertverhältnisses der Impfstoffe F 191 und J 5 mit Hilfe einer graphischen Methode des Fehlerausgleichs.

Impfstoffes behandelten Tiere als geschützt, so ergibt die Messung den „richtigen“ Titer. Findet man statt seiner jedoch 60% mit 0,1 ccm des geprüften Impfstoffes, so ergibt sich ein Titer von 29,4 SE/ccm. Und wenn man statt 50% nur 40% Schutz findet, errechnet sich ein Titer von 3,4 SE/ccm (s. Abb. 7 A). Dabei ist nicht einmal berücksichtigt, daß auch der mit dem Standardpräparat gefundene Prozentsatz vom „wahren“ Wert nach oben und unten abweichen kann.

Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß die Abweichungen des gefundenen vom „wahren“ Titer um so kleiner sind, je geringer der „Fehler“ des beobachteten Schutzwertes, d. h. die Abweichung des beobachteten vom „wahren“ Prozentsatz ist. *Eine Verringerung dieses Fehlers und hierdurch auch eine Verminderung der Titerabweichungen ist ohne weiteres zu erreichen, wenn man die Anzahl der für die Prüfung jeder Antigendosis verwandten Tiere erhöht.* Aus diesem Grunde fordert die Staatliche Vorschrift für die Prüfung der Diphtherieimpfstoffe (s. Fußnote 1, S. 19) *125 Tiere für jeden der beiden mit der Zweipunktmethode zu bestimmenden Werte*; die starke Einschränkung des „Prozentsatzfehlers“, die so zustande kommt, gewährleistet eine *erhebliche Steigerung der Meßgenauigkeit.*

Das zweite Verfahren, das *neben* dem ersten oder für sich allein angewandt werden kann, erreicht das gleiche Ziel auf ganz anderem Wege. Wie Abb. 7 B

zeigt, ergibt sich bei gleich großen Prozentsatzfehlern eine wesentlich geringere Abweichung des gefundenen vom „wahren“ Titer, wenn die Wirkungsgerade größere Steilheit besitzt. Werden nämlich 60% der mit dem geprüften Antigen immunisierten Tiere geschützt, so beträgt der Titer 14,5 SE/ccm; und für 40% ergibt sich ein Titer von 6,9 SE/ccm¹!

Da die Steilheit der Wirkungsgeraden um so höher ist, je geringer die Variabilität des zur Verfügung stehenden Tiermaterials ist, besteht also nur dann die Möglichkeit, exaktere Resultate — bei Verwendung einer gleichen Anzahl von

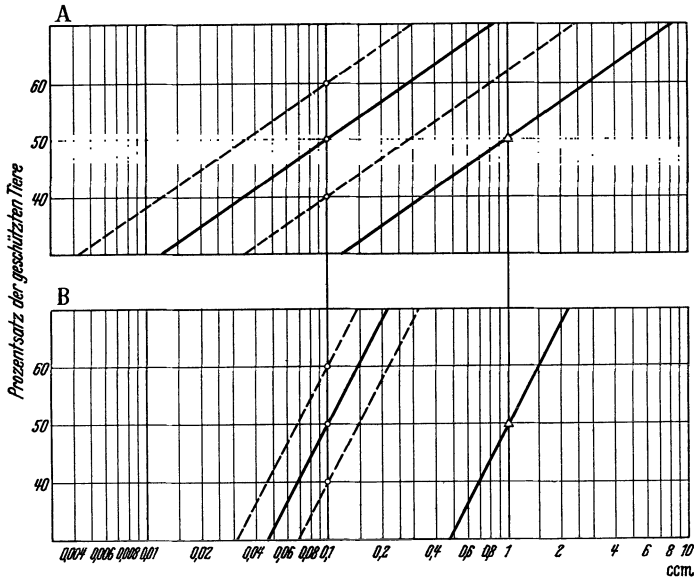


Abb. 7. Einfluß des Fehlers auf die Genauigkeit der Titerbestimmung A. bei geringer Steilheit der Wirkungsgeraden (Tiermaterial mit großer Variationsbreite), B. bei hoher Steilheit der Wirkungsgeraden (Tiermaterial mit geringer Variationsbreite).

Versuchstieren — zu gewinnen, wenn man von einem Tiermaterial mit hoher Variabilität zu einem solchen von geringer Variabilität übergehen kann. Da in den meisten Laboratorien Tiere verwandt werden, die ohne Rücksicht auf genetische Prinzipien gezüchtet sind und als ein Gemisch zahlreicher Rassen zu gelten haben, lag es nahe, die ungewöhnlich hohe Variabilität (und die geringe Steilheit der Wirkungsgeraden), die bei der Immunisierung der Versuchstiere in Erscheinung tritt, mit der *erbbiologischen Zusammensetzung des Tiermaterials* in Beziehung zu bringen. Einen Hinweis auf die Richtigkeit dieser Annahme boten die Untersuchungen von WINTON über die pharmakologische Wirkung von *Urgina maritima*, bei denen ein völlig verschiedenes Verhalten von gemischten und ingezüchteten Ratten festgestellt worden war. Zur Klärung dieses Fragenkomplexes prüfte PRIGGE (9) das Verhalten von Meerschweinchen, die KRÖNING-Göttingen durch jahrelang fortgesetzte *Bruder-Schwester-Inzucht* gewonnen hatte und die zum Teil einen beträchtlichen Grad von *Gleicherbigkeit*

¹ Das hier gegebene Beispiel ($50 \pm 10\%$) ist willkürlich gewählt; es soll lediglich zeigen, welche Bedeutung der *Prozentsatzfehler* in manchen Fällen erlangen kann. Im allgemeinen sind die Fehler wesentlich geringer: selbst bei Verwendung von nur 25 Tieren ist der Fehler in 68 von 100 Fällen *kleiner* als im obigen Beispiel.

erreicht hatten. Das Ergebnis eines mit solchen Tieren durchgeführten Versuches ist in Abb. 8 wiedergegeben.

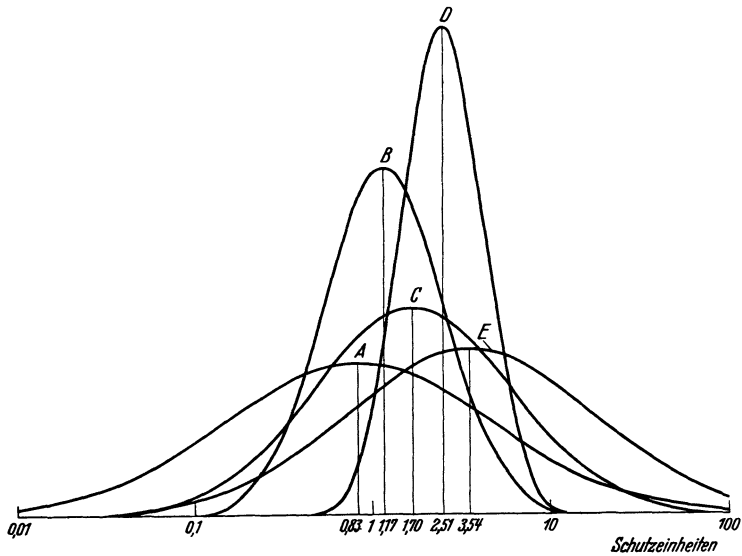


Abb. 8. Immunisierbarkeit von fünf verschiedenen Tiermaterialien (Februar 1936). A. Frankfurter Tiermaterial, B. Inzuchtstamm XXX (Göttingen), C. Inzuchtstamm XI (Göttingen), D. Inzuchtstamm XXIIa (Göttingen), E. Inzuchtstamm XX (Göttingen).

Die Abszissen sind in Abb. 8 ungefähr im gleichen Maßstab eingetragen wie in Abb. 2 und 3, während die Ordinaten zur Erleichterung der graphischen

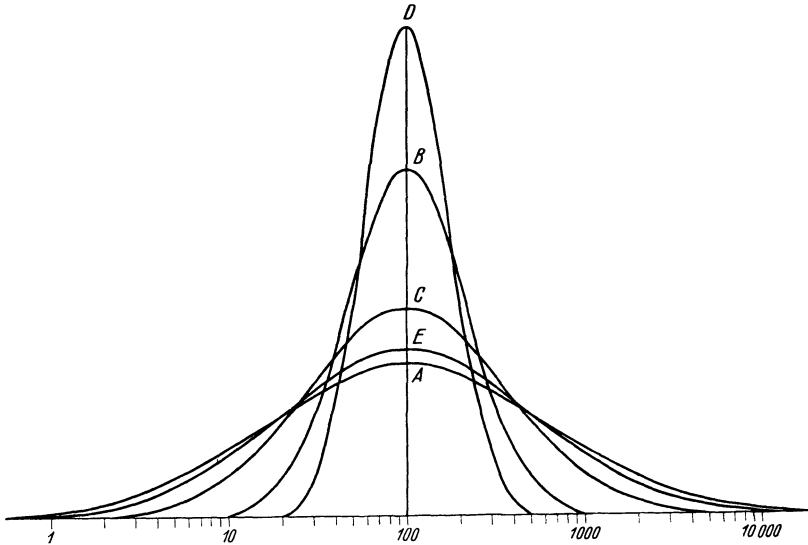


Abb. 9. Verteilung der Immunisierbarkeit bei fünf verschiedenen Tiermaterialien. A. Frankfurter Tiermaterial, B. Inzuchtstamm XXX (Göttingen), C. Inzuchtstamm XI (Göttingen), D. Inzuchtstamm XXIIa (Göttingen), E. Inzuchtstamm XX (Göttingen).

Darstellung in verkleinertem Maßstab wiedergegeben sind. Die Kurve A (Abb. 8), die das Verhalten des Tiermaterials einer großen Frankfurter Farm darstellt,

entspricht also genau den in Abb. 2 und 3 wiedergegebenen Kurven. Um 50% der Tiere zu immunisieren, waren bei dem Frankfurter Material und bei dem Göttinger Inzuchtstamm XXX (Kurve B) etwa die gleichen Antigenmengen erforderlich. Dagegen waren bei den Inzuchtstämmen XI, XXIIa und XX wesentlich höhere Dosen notwendig (Kurven C, D und E).

Nicht ohne Interesse erscheinen in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von v. UBISCH und DO AMARAL. Sie haben festgestellt, daß das gewöhnliche Meerschweinchen (*Cavia porcellus*) viel leichter immunisierbar ist als das gemeine Wildmeerschweinchen (*Cavia rufescens*); gewöhnliche Meerschweinchen bilden *mehr Diphtherieantitoxin* als Wildmeerschweinchen. Dagegen besteht in der *Toxinempfindlichkeit* nichtimmunisierter Tiere kein Unterschied zwischen den beiden Rassen.

Sehr viel bedeutungsvoller als die Verschiedenheiten der mittleren Immunisierbarkeit sind aber die Unterschiede in der *Variationsbreite* (d. h. in der Steilheit der Wirkungsgeraden) der einzelnen Meerschweinchenstämme. In Abb. 9 sind die Kurven der Abb. 8 nochmals wiedergegeben, jedoch ohne Rücksicht auf ihre absolute Lage. Die Kurven sind so gegeneinander verschoben, daß ihre Medianen zusammenfallen und daß die Variationsbreite der verschiedenen Tiermaterialien unmittelbar miteinander verglichen werden kann; die Abszissenzahlen (1, 10, 100 usw.) sind also lediglich als *Relativzahlen* aufzufassen.

Wie Abb. 9 erkennen läßt, bestehen in der Tat *ganz außerordentliche Unterschiede* zwischen den untersuchten Meerschweinchenstämmen. *Die extremen Varianten verschwinden bei den ingezüchteten Stämmen, und die Besetzung der Mittelklassen nimmt zu.* Das Verhältnis der Dosen, die zum Schutz der „reagibelsten“ bzw. der „lässigsten“ Tiere erforderlich sind, beträgt beim

Frankfurter Tiermaterial	1:32000
Inzuchtstamm XX	1:14000
Inzuchtstamm XI	1:2000
Inzuchtstamm XXX	1:100
Inzuchtstamm XXIIa	1:25

Die Bedeutung dieser Ergebnisse ist leicht zu erkennen. Messungen, die mit dem Stamm XXIIa durchgeführt werden, liefern infolge der verhältnismäßig geringen Unterschiede in der Immunisierbarkeit der einzelnen Individuen *sehr viel genauere Resultate* als Messungen, zu denen das Frankfurter Tiermaterial verwandt werden muß. Umgekehrt benötigt man, falls eine Erhöhung der Meßgenauigkeit *nicht* erforderlich ist, bei Verwendung von Inzuchtmaterial *sehr viel weniger Tiere* als bei Verwendung des im Handel erhältlichen Materials.

Wennschon die *individuellen Unterschiede in der Immunisierbarkeit* von Inzuchtmeerschweinchen sehr viel geringer sind als diejenigen von beliebig gezüchteten Tieren, so ist doch die *Immunisierbarkeit des Gesamttiermaterials* den gleichen zeitlichen Schwankungen unterworfen, wie sie oben beschrieben wurden (vgl. Abb. 3). Dieser Sachverhalt wurde auf S. 18 und 19 bereits kurz angedeutet.

Abb. 10 zeigt das Ergebnis von Versuchen, die mit dem Inzuchtstamm XXIIa zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt wurden. Auch hier war im Winter eine sehr viel größere Antigenmenge erforderlich als im Sommer. Auch ein Tiermaterial, das in seinen erbbiologischen Eigenschaften weitgehende Homogenität aufweist, ist also *nicht stabil* in seinem immunbiologischen Verhalten. Daher kann auch bei Antigenmessungen mit ingezüchtetem Tiermaterial auf die *Eichung der Tiere mit Hilfe von stabilen Maßpräparaten* nicht verzichtet werden,

weil gleiche Antigenmengen zu verschiedenen Zeiten ganz verschiedene Wirkung ausüben.

Die Beschaffung von *ingezüchteten Tieren* macht heute noch große Schwierigkeiten. Es ist aber damit zu rechnen, daß sie bei der Bearbeitung zahlreicher immunbiologischen und pharmakologischen Probleme in Zukunft unentbehrlich sein werden. SCHÄFER (3) hat nachgewiesen, daß bereits nach 10 Inzuchtgenerationen ein erheblicher Grad von Reinerbigkeit zu erwarten ist. Man darf also darauf rechnen, daß sich die Aufmerksamkeit weiterer Kreise der Inzuchtfrage zuwenden wird. Es gilt heute als Selbstverständlichkeit, daß man beim bakteriologischen Arbeiten mit absolut reinen, eventuell mikromanipulierten Bakterienstämmen arbeitet. *Es ist keine utopische Forderung, daß tierexperimentelle Arbeiten, welche der Durchführung exakter Messungen gelten, nur mit genetisch einheitlichen Tierstämmen ausgeführt werden sollten!* Schon heute sollte man aber darauf verzichten, wahllos zusammengekaufte Tiere für sogenannte „Messungen“ zu benützen. In manchen Laboratorien werden bereits mit guten Ergebnissen Tiermaterialien verwandt, die von einigen wenigen Tieren abstammen und verhältnismäßig einheitlich zusammengesetzt sind. Auch mit solchen Tieren wird es vielfach gelingen, Unterschiede festzustellen, die dem Nachweis jetzt noch entgehen. Wo dies nicht möglich ist, sollten Messungsergebnisse nur mit der allergrößten Vorsicht bewertet werden.

Stets ist zu bedenken: *Wenn Unterschiede nicht nachgewiesen werden können, ist damit nicht bewiesen, daß überhaupt keine Unterschiede vorhanden sind. Häufig genug werden sie nur durch die Unbrauchbarkeit der angewandten Methode verdeckt!*

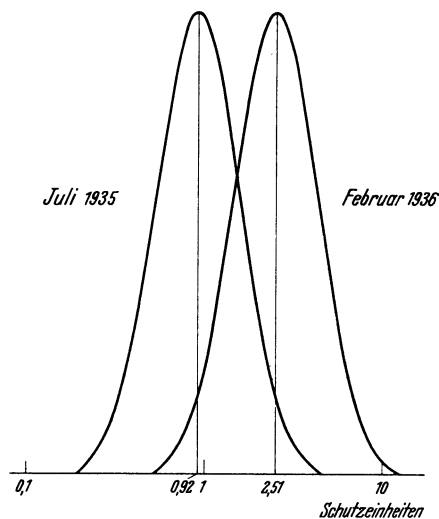


Abb. 10. Immunisierbarkeit des Inzuchtschweinstammes XXIIa zu verschiedenen Jahreszeiten.

II. Die Entwicklung der hochaktiven Impfstoffe.

Seit Einführung der auf der *Messung der antigenen Wirksamkeit* beruhenden staatlichen Prüfung für sämtliche zur aktiven Immunisierung gegen Diphtherie dienenden Impfstoffe (s. S. 19) sind erst wenige Jahre verflossen. Diese kurze Frist hat aber genügt, um die Impfstoffe, die von den Ärzten früher angewandt wurden, völlig zu verdrängen und an ihre Stelle *wesentlich wirksamere und ungefährlichere Präparate* zu setzen.

1. Die älteren Impfstoffe.

Die von BABEŞ und v. BEHRING empfohlenen *Toxin-Antitoxin-Gemische (TA)* sind, sofern sie nur gebundenes Toxin enthalten, zwar ungiftig, haben aber nur verhältnismäßig geringe Wirksamkeit. Im Gegensatz zu diesen „überneutralisierten“ und „neutralisierten“ Gemischen besitzen die „unterneutralisierten“ Präparate, in denen eine „Toxinspitze“ (d. h. freies, nicht an Antitoxin gebundenes Toxin) enthalten ist, zwar höheres Wirkungsvermögen, sind jedoch nicht als ganz ungiftig anzusehen. Die mit TA-Gemischen gewonnenen Ergebnisse sind in den in Bd. 11 und 17 der „Ergebnisse“ erschienenen Referaten eingehend besprochen.

SORDELLI und SERPA haben gezeigt, daß man durch subcutane Injektion der in erwärmten Diphtherie-Toxin- (bzw. Toxoid-) Antitoxin-Gemischen sich bildenden

Flocken bei Meerschweinchen, Kaninchen und Pferden Antitoxine erzeugen kann, und haben die Verwendung der Flocken für die Schutzimpfung des Menschen vorgeschlagen. Ihre experimentellen Ergebnisse wurden von HARTLEY, von SCHMIDT und SCHOLZ u. a. bestätigt und auch am Menschen mit günstigem Erfolg nachgeprüft, in Deutschland zuerst von SCHREIBER. An Stelle der TA-Gemische traten daher ziemlich allgemein die *Toxin- und Toxoid-Antitoxin-Flocken (TAF)*. Trotzdem diese Präparate größere Mengen an spezifischem Substrat enthalten als die TA-Gemische und infolge ihrer Eignung zur Depotbildung zu einer verhältnismäßig langsamen Resorption des Antigens führen, haben sie viel weniger geleistet als man ursprünglich von ihnen erwartete. Verschiedene Kliniker, vor allem PÖCKELS, haben darauf hingewiesen, daß auch die mit TAF-Präparaten erzielten Ergebnisse noch unbefriedigend seien. Da es jedoch an einem zuverlässigen Verfahren zur Wertbemessung der Impfstoffe fehlte, blieben die Meinungen über den Schutzwert der Flocken lange widersprechend. Eingehende Untersuchungen von PRIGGE und KICKSCH erbrachten dann den Nachweis, daß nur verhältnismäßig hochkonzentrierte TAF-Präparate den von der Prüfungsvorschrift geforderten *Mindesttiter* von 1 Schutzinheit im Kubikzentimeter (1 SE/ccm) enthalten; bei den meisten Präparaten wurden sehr viel geringere Werte, einige Male nur 1/50—1/100 SE/ccm oder noch weniger gefunden. Seit Einführung des allgemeinen Prüfungszwanges werden daher in Deutschland keine TAF-Präparate mehr hergestellt. Immerhin ist zu betonen, daß vor allem bei den älteren, leichter immunisierbaren Kindern auch mit diesen Impfstoffen beachtenswerte Resultate erzielt worden sind, wenn sie den Impfungen dreimal mit größerem zeitlichen Intervall eingespritzt wurden [s. Bd. 11 und 17 der „Ergebnisse“ und bei GUNDEL (10)].

In wesentlich höherem Grade als die TA- und TAF-Präparate haben die durch chemische Agenzien (Jodtrichlorid, v. BEHRING; Schwefelkohlenstoff, EHRLICH; Formaldehyd, LÖWENSTEIN) entgifteten, ihres Immunisierungsvermögens jedoch nicht entkleideten Toxinderivate die an sie geknüpften Erwartungen erfüllt.

Entsprechend der ursprünglich gegebenen Definition werden die durch *chemische* Einwirkung entstehenden ungiftigen, aber noch antigen wirksamen Modifikationen bakterieller Gifte in der deutschen und angelsächsischen Literatur als „*Toxide*“ bezeichnet (EHRLICH). Auch auf die beim Altern der Gifte spontan sich bildenden atoxischen und antitoxinbindenden Umwandlungsprodukte der Toxine ist diese Bezeichnung übertragen worden (EHRLICH). Der in der französischen Literatur neuerdings für die Toxide verwandte Ausdruck „*Anatoxin*“ (RAMON) ist überflüssig und außerdem irreführend, weil diese Bezeichnung von v. BEHRING bereits in ganz anderem Sinne eingeführt worden ist. v. BEHRING¹ bezeichnet als „*Anatoxin*“-Einheit diejenige Menge eines Eiweißkörpers, welche ein mit der homologen Substanz sensibilisiertes („*ana*“phylaktisiertes) Meerschweinchen unter typischen Shockerscheinungen tötet. Die Bezeichnung „*Anatoxin*“ kann daher zur Bezeichnung der Toxoidmodifikationen bakterieller Gifte nicht angewandt werden.

Im Jahre 1921 gelang es GLENNY und SÜDMERSEN bei Diphtherietoxinen durch Formolzusatz eine Entgiftung unter Erhaltung ihres Immunisierungsvermögens herbeizuführen. Die so gewonnenen *Diphtherie-Formoltoxide* wurden von RAMON seit 1923 eingehend studiert und der Schutzimpfung des Menschen dienstbar gemacht. Über die mit den Formoltoxoiden (FT-Präparaten) in Deutschland erzielten Erfolge wurde eingehend von GUNDEL (10) berichtet. Wie

¹ BEHRING, v.: Ges. Abh. N. F. 1915, 197.

die Messung zahlreicher Präparate gezeigt hat, gelingt es verhältnismäßig leicht, Formoltoxoiden herzustellen, die einen Titer von 1 (bis 2) SE/ccm besitzen.

Während die Meinungen über den *Schutzwert der verschiedenen Präparate* bis vor wenigen Jahren noch äußerst widersprechend und subjektiv waren, hat also das Vorhandensein einer *exakten Wertbemessungsmethode* eine Entscheidung über ihren Immunisierungswert möglich gemacht und hat dazu geführt, daß die Fabrikationsstätten alsbald die erforderlichen *praktischen Konsequenzen gezogen und die weitere Herstellung gerade der früher am meisten angewandten Präparate eingestellt haben*. Schließlich sind auch noch die Formoltoxoiden in ihrer ursprünglichen Form verschwunden und durch wesentlich wirksamere Präparate ersetzt worden, so daß von den 3 zur aktiven Immunisierung gegen Diphtherie früher dienenden Impfstoffarten — TA, TAF, FT — heute in Deutschland keines mehr verwandt wird.

2. Die Steigerung der antigenen Wirksamkeit der Diphtherieimpfstoffe.

a) Spezifische Aktivierung.

Eine Erhöhung der antigenen Wirksamkeit der Diphtherieimpfstoffe darf erwartet werden, wenn man die in den Präparaten enthaltene Menge an spezifisch-präzipitabilem Substrat erhöht. Selbst bei den TAF-Präparaten gelangt man auf diesem Wege zu günstigeren Schutzwerten (PRIGGE und KICKSCH). Jedoch kommt man hier relativ schnell an eine obere Grenze, weil diese Impfstoffe dissoziabel sind und daher bei allzu hoher Konzentration infolge des freiwerdenden Toxins giftig wirken können. Auch wenn man Toxoid zur Herstellung der Flocken verwendet, macht das in ihnen enthaltene Serumeiweiß eine allzu weitgehende Steigerung — mit Rücksicht auf örtliche Reizerscheinungen und Sensibilisierungsvorgänge — unmöglich.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Formolimpfstoffen. Die Untersuchungen von POPE und SMITH haben dazu geführt, daß wir heute in der Lage sind, Diphtheriegifte herzustellen, die bis zu 125 L_f/ccm enthalten, und diese in Toxoiden umzuwandeln! Gifte mit 5—10 L_f/ccm wurden früher schon als recht gut angesehen.

Auch durch Reinigung und Konzentration von Diphtheriegift und nachfolgende Umwandlung in Toxoid gelangt man zu Präparaten, die das spezifische Substrat in hoher Konzentration enthalten. Unter den zahlreichen zur Reinigung brauchbaren Verfahren hat besonders die von LINDERSTRÖM-LANG und SCHMIDT, sowie SCHMIDT und HANSEN entwickelte Adsorptionsmethode, ferner die von GLENNY und WALPOLE angegebene, von SCHMIDT und KJAER näher studierte Ausfällung mit Säuren weitgehende Anwendung gefunden.

Freilich steigt der Schutzwert der Impfstoffe nicht in gleicher Weise wie ihr Gehalt an spezifischem Substrat, sondern sehr viel langsamer. Bezeichnet man die Anzahl der in 1 ccm enthaltenen Schutzeinheiten mit SE/ccm, die in 1 ccm enthaltenen Flockungseinheiten mit L_f/ccm, so besteht, wie die Messung zahlreicher Impfstoffe ergeben hat, die Beziehung

$$SE/ccm = k \cdot \sqrt{L_f/ccm},$$

wobei *k* für Impfstoffe gleicher Herstellungsart eine Konstante bedeutet [PRIGGE (5, 6)]. Der Schutzwert gleichartig hergestellter Diphtherieimpfstoffe steigt also nur mit der Wurzel des Flockungswertes. Ein Impfstoff der z. B.

16 Flockungseinheiten in 1 ccm enthält, ist nicht 4mal so wirksam wie ein Impfstoff mit 4 Flockungseinheiten, sondern nur doppelt so wirksam! Für Impfstoffe, die nach *verschiedenen* Verfahren hergestellt sind, gilt diese einfache Beziehung jedoch nicht; die Konstante k nimmt vielmehr je nach dem zur Herstellung des Impfstoffes verwandten Nährboden, den Zusätzen, dem Carbolgehalt usw. ganz verschiedene Werte an, so daß Impfstoffe mit gleichem Flockungswert ganz verschiedenen Schutzwert besitzen, wenn sie nach verschiedenen Verfahren hergestellt sind.

b) Unspezifische Aktivierung.

Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, durch Veränderung der Konstante k , d. h. durch *unspezifische Einwirkungen* den Schutzwert der Impfstoffe zu steigern. Schon seit längerer Zeit sind eine Reihe von Maßnahmen bekannt, denen ein Einfluß auf das Immunisierungsvermögen der Impfstoffe zugeschrieben wurde, freilich ohne daß genaue zahlenmäßige Angaben über die Veränderung der Wirksamkeit möglich gewesen wären.

Unter den Verfahren zur Steigerung der antigenen Wirksamkeit dürfte die von RAMON (5) eingeführte Behandlung der Toxine und Toxide mit *Tapioca* das älteste sein. Mit Impfstoffen, denen Tapiocapulver zugesetzt ist, erzielt man bei Tieren einen *sehr viel höheren Antitoxinanstieg* als mit den Ausgangspräparaten. Da das Tapiocapulver Abscesse hervorruft, konnte das Verfahren bei der Schutzimpfung des Menschen nicht in Anwendung kommen.

Ohne daß hier schon der Mechanismus der Wirkungssteigerung erörtert werden soll, sei bemerkt, daß SKROTZKY in tapiocabehandelten Toxinen eine recht beträchtliche (etwa 25% ige) Zunahme des Flockungswertes feststellen konnte. Er schließt hieraus, daß unspezifische Faktoren das Antitoxinbindungsvermögen der Toxine in quantitativer Hinsicht zu verändern vermöchten. PRIGGE und KLINKHART (ined.) haben die Angaben von SKROTZKY nachgeprüft und konnten sie durchaus bestätigen. Bei eingehender Berücksichtigung der *Volum- und Trockengewichtsverhältnisse* stellte sich aber heraus, daß das Phänomen auf einem durch die Quellung der Tapioca bedingten *Wasserverlust* des Toxins beruht. Zwar nimmt die Anzahl der in 1 ccm enthaltenen Flockungseinheiten zu; aber das Flüssigkeitsvolumen des Toxins nimmt ab, so daß die Anzahl an Flockungseinheiten insgesamt *nicht* vermehrt wird. Ferner steigt das Gewicht der in der Volumeinheit enthaltenen Trockensubstanz in gleicher Weise wie der Flockungswert. Es handelt sich also um einen Konzentrationsvorgang, der dadurch bedingt ist, daß die Tapioca bei der Quellung nur wenig Trockensubstanz aufnimmt. Da bei der Filtration ein mehr oder minder großer Flüssigkeitsverlust eintritt, empfiehlt es sich, zum genauen Studium der quantitativen Verhältnisse das Toxin nicht durch Filtrieren, sondern durch Zentrifugieren von der Tapioca zu trennen.

Wesentlich größere Bedeutung als die Tapiocamethode hat für die Schutzimpfung des Menschen die *Aluminiumbehandlung der Formoltoxide* gewonnen. Bereits 1889 hatten ROUX und YERSIN beobachtet, daß Metallsalze in Diphtheriekulturfiltraten unlösliche, antigenhaltige Niederschläge bilden. GLENNY, POPE, WADDINGTON und WALLACE fällten Diphtherietoxoid mit $\text{Al K} (\text{SO}_4)_2$ (Kalialaun) und erzielten bei Immunisierungsversuchen mit dem Präcipitat sehr viel bessere Wirkungen als mit dem Ausgangsmaterial. Auch mit Calciumchlorid lassen sich ähnliche Resultate erreichen (RAMON und NÉLIS). An Stelle des durch $\text{Al K} (\text{SO}_4)_2$ gewonnenen Präcipitates verwandten SCHMIDT und SCHMIDT und HANSEN ein gereinigtes und an $\text{Al} (\text{OH})_3$ (Aluminiumhydroxyd) adsorbiertes Toxoid; mit dem Adsorbat wurden ebenfalls wesentlich günstigeren Wirkungen erzielt als mit dem Rohtoxoid.

Auch das von STRAUS vorgeschlagene Verfahren, die Toxoide im Verhältnis 100 : 200 : 75 mit *Lanolin* und *Olivenöl* zu mischen, scheint das Immunisierungsvermögen der Impfstoffe beträchtlich zu steigern; in Amerika sind nach der STRAUSSchen Methode hergestellte Präparate zur intramuskulären Injektion bei Kindern verwandt worden. Der praktischen Anwendung von Lanolinimpfstoffen steht aber im Wege, daß es recht schwierig ist, bei der Herstellung bakterielle Verunreinigungen zu vermeiden.

Auch mit *löslichen* Zusätzen läßt sich die Schutzkraft der Diphtherieimpfstoffe wesentlich erhöhen. Z. B. konnte PRIGGE (5) zeigen, daß die durch Sättigung von Leerbouillon (POPE-Bouillon) mit Natriumsulfat gewonnenen, komplett löslichen Präzipitate die Wirksamkeit von Formoltoxoid erheblich zu beeinflussen vermögen. Wichtigkeit für die Praxis haben auch diese Feststellungen nicht gewonnen; sie sind jedoch für die Erklärung des Mechanismus der Wirksamkeitssteigerung von Bedeutung.

c) Die Aluminiumimpfstoffe.

Von den im letzten Abschnitt beschriebenen Aktivierungsverfahren hat sich lediglich die *Aluminiumbehandlung der Formoltoxide* durchzusetzen vermocht. Dabei stehen wir der merkwürdigen Tatsache gegenüber, daß diese Methode, die schon seit 1926 bekannt ist, während eines ganzen Jahrzehnts nahezu unbekannt oder wenigstens umstritten war und in Deutschland völlig abgelehnt wurde.

Der Grund hierfür war ein doppelter. Einerseits befürchtete man, die in den Präparaten enthaltenen kleinen Aluminiummengen könnten zu Nephritiden führen oder verstärkte Reizwirkungen an der Injektionsstelle bedingen. *Andererseits war ein objektives Urteil über die Wirksamkeit der Aluminiumpräparate gar nicht möglich, weil es an einem exakten Verfahren zur Messung ihres Schutzwertes fehlte.* Es bestand somit kein Anlaß, auf Grund des Adsorptions- oder des Präcipitationsverfahrens neue Impfstoffe zu entwickeln, von denen man keine radikale Verbesserung der Wirkungen, wohl aber gewisse Schädigungen erwartete.

Ein grundsätzlicher Wandel in der Beurteilung der Aluminiumimpfstoffe wurde durch die Schaffung der in den früheren Abschnitten dargestellten Methode zur Wertbemessung der Diphtherieimpfstoffe herbeigeführt. Es konnte nun nachgewiesen werden, daß es mit der von GLENNY empfohlenen Aluminiumbehandlung der Diphtherietoxoide gelingt, *Impfstoffe von weit über dem Durchschnitt liegendem Titer zu gewinnen.* Z. B. ließ sich die Wirksamkeit eines Impfstoffes durch Zusatz von 1 Teil 20%iger Kalialaunlösung zu 10 Teilen Impfstoff derartig steigern, daß 48 von 50 = 96% der behandelten Tiere durch eine bestimmte Dosis immunisiert wurden, während die *gleiche* Impfstoffdosis *ohne* Kalialaun nur bei 8 von 50 = 16% der Tiere die erstrebte Immunität erzeugte [PRIGGE (5)]. Hierzu ist zu bemerken, daß die Steigerung der Wirksamkeit nicht etwa — wie man nach dem Verhältnis der Prozentsätze vielleicht annehmen könnte — eine 6fache, sondern eine 117fache war. *Durch die Alaunbehandlung wurde also das gleiche erzielt, was man durch Anwendung der 117fachen Menge des unbehandelten Impfstoffes hätte erreichen können!*

An diese Versuche knüpfte das Anhaltische Seruminstitut an [SCHMIDT-BURBACH (5)] und begann im Jahre 1936 mit der fabrikmäßigen Herstellung von

*Aluminiumimpfstoffen*¹, denen nach kurzer Zeit *Aluminiumhydroxydimpfstoffe*² der Behringwerke folgten. Auch die Bedenken, die hinsichtlich der Verträglichkeit der Aluminiumimpfstoffe bestanden hatten, waren inzwischen geschwunden, nachdem WELLS, GRAHAM und HAVENS in den Vereinigten Staaten, LEACH, JENSEN und PÖCH in Österreich sowie FARAGÓ in Ungarn die *völlige Unschädlichkeit der Aluminiumpräparate* für den Menschen dargetan hatten.

Die eingehende Untersuchung einer größeren Zahl mit $\text{Al K}(\text{SO}_4)_2$ oder $\text{Al}(\text{OH})_3$ aktivierter Impfstoffe hat freilich gezeigt, daß einer unbeschränkten Anwendung der Aluminiumtoxide doch gewisse Bedenken entgegenstehen. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß es *zwischen den mit Aluminium gewonnenen Präparaten ganz erhebliche Wertigkeitsunterschiede* gibt, die sehr viel größer sind, als man ursprünglich hätte erwarten sollen [PRIGGE (10)]. Tabelle 3 bringt eine Übersicht über eine größere Reihe von Aluminiumpräparaten, ihre Zusammensetzung, ihren Gehalt an spezifischem Substrat (ausgedrückt in Lf/ccm , d. h. in „Flockungseinheiten“) und ihren *Schutzwert*. Die Präparate wurden von verschiedenen deutschen Serumwerken zur staatlichen Prüfung eingesandt oder für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt; der Impfstoff F 47 a wurde für den Laboratoriumgebrauch im Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. hergestellt.

Tabelle 3. Hochaktive, schwachaktive und unterwertige Aluminiumimpfstoffe.

Präparat	Zubereitung des Ausgangstoxoids	Flockungswert: Lf/ccm	Aktivator %	Schutzwert: SE/ccm
B 18	gereinigt	85	0,15 $\text{Al}(\text{OH})_3$	200
B 19	„	67,5	0,25 „	200
B 17	„	54	0,25 „	150
F 47a	ungereinigt	7,9	1,82 $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	106
A 5	gereinigt	30	0,95 „	95
B 14	„	70	0,05 $\text{Al}(\text{OH})_3$	83
B 5/I,	„	50	0,05 „	44
B 5/IIa	„	50	0,05 „	44
A 8	„	36	1,32 $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	43
B 6	„	70	0,05 $\text{Al}(\text{OH})_3$	37
A 6	„	38	1,34 $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	33
B 15	„	70	0,05 $\text{Al}(\text{OH})_3$	28
B 16	„	70	0,05 „	24
A 7	„	36	1,32 $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	21
B 4	ungereinigt	30	0,03 $\text{Al}(\text{OH})_3$	6
B 5/IIb	gereinigt, erhitzt	50	0,05 „	3
O 1	gereinigt	8	2,0 „	0,6
A 4	„	8	2,0 „	0,35
A 123	ungereinigt	8	2,0 „	0,2
B 5/IV	gereinigt	10	0,05 „	0,07
A 125r	ungereinigt	3,5	2,0 „	0,05
A 125g	gereinigt	3,5	2,0 „	0,04

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, war der Wert der 22 untersuchten Präparate in den extremen Fällen *um das 5000fache verschieden*: während das Präparat A 125 g nur 0,04 Schutzeinheiten im Kubikzentimeter (SE/ccm) enthielt, hatte B 18 einen Titer von 200 SE/ccm! Und zwischen diesen Extremen waren *alle Übergänge* vorhanden. Dabei wiesen 6 von den 22 untersuchten Präparaten

¹ Fabrikbezeichnung: „Di-Toxoid“ = Diphtherie-Alaun-Formol-Toxoid.

² Fabrikbezeichnung: „AlFT“ = Aluminiumhydroxyd-Formol-Toxoid.

einen so geringen Titer auf, daß sie nicht einmal den von der staatlichen Prüfungsordnung verlangten Mindestwert von 1 SE/ccm erreichten.

Da der Koeffizient k (s. S. 27) nur für gleichartig hergestellte Impfstoffe eine Konstante ist, für Impfstoffe, welche nach verschiedenen Verfahren gewonnen sind, dagegen ganz differente Werte annimmt, weisen auch Präparate, die in ihrem Gehalt an Flockungseinheiten übereinstimmen, außerordentliche Unterschiede in der Wirksamkeit auf, z. B. die Impfstoffe F 47 a, 0 1, A 4, A 123 und B 5/IV mit 8—10 L_f /ccm oder die Impfstoffe B 17, A 5, B 5/I, B 5/IIa, A 8, A 6, A 7, B 4, B 5/IIb mit 30—50 L_f /ccm und B 18, B 19, B 14, B 6, B 15, B 16 mit etwa 70—80 L_f /ccm. Die Menge und die Art des Aktivators [$AlK(SO_4)_2$ oder $Al(OH)_3$], die Vorgänge bei der Reinigung oder andere für die Herstellung der Impfstoffe wichtigen Umstände (Carbolgehalt usw.) spielen hierbei eine sehr erhebliche Rolle.

Wie die umfangreichen Untersuchungen, die zu dem in Tabelle 3 zusammengestellten Ergebnis geführt haben, erkennen lassen, können nunmehr *Diphtherieimpfstoffe* hergestellt werden, deren Titer den Schutzwert der bisher angewandten Durchschnittspräparate, welche 1 bis höchstens 2 SE/ccm enthielten, in unerwartetem Maße übertrifft. Die Messungen, über die berichtet wurde, haben eine in Zahlen ausdrückbare Vorstellung von den Möglichkeiten gegeben, welche hier bestehen. Impfstoffe mit 3 oder 6 SE/ccm (z. B. B 5/IIb und B 4), die im Vergleich zu den Rohtoxoiden schon als sehr hochwertig erscheinen (3fache Wirksamkeit!), kommen für die praktische Anwendung beim Menschen nicht mehr in Frage. Als „hochaktive Impfstoffe“ können nur solche Präparate gelten, deren Wert mindestens das 10fache, besser das 30fache der früheren Norm (1 SE/ccm) beträgt; die letzteren stellen schon jetzt den Maßstab für die zu stellenden Anforderungen dar. Dieser außerordentliche Fortschritt hat sich durch systematische Ausnützung der durch die neuentwickelte Meßmethode gebotenen Möglichkeit zur Auffindung der wirksamsten Impfstoffe und der aussichtsreichsten Herstellungsverfahren ergeben. Sie können freilich nur dadurch aufrechterhalten oder gar übertroffen werden, daß der Titer jedes Präparates sorgfältig geprüft und so ein „Sieb“ eingeschaltet wird, welches ungeeignete Präparate von der Anwendung unter allen Umständen ausschließt. Hierdurch wird es auch möglich sein, die Methoden zu erkennen, mit deren Hilfe die Impfstoffherstellung gleichmäßigere, weniger vom Zufall abhängige Resultate erwarten läßt als bisher. Für die zur aktiven Immunisierung bestimmten Diphtherieimpfstoffe wird dadurch der gleiche Zustand geschaffen sein, welcher bezüglich des Diphtherieserums und einer Reihe von weiteren Heilseren schon seit mehreren Jahrzehnten besteht.

d) Die Fabrikationsverfahren.

Als Ausgangsmaterial zur Gewinnung der Aluminiumtoxide wird in den deutschen Herstellungsstätten die POPE-Bouillon verwandt (POPE u. SMITH), mit deren Hilfe die Bereitung von Toxinen mit mindestens 60 L_f /ccm keinerlei Schwierigkeiten macht. Gewisse Umständlichkeiten sind allerdings zur völligen Entgiftung dieser hochwertigen Präparate erforderlich. Diese gelingt erst nach längerer Einwirkung von Formol (bis 1,1 oder gar 1,2%) bei 39° C. Auch bei diesen Formaldehydkonzentrationen bleibt eine restliche Toxizität oft lange erhalten. Auch sie wird völlig beseitigt, wenn man zunächst nicht die volle Formolmenge, sondern nur etwa 0,9% zum Gift zusetzt und nach mehreren Wochen bis Monaten nochmals 0,1% Formol nachgibt; wenn die Toxizität dann innerhalb von 3 Tagen nicht restlos verschwindet, muß nochmals 0,1% Formol zugefügt werden [PRIGGE (ined.)]. Als völlig ungiftig können nur solche Toxide

gelten, die in Mengen von mindestens 5 ccm von Meerschweinchen ohne wesentliche Lokalerscheinungen und ohne Allgemeinerscheinungen, vor allem ohne Lähmungen vertragen werden. Bedingen Gemische von Toxoid mit Antitoxin schwächere Lokalerscheinungen als unvermisches Toxoid, so ist auf das Vorhandensein eines Toxinrestes zu schließen.

Die *Alaunimpfstoffe* werden hergestellt, indem die Toxoide mit 1,5% oder weniger Kalialaun $[\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 + 12 \text{H}_2\text{O}]$ versetzt werden. Der Niederschlag wird bei saurer Reaktion mehrfach gewaschen und schließlich in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Ein Zusatz von Carbol ist statthaft und üblich; er darf jedoch mit Rücksicht auf die Haltbarkeit der Impfstoffe 0,3% nicht übersteigen. Durch die Präcipitation wird eine erhebliche Reinigung der Toxoide bewirkt [Einzelheiten s. bei GLENNY und BARR und bei FARAGÓ (3)].

Die *Aluminiumhydroxydimpfstoffe* wurden ursprünglich in der Weise gewonnen, daß die Rohtoxoide zunächst durch Adsorption an WILLSTÄTTERS Präparat C gereinigt, eluiert und wieder mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ versetzt wurden [Einzelheiten s. bei SCHMIDT und HANSEN (2)]. Neuerdings geht man so vor, daß man das Toxoid durch Säurepräcipitation reinigt, das Präcipitat in Alkali löst, die Lösung durch geeignete Adsorbentien entfärbt und alsdann — nach Beifügung von Carbol und NaCl — C_γ zusetzt (bei p_H 5,5), so daß schließlich — wie in dem Verfahren von SCHMIDT und HANSEN — ein in Carbol-Kochsalzlösung suspendiertes Adsorbat von Toxoid an C_γ resultiert. Die von SCHMIDT und KJAER geäußerten Bedenken gegen die Säurepräcipitation, durch die die antigene Wirksamkeit der Toxoide leiden soll, haben sich nicht bestätigt.

Über die *Haltbarkeit* der beiden Präparate ist ein abschließendes Urteil noch nicht möglich. FARAGÓ (5) glaubte zwar feststellen zu können, daß die Alauntoxoide bei Zimmertemperatur innerhalb von 6—8 Monaten ihr Flockungsvermögen gegenüber Antitoxin verlieren. PRIGGE (ined.) konnte aber nachweisen, daß in Wirklichkeit nur eine *Verzögerung* der Flockung erfolgt; offenbar hat FARAGÓ die Gemische nicht genügend lange beobachtet. Das Flockungsvermögen selbst bleibt jahrelang erhalten und nimmt während dieser Zeit in quantitativer Hinsicht nur wenig ab. Wichtiger ist die Haltbarkeit des Immunisierungsvermögens; PRIGGE (10) konnte nach $\frac{1}{2}$ jähriger Aufbewahrung eines Alauntoxoids bei Zimmertemperatur keine Abnahme des Schutzwertes konstatieren. Nach der deutschen Prüfungsvorschrift dürfen die Präparate — mit Rücksicht auf die Möglichkeit einer bald nach der Herstellung auftretenden Abschwächung — erst nach 2monatigem Lagern (Reifung, Stabilisierung) zur staatlichen Prüfung angemeldet werden.

e) Der Mechanismus der Aktivierung.

Es darf als erwiesen gelten, daß die Gewebe des immunisierten Organismus bei abermaliger Berührung mit dem gleichen Antigen imstande sind, Antikörper *schneller* und *in größerer Menge* zu produzieren als normale Gewebe, vorausgesetzt, daß der zeitliche Abstand zwischen der ersten und der zweiten Antigeninjektion nicht zu klein ist. Unter diesen Umständen reagiert also der Organismus auf den „*sekundären Stimulus*“ wesentlich stärker als auf den „*primären Stimulus*“. Die Zellen „lernen“ eine bestimmte Leistung zu verbessern: sie vermögen den Reiz, den die Einverleibung des Antigens darstellt, im Wiederholungsfall mit einer gründlicheren und schnelleren Reaktion zu beantworten („Übung“);

wenn allerdings die zweite Injektion zu rasch auf die erste folgt, fehlt die für das Zustandekommen der gesteigerten Wirkung erforderliche „Umstimmung“ des Organismus. Durch 2malige, im Abstände von 3—4 Wochen vorgenommene Einspritzung verhältnismäßig kleiner Dosen von Impfstoff wird also ein höherer Schutz erzielt als durch Einspritzung einer einzigen Dosis, selbst wenn diese größer ist als die beiden Einzelmengen zusammen. Auf Grund dieser Tatsachen erklärt man sich die Wirkung der Aluminiumimpfstoffe vielfach als reine *Depotwirkung*: weil der Impfstoff nur allmählich aus dem subcutanen Depot in den Säftestrom des Körpers übergeht, führt man die starken immunbiologischen Reaktionen des Organismus auf die wochenlang anhaltende Reizwirkung der nach und nach freiwerdenden Antigenmengen zurück.

Während natives Formoltoxoid schon 24 Stunden nach der Injektion zu einem großen Teil aus dem Organismus ausgeschieden ist, konnten GLENNY, BUTTLE und STEVENS zeigen, daß das durch Präcipitatimpfstoffe erzeugte Depot lange Zeit wirksam bleibt; der Nachweis wurde durch Excision der Depots und Übertragung auf andere Tiere geführt. Nach Untersuchungen von HARRISON und von FARAGÓ, die mit der gleichen Methode durchgeführt wurden, hält die Wirksamkeit der subcutanen Depots — frischen Tieren gegenüber — mindestens 6—7 Wochen an.

Allerdings ist es nicht möglich, die erhöhte Wirksamkeit der Aluminiumimpfstoffe lediglich durch die Verzögerung ihrer Resorption zu erklären. PRIGGE (5) hat nachgewiesen, daß die durch diese Impfstoffe verursachten Wirkungen bei Meerschweinchen *sehr schnell* zustande kommen, keineswegs später als die Wirkungen der Rohtoxoide. FARAGÓ (2) konnte sogar feststellen, daß nur die *Höhe* des Antitoxinspiegels von der Zeitspanne abhängig ist, während deren das Antigendepot im Körper belassen wird, während der *Zeitpunkt*, zu dem sich das *Wirkungsmaximum* einstellt, von dieser Spanne unabhängig ist: das Maximum wird im allgemeinen etwa am 30. Tage nach der Injektion des Impfstoffes erreicht (vgl. S. 14). Andererseits zeigt die geringfügige Wirksamkeit der TAF-Präparate (s. S. 26), die ebenso wie die Aluminiumimpfstoffe ein subcutanes Depot erzeugen und das Antigen erst nach und nach aus den Flocken bzw. aus der Bindung an das Antitoxin freiwerden lassen, deutlich, daß *eine Resorptionsverzögerung und eine hierdurch bedingte Protraktion der Wirkung nicht ohne weiteres eine Steigerung des Immunisierungsvermögens der Impfstoffe herbeiführt*. Man möge sich in diesem Zusammenhang daran erinnern, daß man die im Vergleich zu den neutralen TA-Präparaten günstigere Wirkung der unterneutralen Gemische im allgemeinen gerade auf das Vorhandensein einer größeren Menge freien Toxins und eine hierdurch gewährleistetere stärkere Reaktion des Organismus zurückzuführen pflegte.

Die in den früheren Abschnitten dargestellten Untersuchungen über die Wertbemessung der Aluminiumimpfstoffe (vgl. Tabelle 2 und 3) lassen ferner erkennen, daß diese Präparate auch noch in hohen Verdünnungen wirksam sind. Ein 200facher Impfstoff schützt z. B. in 100facher Verdünnung noch wesentlich mehr Tiere gegen die spezifische Intoxikation als ein unverdünntes durchschnittliches Formoltoxoid (Rohtoxoid). Von der Bildung eines eigentlichen Depots kann bei derartigen Verdünnungen wohl kaum mehr die Rede sein. Ferner hat O'BRIEN gezeigt, daß *auch bei Verwendung von Alaunimpfstoffen der Organismus auf eine nach 3 Wochen vorgenommene Zweitimpfung wesentlich stärker reagiert als auf die Erstimpfung*. Durch zweimalige Injektion von nur 0,1 ccm Alauntoxoid wurde sogar ein wesentlich höherer Immunitätsgrad erzielt als durch einmalige Injektion

von 1,0 ccm [GLENNY, zit. nach CHESNEY (3)]. Die Vorstellung, daß der Impfstoff infolge seiner herabgesetzten Resorbierbarkeit gewissermaßen automatisch das gleiche bewirke, was man sonst durch „fraktionierte“ Impfung erreicht, und daß durch die Depotwirkung eine *Vereinigung des primären und des sekundären Stimulus* [FARAGÓ (2)] zustande komme, ist mit den Feststellungen von O'BRIEN und GLENNY nicht ohne weiteres in Einklang zu bringen.

Als besonders wichtiges Argument für die Annahme, daß neben der Depotwirkung noch ein anderer, sehr wesentlicher Faktor eine Rolle spielen müsse, erscheint schließlich die Tatsache (s. oben S. 29), daß auch mit leicht löslichen Bouillonpräcipitaten, die keinerlei Verzögerung der Resorption bewirken, eine beträchtliche Steigerung der Wirksamkeit von Formoltoxoiden erzielt werden kann.

Umgekehrt kann wohl die schlechte Wirksamkeit von gereinigten (nicht mit Aluminium versetzten) Formoltoxoiden nicht durch Resorptions-*Erleichterung* erklärt werden, da ein sehr erheblicher Unterschied in der Resorbierbarkeit zwischen Rohtoxoiden und gereinigten Präparaten kaum bestehen dürfte.

Im Verein mit der Tatsache der überaus großen Differenzen in der Wirksamkeit der Aluminiumimpfstoffe sprechen alle diese Überlegungen entschieden für die Vorstellung, daß neben der durch die Depotbildung verursachten Resorptionsverzögerung noch andere Ursachen — vor allem Veränderungen des *physikalisch-chemischen Zustandes der wirksamen Kolloide* — bei der Aktivierung der Impfstoffe mitwirken. Es muß in diesem Zusammenhange besonders an die wichtigen Untersuchungen von SCHMIDT und NIEMEYER erinnert werden; diese Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß *ganz reines hochdisperses Toxin seinen Antigencharakter verliert* und weisen nachdrücklich auf die Bedeutung der micellären Größe des Antigens für die Eigenschaften des Antikörpers hin. Es kann kaum einem Zweifel unterliegen, daß die *Größe der Antigenmicelle* auch für das Zustandekommen der Gesamtimmunität von ausschlaggebender Bedeutung ist. Jedenfalls dürfte Untersuchungen über das *Optimum der Micellengröße* bei den Bemühungen um die „Aktivierung“, d. h. um die *Erhöhung der Wirksamkeit der Diphtherieimpfstoffe* erhebliche Bedeutung zukommen.

3. Art- und Typenspezifität der antigenen Wirkungen.

Von erheblicher praktischer Bedeutung ist die Frage, ob die mit den verschiedenen Typen des Diphtheriebacillus gewonnenen Impfstoffe in ihrer antigenen Wirksamkeit identisch oder verschieden sind. Da sogar die Behauptung aufgestellt worden ist, die üblichen Handelssera, die mit dem Stamm Park-Williams Nr. 8 gewonnen werden, seien gegenüber der „GRAVIS“-Infektion ungenügend wirksam und müßten durch typenspezifische „GRAVIS“-Sera ersetzt werden, mußte insbesondere geprüft werden, ob die Impfstoffe, welche mit dem Diphtheriestamm „Park-Williams Nr. 8“ hergestellt werden, auch gegen das Gift des Typus „Gravis“ vollen Impfschutz zu verleihen vermögen.

Der Stamm „Park-Williams Nr. 8“ wird in allen großen Fabriken, auch in Deutschland, zur Serum- und Impfstoffherstellung verwandt; er wird dem Typus „Intermedius“ zugerechnet (ANDERSON, HAPPOLD, McLEOD und THOMSON).

Die bisher angestellten Untersuchungen sprechen eindeutig für die *Identität* des PARK-WILLIAMS- und des GRAVIS-Antigens. Einerseits konnte festgestellt werden, daß Toxoide aus beiden Typen in Dosen, die gegen PARK-WILLIAMS-Toxin gleich hohen Schutz verleihen, auch gegenüber GRAVIS-Toxin gleich wirk-

sam sind. Andererseits wurde gezeigt, daß Toxine aus beiden Typen in Dosen, die bei PARK-WILLIAMS-immunisierten Tieren gleiche Giftwirkung haben, auch von GRAVIS-immunisierten Tieren einen gleich hohen Prozentsatz töten [PRIGGE (6)]. Ob diese Ergebnisse verallgemeinert werden dürfen, bedarf noch der Prüfung, da bisher nur Untersuchungen über die praktisch wichtigsten Kombinationen (Park-Williams \rightleftharpoons Gravis) vorliegen. Die Prüfung wäre auf die Kombinationen Park-Williams \rightleftharpoons Mitis und Mitis \rightleftharpoons Gravis auszudehnen. Für die Praxis genügt einstweilen die Feststellung, daß PARK-WILLIAMS-Toxoid gegen GRAVIS-Toxin genau so schützt wie gegen PARK-WILLIAMS-Toxin. Die Richtigkeit dieser Auffassung wird durch Beobachtungen von BROWN und ETRIS bestätigt, die bei Kindern, welche mit Alauntoxoid immunisiert worden waren, die SCHICK-Probe jeweils mit zwei verschiedenen Toxinen ausführten und eine negative Reaktion ebenso häufig gegenüber GRAVIS-Toxin wie gegenüber PARK-WILLIAMS-Toxin fanden.

Durch diese Ergebnisse wird selbstverständlich die Frage, ob der Typus Gravis in vivo *mehr* und *schneller* Gift bildet als andere Typen und deshalb einen *höheren* Impfschutz erforderlich macht, nicht berührt. Aus den mitgeteilten experimentellen Ergebnissen läßt sich nur folgern, daß sich durch Verwendung von GRAVIS-Toxoid keine günstigeren Resultate erzielen lassen als durch PARK-WILLIAMS-Toxoid. Eine Erhöhung des Impfschutzes muß auf anderem Wege angestrebt werden.

III. Die Ergebnisse der mit hochaktiven Impfstoffen durchgeführten Schutzimpfungen.

Um die außerordentlichen Anstrengungen zu erklären, die der Schaffung besserer Waffen zur Bekämpfung der Diphtherie gelten, sei dieser Abschnitt mit einer knappen Übersicht eingeleitet, welche die Entwicklung der Diphtherie in Deutschland seit Beginn des Jahrzehntes erkennen läßt.

Wie Tabelle 4 zeigt, haben trotz der großen Bemühungen um eine Eindämmung der Seuche die *jährlichen Erkrankungen an Diphtherie seit 1931 um etwa 130%, die Todesfälle um etwa 60% zugenommen!* Dabei darf die geringe Abnahme der Erkrankungsziffer von 1936 auf 1937 nicht den Blick dafür trüben, daß die Seuche noch immer im Anstieg ist: allein in den ersten 35 Wochen des Jahres 1938 sind 100 581 Neuerkrankungen gemeldet worden, während in den ersten 35 Wochen des Jahres 1937 nur 85 501 Personen erkrankten, also etwa 15 000 weniger! —

Tabelle 4. Polizeilich gemeldete Erkrankungen und Todesfälle an Diphtherie im Deutschen Reich.

Jahr	Erkrankungen	Todesfälle
1931	57 822	3380
1932	65 414	3317
1933	77 340	4143
1934	119 103	5469
1935	133 843	6304
1936	147 029	5640
1937	146 733	5387

Praktische Erfahrungen über die Wirkung von Aluminiumimpfstoffen sind seit den ersten von WELLS, GRAHAM und HAVENS beim Menschen ausgeführten Schutzimpfungen in mehreren Ländern gesammelt worden. Ein einheitliches Urteil über diese Antigene ist jedoch bisher nicht zustande gekommen. Während man z. B. in *Ungarn* [FARAGÓ (5)] und in *England* [CHESNEY (3)] zu sehr befriedigenden Resultaten gelangt ist, werden die Aluminiumpräparate in *Frankreich* [RAMON (9)] und in *Canada* (FITZGERALD, FRASER und MCCINNON; FRASER und HALPERN) durchaus abgelehnt. Überblickt man die in Tabelle 3 zusammen-

gefaßten Ergebnisse, welche die *außerordentlichen Unterschiede im Schutzwert der Aluminiumimpfstoffe* erkennen lassen, so wird es ohne weiteres verständlich, warum die Auffassungen über die Eignung dieser Präparate so weit auseinandergehen. Da der Schutzwert der bisher verwandten Aluminiumantigene völlig unbekannt war und ihre Auswahl lediglich empirisch vorgenommen oder durch den Zufall gelenkt wurde, mußten *Präparate von allerverschiedenster Wirksamkeit* zur Anwendung gelangen und mußten auch die mit ihnen erzielten Resultate völlig uneinheitlich ausfallen. Wir befinden uns also in der gleichen Lage, als hätten wir die Ergebnisse der antitoxischen Tetanusprophylaxe zu beurteilen, ohne zu wissen, ob im einzelnen Falle ein 2000faches, ein 300faches, ein 50faches oder gar ein noch schwächeres Serum zur Anwendung gelangt ist. Zur Beurteilung der beim Menschen erzielten Resultate kommt es nicht so sehr darauf an, ob der angewandte Impfstoff einen Zusatz von Aluminium enthielt, als vielmehr auf die Frage, welchen Schutzwert das betreffende Präparat besaß!

Noch ein weiterer Umstand, der leider meist völlig unbeachtet bleibt, ist von größter Wichtigkeit für die Beurteilung der bei der Diphtherieschutzimpfung erzielten Erfolge. Es kommt nicht nur auf den Impfstoff und seinen Antigengehalt an, sondern auch auf die Immunisierbarkeit der Bevölkerung. Aus den Untersuchungen von TOMCSIK, PARISH, FARAGÓ (6) u. a. wissen wir, welche wichtige Rolle die Grundimmunität des Einzelindividuums und die *Gesamtimmunitätslage* in der Bevölkerung eines Impfbezirkes spielt¹. Wo es viele Individuen gibt, welche infolge von latenten Infektionen bereits über eine gewisse Grundimmunität, negative SCHICK-Reaktion, Normalantitoxin usw. verfügen, wird man mit einer einzigen Injektion von etwa 30 SE ausgezeichnete Erfolge erzielen. Die gleiche Maßnahme wird sich aber dort als ungenügend erweisen, wo die Mehrzahl der Individuen SCHICK-positiv reagiert, also keine nennenswerte Grundimmunität besitzt. Die Antigendosis muß in solchen Fällen vervielfacht werden, oder man muß die einzeitige Immunisierung durch die fraktionierte Impfung ersetzen. *Es ist somit völlig unzulässig, die in verschiedenen Gegenden gewonnenen Resultate miteinander zu vergleichen, wenn über die Immunitätslage der Impfbevölkerung keine ausreichenden Angaben gemacht werden können.* Vergleichsuntersuchungen machen stets Feststellungen erforderlich über

1. den Antigengehalt der verwandten Impfstoffe (Anzahl der in der Impfdosis enthaltenen Schutzseinheiten),
2. die Immunitätslage und die Expositionsverhältnisse in der Impfbevölkerung.

Soweit die letzteren nicht zu erlangen sind, können nur solche Vergleiche als wissenschaftlich vollwertig gelten, die innerhalb der gleichen Impfbevölkerung durchgeführt werden.

Seitdem in *Deutschland* die ersten *hochaktiven Präparate von genau bekanntem Wert* in den Handel kamen (Juni 1936), sind zwar schon mehr als 1 Million Kinder mit diesen Impfstoffen immunisiert worden. Ein abschließendes Urteil ist jedoch — aus zwei Gründen — noch durchaus verfrüht.

Zunächst hat sich in diesen 2 Jahren eine stürmische Entwicklung abgespielt, welche die *Wertigkeit* der Impfstoffe immer höher, auf 20, 30, 40, 150 und schließ-

¹ *Anmerkung bei der Korrektur.* Vgl. auch die soeben erschienene Arbeit von WOHLFEIL und BECKER über „Die Beeinflussbarkeit der antitoxischen und antiinfektiösen Diphtherieimmunität usw.“ Zbl. Bakter. I Orig. 142, H. 7/8, 439 (1938).

lich 200 Schutzeinheiten im Kubikzentimeter getrieben hat. Noch wesentlicher ist der Umstand, daß die *Anwendungsweise* der Impfstoffe erst vor kurzem ihre endgültige Regelung gefunden hat. Einer der wichtigsten Vorteile der hochaktiven Diphtherieimpfstoffe ist darin zu erblicken, daß sie eine *dreimalige* Impfung — wie sie bei den TA-, TAF- und FT-Präparaten erforderlich war — überflüssig machen. Zweifellos lassen sich schon bei 1maliger Anwendung der hochaktiven Aluminiumtoxide sehr günstige Wirkungen erzielen; aber ebenso sehr ist zu betonen, daß eine 2malige Impfung mit diesen Präparaten noch wesentlich bessere Ergebnisse erwarten läßt [PRIGGE (10)]. Die bereits erwähnten, experimentell gewonnenen Resultate von O'BRIEN (s. S. 33), nach denen die „*fraktionierte*“ Impfung auch bei Verwendung von Alaunimpfstoffen der einmaligen Immunisierung überlegen ist, ebenso die bei der Schutzimpfung von Kindern gewonnenen Ergebnisse von CHESNEY sprechen sehr eindeutig zugunsten der 2maligen Applikation der Aluminiumpräparate. Außerordentlich wichtig ist daher die durch Runderlaß des Reichs- und Preußischen Ministeriums des Innern vom 2. 10. 37 gegebene Vorschrift, daß bei Verwendung der hochaktiven Impfstoffe, d. h. der Präparate, die *mehr als 10 SE/ccm* enthalten, eine *2malige Impfung* — mit einem Zwischenraum von mindestens 4 Wochen — vorzunehmen ist.

1. Die einzeitige Impfung.

Die statistische Bearbeitung der bisherigen, durch 1malige Anwendung der hochaktiven Präparate im gesamten Reichsgebiet gewonnenen Resultate ist noch nicht beendet. Einen gewissen Einblick ermöglichen jedoch die bereits bekanntgewordenen Zahlen aus einem großen, abgeschlossenen Impfgebiet (Stadt Breslau), in dem etwa *100 000 Kinder* durch eine innerhalb weniger Wochen durchgeführte Impfkaktion erfaßt wurden. Sämtlichen Kindern unter 6 Jahren wurde eine *einmalige* Dosis von etwa 35 SE Diphtherieantigen (1 ccm eines etwa 35fachen Impfstoffes) subcutan injiziert, während die Kinder im schulpflichtigen Alter etwa 7 SE (0,2 ccm des gleichen Impfstoffes) erhielten.

Abb. 11 veranschaulicht den Verlauf der Diphtherieerkrankungen im Regierungsbezirk Breslau vom 1. 1. 36 bis zum 30. 6. 37. Die stehenden Rechtecke versinnbildlichen die Anzahl der Erkrankungen im *gesamten* Regierungsbezirk; der untere schraffierte Teil der Rechtecke gibt die Anzahl der auf die *Stadt* Breslau entfallenden Erkrankungen wieder; der obere ungeschraffierte Teil entspricht also den im *übrigen Teile* des Regierungsbezirkes Breslau gemeldeten Erkrankungen. Die Impfung begann am 28. 11. 1936 und wurde vor Ende des Jahres 1936 zum Abschluß gebracht; sie wurde lediglich im Gebiet der *Stadt* Breslau durchgeführt.

Vergleicht man die ersten 6 Monate des Jahres 1936 mit den ersten 6 Monaten des Jahres 1937, so ergeben sich für den ersteren Zeitraum insgesamt 3901 Erkrankungen, von denen 35% (1348) auf die Stadt Breslau, 65% (2553) auf den übrigen Teil des Regierungsbezirkes entfallen. In den auf die Impfung folgenden 6 ersten Monaten des Jahres 1938 wurden insgesamt 2658 Erkrankungen gemeldet, von denen nur 19% (511) auf die Stadt, dagegen 81% (2147) auf den außerhalb der Stadt liegenden Teil des Regierungsbezirkes entfielen. Hierzu sei noch bemerkt, daß die Differenz zwischen dem im Jahre 1936 und im Jahre 1937 festgestellten Prozentsatz der auf Breslau-Stadt entfallenden Erkrankungen $35 - 19 = 16 \pm 1,1\%$, also etwa das 15fache ihres mittleren Fehlers beträgt.

Es ist somit absolut ausgeschlossen, daß der Abfall durch irgendwelche „Zufälligkeiten“ bedingt worden sein könnte.

Vergleicht man ferner die Anzahl der im I. Halbjahr 1936 im Stadtgebiet gemeldeten Erkrankungen mit der entsprechenden Zahl des Jahres 1937, so ist

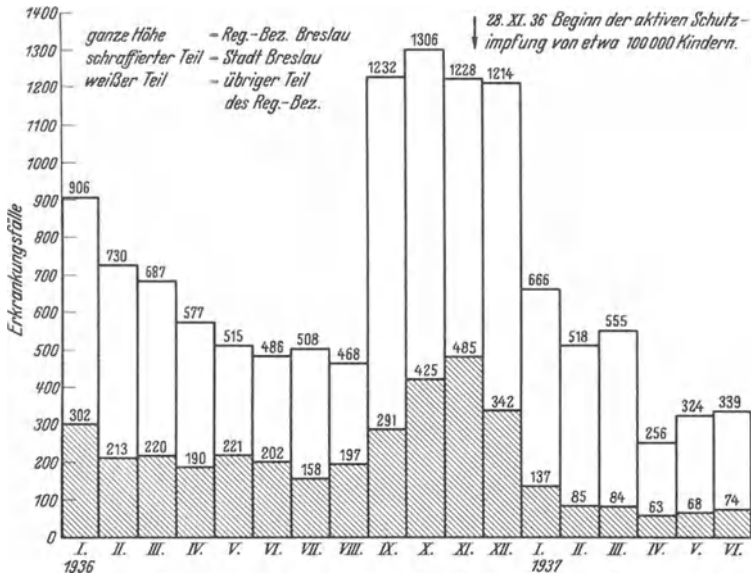


Abb. 11. Ergebnis der mit hochaktivem Aluminiumtoxoid durchgeführten Massenimpfungen in Breslau: **Erkrankungsziffern** (nach amtlichen Zahlen des Reichsgesundheitsblattes und der Veröffentlichungen des Statistischen Amtes der Stadt Breslau zusammengestellt vom Hygienischen Institut für Anhalt, Dessau).

ein Rückgang von 1348 auf 511, also auf 38% festzustellen. Im übrigen Teil des Regierungsbezirkes wurden dagegen 2553 Erkrankungen 1936 und 2147 Erkrankungen 1937, also 84% der vorjährigen Erkrankungsziffer gemeldet.

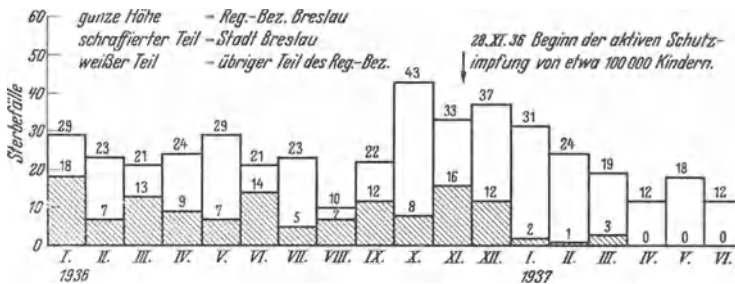


Abb. 12. Ergebnis der mit hochaktivem Aluminiumtoxoid durchgeführten Massenimpfungen in Breslau: **Sterblichkeitsziffern** (zusammengestellt vom Hygienischen Institut für Anhalt, Dessau).

Noch interessanter ist die in Abb. 12 gegebene Übersicht über die Sterblichkeitsziffern. Im ersten Halbjahr 1936 starben im Regierungsbezirk Breslau 147 Personen an Diphtherie, davon 46% (68) in Breslau-Stadt, 54% (79) außerhalb der Stadt. Im Jahre 1937 starben insgesamt 116 Patienten an Diphtherie, davon 5% (6) in der Stadt, dagegen 95% (110) außerhalb. Auch die Differenz zwischen dem im Jahre 1936 und im Jahre 1937 festgestellten Prozentsatz der

auf Breslau-Stadt entfallenden Todesfälle ist absolut gesichert; sie beträgt $46 - 5 = 41 \pm 4,6$, also das 8,9fache ihres mittleren Fehlers!

Vergleicht man noch die Anzahl der im 1. Halbjahr 1936 im Stadtgebiet gemeldeten Todesfälle mit der entsprechenden Zahl des Jahres 1937, so ist ein *Rückgang* von 68 auf 6, also auf 9%, festzustellen, während außerhalb der Stadt eine *Zunahme* von 79 auf 110, also auf 139% zu konstatieren ist.

Ein Wort noch über die *Letalität* in den beiden Gebieten. In Breslau-Stadt starben im Jahre 1936 von 1348 Erkrankten 68 an Diphtherie, also etwa 5,05%, 1937 dagegen von 511 Erkrankten 6, d. h. nur 1,17%. Die Differenz zwischen diesen Prozentsätzen ($5,05 - 1,17 = 3,88 \pm 0,76$) beträgt das 5,1fache ihres mittleren Fehlers, ist also einwandfrei gesichert. Außerhalb der Stadt starben im Jahre 1936 von 2553 Erkrankten 79 an Diphtherie, also etwa 3,1%, 1937 dagegen von 2147 Erkrankten 110, d. h. 5,12%. Die Differenz zwischen diesen Prozentsätzen ($3,1 - 5,12 = -2,02 \pm 0,59$) beträgt das 3,4fache ihres mittleren Fehlers, ist also ebenfalls einwandfrei gesichert.

Hieraus ergibt sich, daß sich der Charakter der Erkrankungen sowohl innerhalb der Stadt wie außerhalb derselben geändert hat. Während die *Schwere* der Erkrankungen außerhalb der Stadt *zugenommen* hat, sind die im Stadtgebiet aufgetretenen Erkrankungen 1937 wesentlich *gutartiger verlaufen* als 1936.

Da genaue Zahlen über die bei den Kleinkindern mit 35 SE und bei den Schulkindern mit 7 SE erzielten Ergebnisse, über die Impfbeteiligung, die Anzahl der Erkrankungs- und Todesfälle, welche innerhalb der Stadt auf Geimpfte und Nichtgeimpfte entfielen, überhaupt alle ins einzelne gehenden Statistiken bis jetzt nicht vorliegen, ist eine genauere Analyse des in Breslau erzielten Impferfolges noch nicht möglich. Doch dürfte der aus den Abb. 11 und 12 unmittelbar hervorgehende Eindruck, daß ungefähr 1 Monat nach Abschluß der Impfkation die Erkrankungen und die Todesfälle in stärkstem Maße abgenommen haben, während die Seuche außerhalb der Stadt ungehemmt ihren Fortgang nahm, fürs erste vollauf genügen, um einen *sehr beträchtlichen Erfolg der Impfung in Breslau* zu konstatieren.

Ein gewisser vorläufiger Überblick läßt sich auch bereits über das Ergebnis der 1937 im *Saarland* an mehr als 200000 Kindern bei etwa 90%iger Impfbeteiligung durchgeführten Immunisierungen geben. Wie Abb. 13 zeigt, lag im Saarland die Morbiditätskurve des Jahres 1936 — mit Ausnahme weniger Wochen, von Ende August bis Anfang Oktober — *über* dem Reichsdurchschnitt. Das gleiche gilt für das erste Halbjahr 1937, während dessen der größte Teil der Impfungen durchgeführt wurde. Seit Ende August 1937 lag die Morbiditätskurve des Saarlandes dagegen dauernd *unter* dem Reichsdurchschnitt.

Dieses Ergebnis läßt sich allerdings fürs erste noch weniger analysieren als die Resultate der Breslauer Impfkation. Einerseits wurden Impfstoffe verschiedener Wertigkeit angewandt; doch dürfte dieser Umstand keine sehr wesentliche Rolle spielen, da der Titer aller Präparate innerhalb der gleichen Größenordnung lag (etwa 20—40 SE/ccm). Andererseits war nicht nur die Dosierung bei den verschiedenen Altersklassen verschieden, sondern die Impfungen erstreckten sich auch über einen längeren Zeitraum (Februar bis Juni; Oktober) als in Breslau. Ferner wechselte die Anzahl der bei den einzelnen Aktionen erfaßten Impflinge sehr stark usw.

Die Erfassung und Bearbeitung aller dieser Faktoren ist eine mühsame und verantwortungsreiche Arbeit und erfordert besondere mathematische Vorkenntnisse.

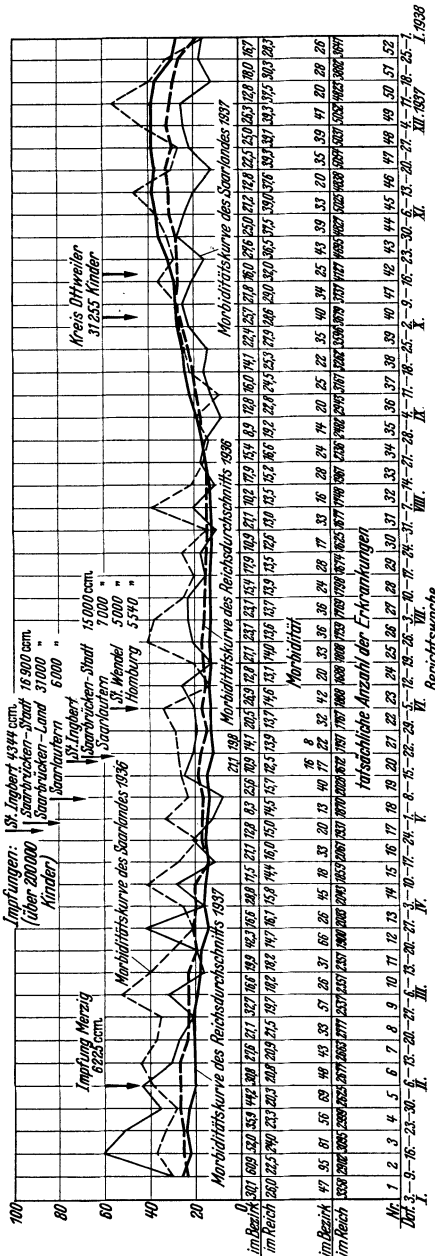


Abb. 13. Ergebnis der mit hochaktivem Aluminiumtoxoid durchgeführten Massenimpfungen im Saarland (zusammengestellt vom Hygienischen Institut für Anhalt, Dessau). Morbidität = Erkrankungshäufigkeit in den einzelnen Berichtswochen, umgerechnet auf 10 000 Einwohner und auf ein ganzes Jahr (Einwohnerzahl des Saarlandes: 811 000, des Reiches: 67 105 000).

Dabei gelingt die volle Ausschöpfung des bei Massenimpfungen anfallenden Materials am besten, wenn fachlich geschulte Statistiker, die mit den besonderen Schwierigkeiten der Materie vertraut sind, zugezogen werden, so daß die in den letzten Jahren in Deutschland und in England gerade auf dem Gebiet der medizinischen Statistik erzielten Fortschritte für die Fragen der Schutzimpfung nutzbar gemacht werden können [vgl. v. SCHELLING (1)]. Im Institut „Robert Koch“, dem die wissenschaftliche Auswertung des gesamten bei den seit 1936 durchgeführten Massenimpfungen gewonnenen Materials übertragen ist, wird zur Zeit eine diesen Forderungen entsprechende Bearbeitung der Impfergebnisse durchgeführt [vgl. WOHLFEL (2)]. Das Resultat dürfte für den weiteren Kampf gegen die Diphtherie von größter praktischer Bedeutung sein.

Aus den im *Ausland* mit nicht-standardisierten Impfstoffen erzielten Ergebnissen lassen sich nur *bedingte Rückschlüsse* ziehen. Jedoch hat ein Teil der in verschiedenen Ländern mit ungeeichten Präparaten gewonnenen Resultate wichtige Aufschlüsse gebracht, die eine ausführlichere Besprechung erforderlich machen.

In den meisten Fällen sind allerdings nur kleinere Gruppen von Kindern geimpft worden. Daher konnten die Ergebnisse im allgemeinen nur auf Grund des Ausfalles der SCHICK-Reaktion oder

auf Grund der Bestimmung des Antitoxintiters im Blute der Impflinge bewertet werden; eine epidemiologische Analyse des Immunisierungseffektes kam wegen der Kleinheit der geimpften Gruppen selten in Betracht. Am wichtigsten ist aber der Umstand, daß *jeglicher Anhalt für die Beurteilung des Schutzwertes der*

verwandten Aluminiumimpfstoffe fehlt. Wenn also FRASER und HALPERN z. B. gefunden haben, daß 3 Injektionen eines Rohtoxoids (0,5 + 0,5 + 1,0 ccm) einen höheren Antitoxintiter erzeugten, als 1 Injektion von einem aus dem Rohtoxoid hergestellten Alauntoxid (1,0 ccm), so ist schlechterdings nicht zu erkennen, was mit einer derartigen Feststellung gewonnen ist. Es ist ein immunbiologisches Gesetz, daß mehrere, mit größerem Intervall injizierte Antigendosen sehr viel besser wirken als eine einzige Dosis. Aus diesem Grunde *genügt es nicht*, die früher übliche *dreimalige* Immunisierung mit je 1 SE durch die *einmalige* Immunisierung mit 3 SE zu ersetzen. Bei der „einzeitigen“ Schutzimpfung muß vielmehr etwa das *10fache* der bisher zu den Impfungen verwandten Antigendosen – also 30 statt 3 SE – injiziert werden, zumindest bei Kleinkindern [PRIGGE (10)].

Diese Forderung wurde bei den in Deutschland mit Hilfe der hochaktiven Impfstoffe durchgeführten einzeitigen Impfaktionen erfüllt (vgl. S. 37).

Auch FARAGÓ (6) weist nachdrücklichst darauf hin, daß die „einzeitige“ Impfung nur dann Erfolg verspricht, wenn sie mit *hochwertigen* Impfstoffen durchgeführt wird; wenn solche nicht angewandt werden können, vermag nur die mehrmalige Impfung günstige Ergebnisse zu gewährleisten. Aus den Untersuchungen von FRASER und HALPERN ist nun gar nicht zu erkennen, um welchen Betrag der Schutzwert des von ihnen verwandten Präparates durch die Alaunbehandlung zugenommen hat. Da die Ergebnisse der kanadischen Autoren in scharfem Widerspruch zu den in anderen Ländern, vor allem in Ungarn gewonnenen günstigen Erfahrungen stehen, ist anzunehmen, daß das Immunisierungsvermögen des von FRASER und HALPERN untersuchten Alaunimpfstoffes der Schutzkraft des Rohtoxoids nur mäßig überlegen war; da 1 ccm Alauntoxid und 2 ccm Rohtoxoid injiziert wurden, erscheint es somit als völlig ausgeschlossen, daß die mit Alauntoxid immunisierten Kinder eine 10mal so große Antigenmenge (in Schutzeinheiten gerechnet) erhalten haben wie die Vergleichsgruppe. Es wird hierdurch verständlich, warum so ungünstige Ergebnisse erzielt worden sind. Daß sich die Feststellungen von FRASER und HALPERN nicht *verallgemeinern* lassen, geht u. a. aus den Untersuchungen von SCHMIDT, JENSEN und FJORD-NIELSEN hervor, die durch *eine* Injektion von Aluminiumhydroxydtoxoid 50% mehr Antitoxin erzeugen konnten als durch *drei* Injektionen von Rohtoxoid. Die Beobachtungen der dänischen Autoren sind zwar an Kaninchen gewonnen, verlieren aber hierdurch nichts von ihrer biologischen Bedeutung. Jedenfalls können die Widersprüche zwischen den von den verschiedenen Untersuchern gemachten Feststellungen nur geklärt werden, wenn mit exakt titrierten (standardisierten) Präparaten gearbeitet wird. Besonders deutlich wird dies durch Untersuchungen von FARAGÓ (6) gemacht, der die *Unterschiede* zwischen den mit verschiedenen Aluminiumimpfstoffen erzielbaren Wirkungen *beim Menschen* studiert und auf Grund der hierbei gewonnenen Resultate die *Notwendigkeit der Verwendung von standardisierten Impfstoffen* betont hat.

Eine eingehendere Darstellung müssen die in *Ungarn* erzielten Ergebnisse finden. Die bereits seit 1933 mit Alauntoxid gewonnenen Erfahrungen waren so günstig, daß man schon 1935 Massenimpfungen mit solchen Impfstoffen vornehmen und nahezu 400000 Kinder impfen konnte. Die Diphtherieschutzimpfung ist seit dem 1. Januar 1938 in Ungarn *obligatorisch*¹.

¹ Auch in *Polen* ist die Diphtherieimpfung für Kinder bis zum 10. Jahre *obligatorisch*, bei Epidemien bis zum 15. Jahre (JASZCZOLT); ebenso ist am 8. Juni 1938 in *Frankreich* die *obligatorische Impfung* aller Kinder im 2. oder 3. Lebensjahr eingeführt worden.

Genauere statistische Untersuchungen über die Beeinflussung der Morbiditäts- und Letalitätsverhältnisse durch Alauntoxid liegen zwar bis jetzt nicht vor. Aus epidemiologischen Untersuchungen von FARAGÓ (1) über die in 4 größeren Landbezirken erzielten Ergebnisse geht nicht hervor, wie sich die Resultate auf die beiden angewandten Impfstoffarten (Rohtoxoid und Alauntoxid) verteilen. Als Beurteilungsgrundlage dient daher fürs erste das von FARAGÓ (5) summarisch mitgeteilte Ergebnis, daß es den „in ausgedehntem Maße vorgenommenen Schutzimpfungen zuzuschreiben ist, daß die *Zahl der Diphtherieerkrankungen in unserem Lande seit dem Jahre 1933*, doch insbesondere im Jahre 1935¹ *wesentlich abgenommen* hat; demgegenüber ist es bekannt, daß die Diphtheriemorbidität in England, Deutschland, Österreich und der Tschechoslowakei im Verlauf der letzten Jahre unausgesetzt ansteigt“. Das Dekret vom 21. 12. 37, durch das die zweimalig (im 2. und im 6. Lebensjahr) vorzunehmende obligatorische Impfung eingeführt wurde, erklärt dementsprechend in § 2 die Rohtoxoide ausdrücklich als unzulänglich („A child who had received only two injections of the so-called Ramon toxoid cannot be considered as fully immunized“).

Die in Ungarn mit Alauntoxid erzielten Ergebnisse haben also in hohem Maße befriedigt, obwohl die zur Impfung verwandten Präparate nicht auf Grund von eigentlichen „Messungen“ ihrer antigenen Wirksamkeit ausgewählt wurden. Aus den Publikationen von FARAGÓ (3, 5) geht aber hervor, daß die Impfstoffe jeweils einer gründlichen Prüfung im Laboratorium und an Kindern unterzogen wurden, bevor sie zur allgemeinen Anwendung gelangten. Die von FARAGÓ (3) mitgeteilten Zahlen lassen erkennen, daß Meerschweinchen, die mit den geprüften Impfstoffen immunisiert waren, ein hohes Vielfaches der tödlichen Dosis ohne schwere Reaktionen vertrugen und daß SCHICK-positive Kinder, denen 0,5—1,0 ccm Alauntoxid einmalig injiziert war, in etwa 95% der Fälle SCHICK-negativ wurden usw. Alle diese Untersuchungen können zwar die direkte Messung des Schutzwertes der einzelnen Präparate nicht ersetzen, bieten aber doch eine Gewähr dafür, daß nur verhältnismäßig hochwertige Präparate zur Anwendung gelangen. Mit Rücksicht auf die widersprechenden Urteile, die über die Möglichkeit der einzeitigen Immunisierung mit Aluminiumimpfstoffen abgegeben worden sind, hat FARAGÓ (6) jetzt auf die Notwendigkeit hingewiesen, die für die Anwendung beim Menschen bestimmten Impfstoffe zu *standardisieren*, zu bestimmen, ob sie sich zur einmaligen oder zur zweimaligen Impfung eignen, und gewisse Mindestforderungen an ihren Wert zu stellen.

Wie FARAGÓ (5) mitteilt, konnte er bei zwei größeren Kindergruppen, von denen die eine mit 1,0 ccm, die andere mit 0,5 ccm des gleichen Impfstoffes immunisiert war, einen gleich hohen Prozentsatz von SCHICK-negativen Individuen feststellen, etwa 95%. Diese Beobachtung ist nicht so unverständlich, wie sie erscheint. Da auch beim Menschen eine *Normalverteilung* bezüglich der Immunisierbarkeit bestehen dürfte, ist selbst bei kräftiger Erhöhung (Verdoppelung) der Antigendosis kein wesentlicher Zuwachs an immunisierten Individuen mehr zu erwarten, wenn bereits ein hoher Prozentsatz (95%) erreicht ist; ein Blick auf Abb. 4 sowie auf die in Tabelle 2 enthaltenen Zahlen macht diese Zusammenhänge ohne weiteres verständlich. Darüber hinaus müssen wir ganz allgemein erwarten, daß *beim Menschen alle durch die Impfung erreichbaren Wirkungen mit der Erhöhung der Antigendosis sehr viel langsamer steigen als beim Tier*, gleichgültig, ob man das injizierte Volumen (Kubikzentimeter) oder die Anzahl der in der Volumeinheit enthaltenen Schutz-

¹ In diesem Jahre wurden 391175 Kinder mit *Alauntoxid*, 16126 Kinder mit *Rohtoxoid* immunisiert [FARAGÓ (5)].

einheiten (SE) erhöht. Die *Variabilität* einer Großstadt- oder Landbevölkerung dürfte — hinsichtlich ihrer Immunisierbarkeit — noch wesentlich höher sein als die Variabilität einer Tierpopulation oder gar eines Inzuchtstammes! Dementsprechend hat man sich auch den Verlauf der *Wirkungskurve beim Menschen* als *äußerst flach* vorzustellen. Von einer Erhöhung des Antigentiters aufs Doppelte ist daher kein wesentlicher Fortschritt zu erwarten; nur *beträchtliche Steigerungen* vermögen sich hier geltend zu machen. Selbstverständlich erzielt man mit einem Impfstoff von 20 SE/ccm sehr viel größere Wirkungen als mit einem Impfstoff, der nur 1 SE/ccm enthält; dagegen dürfte es sich *kaum bemerkbar* machen, ob man an Stelle eines Impfstoffes mit 1 SE/ccm einen solchen mit 2 SE/ccm oder an Stelle eines Präparates mit 20 SE/ccm ein solches mit 40 SE/ccm verwendet.

Zusammengefaßt ist folgendes zu sagen. Bei vorsichtiger Beurteilung der bisher bekanntgewordenen Ergebnisse wird sich die Frage, ob die einmalige Impfung mit Aluminiumtoxoid ebensoviel leiste wie die dreimalige Impfung mit Rohtoxoid, zwar nicht mit voller Sicherheit beantworten lassen. Schon die Formulierung ist unkorrekt. Die richtige Fragestellung lautet: „Wie muß die Antigenosis erhöht werden, wenn bei einmaliger Immunisierung die gleiche Wirkung wie bei dreimaliger Immunisierung erreicht werden soll?“ Immerhin sprechen die in Ungarn und — soweit eine Beurteilung jetzt schon möglich ist — auch die in Deutschland gewonnenen Ergebnisse dafür, daß die bei Verwendung *hochwertiger* Präparate durch einmalige Injektion erzielbaren Resultate den durch dreimalige Injektion *geringwertiger* Präparate erzielbaren Ergebnissen kaum unterlegen sein dürften. Es muß aber betont werden, daß wirklich exakte Vergleichsversuche nirgends angestellt worden sind. Angaben, aus denen lediglich zu ersehen ist, wieviel „Kubikzentimeter“ Impfstoff injiziert wurden, sind *wertlos*. Wissenschaftlich einwandfreie Schlußfolgerungen sind nur dann möglich, wenn *genaue Angaben über die objektive Größe der angewandten Antigenmenge* vorliegen. Genau so wie bei Untersuchungen über die Wirksamkeit des Diphtherieserums Angaben über das injizierte Serumvolumen als ungenügend gelten und präzise Angaben über die injizierte Antitoxinmenge (ausgedrückt in AE) gefordert werden, machen Untersuchungen über die Wirksamkeit der Diphtherie-Impfstoffe *präzise Angaben über die injizierte Antigenmenge* (ausgedrückt in SE) erforderlich.

2. Die fraktionierte Impfung.

Unberührt durch diese Feststellung bleibt die Frage, ob die — mit Hilfe der dreimaligen Injektion geringwertiger Präparate oder mit der einmaligen Injektion hochwertiger Präparate — erzielten Ergebnisse *überhaupt* als befriedigend angesehen werden können oder ob weitere Fortschritte in der Diphtheriebekämpfung erforderlich sind. Die zu Beginn des Abschnittes III gegebene Übersicht über das ununterbrochene Ansteigen der Erkrankungsziffer in Deutschland sprechen eindeutig in dem Sinne, daß die bisherigen Ergebnisse trotz den erzielten Erfolgen bei weitem nicht ausreichend sind und wesentlich energischere Maßnahmen als dringend erforderlich erscheinen lassen.

Es darf freilich nicht übersehen werden, daß die Verhältnisse in Deutschland ganz anders liegen als in Ungarn. Während dort sämtliche Kinder im 2. und 6. Lebensjahr erfaßt werden, sind in Deutschland zwar ebenfalls Massenimpfungen durchgeführt worden, jedoch immer nur in bestimmten Gebieten. Immerhin war die Anzahl der jährlich geimpften Kinder so groß, daß bei günstigem Imperferfolg ein erheblicher Einfluß auf die Gesamtziffer der Erkrankungen angenommen werden darf. Nimmt man z. B. an, die Schutzimpfung in Breslau-Stadt wäre unterblieben und die Epidemie hätte sich im ersten Halbjahr 1937 so weiterentwickelt wie außerhalb der Stadt (s. S. 37 ff.), so käme man zu dem Ergebnis, daß

an Stelle von 511 Kindern 1133 an Diphtherie erkrankt wären. Hiernach wären 622 Erkrankungen allein in Breslau-Stadt vermieden worden. Wenn die Ergebnisse überall, wo geimpft wurde, ebensogut waren, muß bereits ein erheblicher Einfluß auf die gesamte Erkrankungsziffer des Jahres 1937 zustande gekommen sein. Wir können also folgern, daß ohne die zahlreichen Schutzimpfungen noch sehr viel mehr Kinder in Deutschland erkrankt wären. Alle diese Fragen dürften durch die im Gange befindlichen statistischen Untersuchungen ihre Aufklärung finden. Aber selbstverständlich ist nicht zu bestreiten, daß der Erfolg des bisher angewandten Verfahrens wesentlich größer gewesen wäre, wenn die Impfungen auf weitere Gebiete hätten ausgedehnt werden können.

Sodann hat DUDLEY in einer vor wenigen Jahren erschienenen, aufsehenerregenden Broschüre den Nachweis zu führen versucht, daß erfolgreich geimpfte Kinder, die dank ihrer Immunität nicht an Diphtherie erkranken, statt dessen häufig zu Bacillenträgern werden und, da sie — infolge des Fehlens von Krankheitserscheinungen — nicht isoliert werden, ein *zusätzliches* Gefahrenmoment für die nichtgeimpften bzw. empfänglich gebliebenen Individuen bilden. Wenn also bei einer Impfkation die Kinder nur unvollständig erfaßt werden, sind die Nichtgeimpften nach DUDLEY der Infektion in erhöhtem Maße ausgesetzt, so daß es zunächst zu einem Anstieg der Erkrankungen kommt, der die Ergebnisse der Schutzimpfung kompensiert oder gar zu einer *Erhöhung* der Erkrankungsziffer führt. Der geistreiche, durch vorzüglich durchgeführte Untersuchungen gestützte Gedanke von DUDLEY hat leider die ihm gebührende Beachtung bisher nicht gefunden. Auch konnte FARAGÓ (1) nach Immunisierung eines *Teiles* einer empfänglichen Gruppe einen Einfluß in dem von DUDLEY angegebenen Sinne nicht beobachten. Ferner hat sich bei Untersuchungen von BENDER kein Anhalt dafür ergeben, daß Schutzgeimpfte häufiger zu Keimträgern würden als Nichtgeimpfte. Zur endgültigen Klärung dieser enorm wichtigen Frage sind jedoch weitere eingehende Untersuchungen notwendig. Die Ansicht von DUDLEY erfordert jedenfalls die ernsthafteste Nachprüfung. Sollte sie sich bestätigen, so wäre hierin auch keineswegs ein Argument *gegen* die aktive Immunisierung, sondern nur ein Argument für die möglichst *vollständige* Durchführung der Schutzimpfungen zu erblicken.

Unbeschadet der Frage nach der Organisation möglichst ausgedehnter Impfaktionen und nach Erfassung möglichst vieler Individuen im einzelnen Impfbezirk steht die Sorge um eine Erhöhung des Impfschutzes bzw. um das Zustandekommen eines tatsächlichen Impfschutzes bei möglichst *vielen* von den Geimpften noch immer im Vordergrund. Nachdem die *Wirksamkeit* der Impfstoffe in weniger als 2 Jahren auf das 200fache der früheren Norm gesteigert worden ist, kommt es nunmehr darauf an, die Impfstoffe so anzuwenden, daß ein Maximum an *Wirkung* mit ihnen erzielt wird. Das Verfahren, mit dessen Hilfe dieses Ziel erreicht wird, ist die *fraktionierte Impfung*.

In *England* gilt das als „two shot“-Methode¹ bezeichnete Verfahren der zweizeitigen Impfung als Methode der Wahl, seitdem O'BRIEN gezeigt hat, daß auch bei Verwendung der depotbildenden Antigene der mit einer bestimmten Impfstoffmenge erzielbare Reiz in einen primären und einen sekundären Stimulus zerlegbar ist und daher die im Organismus zustande kommenden Wirkungen durch fraktionierte Immunisierung *erheblich gesteigert* werden können. Dank der „two shot“-Methode ist man in England mit Aluminiumtoxoid zu sehr befriedigenden Ergebnissen gelangt, obwohl die antigene Wirksamkeit der Diphtherieimpfstoffe nur qualitativ geprüft wird² und infolgedessen Präparate sehr verschiedener Wirksamkeit beim Menschen zur Anwendung gelangen dürften. Vor allem hat CHESNEY (1, 2, 3) gezeigt, daß man mit zwei Injektionen von Alauntoxoid (1. Injektion: 0,1—0,2 ccm, 2. Injektion 0,4 ccm) wesentlich *bessere* Immunisierungsergebnisse erzielt als durch *zwei* Injektionen von Rohtoxoid und *mindestens ebenso gute* Ergebnisse wie mit *drei* Rohtoxoidinjektionen.

¹ „Zwei Schuß“-Methode, „Doppelschritt“-Methode.

² Therapeutic substances regulations, Vol. 193, p. 23. 1931 (Second edition).

CHESNEY fand bei 1078 SCHICK-positiven Kindern 2 Monate nach der zweiten Injektion von Alauntoxid nahezu in 100% der Fälle eine negative Reaktion gegenüber der *vierfachen* SCHICK-Dosis (nur 2 Kinder reagierten positiv). Ebenso reagierten 113 SCHICK-positive Kinder, nachdem sie drei Injektionen Rohtoxoid erhalten hatten, negativ, jedoch nur gegenüber der *einfachen* SCHICK-Dosis; und von 98 Kindern, die zwei Injektionen Rohtoxoid erhalten hatten, reagierten nur 77,5% negativ gegenüber der einfachen SCHICK-Dosis. In einer anderen Untersuchungsreihe reagierten von 33 Kindern, die mit drei Injektionen Rohtoxoid immunisiert waren, 97% negativ auf die *einfache* SCHICK-Dosis und von 94 in gleicher Weise immunisierten Kindern 87,3% negativ auf die *vierfache* SCHICK-Dosis.

Auch FRASER und HALPERN haben in einigen Fällen die zweimalige Immunisierung mit Alauntoxid angewandt, allerdings nur bei 36 Kindern und konnten selbst unter diesen Bedingungen keine so günstigen Ergebnisse gewinnen, wie durch dreimalige Immunisierung mit Rohtoxoid. Der Widerspruch zwischen diesen Feststellungen und den Beobachtungen von CHESNEY dürfte, wie wir schon sahen, darauf zurückzuführen sein, daß den kanadischen Autoren eine nennenswerte Aktivierung ihres Impfstoffes durch Alaun nicht gelungen ist und daß das von ihnen geprüfte Präparat keinen wesentlich höheren Schutzwert besaß als das zu seiner Herstellung verwandte Rohtoxoid. Auch NEMSCHILOWA und SCHAROWSKAJA haben eine eindeutige *Überlegenheit* der zweimaligen Injektion von Alauntoxid gegenüber der dreimaligen Injektion von Rohtoxoid feststellen können.

Daß derartige Vergleichsuntersuchungen nicht mit beliebigen Präparaten, sondern nur mit *standardisierten Impfstoffen* durchgeführt werden müssen, wurde bereits oben dargelegt. Doch ist diese Forderung noch durch eine zweite zu ergänzen: Wennschon die SCHICK-Probe, vor allem ihr negativer Ausfall, keinen sicheren Schluß auf den Immunitätsgrad des einzelnen Individuums zuläßt, so ist der Anstieg des Prozentsatzes der SCHICK-negativen Individuen in einer Population doch zweifellos ein wertvoller Indicator für die Veränderungen der Immunitätslage und kann unbedenklich als Maß für den Erfolg immunisatorischer Maßnahmen verwandt werden. Trotzdem verdient die *Bestimmung des Antitoxintiters* im Blute bzw. im Serum des einzelnen Impflings (nach der FRASER-JENSENSCHEN Intracutanmethode an weißen Kaninchen) bei weitem den Vorzug vor der SCHICK-Probe. Sie bietet die Möglichkeit, ganz genaue Aussagen über den Immunitätsgrad jedes einzelnen Geimpften zu machen. Dabei ist die Entnahme von einigen Kubikzentimetern Blut aus der Armvene der intracutanen Injektion nativen Diphtherietoxins unter allen Umständen vorzuziehen. Dies gilt um so mehr, wenn die SCHICK-Probe nicht nur mit der üblichen Toxindosis, sondern mit einem Vielfachen davon angestellt wird, zumal der durch die Anwendung abgestufter Giftmengen erzielbare Zuwachs an Genauigkeit die Exaktheit der FRASER-JENSENSCHEN Methode doch unter keinen Umständen zu erreichen vermag. In Anbetracht der nicht sehr erheblichen Kosten, die die Serumtitration erfordert, sollten also *alle einschlägigen Untersuchungen nur noch mit Hilfe der Bestimmung des Antitoxintiters* durchgeführt werden.

Auch in *Ungarn* scheint man sich trotz den mit der einzeitigen Impfung erzielten ausgezeichneten Resultaten davon überzeugt zu haben, daß die bisherigen Ergebnisse noch verbesserungsfähig sind. Jedoch hat man sich nicht zur Einführung eines der „two shot“-Methode nachgebildeten Verfahrens entschlossen, sondern einen dem französischen Vorgehen entsprechenden Weg gewählt.

Während man in *Frankreich* bis vor einigen Jahren 3 Einspritzungen von Rohtoxoid mit einem Intervall von wenigen Wochen vornahm, gibt man jetzt zwei Injektionen mit kurzem Intervall und läßt eine weitere als sog. „*injection de rappel*“ unter normalen Umständen ein Jahr später folgen, wenn eine Epidemie droht, schon früher [RAMON (9)].

In analoger Weise geht man in *Ungarn* seit dem 1. 1. 38 so vor, daß man eine Injektion von Alauntoxid im zweiten Lebensjahr vornimmt und eine

zweite Injektion im sechsten Lebensjahr — also *vor Beginn der Schulpflicht* — folgen läßt (Decree Nr. 246, 600/1937 of the Ministry of the Interior concerning Compulsory Immunizations against Diphtheria vom 21. 12. 37). Auf diesem Wege hofft man eine ideale Methode zur Bekämpfung der Diphtherie gefunden zu haben. Da jetzt auch die Notwendigkeit einer genauen Standardisierung der für den Humangebrauch bestimmten Alauntoxide erkannt worden ist [FARAGÓ (6)], wird man in Ungarn von 1941 ab besonders günstige Resultate erwarten dürfen, weil von diesem Jahre ab alle 2—9jährigen Kinder wenigstens 1mal geimpft sein werden; und von 1950 ab werden sich nur zweimal geimpfte Kinder in den Volksschulen befinden (das Schulalter bis zum 14. Lebensjahre gerechnet). Wir gehen also einem epidemiologischen Experiment von großartigen Ausmaßen entgegen, dessen Durchführung in erster Linie den experimentellen und organisatorischen Arbeiten des Staatlichen Ungarischen Hygienischen Institutes in Budapest (JOHAN, TOMCSIK, FARAGÓ) zu verdanken ist.

FRASER und HALPERN haben ihre zuletzt erwähnten Untersuchungen einerseits an Individuen durchgeführt, deren Blut Normal-Antitoxin enthielt, andererseits an Kindern, in deren Blut *kein Antitoxin* ($< 0,002$ AE/ccm) enthalten war. Nur bei der letzteren Gruppe konnten sie die von ihnen festgestellten Unterschiede zwischen den Impfverfahren beobachten. Der Grund hierfür dürfte zwar in der allzu geringen Zahl der untersuchten Kinder mit Normal-Antitoxin (14 und 16) zu suchen sein, und es ist ohne weiteres anzunehmen, daß reelle Unterschiede zwischen dem Schutzwert zweier Impfstoffe auch bei Kindern mit Normalantitoxin ihren Ausdruck in dem verschiedenen Durchschnittswert der nach der Impfung sich ergebenden Antitoxintiter finden würden. Aber zweifellos lassen sich Vergleichsuntersuchungen an antitoxinfreien Individuen leichter durchführen.

Hiervon abgesehen darf der Hinweis von FRASER und HALPERN aber auch große praktische Bedeutung beanspruchen. *Nur solche Impfverfahren, die bei einem möglichst großen Prozentsatz der antitoxinfreien Kinder einen Schutz erzeugen, genügen den Anforderungen, die heute gestellt werden müssen.* In Deutschland hat HÄSSLER die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß mit Hilfe der einmaligen Injektion von hochaktivem Alauntoxid (über 30 SE/ccm) ein guter Immunisierungserfolg bei allen Immunisierten erzielt wird, die einen Ausgangswert von $> 0,005$ AE/ccm besitzen; hier steigt der Titer schnell an, teilweise zu sehr hohen Werten (über 40 AE/ccm). Impflinge, die einen Ausgangswert *unter* 0,005 AE/ccm besitzen, zeigen dagegen nur vereinzelt einen guten Anstieg des Antitoxinwertes; die überwiegende Mehrzahl läßt überhaupt keinen Anstieg erkennen: *der Wert bleibt unter 0,005 AE/ccm.* Da HÄSSLER beobachtet hat, daß bei Kindern mit Normal-Antitoxin eine mehr oder weniger ausgeprägte Lokalreaktion im Anschluß an die Impfung auftritt, während sie bei Kindern ohne Antitoxin ausbleibt, empfiehlt er in allen Fällen, in denen auf die erste Injektion keine Reaktion folgt, den Immunisierungserfolg durch eine zweite, nach etwa 4 Wochen vorzunehmende Injektion zu sichern.

Zu ähnlichen Ergebnissen sind SCHALL und LAMMERT gelangt. Sie konnten ebenfalls bei allen Kindern, in deren Serum Normalantitoxin nachweisbar war ($\geq 0,03$ AE/ccm), nach einmaliger Injektion von hochaktivem Aluminiumtoxid einen guten Titeranstieg feststellen. Dagegen blieb der Titer bei 62 von 114 Kindern, deren Serum $< 0,03$ AE/ccm enthielt, unter dem Grenzwert von

0,03 AE/ccm; nur bei 52 Kindern kam es zu einem kräftigen Anstieg. Da SCHALL und LAMMERT insgesamt 146 Kinder untersuchten, blieb also in 42,5% der gesamten Fälle der Erfolg unbefriedigend. Durch eine nach längerer Zeit vorgenommene zweite Impfung ist es jedoch gelungen, den Impferfolg derartig zu verbessern, daß der Antitoxintiter nur bei etwa 6% der zweimal geimpften Kinder unterhalb von 0,03 AE/ccm blieb. Leider haben SCHALL und LAMMERT nicht nur mit zwei Impfstoffen verschiedenen Schutzwertes, sondern auch mit ganz verschiedener Dosierung (0,2—0,4—0,6—1,0—1,5—2,0 ccm) gearbeitet; die hierdurch bedingten Verschiebungen lassen sich infolge der sehr geringen Zahl der auf jede Gruppe entfallenden Kinder nur schwer beurteilen; im wesentlichen bleiben ihre Feststellungen jedoch hierdurch unberührt. SCHALL und LAMMERT haben keinen so engen Parallelismus zwischen Normalantitoxin und Lokalreaktion beobachtet wie HÄSSLER; sie konnten vielmehr auch bei Kindern, in deren Serum < 0,005 AE/ccm enthalten war, deutliche Lokalreaktionen beobachten; immerhin waren die Lokalreaktionen bei den Kindern mit niedrigem Ausgangstiter anteilmäßig sehr viel seltener als bei Individuen mit hohem Ausgangstiter. SCHALL und LAMMERT konnten aber feststellen, daß bei den Fällen mit kräftiger Lokalreaktion fast immer ein besonders guter Titeranstieg zustande kam, gleichgültig, ob der Ausgangstiter über oder unter 0,03 AE/ccm lag. Es muß davor gewarnt werden, das Bestehen einer Grundimmunität bzw. das Vorhandensein von Normalantitoxin mit dem Vorhandensein einer Bereitschaft zu Lokalreaktionen völlig zu identifizieren, wenschon nicht zu verkennen ist, daß beide Zustände häufig gekoppelt auftreten. Untersuchungen von PRIGGE (6), PAPPENHEIMER und EATON (4), über die in Abschnitt IV berichtet wird, machen es vielmehr wahrscheinlich, daß die nach der Impfung auftretenden Lokalreaktionen *allergischer* Natur sind und durch einen vom Toxin bzw. Toxoid verschiedenen, eiweißartigen Körper bedingt werden, der ebenso wie das Toxin vom Diphtheriebacillus erzeugt wird, aber vielleicht künstlich von ihm *getrennt* werden kann. Auf Grund dieser Auffassung ist es zwar verständlich, daß die erwähnte Koppelung so oft beobachtet wird: sie dürfte dadurch bedingt sein, daß das die Grundimmunität verursachende Toxin im allgemeinen mit dem allergen wirkenden Bacilleneiweiß vergesellschaftet ist. Jedoch erscheint der Schluß, daß eine kräftige Lokalreaktion für das Zustandekommen eines starken Anstieges der Immunität notwendig und daher wünschenswert sei, nicht als beweiskräftig.

Es soll hier noch erwähnt werden, daß PARISH auf den Zusammenhang zwischen der Gesamtimmunitätslage eines Impfbzirktes (community) und dem Immunisierungseffekt hingewiesen hat. Ohne daß es nötig wäre, die Zusammenhänge zwischen Immunitätslage und Durchseuchung zu erörtern, ist Folgendes zu sagen: Wo der Prozentsatz an SCHICK-positiven Individuen klein ist, erzielt man mit *einer* Injektion von Alauntoxid wesentlich bessere Erfolge als in Gegenden, wo ein großer Teil der Kinder auf die SCHICK-Probe positiv reagiert. Da nach den Feststellungen von HÄSSLER und von SCHALL und LAMMERT Kinder ohne Normalantitoxin sehr viel schlechter auf Antigeninjektionen reagieren als Individuen, in deren Serum bereits eine gewisse Antitoxinmenge enthalten ist, so ist es ohne weiteres verständlich, daß in Bevölkerungsteilen mit zahlreichen SCHICK-positiven Individuen andere Ergebnisse erzielt werden als in Gegenden, wo es nur wenig SCHICK-positive Kinder gibt. Der Hinweis von PARISH sollte bei der epidemiologischen Auswertung von Impfergebnissen größte Beachtung finden. Allerdings wäre zu berücksichtigen, daß auch die Morbiditätsverhältnisse bei Bevölkerungsteilen mit verschiedener Immunitätslage nicht die gleichen sein dürften. Mit Rücksicht darauf, daß Prüfungen der Immunitätslage im allgemeinen schwer durchführbar sind, hält es PARISH für ratsam, in allen Fällen von der ungünstigsten

Voraussetzung auszugehen und daher stets *zwei* Injektionen von Alauntoxid mit dreiwöchigem Intervall vorzunehmen. In zwei Schulen, in denen ein großer Prozentsatz an SCHICK-positiven Kindern festgestellt worden war, erzielte PARISH nur bei 64 bzw. 81% der *einmal* geimpften Schüler dagegen bei 100% der *zweimal* geimpften Kinder eine negative SCHICK-Reaktion.

Besonderer Erwähnung bedürfen noch Beobachtungen von REINHARDT sowie von RADMANN und BAUER. REINHARDT berichtet über eine größere Reihe von Fällen, in denen nach einmaliger Impfung mit hochaktivem Aluminiumtoxoid eine Diphtherie beobachtet wurde; wem schon wir nur ein Sinken, kein absolutes Schwinden der Erkrankungen nach einmaliger Impfung erwarten dürfen, so sind die von REINHARDT mitgeteilten Fälle wegen ihrer Häufung in einem Erholungsheim doch von besonderem Interesse; leider sind vor und nach den Impfungen keine Antitoxinbestimmungen ausgeführt worden. Auch RADMANN und BAUER gelangen zu dem Ergebnis, daß die einmalige Impfung mit hochaktivem Aluminiumtoxoid nicht als genügend angesehen werden kann, ja daß dieses Verfahren unter Umständen zu einer falsch angebrachten Sorglosigkeit verleitet; sie berichten über eine größere Anzahl von Diphtheriefällen unter einmalig geimpften Kindern. Dagegen konnten RADMANN und BAUER nach *zweimaliger Impfung* stets das Vorhandensein einer ausreichenden Immunität feststellen.

So wichtig alle diese Beobachtungen erscheinen, ist das Problem der ein- oder zweimaligen Impfung in *Deutschland* doch nur von untergeordneter Bedeutung, weil bereits durch den oben (S. 37) erwähnten Runderlaß des Ministeriums des Innern vom 2. 10. 37 die *zweimalige* Injektion¹ der hochaktiven Impfstoffe vorgeschrieben ist. Man hat sich hierbei weder an die ungarische Methode (mehrjähriges Intervall zwischen den beiden Impfungen) noch an das in England geübte Verfahren (two shot-Methode, 4 Wochen Intervall) allzu eng angelehnt, sondern hat sich mit der Bestimmung begnügt, daß die zweite Impfung *frühestens* 4 Wochen nach der ersten erfolgen darf. Durch diese Vorschrift, die auch die Dosierung der Impfstoffe regelt, ist nunmehr die *Voraussetzung dafür geschaffen, daß die Bekämpfung der Diphtherie mit Hilfe der in den letzten Jahren entwickelten hochaktiven Impfstoffe zu einem optimalen Ergebnis führt.*

Mit Rücksicht auf die hohe Bedeutung, die dem erwähnten ministeriellen Erlaß² zukommt, sollen hier die wichtigsten Abschnitte wiedergegeben werden:

„RdErl. d. Ru Pr M d I. v. 2. 10. 37—IV C 2031/37/5625.

2. Nach Erlaß der „Vorschriften für die staatliche Prüfung der Impfstoffe zur aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie“ (RdErl. v. 13. 12. 1935—IV c 2939/35, MBl. iV. S. 1525) wurden einzelne früher verwendete Impfstoffe, die diesen Vorschriften nicht genügten, zur Verwendung bei Menschen nicht mehr amtlich zugelassen und andere wirksamere Impfstoffe neu eingeführt. Die Erfahrungen mit diesen Impfstoffen machten eine Änderung der bisherigen Dosierungsvorschriften erforderlich.

3. Daher werden die „Richtlinien zur aktiven Diphtherieschutzimpfung“ (RdErl. v. 15. 6. 35—IV c 1357/35, MBl. iV. S. 813) wie folgt geändert:

Abschn. 3. Ausführung der Impfung.

Abs. 1 und 2 erhalten folgende Fassung:

(1) „Der Impfstoff wird dem Impfling unter die Haut entweder an der Brust unterhalb dem Schlüsselbein oder am Oberarm ungefähr am Ansatz des M. deltoideus eingespritzt.“

¹ Die *Teilnahme* an den Impfungen bleibt fakultativ.

² Veröffentlicht im Ministerialblatt des Reichs- und Preuß. Ministeriums d. Innern 2 (98), Nr. 41 v. 13. 10. 37, S. 1638.

Der Impfschutz entwickelt sich allmählich in den der Impfung folgenden Wochen. Von der Impfung müssen die Kinder ausgeschlossen werden, die auch von der Pockenschutzimpfung zu befreien wären. Die zurückgestellten oder die der Impfung zunächst ferngebliebenen Kinder sind in Sammelterminen nachzuimpfen.

(2) Die Dosierung hat nach den folgenden Vorschriften zu geschehen — bei Kindern, die bereits eine Diphtherie überstanden haben oder bei schwächlichen Kindern können kleinere als die bezeichneten Impfstoffmengen gegeben werden —:

Von einem Diphtherieimpfstoff, der in 1 ccm 30 Schutzeinheiten (SE) und mehr enthält, sollen

Kleinkinder	0,5 ccm
Kinder im schulpflichtigen Alter.	0,3 ccm

erhalten; enthält er in 1 ccm weniger als 30, aber mehr als 10 Schutzeinheiten (SE), so sollen

Kleinkinder	1,0 ccm
Kinder im schulpflichtigen Alter.	0,5 ccm

bei jeder Impfung erhalten; zur Erzielung eines ausreichend lange wirkenden Schutzes ist frühestens 4 Wochen nach der ersten Impfung mit der gleichen Impfstoffmenge die Impfung zu wiederholen.

Enthält der Impfstoff in 1 ccm 1 bis 10 Schutzeinheiten (SE), so ist eine dreimalige Impfung erforderlich, und zwar sollen

Kleinkinder	1,0 ccm
Kinder im schulpflichtigen Alter.	0,5 ccm

erhalten. Auch zwischen diesen drei Impfungen, für die jedesmal die gleiche Impfstoffmenge zu verwenden ist, muß je ein Zeitraum von mindestens 4 Wochen liegen.

Nach den bisherigen Erfahrungen werden die Impfstoffe bei diesen Dosierungen gut vertragen, ohne daß nennenswerte Beschwerden auftreten. Sollte ausnahmsweise eine starke Reaktion auftreten und ärztlich festgestellt sein, so kann von einer Wiederholung der Impfung abgesehen werden.“

Die Vorschriften über die Ausführung der Diphtherieschutzimpfung ergänzt der folgende, etwa zur gleichen Zeit herausgegebene Erlaß zur *Verhütung der Diphtherie in Kinderheimen*¹:

„RdErl. d. Ru Pr MdI v. 16. 10. 37—IVC 2072/37/5620.

Das wirksamste Mittel zur Bekämpfung der Diphtherie in Kinderheimen ist nach den bisherigen Erfahrungen die rechtzeitige Schutzimpfung der Entsendekinder. Daher wird der RdErl. v. 20. 7. 1935—IVC 1454/35 (MBL. iV. S. 975) durch Hinzufügung des folgenden Abs. (5) ergänzt:

(5) Die bakteriologische Untersuchung auf Diphtheriebacillen ist nicht erforderlich, wenn die Entsendekinder nach den Richtlinien zur aktiven Diphtherieschutzimpfung vom 15. 6. 35—IVC 1357/35/ MBL. iV. S. 813) in der Fass. v. 2. 10. 37—IVC 2031/37/5625 (RMBl. iV. S. 1638) innerhalb der letzten 2 Jahre vor der Heimaufnahme gegen Diphtherie schutzgeimpft sind und ihre Aufnahme in Heime erfolgt, die nur gegen Diphtherie schutzgeimpfte Kinder aufnehmen. Liegt die Diphtherieschutzimpfung mehr als 2 Jahre zurück, so braucht sie nur einmal rechtzeitig — spätestens etwa 4 Wochen vor der Heimaufnahme — wiederholt zu werden.“

Da in Deutschland infolge der in den beiden letzten Jahren erreichten Fabrikationsfortschritte nur noch Impfstoffe zur Staatlichen Prüfung und in den Handel gelangen, deren Titer zwischen 30 und 200 SE/ccm liegt, erhalten Kleinkinder mindestens 2×15 SE, schulpflichtige Kinder mindestens 2×9 SE; bei Verwendung der wirksamsten Präparate steigen diese Dosen auf 2×100 bzw. 2×60 SE. Den älteren Kindern wird deshalb eine etwas kleinere Dosis eingespritzt, weil Lokalreaktionen bei den höheren Altersklassen etwas häufiger auftreten als bei den Kleinkindern; andererseits sind ältere Kinder nach den

¹ Veröffentlicht in Ministerialblatt des Reichs- und Preuß. Ministeriums des Innern 2 (98), Nr. 42 v. 20. 10. 37.

bisherigen Erfahrungen auch *leichter immunisierbar*, wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem vermehrten Auftreten von Normalantitoxin (v. GRÖER und KASSOWITZ, SCHICK u. a.).

Über die *Dauer* der Immunität, die nach zweimaliger Injektion von 9—15 SE zu erwarten ist, fehlt es einstweilen noch an Erfahrung. Jedoch dürfte ein voll ausgebildeter Schutz auch nach dem Verschwinden der im Anschluß an die Impfung gebildeten Antikörper bestehen bleiben und *mindestens* 2 Jahre, wahrscheinlich sehr viel länger anhalten.

3. Die nasale Immunisierung.

Auf Grund der Vorstellung, daß bei der *Diphtherie* die lokalen Immunitätsvorgänge im Nasenrachenraum von besonderer Wichtigkeit seien, hat DZIERZGOWSKY bereits im Jahre 1910 Versuche mit der nasalen Immunisierung gemacht. *Indem er Watte, die mit Diphtherietoxin getränkt war, in die Nasenhöhle einführte, ferner indem er verspraytes Toxin inhalieren ließ, konnte er bei Pferden und bei Menschen die Bildung von Antitoxin bewirken.* Später haben RAMON und ZOELLER das gleiche Verfahren angewandt, sahen jedoch von einer Erprobung in größerem Maßstabe ab. Daß man durch Inhalation von Antigenen aktive Immunität erzeugen kann, hat SILBERSCHMIDT bestätigt, ebenso HAMADA. Erst in neuester Zeit haben die Untersuchungen von DZIERZGOWSKY praktische Bedeutung gewonnen. In *Dänemark* ist man dazu übergegangen, im Anschluß an eine einmalige Injektion von Aluminiumtoxoid eine *ein- oder mehrmalige nasale Instillation* von gereinigtem Formoltoxoid vorzunehmen; das Verfahren stellt also eine Abart der fraktionierten Immunisierung dar. Die Erfolge werden als sehr befriedigend geschildert [JENSEN (5)]. Auch in der *Tschechoslowakei* sind mit der „*nasalen Revaccination*“ günstige Ergebnisse erzielt worden (BLAŽEK). Da sich gezeigt hat, daß die instillierten Toxoidmengen zum großen Teil verschluckt werden, hat man an Stelle des flüssigen Impfstoffes verschiedentlich Salben verwandt. SABELLI hat mit einem Toxoid-Lanolin-Gemisch gearbeitet und anscheinend günstige Resultate erzielt. KLINKHART und WOHLRAB (ined.) haben ein mit einer resorbierbaren Salbengrundlage vermisches gereinigtes und konzentriertes Toxoid zu nasalen Immunisierungsversuchen benützt und sehr hohe Antitoxintiter im Serum der behandelten Kinder erzielt, wenn die Salbe 1 Monat lang täglich in die Nase eingebracht wurde. Wurde die Salbe jedoch im Anschluß an eine 4 Wochen früher vorgenommene Injektion von Aluminiumtoxoid 3mal mit 1wöchigem Abstand in die Nase gebracht, so waren die Ergebnisse unbefriedigend. Die nasale Immunisierung ist zweifellos ein ernst zu nehmendes Verfahren; die *zweimalige subcutane* Injektion eines hochaktiven Impfstoffes dürfte jedoch den Vorzug vor der kombinierten *subcutan-nasalen* Methode verdienen, schon weil die erstere die Mitwirkung mehr oder minder zuverlässiger, mit der Durchführung der Instillationen beauftragter Hilfspersonen ausschließt.

4. Die aktiv-passive Immunisierung (Simultanschutzimpfung).

SCHMIDT-BURBACH (2) und SCHMIDT-BURBACH und DEHMEL haben nachgewiesen, daß die *Wirkung der Aluminiumhydroxyd- und der Alauntoxide durch gleichzeitig eingespritztes Antitoxin nicht aufgehoben wird*, und haben daher

vorgeschlagen, in Fällen, in denen ein möglichst rasch einsetzender Schutz erzielt werden soll, *Simultan-Schutzimpfungen* vorzunehmen.

Bei Verwendung rasch resorbierbarer Impfstoffe bleibt die aktiv-passive Immunisierung ergebnislos, weil der größte Teil des antigenen Substrates an das Antitoxin, nicht an die Körperzellen gebunden wird. Da selbst mit überneutralisierten Toxin-Antitoxin-Gemischen eine wenn auch schwache aktive Immunität erzeugt werden kann, ist allerdings damit zu rechnen, daß der Toxoid-Antitoxin-Komplex, der sich im Organismus bildet, allmählich wieder dissoziiert wird, wenn das überschüssige Antitoxin ausgeschieden ist, und daß schließlich doch noch ein geringfügiger antigen Reiz zur Wirkung gelangt. Wie die in der Praxis gewonnenen Ergebnisse zeigen, dürfte der hierdurch erzielte Immunitätsgrad aber nicht ausreichen, um Schutz gegen Diphtherie zu gewähren. Aus diesem Grunde muß die Antitoxininjektion solange hinausgeschoben werden, bis das in den Körper eingebrachte Toxoid an die antikörperbildenden Zellkomplexe verankert ist und eine Beeinträchtigung seiner Wirkung durch kreisende Receptoren (Antitoxin) nicht mehr in Betracht kommt. GLENNY, BUTTLE und STEVENS haben nun gezeigt, daß bereits nach 24 Stunden kein Toxoid mehr im Blut nachweisbar ist und 85% der injizierten Menge ausgeschieden sind. Es ist anzunehmen, daß ein Teil der zu diesem Zeitpunkt noch im Körper befindlichen Antigenmenge bereits fest verankert ist, und daß eine mit 24stündigem Intervall der Toxoidinjektion nachfolgende Antitoxineinspritzung keinen allzu erheblichen Einfluß auf die Wirkung der ersteren ausübt. Jedenfalls konnte PONTANO nachweisen, daß die Entwicklung einer aktiven Immunität nicht verhindert wird, wenn zwischen Antigen- und Antitoxininjektion 24 Stunden vergangen sind. — Es darf auch nicht vergessen werden, daß das Vorhandensein von Antitoxin nur ein *relatives* Hindernis für die immunisierende Wirkung der Antigene ist; wissen wir doch, daß selbst bei hochimmunisierten Tieren der Titer noch höher getrieben werden kann, wenn nur *genügend große Antigenmengen* einverleibt werden. Ebenso steht das im Serum zahlreicher Menschen enthaltene Normalantitoxin der immunisierenden Wirkung der Impfstoffe nicht im Wege. Daß es sich in den angeführten Fällen um homologes Antitoxin handelt, spielt keine Rolle.

Anders als bei flüssigen Antigenen liegen die Verhältnisse bei den Aluminiumimpfstoffen. Hier liegt das Toxoid in einer verhältnismäßig festen Bindung vor, die durch Antitoxin kaum angegriffen wird, wenigstens im Reagensglase (Bindungsversuch). Zum Beispiel vermochte eine Menge Alauntoxoid (1 ccm), die 30 Flockungseinheiten enthielt, nur 0,5 AE zu binden; *nur der sechzigste Teil der vorhandenen Menge an spezifischem Substrat trat also mit Antitoxin in Reaktion*. Es ist zweifellos damit zu rechnen, daß auch im Organismus eine Bindung des in den Aluminiumimpfstoffen enthaltenen Toxoids durch Antitoxin nicht erfolgt, wenigstens zunächst nicht.

Immerhin liegen die Verhältnisse in den subcutanen Impfstoffdepots doch etwas anders. Die Bindung zwischen Toxoid und Adsorbens wird hier allmählich gesprengt, und es ist anzunehmen, daß der größte Teil der aus dem Depot freiwerdenden Toxoidmengen gebunden und seiner antigenen Wirksamkeit beraubt wird, solange noch größere Antitoxinmengen im Organismus vorhanden sind. Der eigentliche Prozeß der aktiven Immunisierung beginnt also erst, wenn das antitoxische Serum zu einem großen Teil wieder ausgeschieden ist; zur Wirkung gelangen dann nur diejenigen Toxoidmengen, die jetzt noch aus dem Depot freiwerden.

SCHMIDT-BURBACH und SCHMIDT-BURBACH und DEHMEL konnten dementsprechend nachweisen, daß eine *aktiv-passive Immunisierung mit Hilfe von Aluminiumimpfstoffen in der Tat gelingt*, während Versuche, die in gleicher Weise mit Rohtoxoid angestellt wurden, entsprechend den älteren Erfahrungen völlig negativ verliefen. Es zeigte sich freilich auch, daß der bei der aktiv-passiven Immunisierung erzielbare Schutz *geringer* ist als bei aktiver Immuni-

sierung. Während bei Meerschweinchen, die mit Aluminiumhydroxydtoxoid immunisiert worden waren, ein mittlerer Antitoxintiter von 0,32 AE/ccm zustande kam, besaßen in der gleichen Weise immunisierte Tiere, denen gleichzeitig mit dem Antigen eine Dosis von 90 AE Diphtherieserum eingespritzt worden war, nur 0,02 AE/ccm, also nur den 16. Teil. Weniger groß waren die bei einem Alauntoxoid festgestellten Unterschiede: während bei aktiv immunisierten Meerschweinchen ein mittlerer Antitoxintiter von 1,5 AE/ccm nachzuweisen war, besaßen aktiv-passiv immunisierte Tiere einen Mittel-titer von 0,86 AE, also etwa 40% weniger. Tiere, denen Rohtoxoid + Serum eingespritzt wurde, bildeten kein Antitoxin.

SCHMIDT-BURBACH und DEHMEL konnten ferner bei Kaninchen feststellen, daß der Antitoxintiter nach aktiv-passiver Immunisierung zunächst fällt und erst nach einiger Zeit wieder steigt und daß sich diese „negative Phase“ bei den verschiedenen Tieren in recht verschiedener Weise ausprägt. Der Titer kann bis auf minimale Werte (0,0005 AE/ccm) sinken, bevor es zur Neubildung von Antitoxin kommt; der Anstieg kann aber auch schon zu einer Zeit beginnen, zu der noch beträchtliche Mengen des eingebrachten Antitoxins (0,01 AE/ccm) kreisen. Im ersten Falle ist also während eines bestimmten Zeitraumes weder heterologes noch homologes Antitoxin disponibel. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen haben GUNDEL und KÖNIG festgestellt, daß aktiv-passiv immunisierte Meerschweinchen nach dem Abklingen der passiven Immunität zunächst keinen Schutz gegen die Infektion mit Diphtheriebacillen besitzen, während zu einem späteren Zeitpunkt vorgenommene Infektionen mit tödlichen Mengen lebender Diphtheriebacillen erfolgreich abgewehrt werden, sofern die zur Immunisierung verwandte Impfstoffmenge nicht allzu gering war. Bezüglich der Dauer der „negativen Phase“ stimmen die Feststellungen nicht überein. Doch mag dies daran liegen, daß die Versuche zum Teil mit Kaninchen, zum Teil mit Meerschweinchen ausgeführt worden sind; es sei nur darauf hingewiesen, daß die Dissoziabilität des Toxin-Antitoxin-Komplexes bei größeren Tieren nicht die gleiche ist wie bei kleinen. Als wesentliches Ergebnis geht aus den mitgeteilten Untersuchungen jedenfalls hervor, daß *eine aktiv-passive Schutzimpfung (Simultanimpfung) gegen Diphtherie bei Verwendung von Aluminiumtoxoiden zwar möglich ist, daß aber nach dem Erlöschen der passiven Immunität mit einer Phase des Antitoxinmangels zu rechnen ist, welche erst nach kürzerer oder längerer Zeit in die Periode der aktiven Immunität übergeht*. Ob beim Menschen diese Phase des Antitoxinmangels im allgemeinen mit einer Schutzlosigkeit gegenüber der Diphtherie identisch ist, oder ob noch so viel Antitoxin im Blute persistiert, daß ein gewisser Schutz bestehen bleibt, kann nur durch klinische Untersuchungen entschieden werden. Die zahlreichen aktiv-passiven Schutzimpfungen, die während der beiden letzten Jahre in Deutschland vorgenommen worden sind, werden zweifellos eine Klärung der wichtigen Frage ermöglichen.

5. Die Immunisierung mit Mischimpfstoffen.

Während der letzten Jahre sind in verschiedenen Ländern, vor allem in Frankreich, systematische Untersuchungen über die Wirksamkeit von Impfstoffen durchgeführt worden, welche aus zwei, drei oder noch mehr verschiedenen Antigenen zusammengesetzt sind. Eine ausführliche Darstellung der mit

diesen Präparaten gewonnenen Ergebnisse wurde vor kurzem von H. HETSCH¹ veröffentlicht. Besonders bewährt haben sich folgende Kombinationen:

1. Diphtherietoxoid + Tetanustoxoid,
2. Diphtherietoxoid + Typhus-Paratyphusimpfstoff,
3. Diphtherietoxoid + Tetanustoxoid + Typhus-Paratyphus-Impfstoff.

Zur Herstellung dieser „*Mischimpfstoffe*“ wurden im allgemeinen nur Rohtoxoiden verwandt. Nennenswerte Erfahrungen mit Präparaten, welche aus verschiedenen Aluminiumtoxoiden — z. B. gegen Diphtherie und gegen Tetanus — zusammengesetzt sind, liegen bisher nicht vor; jedoch hat WOLTERS im September 1938 anlässlich einer Tagung des Amtes für Volksgesundheit des Gaues Magdeburg-Anhalt über Untersuchungen mit einem Mischimpfstoff berichtet, welcher *Diphtherie-Alauntoxid* + *Variola-Vaccine* enthält.

IV. Nebenwirkungen der hochaktiven Impfstoffe.

Abgesehen von den in ganz seltenen Fällen vorkommenden, absolut harmlosen sterilen Aluminiumabscessen sind die Nebenwirkungen der hochaktiven Impfstoffe die gleichen, welche von den Formoltoxoiden her bekannt sind. Jedoch hat es die mit dem Präcipitations- bzw. Adsorptionsverfahren verbundene *Reinigung der Toxoiden* ermöglicht, daß *auch Kinder über 6 Jahre*, die von der Impfung mit Rohtoxoid ausgeschlossen werden mußten, *mit den hochwertigen Aluminiumtoxoiden immunisiert werden können*, obwohl die heute zur Anwendung gelangenden Impfstoffdosen etwa *die gleichen Mengen an spezifischem Substrat* enthalten wie die entsprechenden Dosen der früher üblichen Impfstoffe. Allerdings gibt man bei älteren Kindern etwas kleinere Mengen als bei Kindern *unter 6 Jahren*, weil der Prozentsatz der überempfindlichen Individuen mit dem Alter steigt. Es wurde bereits erwähnt (s. S. 50), daß ältere Kinder im allgemeinen auch leichter immunisierbar sein dürften als Kleinkinder.

Die Erscheinungen, um die es sich handelt — Rötungen und Schwellungen an der Impfstelle, gelegentlich auch Fieber — bringen keinerlei ernste Gefahren für die Geimpften und sind auch bei älteren Kindern immer noch verhältnismäßig selten. Neben gewöhnlichen Reizwirkungen, die auch im Tierversuch festgestellt werden können, scheinen *gelegentlich anaphylaktische Reaktionen vorzukommen, wenn man die Toxoidinjektionen wiederholt*. Die anaphylaktogene Natur der Formoltoxoiden haben insbesondere SEIDENBERG und WHITMAN nachgewiesen.

Aber auch bei *Erstinjektionen* treten manchmal heftigere Reaktionen auf, die man im allgemeinen auf eine durch vorangegangene Berührungen mit dem Diphtheriebacillus bedingte *Allergie gegen Bacilleneiweiß* zurückführt. Auch auf experimentellem Wege wurden Argumente für die Richtigkeit dieser Vorstellung gewonnen [PRIGGE (6)]. Weiße Meerschweinchen wurden gegen Diphtheriebacilleneiweiß sensibilisiert, indem ihnen abgetötete zur Neutralisierung ihrer Giftwirkung mit antitoxischem Pferde- oder Rinderserum versetzte Diphtheriebacillen subcutan injiziert wurden. Kontrolltiere wurden mit Pferde- und Rinderserum sowie mit zwei verschiedenen Formoltoxoiden präpariert. Nach etwa 3 Wochen wurden die Tiere depiliert und die Reaktivität

¹ HETSCH, H.: Schutzimpfung mit Mischimpfstoffen. Med. Klin. 1937 II, Nr 32; das Referat enthält auch eine Übersicht über die wichtigste Literatur.

ihrer Haut gegenüber den beiden Formoltoxoiden durch intracutane Injektion geprüft. Tabelle 5 gibt das Ergebnis dieser Versuche wieder.

Tabelle 5.

Sensibilisiert mit	Nachgespritzt mit				
	Formoltoxoid 1 (Pferdefleischbouillon Pope)	Formoltoxoid 2 (Pferdefleischbouillon Pope)	Pferdefleischbouillon (Pope)	Rindfleischbouillon (Pope)	Formolisiertes Rotlaufkulturfiltrat (Rindfleischbouillon)
Formoltoxoid 1	+	++	—	—	—
Formoltoxoid 2	+	++	(+)	—	—
Di-Bacillenleiber + Pferdeserum	+	++	—	.	.
Di-Bacillenleiber + Rinderserum.	+	++	—	.	.
Pferdeserum	—	—	.	.	.
Rinderserum	—	—	.	.	.
Nichtsensibilisierte Kontrollen. .	—	—	—	—	—

Wie die Tabelle zeigt, besaßen nicht nur die mit Formoltoxoid, sondern auch die mit Bacillenleibern vorbehandelten Tiere eine erhöhte Empfindlichkeit gegen die beiden untersuchten Formoltoxoiden, während die mit Pferde- und Rinderserum vorbehandelten Tiere keine Reaktion zeigten. Die mit Formoltoxoid 2 ausgelösten Reaktionen waren regelmäßig stärker, als die mit Formoltoxoid 1 erzeugten. Der Allergengehalt von Formoltoxoid 2 dürfte also größer gewesen sein, als derjenige von Formoltoxoid 1, eine Annahme, die gut mit der Tatsache übereinstimmt, daß Formoltoxoid 2 den höheren Flockungswert hatte. Mit Pferde- und Rindfleischbouillon sowie mit einem formolisierten Rotlaufkulturfiltrat wurden keine Reaktionen erzielt; nur gegenüber einer nach dem POPESchen Rezept hergestellten Bouillon wurde durch Vorbehandlung mit Formoltoxoid 2 eine geringfügige Empfindlichkeitssteigerung erzeugt. Worauf dies beruht, ist ungeklärt; es ist allerdings zu berücksichtigen, daß die POPE-Bouillon, aus der die beiden Formoltoxoiden hergestellt waren, ein sehr komplizierter Nährboden ist, der unter anderem mit Schweinepankreas und mit Hefe behandelt wird.

Die mitgeteilten Versuche sind noch in vielen Punkten ergänzungsbedürftig. Immerhin stehen sie mit der Vorstellung, daß eine Bacilleneiweißallergie bei den unerwünschten Nebenreaktionen der Formoltoxoiden eine Rolle spielen kann, im Einklang. Im gleichen Sinne sprechen Arbeiten von PAPPENHEIMER und von EATON (4), die in Diphtheriekulturen einen charakteristischen, primär atoxischen Eiweißkörper nachweisen konnten und denen es gelungen zu sein scheint, diesen Eiweißkörper vom Toxin zu trennen. Wenn diese Ergebnisse in die Praxis übertragen werden können, besteht Aussicht, daß es auch gelingen wird, die Diphtherieimpfstoffe durch Entfernung des Diphtheriebacilleneiweißes soweit zu verbessern, daß die allergischen Reaktionen stark eingeschränkt werden. Mit ihrem völligen Verschwinden kann freilich nicht gerechnet werden, weil das Toxin (bzw. Toxoid) ebenfalls Proteincharakter besitzt und vielleicht auch seinerseits allergene Wirkungen ausübt.

Auch auf die eigenartigen Fälle muß eingegangen werden, bei denen es zu einer *Zonenbildung rings um die Impfstelle* kommt (GUNDEL). Zur Erklärung dieser sehr seltenen Reaktionen dürfen vielleicht die Beobachtungen von HOCKE und von SIEGL (zit. nach MORO und KELLER) herangezogen werden, aus denen hervorzugehen scheint, daß die spezifische Sensibilisierung gegen Diphtherie-

bacilleneiweiß bisweilen von einer „*parallergischen*“ *Überempfindlichkeit* gegen Bouillon und andere Agenzien begleitet ist. Zur Herstellung des Impfstoffes, der die von GUNDEL beobachteten Reaktionen verursacht hatte, war eine Bouillon verwandt worden, die *nur auf 60—70° erhitzt* und durch SEITZ-Filtration sterilisiert worden war, während die zur Impfstoffbereitung dienenden Nährböden sonst gekocht werden. Große praktische Bedeutung dürfte den *parallergischen* Reaktionen bei der Seltenheit des Phänomens nicht beizumessen sein.

Schließlich sei noch die von einigen Autoren befürchtete „*negative Phase*“ erwähnt. Irgendwelche Beobachtungen, welche dafür sprächen, daß es nach aktiver Immunisierung vorübergehend zu einer Erhöhung der Empfänglichkeit für die Diphtherieinfektion, also zu einer *negativen Phase der Resistenz* käme, sind nirgends gemacht worden; im Tierversuch wurde sogar gezeigt, daß schon bald nach der Impfung, also vor der Entwicklung der spezifischen Immunität, eine *Steigerung der unspezifischen Resistenz gegen die Infektion mit Diphtheriebacillen* einsetzen kann [PRIGGE (2)]. Auch eine *negative Phase des Antitoxintiters*, in dem Sinne einer Abnahme des im Serum etwa enthaltenen Normalantitoxins, ist nicht erwiesen. Ebenso kann sich die von SCHMIDT-BURBACH und DEHMEL nach aktiv-passiver Immunisierung beobachtete *negative Phase des Antitoxintiters* ungünstigstenfalls nur dahin auswirken, daß der Organismus der Erkrankung ebenso wehrlos gegenübersteht wie vor der Impfung; aber selbstverständlich bedingt sie *keine Erhöhung der Empfänglichkeit für die Infektion*.

Anmerkung bei der Korrektur. In einer nach Beendigung des Umbruches der vorliegenden Arbeit erschienenen „*Vorläufigen Mitteilung*“¹ gibt T. WOHLFEIL eine ausgezeichnete Übersicht über die bei 150000 Kindern mit Hilfe der einmaligen Injektion von hochaktiven Impfstoffen erzielten Ergebnisse. Durch WOHLFEILs Mitteilung wird auch die auf S. 43 ausgesprochene Auffassung, daß die einmalige Injektion von *hochwertigen* Präparaten etwa ebensoviel leiste wie die dreimalige Injektion *geringwertiger* Impfstoffe, bestätigt, ebenso die auf S. 42—43 geäußerte Vermutung, daß erst *beträchtliche* Unterschiede in der antigenen Wirksamkeit der Impfstoffe für die Schutzimpfung des Menschen Bedeutung gewinnen können, während *kleinere* Differenzen infolge der hohen Variabilität menschlicher Populationen keinen erkennbaren Einfluß auf den Impferfolg auszuüben vermögen. — Es sei ferner auf eine im Druck befindliche Arbeit von WA. SCHÄFER² hingewiesen, welche „*Zur Frage der Überempfindlichkeit gegen toxoidhaltige Bakterienfiltrate*“ Stellung nimmt und neue experimentelle Beiträge zur Klärung der in Abschnitt IV (S. 53 ff.) besprochenen Fragen bringt.

Literatur.

- ALLIN, FRASER and BEVERLEY: Development of sensitivity to the proteins of C. diphtheriae. Canad. publ. Health J. 28, 376 (1937).
 ANDERSON: Diphtheria immunization in the nursing staff of Ruchill Fever Hospital. Glasgow med. J. 128, 1 (1937).
 — HAPFOLD, MCLEOD and THOMSON: On the existence of two forms of Diphtheria Bacillus — B. diphtheriae gravis and B. diphtheriae mitis — and a new medium for their

¹ Immun.forsch. 94, H. 3/4, 189 (1938).

² SCHÄFER, WA.: Z. Hyg. 121, 236 (1938).

- Differentiation and for the Bacteriological Diagnosis of Diphtheria. *J. of Path.* **34**, 667 (1931).
- ANDO and KOMIYAMA: Purification of diphtheriatoxin and anatoxin. *J. of Immun.* **29**, 439 (1935).
- ARTUSI: Sul valore antigene di alcune anatossine difteriche. *Arch. ital. Pediatr.* **2**, 409 (1934).
- BAAR u. KOVÁCS: Über die Feitüchtigkeit bei maligner Diphtherie. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Alauntoxoid-Immunisierung. *Klin. Wschr.* **1937 II**, 1532.
- BÄCHER, KRAUS u. LÖWENSTEIN: Zur Frage der aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Z. Immun.forsch.* **42**, 350 (1925).
- BARATTE: Essai de dissociation des pouvoir antigène et toxique dans la toxine diphtérique. *C. r. Soc. Biol. Paris* **125**, 494 (1937).
- BENDER: (1) Die bakteriologische Diagnose der Diphtherie. *Zbl. Bakter. I Orig.* **139**, 51 (1937).
 — (2) Über das Vorkommen und die epidemiologische Bedeutung von Diphtheriebazillenträgern unter schutzgeimpften und nicht schutzgeimpften Kindern. *Münch. med. Wschr.* **1937**, 1062.
 — (3) Ist eine allgemeine obligatorische aktive Diphtherieschutzimpfung im Kindesalter in Deutschland anzustreben? *Med. Welt* **1937**, Nr 19.
- BERGER: (1) Die experimentellen Voraussetzungen einer Behandlung der Diphtherie mit Vitamin C und Nebennierenrindenhormon. *Klin. Wschr.* **1937 II**, 1177.
 — (2) Aktive Diphtherie-Schutzimpfung bei tuberkulösen Kindern. *Münch. med. Wschr.* **1938 I**, 551.
- BERNABAI: Sur l'apparition et la valeur de l'immunité produite par les anatoxines diphtérique et tétanique injectées seules ou après enrobage dans la lanoline. *C. r. Soc. Biol. Paris* **118**, 1135 (1935).
- BERTONI: Vaccinazioni antidifteriche. *Pediatr. prat.* **12**, 188 (1935).
- BESREDKA: De la disparition du pouvoir vaccinant de l'anatoxine diphtérique en présence du sérum antidiphtérique. *C. r. Acad. Sci. Paris* **206**, 380 (1938).
- BESSAU: Verhütung der wichtigsten Infektionskrankheiten. *Med. Welt* **1934**, 1645, 1715.
- BIELING u. OELRICHS: (1) Untersuchungen über die Entstehung der Diphtherie-Infektion. *Z. Hyg.* **117**, 792 (1936).
 — — (2) Untersuchungen an diphtherievergifteten und diphtheriekranken Kaninchen. *Z. Immun.forsch.* **87**, 279 (1936).
 — — (3) Diphtheriebacilleninfektion mit verschiedenen Diphtheriebacillenstämmen. *Zbl. Bakter. I Orig.* **137**, 226 (1936).
 — — (4) Über die Wirkung von Diphtherietoxin auf das Gehirn. *Z. Hyg.* **119**, 539 (1937).
 — — (5) Depressionsimmunität bei Diphtherie-Augeninfektionen. *Z. Immun.forsch.* **92**, 93 (1938).
- BLAGOWECHENSKY: Durée du séjour de l'antigène dans l'organisme et immunité. *Rev. d'Immunol.* **4**, 161 (1938).
- BLAŽEK: Über endonasale Immunisierung gegen Diphtherie mittels nichtkonzentrierten Anatoxins. *Čas. lék. česk.* **1935**, 836.
- BORMANN, v.: (1) Die Praxis der Diphtherieschutzimpfung. *Med. Welt* **1935**, 1354.
 — (2) Ist die Furcht vor Impfschäden nach aktiver Diphtherieschutzimpfung berechtigt? *Med. Welt* **1936**, 15.
- BOUSFIELD and KING BROWN: Diphtheria immunisation with finely atomised formol toxoid. *Lancet* **1938 I**, 491.
- BRANDWIJK u. TASMÁN: Reinigung und Konzentrierung von Diphtherie-Toxin und -Anatoxin. *Z. Immun.forsch.* **85**, 200 (1935).
- BRAUN: Zur Frage der einmaligen Immunisierung gegen Diphtherie mit Alaun-Anatoxin. *Z. Mikrobiol.* **19**, 335 (1937).
- O'BRIEN: The control of Diphtheria. 2nd internat. Congress Microbiol. London, 25. Juli bis 1. Aug. 1936. *Rep. Proc. Lond.* **1937**, 482.
- BROWN and ETRIS: Diphtheria immunization with one dose (alum-precipitated) toxoid, Schick test with Park 8 an "gravis" toxin. *Med. Bull. Veterans' Admin.* **13**, 140 (1936).

- BÜHLER: Experimentelle Untersuchungen über Diphtherie-Immunität. Verh. dtsh. Ges. inn. Med., 49. Kongreß Wiesbaden 1937, 368.
- u. LENZ: Über die Frage der Erbllichkeit der Disposition bzw. Immunität bei Kinderkrankheiten. Z. Abstammgslehre 73, 536 (1937).
- BÜRGER: Die Diphtherie in Ostpreußen. Med. Welt 1935, 255.
- BUNNEY: (1) Use of intradermal injections of toxin-toxoid mixtures in diphtheria immunization. Amer. J. publ. Health 25, 623 (1935).
- (2) Diphtheria studies. Amer. J. publ. Health 26, 716 (1936).
- BUXBAUM and GREENWALD: A chemical study of the alum-diphtheria toxoid precipitate. J. Labor. a. clin. Med. 21, 157 (1935).
- CALMETTE et MASSOL: Les précipitations du sérum antivenimeux vis-à-vis du venin de cobra. Ann. Inst. Pasteur 23, 155 (1909).
- CASASSA, A., M. T. CASASSA e DE MATTIA: Sulla possibilità di evitare le paralisi postdifteriche mediante l'immunizzazione attiva e passiva contemporanea. Giorn. Accad. Med. Torino 48/2, 39 (1935).
- CELAREK: Sur l'immunisation des chevaux par l'anatoxine diphtérique précipitée par l'alun. Rev. d'Immunol. 3, 183 (1937).
- CERZA: Sulla possibilità di ottenere l'immunizzazione antidifterica con dose unica di anatossina precipitata. Pediatr. Riv. 45, 885 (1937).
- CHABAS: Versuche über die Anreicherung und Reinigung des Diphtherie-Anatoxins durch Ultrafiltration. Bull. Biol. et Méd. expér. URSS. 4, 540 (1937).
- CHAFERSTEIN (SCHAFERSTEIN), TOUREZKY, KOPOROVSKY, ROGOVA, SONBERG i GALPERIN: Immunisierung gegen Diphtherie durch eine einzige Injektion von Anatoxin. Sovet. Pediatr. 1935, 136.
- CHESNEY: (1) Formol toxoid in Diphtheria immunisation. Med. Officer, 7. Juli 1934.
- (2) Alum precipitated toxoid in Diphtheria immunisation. A "Two shot" Method. Med. Officer 1936, 197.
- (3) Immunization against Diphtheria with alum-precipitated toxoid. Brit. med. J. 1937 I, 807.
- CHIARI u. SIEGL: Über das Verhalten der Allergie bei der Diphtherie. Arch. Kinderheilk. 105, 65 (1935).
- CIBILS-AGUIRRE: Grundlagen eines Gesetzes für die obligatorische Diphtherieimpfung. Arch. argent. Pédiatr. 5, 449 (1934).
- CIUCA: Die Epidemiologie der Diphtherie. Rev. Ştiinţ. med. (rum.) 23, 612 (1934).
- CLAUBERG: Die epidemiologische Bedeutung der Diphtheriebacillenträger vom Standpunkt der Typenlehre aus. Münch. med. Wschr. 1935 I, 944.
- COGGI: Dell'immunità consecutiva al trapianto di cute di animali pretrattati con anatossina difterica in animali normali. Boll. Ist. sieroter. millan. 15, 311 (1936).
- DEBRÉ, RAMON, NORMAND et SÉE (1): Sur les réactions des tissus des cobayes vaccinés par l'anatoxine diphtérique vis-à-vis de l'inoculation de bacilles diphtériques. C. r. Soc. Biol. Paris 116, 110 (1934).
- — — (2) Sur les réactions histologiques des tissus, des cobayes vaccinés par l'anatoxine diphtérique vis-à-vis de l'injection de toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. Paris 116, 113 (1934).
- — — (3) Sur les réactions des tissus de cobayes immunisés passivement, vis-à-vis de bacilles diphtérimorphes pathogènes et non pathogènes. C. r. Soc. Biol. Paris 116, 114 (1934).
- DIECKHOFF: Diphtherie-Formoltoxoid und Ascorbinsäure. Klin. Wschr. 1937 II, 1463.
- DIMITRIJEVITCH-SPETH: Beitrag zur praktischen Wertbemessung des Anatoxins. Zbl. Bakter. I Orig. 131, 478 (1934).
- DOERR u. KON: Die Wirkungen intracerebraler Toxininjektionen und ihre Beziehungen zu den Blut-Hirn-Schranken. I. Diphtherietoxin. Z. Hyg. 119, 269 (1937).
- DOLD u. WEIGMANN: (1) Über Rachen- und Nasenimmunität gegen Diphtherie bei Meerschweinchen und Affen. Z. Hyg. 116, 146 (1934).
- — (2) Affen als Diphtheriebacillenträger. Z. Hyg. 116, 154 (1934).
- — (3) Über die Wirkung des menschlichen Speichels auf Diphtheriebacillen. Z. Hyg. 116, 158 (1934).

- DUDLEY, MAY u. O'FLYNN: Active Immunization against Diphtheria. Its effect on the distribution of Antitoxic Immunity an Case and Carrier infection. Spec. Rep. Ser. Nr 195. London: His Majesty's Stat. Office 1934.
- DZIERZGOWSKY (DSERSCHGOWSKY): Zur Frage nach der aktiven Immunisierung des Menschen gegen Diphtherie. Charkoff med. Ž. **10**, 69 (1910). — Russk. Wratsch **1910**, 753.
- EATON: (1) The flocculation reaction with purified diphtheria toxin. J. of Immun. **30**, 361 (1936).
 — (2) The purification and concentration of diphtheria toxin I. Evaluation of previous methods; description of a new procedure. J. Bacter. **31**, 347 (1936).
 — (3) The purification and concentration of diphtheria toxin. II. Observations on the nature of the toxin. J. Bacter. **31**, 367 (1936).
 — (4) The purification and concentration of diphtheria toxin. III. Separation of toxin from bacterial protein. J. Bacter. **34**, 139 (1937).
 — (5) Chemical modification of purified diphtheria toxin. I. The mechanism of detoxification by formaldehyde. J. of Immun. **33**, 419 (1937).
- EISLER, v. u. GOTTDENKER: (1) Entgiftung des Diphtherietoxins durch Sterine und erhöhte Bildung von Antitoxin durch Immunisierung mit Gemischen von Cholesterin und Diphtherietoxin bzw. -toxoid. Wien. klin. Wschr. **1937 I**, 54.
 — — (2) Über die Entgiftung des Diphtherietoxins durch Lanolin und Sterine, sowie über die Beeinflussung seines Immunisierungsvermögens durch Cholesterin. Z. Immunforsch. **90**, 427 (1937); **91**, 49 (1937).
 — — (3) Vergleichende Untersuchungen über das Immunisierungsvermögen von Diphtherie- und Tetanusformoltoxoid. Z. Immunforsch. **93**, 1 (1938).
- EMERSON, FREEMAN, CHAPIN, DUBLIN, RICE, VAUGHAN, MOUNTIN and WALKER: Recommended procedures for diphtheria immunization. Amer. J. publ. Health **25**, 712 (1935).
- FALCHETTI: Sur la persistance de la toxine diphtérique au point d'injection chez le cobaye. C. r. Soc. Biol. Paris **120**, 696 (1935).
- FAN: Control of diphtheria. Chin. med. J. **51**, 879, 893 (1937).
- FARAGÓ: (1) Über das Verhältnis zwischen der Diphtherie-Epidemiekurve und der Zahl der Schutzgeimpften mit Berücksichtigung der Beobachtungen von DUDLEY. Z. Hyg. **117**, 341 (1935).
 — (2) Über das Schicksal und die Wirksamkeit des Anatoxin-Präzipitatdepots im Organismus. Z. Immunforsch. **86**, 191 (1935).
 — (3) Immunization against Diphtheria. Amer. J. Hyg. **22**, 495 (1935).
 — (4) Serumantitoxin-Bestimmungen zwei Jahre nach erfolgter Diphtherie-Schutzimpfung. Z. Hyg. **118**, 417 (1936). — Orv. Hetil. (ung.) **1936**, 479.
 — (5) Die antidiphtherielle Immunisierung mittels einer Impfung. Med. Welt **1936**, Nr 1.
 — (6) Neuerliche Prüfung der Wirkungsweise des Diphtherie-Anatoxinpräzipitats. Einmalige Impfung. Z. Hyg. **120**, 521 (1938).
 — (7) Neuere Kontrolluntersuchungen, das Diphtherieanatoxin-Präzipitat betreffend (nach einmaliger Impfung). Orv. Hetil. (ung.) **1938**, 489.
- FAYOT: La diphtérie des vaccinés. Bull. méd. **1934**, 209.
- FECHNER: Kollektivmaßlehre. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1897.
- FITZGERALD: Diphtheria prevention, methods and results. Canad. publ. Health J. **27**, 53 (1936).
 — FRASER and MCKINNON: Attempts to Control Diphtheria in Canada. 2nd internat. Congress Microbiol. London, 25. Juli bis 1. Aug. 1936. Rep. Proc. Lond. **1937**, 482.
- FOLLENSBY, HOOKER and TAYIAN: The reaction between diphtheria toxin and formaldehyde. J. of Immun. **31**, 141 (1936).
- FORBES: Progress of diphtheria prevention. A survey and some results. Brit. med. J. **1937**, 1209.
- FRASER and HALPERN: (1) Studies in Diphtheria Immunity in man. Trans. roy. Soc. Canada, Sect. V **1934**, 65.
 — — (2) Studies in Diphtheria Immunity. Trans. roy. Soc. Canada, Sect. V **1935**, 53.
 — — (3) Diphtheria Toxoid. Canad. publ. Health J. **26**, 469 (1935).
 — — (4) Serial titrations of Diphtheria Antitoxin following Toxoid. Canad. publ. Health J. **26**, 476 (1935).

- FRASER and HALPERN: (5) The antitoxic response to diphtheric antigens in Children. *J. of Immun.* **33**, 323 (1937).
- and WIGHAM: The use of rabbits for intracutaneous virulence tests of *B. diphtheriae* or titration of diphtheria antitoxin. *J. amer. med. Assoc.* **82**, 1114 (1924).
- FREEDMAN: Allergic reactions to SCHICK tests after toxoid immunization. *J. of Pediatr.* **6** 695 (1935).
- FRINDT-VYHMEISTER: Die aktive Immunisation bei der Diphtherie. Ein Versuch der Impfung mit einer einzigen Dosis von nach SORDELLI gereinigtem und aktiviertem Anatoxin. *Rev. chil. Pediatr.* **8**, 420, 471 (1937).
- FROBISHER and VAN VOLKENBURGH: Increased numbers of carriers of *C. diphtheriae* demonstrable by extensions of bacteriological procedures. *Amer. J. Hyg.* **22**, 292 (1935).
- GALTON: *Natural Inheritance*. London 1889.
- GAUDINO: La difterite nei vaccinati. *Clin. pediatr.* **19**, 850 (1937).
- GEGENBAUER: Die Altersverteilung der Diphtherie- und Scharlachfälle in Wien. *Wien. klin. Wschr.* **1937 II**, 1004.
- GEORGI: Über eine ausflockende Wirkung des Diphtherieheilserums. *Med. Klin.* **1920**, 1061.
- GINNES, MC. and STEBBINS: Immunity to Diphtheria and response to artificial immunization of children in rural Virginia. *Amer. J. publ. Health* **24**, 319 (1934).
- — and HART: Experience with alum precipitated toxoid in Virginia and observations on the reaction following its use. *Amer. J. publ. Health* **24**, 1141 (1934).
- GLENNY and BARR: Alum-Toxoid Precipitates as antigens. — The precipitation of Diphtheria Toxoid by potash alum. *J. of Path.* **34**, 118, 131 (1931).
- BUTTLE and STEVENS: Rate of Disappearance of Diphtheria toxoid injected into rabbits and guinea-pigs: toxoid precipitated with alum. *J. of Path.* **34**, 267 (1931).
- POPE, WADDINGTON and WALLACE: Immunological Notes XXIII. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J. of Path.* **29**, 38 (1926).
- and SÜDMERSEN: Notes on the Production of Immunity to Diphtheria Toxin. *J. of Hyg.* **20**, 184 (1921).
- and WADDINGTON: The SCHICK reaction and circulating antitoxin. *J. of Path.* **32**, 275 (1929).
- and WALPOLE: Detection and concentration of antigens by ultrafiltration, pressure dialysis, etc. with special reference to diphtheria and tetanus toxins. *Biochemic. J.* **9**, 298 (1915).
- GOGIN, IGNATOWA, KORTSCHEMKINA i ZURINOWA: Die Anwendung unspezifischer Reizmittel in der Praxis der Hyperimmunisierung von Diphtheriepferden. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **14**, 105 (1935).
- i KORTSCHEMKINA: Beobachtungen über die Veränderungen der immunisatorischen Reaktivität des Organismus bei andauernder Immunisation. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **14**, 843 (1935).
- GOLDIE: (1) Concentration de la toxine diphtérique au moyen de l'osmose. *C. r. Soc. Biol. Paris* **116**, 17 (1934).
- (2) Inactivation du filtrat diphtérique toxique par le cétène. *C. r. Soc. Biol. Paris* **126**, 974 (1937).
- (3) Influence du cétène sur la toxine diphtérique purifiée par la dialyse. *C. r. Soc. Biol. Paris* **126**, 977 (1937).
- GOLOMB, KRIKENT i BELAYA: Eine Methode der Immunisierung gegen Diphtherie (Immunisierung durch Lysate und Antitoxine). *Sovet. Pediatr.* **1935**, 136.
- GOROCHENIKOWA i WAGNER-SACHAROWA: Hochaktive Diphtherie-Antigene, Konzentrierung und immunisierende Eigenschaften. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **14**, 881 (1935).
- GOROCHOWNIKOWA, WAGNER-SACHAROWA i KALINSKAFKA: Die Gewinnung des Diphtherietoxins von hohem Titer auf MARTIN-Bouillon. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **14**, 79 (1935).
- GRAFFAR: La prophylaxie antidiphérique aux Etats-Unis. Technique et résultats. *Arch. Méd. soc. et Hyg.* **1**, 345 (1938).
- GRASSET: Action de composés organiques d'or sur les toxines diphtérique et tétanique, et propriétés antigéniques des dérivés atoxiques résultants. *C. r. Soc. Biol. Paris* **116**, 1220 (1934).
- GRODZKI, GRZEGORZEWSKI, JAKOBKIEWICZ, MAZUREK i SZEYMAN: Antidiphtherieimpfungen in Warschau. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **20**, 79 (1935).

- GRÖER, v., ALTENBERG u. LILLE: Der Einfluß der Dioxyphenole auf das Diphtherietoxin. *Z. Immun.forsch.* **87**, 229 (1936).
- GUNDEL: (1) Die Bedeutung der Diphtherieschutzimpfung im Rahmen der Diphtheriebekämpfung. *Z. Gesdh.verw.* **5**, 385 (1934).
- (2) L'organisation des vaccinations préventives contre la diphtérie dans une grande ville (Duisburg-Hamborn). *Bull. mens. Off. internat. Hyg. publ.* **27**, 310 (1935).
- (3) Die Diphtheriebekämpfung und die Bedeutung der Mitwirkung der NS.-Volkswohlfahrt. *NS.-Volksdienst* **2**, 150 (1935).
- (4) Die Organisation der Diphtherie-Schutzimpfungen in einer Großstadt. *Reichsgesdh.bl.* **1935**, 31.
- (5) Epidemiologie der Diphtherie. *Zbl. Bakter. I Orig.* **135**, 18 (1935).
- (6) Die Bekämpfung der Diphtherie. *Med. Klin.* **1935 I**, 308.
- (7) Résultats de la vaccination antidiphthérique en Allemagne, d'après la situation en avril 1935. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. publ.* **27**, 1755 (1935).
- (8) Die Bekämpfung der Diphtherie unter besonderer Berücksichtigung der aktiven Diphtherieschutzimpfung. *Ther. Gegenw.* **76**, 347 (1935).
- (9) Ein vorläufiger Bericht über die bisherigen Diphtherieschutzimpfungen im Westen des Reiches. *Dtsch. med. Wschr.* **1935 II**, 1145.
- (10) Die aktive Schutzimpfung gegen Diphtherie und die Ergebnisse der in den Jahren 1934 und 1935 in Deutschland durchgeführten Diphtherieschutzimpfungen. *Veröff. Volksgesdh.dienst.* **47**, 385 (1936).
- (11) Über neuere Fragen und Ergebnisse der aktiven Immunisierung. *Jkurse ärztl. Fortbildg* **1937 X**, 18.
- (12) Grundlagen und Erfolgsaussichten der Diphtheriebekämpfung. *Dtsch. Arzt Tschechosl. Republ.* **1**, 19 (1938).
- u. ERZIN: (1) Die spezifische Therapie der Diphtherie und die Typendifferenzierung der Diphtheriebacillen. *Dtsch. med. Wschr.* **1936 II**, 1292.
- — (2) Untersuchungen zur Pathogenese der Diphtherie unter besonderer Berücksichtigung der „Virulenz“ der Diphtheriebacillentypen. *Zbl. Bakter. I Orig.* **136**, 24 (1936).
- u. KÖNIG: Experimentelle Untersuchungen zur aktiv-passiven Immunisierung gegen Diphtherie. *Z. Immun.forsch.* **92**, 235 (1938).
- u. LIEBETRUTH: Die Diphtheriebacillen. *Z. Hyg.* **117**, 66 (1935).
- u. MÜLLER-VOIGT: Die Organisation der Diphtherieschutzimpfung in einer Großstadt. *Dtsch. med. Wschr.* **1934 II**, 1663.
- u. NIERMANN: Die planmäßige Diphtheriebekämpfung. *Dtsch. med. Wschr.* **1934 I**, 775.
- u. TIETZ: Die Diphtheriebacillen. I. Züchtung und Erscheinungsformen. *Z. Hyg.* **116**, 439 (1934).
- u. WÜSTENBERG: Unsere Erfahrungen mit der SCHICK-Reaktion nach aktiver Diphtherieschutzimpfung. *Dtsch. med. Wschr.* **1935 II**, 1871.
- HÄSSLER: Zur Frage der aktiven Diphtherie-Immunisierung. *Med. Ges. Leipzig*, 25. Mai 1937. Tagg sächs.-thüring. Kinderärzte Jena 1937.
- HAINÉ: The use of alum-precipitated toxoid in diphtheria immunization. *Brit. med. J.* **1935**, 896.
- HAMADA: Experimental studies on immunization by means of inhalation of diphtheria-anatoxin or antisera. *Acta dermat. (Kioto)* **28**, 37, 46 (1936); **29**, 51 (1937).
- and OKAMOTO: Intracutaneous reaction of diphtheria or scarlet fever and the result of immunization by means of inhalation. *Acta dermat. (Kioto)* **30**, 4 (1937).
- HANSEN et SCHMIDT: Préparation de l'hydroxyde d'aluminium destiné à l'adsorption des toxines (anatoxines) et d'ultravirus. *C. r. Soc. Biol. Paris* **120**, 1150 (1935).
- HARDE et PHILIPPE: Observations sur le pouvoir antigène du mélange toxine diphtérique et vitamine C. *C. r. Acad. Sci. Paris* **199**, 738 (1934).
- HARRISON: Some observations on the use of alum-precipitated diphtheria toxoid. *Amer. J. publ. Health* **25**, 298 (1935).
- HAZEN, ALLEN: Storage to be provided in impounding reservoirs for municipal water. *Trans. amer. Soc. Civil Engineers* **77**, 1539 (1914).
- HEALEY: The antigenic value of various preparations of Diphtheria toxoid. *J. amer. med. Assoc.* **105**, 1182 (1935).

- HETSCH: Schutzimpfung mit Mischimpfstoffen. *Med. Klin.* **1937 II**, Nr 32.
- HIDA and SUZUKI: Biological and chemical analysis of the diphtheria toxin production in media. *Kitasato Arch. of exper. Med.* **14**, 263 (1937).
- HIRSZFELD: Über die Bestimmung der Immunität in Zivilisationskrankheiten, besonders bei Diphtherie. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **20**, 322, 339 (1936).
- HOEN i FELDSTEIN: Die toxoide Natur des Diphtherieanatoxins und seine antigenen Eigenschaften, gemessen mittels der Präcipitation. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **18**, 671 (1937).
- i MATYSIS: Die Nahrung und Resistenz des Organismus gegen Infektion. I. Der Verlauf der Diphtherieinfektion bei Mangel an Caloriegehalt der Nahrung. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **15**, 143 (1935).
- HOLZAPFEL: Zur Wertbemessung des Diphtherie-Antitoxins im Serum und über Impfversuche mit konzentrierten und gereinigtem Formoltoxoid. *Mshr. Kinderheilk.* **61**, 280 (1935).
- HOSOYA, KAGABE, TETSUNOSUKE et MOMMA: Etude sur la nature de la toxine diphtérique. L'anatoxine purifiée pulvérulente. *C. r. Soc. Biol. Paris* **120**, 1030 (1935).
- TANAKA and KAGABE: Über die Reinigung des Diphtherietoxoides. *Jap. J. of exper. Med.* **12**, 277 (1934).
- HUBER: Wie soll sich der Praktiker zur Diphtherie-Schutzimpfung stellen? *Kinderärztl. Prax.* **8**, 246 (1937).
- ISABOLINSKI, JUDENITSCH u. LEWZOW: Über die einmalige Immunisierung gegen Diphtherie mit präzipitiertem Anatoxin. *Z. Immunforsch.* **85**, 218 (1935).
- ISABOLINSKI: Beobachtungen über die aktive Immunisierung gegen Diphtherie und Abdominaltyphus. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **14**, 93 (1935).
- ISHIHARA: Vergleich des nativen Diphtherieanatoxins mit dem abgekochten in der Erwerbung der aktiven antitoxischen Immunität. *Mitt. med. Ges. Tokyo* **48**, 56 (1934).
- JAKOBKIEWICZ: Örtliche und allgemeine Reaktion nach Einspritzung von Diphtherieanatoxin mit Alaun. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **21**, 48 (1936).
- et ZAJDL: Recherches sur les anatoxines purifiées. *Rev. d'Immunol.* **1**, 576 (1935).
- JASZCZOLT: Ministerialverordnung über die zwangsweise Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **21**, 140 (1936).
- JENSEN: (1) Immunisation antidiphthérique des enfants par une injection unique d'anatoxine diphtérique purifiée et concentrée. *C. r. Soc. Biol. Paris* **108**, 528 (1931).
- (2) Durée de l'immunité après une injection unique d'anatoxine purifiée et concentrée. *C. r. Soc. Biol. Paris* **108**, 532 (1931).
- (3) Die intrakutane Kaninchenmethode. *Acta path. scand. (Københ.)*, Suppl. **14** (1933).
- (4) Antitoxincurve in children after active immunization with diphtheria anatoxin with special reference to the duration of the antitoxic immunity. *Acta. path. scand. (Københ.)* **10**, 137 (1933).
- (5) Active Immunization against Diphtheria by the combined subcutaneous and intranasal method. *Proc. roy. Soc. Med.* **30**, 71 (1937).
- SCHMIDT u. FJORD-NIELSEN: Immunisierung von Kaninchen gegen Diphtherie. *Z. Hyg.* **117**, 177 (1935).
- JOHAN: Immunization against Diphtheria in Hungary. 2nd internat. Congress Microbiol. London, 25. Juli bis 1. Aug. 1936. *Rep. Proc. Lond.* **1937**, 481.
- JOHANNSEN: Elemente der exakten Erblichkeitslehre. Jena: Gustav Fischer 1926.
- JONES: Duration of immunity following diphtheria prophylaxis. *J. Labor. a. clin. Med.* **22**, 576 (1937).
- and MOSS: The antitoxic titers of human subjects following immunization with combined diphtheria and tetanus toxoids, alum precipitated. *J. of Immun.* **33**, 173 (1937).
- KARSTEN: Charts and graphs, 2. Aufl., Kap. 37, 38 u. 40. New York: Prentice Hall inc. 1925.
- KAUERT: Beitrag zur Diphtheriebekämpfung durch kombinierte Immunisierung. *Münch. med. Wschr.* **1934 II**, 1723.
- KELLER and LEATHERS: Alum-precipitated diphtheria toxoid. The rapidity of immunization following one dose. *J. amer. med. Assoc.* **103**, 478 (1934).
- KERN, CRUMP and COPE: Diphtheria immunization of allergic and non-allergic individuals by intracutaneous injection of alum-precipitated toxoid. *J. Allergy* **6**, 525 (1935).
- KINNON, Mc and ROSS: The reduction of diphtheria following three doses of toxoid. *J. amer. med. Assoc.* **105**, 1325 (1935).

- KISSKALT: Untersuchungen über Konstitution und Krankheitsdisposition. 4. Mitt. Z. Hyg. **81**, 42 (1915).
- KLEINSCHMIDT: Ratschläge an Ärzte zur Bekämpfung der Diphtherie. Reichsgesdh.bl. **1935**, 356.
- KOCH: Experimentelle Untersuchungen über den Heilwert des antitoxischen Diphtherieserums im Vergleich zur Lokalbehandlung bei infizierten Tieren. Z. exper. Med. **103**, 405 (1938).
- KOEHN, BESSAU u. HUBER: Wie soll sich der Praktiker zur aktiven Diphtherie-Schutzimpfung stellen? Kinderärztl. Prax. **8**, 333 (1937).
- KOMIYAMA: Purification of diphtheria anatoxin. J. of orient. Med. **22**, 27 (1935).
- KOSITZA: Diphtheria immunization. J. of Pediatr. **7**, 662 (1935).
- KRESTOVNIKOVA, RJACHINA i PETROVA: Über die Natur der bakteriellen Toxine. Ž. Mikrobiol. (russ.) **18**, 654 (1937).
- KREUTZER: Antitoxinbildung nach aktiver Diphtherieschutzimpfung mit Di.-Toxoid-„Asid“. Mschr. Kinderheilk. **72**, 44 (1938).
- KROGH u. HEMMINGSEN: The assay of Insulin on Rabbits and Mice. Danske Vidensk. Selsk. **7**, 3 (1928).
- KULIKOW, CHOLTSCHIEFF i BOBKOWA: Der Einfluß oxydativreduktiver Prozesse auf die Atoxikation des Diphtherietoxins. Ž. Mikrobiol. (russ.) **15**, 883 (1935).
- KUWAHARA: (1) Der Nachweis des im Diphtherieanatoxin enthaltenen Impedins. Mitt. med. Ges. Tokyo **49**, 358, 560 (1935).
 — (2) Über die Spezifität der mittels Diphtherieanatoxinsalbe ausgelösten lokalen Hautimmunität. Mitt. med. Ges. Tokyo **49**, 574 (1935).
- LAMB: On the precipitine of Cobra venom. Lancet **1904**, 916.
- LEACH, JENSEN u. PÖCH: Aktive Schutzimpfungen gegen Diphtherie mittels einer einzigen Injektion von hochgereinigtem Formol-Toxoid + Al(OH)₃. Dtsch. med. Wschr. **1935 I**, 793.
 — u. PÖCH: SCHICK reactions and serum antitoxin titrations on children injected with diphtheria formol toxoid. J. of Immun. **29**, 367 (1935).
- LEPILIN, DANISCHEWSKAJA i FADDEJEW: Versuch einer Anwendung biologischer und chemischer Stimulantien zwecks Titersteigerung des Diphtherieserums. Ž. Mikrobiol. (russ.) **17**, 234 (1936).
- LEVADITI, LOISEAU, PAIC, PHILIPPE et HABER: Étude de la toxine diphtérique par le spectre d'absorption. C. r. Soc. Biol. Paris **116**, 609 (1934).
- LEWKOWITSCH u. SACK: Zur Wertbestimmung der Schutzwirkung der Diphtherie-Formoltoxioide. Z. Immun.forsch. **85**, 395 (1935).
- LIDDO: Il problema della immunizzazione attiva contro la difterite con dose unica di anatoxina. Ann. Igiene **48**, 273 (1938).
- LINDENSTRÖM-LANG u. SCHMIDT: Über die Reinigung von Toxinen und Antitoxinen. Kolloid-Z. **51**, 152 (1930).
- MACCOLINI: La production comparée de l'immunité et de l'antitoxine diphtérique par des injections fractionnées et par injection globale d'anatoxine. C. r. Soc. Biol. **126**, 487 (1937).
- MADSEN u. SCHMIDT: Seasonal Variation in the Susceptibility of Laboratory Animals to Diphtheria Toxin. Acta Soc. Medic. fenn. Duodecim, Ser. A **15** (1932).
- MENTON: Some immunological aspects of the cure and prevention of diphtheria. Brit. med. J. **1935**, 246.
- MÖLLERS: Die Diphtheriebekämpfung im Deutschen Reiche. Dtsch. Ärztebl. **68**, 226 (1938).
- MORO u. KELLER: Über die Parallerie. Klin. Wschr. **1935 I**, 1.
- NASH and TANES: Immunisation in diphtheria. J. roy. san. Inst. **58**, 24 (1937).
- NAUGHTEN, WHITE and FOLEY: The Prevention of diphtheria by the "one-shot" method using alum-precipitated toxoid. Brit. med. J. **1935**, 898.
- NEILL, SUGG and RICHARDSON: The individual as a factor in antidiphtheria immunity. J. of Immun. **28**, 363 (1935).
- NÉLIS: (1) Nouvelle contribution à l'examen de la durée de l'immunité antidiphtérique obtenue par l'anatoxine. Rev. belge Sci. méd. **6**, 267 (1934).
 — (2) Nouvelle contribution à l'examen de la durée de l'immunisation antidiphtérique par la vaccination à l'anatoxine. Rev. d'Hyg. **56**, 206 (1934).

- NÉLIS: (3) Essai de vaccination antidiphthérique en une seule injection au moyen d'une anatoxine traitée par l'hydroxyde d'aluminium. C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 1098 (1937).
- NEMCHILOFF, S. F.: De l'influence des substances non spécifiques ajoutées à l'anatoxine diphthérique sur le développement de l'immunité antitoxique. Rev. d'Immunol. **3**, 557 (1937).
- et N. A. NEMCHILOFF: Recherches expérimentales sur l'action du vaccin diphthérique combiné. Ann. Inst. Pasteur **59**, 437 (1937).
- NEMSCHILOWA i SCHAROWSKAJA: Versuch einer Vaccinierung gegen Diphtherie durch Anatoxin mit Alaun. Ž. Mikrobiol. (russ.) **15**, 494 (1935).
- NICOLLE, CÉSARI et DEBAINS: Etude sur la précipitation mutuelle des anticorps et des antigènes. Ann. Inst. Pasteur **34**, 596 (1920).
- NOSTER: Experimentelle Untersuchungen zur Bindung des Diphtherietoxins. Zbl. Bakter. I Orig. **140**, 243 (1937).
- Office international d'Hygiène publique*: La situation épidémiologique de la diphtérie et la vaccination antidiphthérique en France. Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ. **28**, 7 (1936).
- OLIN: Die aktive Diphtherieimmunisierung. Nord. med. Tidskr. **1936**, 800.
- OTTENSOOSER, KRUPSKI u. ALMASY: Über das Spektrum des Diphtherietoxins. Biochem. Z. **277**, 314 (1935).
- OTTO: Einige Bemerkungen zur aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie. Dtsch. med. Wschr. **1930 II**.
- u. BLUMENTHAL: (1) Beiträge zur aktiven Immunisierung gegen Diphtherie. Dtsch. med. Wschr. **1929 II**.
- — (2) Zur aktiven Immunisierung gegen Diphtherie mit subneutralen Gemischen. Med. Klin. **1930 II**.
- — (3) Weitere tierexperimentelle Beiträge zur aktiven Immunisierung gegen Diphtherie. Z. Hyg. **111**, 380 (1930).
- u. SCHÄFER: Anaphylaktischer Schock und Diphtheriegift-Intoxikation. Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **34**, 31 (1937).
- PALANT: Immunisation contre la diphtérie par une seule injection d'anatoxine précipitée. Ann. Inst. Pasteur **56**, 648 (1936).
- GORDINE u. MITELMAN: Immunisation contre la diphtérie par une seule injection d'anatoxine précipitée. Ann. Inst. Pasteur **56**, 648 (1936).
- PANSING and SCHAFFER: Detailed study on diphtheria immunization with the one dose alum precipitated toxoid. Amer. J. publ. Health **26**, 786 (1936).
- PAPPENHEIMER: Diphtheria toxin. I. Isolation and characterization of a toxic protein from *Corynebacterium diphtheriae* filtrates. J. of biol. Chem. **120**, 543 (1937).
- PARISH: Immunization against diphtheria with alum-precipitated Toxoid (A.P.T.). Brit. med. J. **1936 I**, 209.
- and WRIGHT: The SCHICK reaction and circulating diphtheria antitoxin in man. Lancet **1938**, 882.
- PARK: Duration of immunity against diphtheria achieved by various methods. J. amer. med. Assoc. **1937**, 1681.
- PFAUNDLER: Über Diphtherieschutzimpfung. Öff. Gesdh.dienst **3**, 137 (1937).
- PHILIPPE et HARDE: Anatoxine diphthérique et vitamine C. C. r. Soc. Biol. Paris **121**, 940 (1936).
- PIJPER: The evaluation of immunisation against diphtheria. S. afric. J. med. Sci. **2**, 136 (1937).
- POCKELS: (1) Zur Kritik der heute meist verwandten Immunisierungsmethode gegen Diphtherie. Dtsch. med. Wschr. **1929 I**.
- (2) Neue Erfahrungen mit der Diphtherie-Schutzimpfung. Dtsch. med. Wschr. **1930 I**.
- PÖCH u. LEACH: (1) Über Diphtherieprophylaxe durch aktive Immunisierung. Wien. klin. Wschr. **1934 II**, 998.
- — (2) A diphtheria immunization campaign in Austria. Amer. J. publ. Health **25**, 113 (1935).
- u. SCHMID: Studie über die Wirkung verschiedener Diphtherie-Anatoxine. Z. Immunforsch. **93**, 98 (1938).

- PONTANO: Norme per l'associazione siero-anatossina nella profilassi della difterite. *Ann. Igiene* **43**, 329 (1933).
- POPE and SMITH: The routine preparation of diphtheria toxin of high value. *J. of Path.* **35**, 573 (1932).
- POVITZKY and EISNER: The effect of temperature on the antigenic value of diphtheria toxoid. *J. of Immun.* **28**, 215 (1935).
- PRIGGE: (1) Über den Toxongehalt des Diphtheriegiftes. I. Mitt. *Zbl. Bakter. I Orig.* **92**, 39, 585 (1924); II. Mitt. *Z. Immun.forsch.* **81**, 185 (1934).
- (2) Experimentelle Untersuchungen über die „negative Phase“ der Diphtherieimmunität. *Med. Klin.* **1931 I**, 419, 813.
- (3) Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung des Diphtheriegiftes. *Z. Immun.forsch.* **77**, 421 (1933).
- (4) Über den Einfluß klimatologischer Faktoren auf das Verhalten von Laboratoriumstieren. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.*, 47. Kongreß Wiesbaden **1935**, 543.
- (5) Die staatliche Prüfung der Diphtherie-Impfstoffe und ihre experimentellen Grundlagen. *Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf.* **32**, 1 (1935).
- (6) Aktive Immunisierung gegen Diphtherie. *Zbl. Bakter. I Orig.* **135**, 26 (1935).
- (7) Die Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Med. Welt* **1935**, Nr 38.
- (8) Diphtherie-Schutzimpfung. *Ärztebl. Hessen-Nassau u. Kurhessen* **1936**, 373.
- (9) Theorie und Methodik der Antigenmessung. *Z. Hyg.* **119**, 186 (1937).
- (10) Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit von Diphtherie-Impfstoffen. Alaun- und Aluminiumhydroxyd-Impfstoffe. *Dtsch. med. Wschr.* **1937 I**, 894.
- (11) Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit von Diphtherie-Impfstoffen. Prinzipien der Wertbemessung von hochaktiven Impfstoffen. *Dtsch. med. Wschr.* **1937 II**, 1478.
- (12) Lokale Immunität. *Med. Klin.* **1937 I**, Nr 13 u. 25.
- (13) Neue Problemstellung der Immunbiologie. *Forschgn. u. Fortschr.* **13**, 320 (1937).
- (14) Neue Problemstellung der Immunbiologie. *Tierärztl. Mitt.* **18**, 873 (1937).
- (15) Fehlerrechnung bei biologischen Messungen. *Naturwiss.* **25**, 169 (1937).
- u. HARTOCH: Untersuchungen über die Wertbestimmung des Dysenterieserums. *Arb. Staatinst. exper. Ther. Frankf.* **23**, 1 (1930).
- u. KICKSCH: Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit von Diphtherie-Impfstoffen. *Dtsch. med. Wschr.* **1936 I**, 217.
- u. SCHÄFER: Methoden der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen. *Arch. f. exper. Path.* **1938** (im Druck).
- FRITSA: Immunisation des cobayes par une seule injection d'anatoxine diphtérique de RAMON précipitée par diverses solutions colloïdales. *Rev. d'Immunol.* **3**, 472 (1937).
- PROCHAZKA: La diphtérie chez les enfants immunisés par l'anatoxine. *Rev. d'Hyg.* **58**, 201 (1936).
- RADMANN u. BAUER: Über aktive Immunisierung gegen Diphtherie. *Med. Welt* **1938**, 670.
- RAMON: (1) Flocculation dans un mélange neutre de toxine-antitoxine diphtériques. *C. r. Soc. Biol. Paris* **86**, 661 (1922).
- (2) Sur une technique de titrage in vitro du sérum antidiphtérique. *C. r. Soc. Biol. Paris* **86**, 711 (1922).
- (3) A propos du titrage in vitro du sérum antidiphtérique par la flocculation. *C. r. Soc. Biol. Paris* **86**, 813 (1922).
- (4) La flocculation dans les mélanges de toxine et de sérum antidiphtérique. *Ann. Inst. Pasteur* **37**, 1001 (1923).
- (5) Sur la production de l'antitoxine diphtérique. *C. r. Soc. Biol. Paris* **93**, 506 (1925).
- (6) Les progrès récents dans la vaccination par l'anatoxine diphtérique. Vaccination au moyen de deux injections d'anatoxine. *Presse méd.* **1934 I**, 513.
- (7) L'anatoxine diphtérique et la prophylaxie de la diphtérie. *Ann. Méd.* **42**, 314 (1937).
- (8) L'utilisation des anatoxines dans le traitement des toxi-infections en évolution. *C. r. Acad. Sci. Paris* **205**, 469 (1937).
- (9) L'anatoxine diphtérique et la prophylaxie de la diphtérie. *Ann. Méd.* **42**, 314 (1937).
- (10) Les vaccinations associées. *Ann. Méd.* **42**, 381 (1937).
- (11) Essai sur l'immunité antitoxique. *Rev. d'Immunol.* **4**, 5 (1938).

- RAMON, BOIVIN et RICHOU: (1) Sur les propriétés floculantes et immunisantes des anatoxines purifiées par précipitation à l'acide trichloracétique. C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 634 (1936).
- — — (2) L'anatoxine diphtérique purifiée au moyen de l'acide trichloracétique et ses propriétés floculante et immunisante. C. r. Soc. Biol. Paris **124**, 28 (1937).
- — — et DJOURICHITCH: La séroanatoxithérapie antidiphthérique, ses bases expérimentales. C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 1099 (1937).
- DEBRÉ et SÉE: Mode d'action de l'immunité créée par l'anatoxine diphtérique. Rev. d'Immunol. **1**, 85 (1935).
- LEMÉTAYER et RICHOU: (1) Nouveaux essais sur l'influence de l'addition de substances non spécifiques à l'antigène dans la production de l'immunité antitoxique. C. r. Soc. Biol. Paris **116**, 823 (1934).
- — — (2) De l'influence de diverses substances ajoutées à l'antigène anatoxique dans la production de l'immunité antitoxique. Rev. d'Immunol. **1**, 199 (1935).
- — — et NICOL: La toxicité et l'activité immunisante des toxines injectées à l'animal d'expériences en mélange avec des substances diverses. Rev. d'Immunol. **3**, 285 (1937).
- RICHOU et MACCOLINI: Immunisation antitoxique «concentrée» et immunité «renforcée» par injections répétées de minimes quantités de toxine diphtérique, du même endroit, sous la peau du lapin. C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 483 (1937).
- — — et STAUB: L'immunisation au moyen de microbes vivants. Rev. d'Immunol. **3**, 389 (1937).
- et ZOELLER: De l'immunisation antitoxique par voie nasale chez l'homme et du mécanisme de l'immunisation occulte. C. r. Soc. Biol. Paris **96**, 757 (1937).
- REINHARDT: Beobachtungen über die Wirksamkeit der aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie. Dtsch. med. Wschr. **1938 I**, 535.
- ROSENBAUM: Immunisierungsversuche an Meerschweinchen gegen Diphtherie mit Diphtherieanatoxin RAMON. Diss. Zürich 1935.
- RUBINSTIN u. RABINOVITCH: Zur Frage der Titrierung von Diphtherieheilserum und der Bestimmung der Aktivität der Antigene in vitro. Ž. Mikrobiol. **18**, 828 (1937).
- RUNDBERG: Verhältnis zwischen Rezidiv und Immunität bei der Diphtherie. Tidskr. Mil. Hälsovård (schwed.) **60**, 23 (1935).
- SABELLI: Die Diphtherieschutzimpfung durch die Nase. Semana méd. **1936 II**, 1493.
- SACQUÉPÉE, PILOD et JUDE: L'immunisation antidiphthérique chez l'adulte au cours des vaccinations associées triples antidiphthérique, antitétanique et antitypho-paratyphoïdique. Rev. d'Immunol. **2**, 437 (1936).
- SAITO: Studien über die Diphtherie-Immunisierung. Acta dermat. (Kioto) **30**, 56—72 (1937).
- SAUNDERS: Immunization against diphtheria with alum precipitated toxoid. Lancet **1937**, 1064.
- SCHÄFER: (1) Variationsstatistische Untersuchungen zur Wertbestimmung von Diphtherieimpfstoffen. Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **32**, 51 (1935).
- (2) Schwankungen der Immunisierbarkeit von Meerschweinchen gegen Diphtherie-Toxin. I. Frankf. Konf. med.-naturwiss. Zusammenarbeit, S. 141. Berlin: Mannstaedt & Co. 1936.
- (3) Über die Zunahme der Isozygotie (Gleicherbigkeit) bei fortgesetzter Bruder-Schwester-Inzucht. Z. Abstammgslehre **72**, 50 (1936).
- (4) Fehlerrechnung bei biologischen Messungen. Naturwiss. **25**, 218 (1937).
- SCHAFFERSTEIN (CHAFERSTEIN), TUREZKAJA, KOPOROWSKAJA, ROGOWA, SONBERG u. GALPERIN: Zur einmaligen Antidiphtherieimmunisierung. Kinderärztl. Prax. **6**, 248 (1935).
- SCHALL u. LAMMERT: Zur Frage der Diphtherieschutzimpfung. I. Mitt. Dtsch. med. Wschr. **1938 I**, 333; II. Mitt. Dtsch. med. Wschr. **1938 I**, 781.
- SHELLING, v.: (1) Zur statistischen Beurteilung des Erfolges von Schutzimpfungen. Klin. Wschr. **1937 II**, 1691.
- (2) Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **35**, 69 (1938).
- (3) Prinzipien der Wertbemessung von biologisch wirksamen Substanzen. Dtsch. med. Wschr. **1938 I**, 827.
- SCHLOSSBERGER: Die Typen des Diphtheriebacillus. Zbl. Bakter. I Orig. **135**, 6 (1935).
- SCHMID: Tierexperimentelle Untersuchungen präzipitierter Diphtherieimpfstoffe. Z. Immunforsch. **94**, 83 (1938).

- SCHMIDT, H.: (1) Studien zur Kenntnis der Eigenschaften von Toxin-Antitoxingemischen. Einfluß der Eiweißsensibilisierung und -desensibilisierung auf die Diphtheriegiftwirkung beim Meerschweinchen. *Z. Immunforsch.* **86**, 528 (1935).
- (2) Diphtherie-Schutzimpfung. *Behringwerke-Merkbl.* **1937**, Nr 4 und **1938**, Nr 7.
- u. NIEMEYER: Über die Bedeutung der mikellaren Größe des Antigens für die Eigenschaften des Antikörpers. *Behringwerke-Mitt.* **6**, 153 (1934).
- u. STOCKHUSEN: Über die Bindung von Diphtheriegift an Gewebszellen und dessen Lösungsmöglichkeit durch Antitoxin. *Dtsch. med. Wschr.* **1936 I**, 966.
- SCHMIDT, S.: (1) De l'action du formaldéhyde en concentration élevées sur la toxine diphtérique. *Acta path. scand. (Københ.)* **11**, 270 (1934).
- (2) Sur les propriétés du complexe Toxine diphtérique — Hydroxyde d'aluminium desséché. *C. r. Soc. Biol. Paris* **120**, 1148 (1935).
- u. FJORD-NIELSEN: (1) Différence entre les pouvoirs immunisants des anatoxines diphtériques purifiées. *Acta path. scand. (Københ.)* **11**, 371 (1934).
- — (2) Sur l'importance de la nourriture pour le développement de l'immunité anti-diphtérique chez le cobaye. *Acta path. scand. (Københ.)* **11**, 127 (1934).
- — (3) Sur la transformation de la toxine diphtérique en anatoxine. Importance de la Concentration en HCHO utilisée et du temps de contact de celui-ci avec la toxine. *Acta path. scand. (Københ.)* **11**, 367 (1934).
- — (4) Sur la stabilité des divers fonctions spécifiques de la toxine diphtérique. *Acta path. scand. (Københ.)* **12**, 1 (1935).
- u. HANSEN: (1) Über die Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin und Diphtherieanatoxin mit besonderem Hinblick auf die aktive Immunisierung von Menschen. *Biochem. Z.* **228**, 263 (1930).
- — (2) Sur la préparation et sur quelques propriétés de l'anatoxine diphtérique purifiée et concentrée. *Acta path. scand. (Københ.)*, Suppl. **16**, 407 (1933).
- u. JENSEN: Immunisierung von Kaninchen gegen Diphtherie. *Zbl. Bakter. I Orig.* **134**, 401 (1935).
- — u. FJORD-NIELSEN: Immunisierung von Kaninchen durch eine einzige Injektion von Diphtherieimpfstoff (Anatoxin RAMON), welchem kleine Mengen Aluminiumhydroxyd zugesetzt sind. *Z. Immunforsch.* **85**, 276 (1935).
- u. KJAER: Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin und Diphtherieanatoxin durch Ausfällung mit Säuren. *Biochem. Z.* **228**, 291 (1930).
- SCHMIDT-BURBACH: (1) Über die passive, aktive und simultane Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Med. Welt* **1936**, Nr 38.
- (2) Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen mit nativen und präzipitierten Diphtherie-Impfstoffen. *Zbl. Bakter. I Orig.* **137**, 122 (1936).
- (3) Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Techn. Assistentin* **4**, 25 (1937).
- (4) Zur Frage der Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Mtschr. Kinderheilk.* **68**, 56 (1937).
- (5) Zur Frage der Diphtheriebekämpfung durch Schutzimpfung. *Öff. Gesdh.dienst* **3**, 541 (1937).
- u. DEHMEL: Über Simultan-Schutzimpfung gegen Diphtherie. *Zbl. Bakter. I Orig.* **140**, 237 (1937).
- SCHULZE u. HECHT: Über die Wirkung der Ascorbinsäure auf Diphtherie-Formoltoxoid und Tetanustoxin. *Klin. Wschr.* **1937 II**, 1460.
- SEIDENBERG u. WHITMAN: Zur Frage der anaphylaktogenen Eigenschaften des Diphtherie-Anatoxins. *Z. Hyg.* **113**, 125 (1932).
- SIEGL: Über Allergie bei der Diphtherie. *Wien. klin. Wschr.* **1935 II**, 1127.
- SIGAL and KING: Vitamin C and diphtheria toxin. *J. of Pharmacol.* **59**, 468 (1937).
- SILBERSCHMIDT: (1) Essais d'immunisation par inhalation. *Ann. Inst. Pasteur* **52**, 690 (1934).
- (2) Essais d'immunisation par inhalation, contre la diphtérie et le tétanos. *Bull. Acad. Méd.* **111**, 653 (1934).
- SKROTZKY: Über die bei Immunisation der Pferde mit Diphtherietoxin die Antikörperproduktion stimulierende Wirkung des Tapika. *Z. Immunforsch.* **77**, 443 (1933).
- SMIRNOW u. BRAUN: Zur Frage der einmaligen Immunisierung gegen Diphtherie mit Alaun-Anatoxin. *Ž. Mikrobiol. (russ.)* **15**, 736 (1935).
- SORDELLI: Impfung gegen Diphtherie. *Rev. Inst. Bacter. Buenos Aires* **7**, 157 (1935).

- SORDELLI y SAVINO: (1) Vacunación antidiftérica de adultos con toxoide activado. Rev. Inst. Bacter. Depart. nac. Hig. Buenos Aires **1**, 427 (1936).
 — — (2) Comparación de las propiedades de dos vacunas antidiftéricas. Rev. Inst. Bacter. Depart. nac. Hig. Buenos Aires **7**, 432 (1936).
- SPARROW i MAYZNER: Impfungen gegen Diphtherie mit durch Ultrafiltration gereinigten und konzentrierten Anatoxinen. Med. doświadc. i społ. (poln.) **17**, 356 (1933).
- STEINMAURER u. SCHMID: Nachweis von freiem Diphtherietoxin im Patientenblut. Z. Immun.forsch. **92**, 445 (1938).
- STRAUS: (1) Active immunization against diphtheria. A rapid method with a single injection. J. amer. med. Assoc. **101**, 192 (1933).
 — (2) Is a lasting active immunity against diphtheria obtainable with a single injection of alum-precipitated toxoid? J. Labor. a. clin. Med. **22**, 893 (1937).
- STRØM: (1) The duration of passive immunity. Acta path. scand. (Københ.) **12**, 275 (1935).
 — (2) The production of diphtheria toxin. Oslo: Haakensen & Co. 1935.
- SUGG: Diphtheria toxoid-antitoxin floccules prepared with human antitoxic serum. Amer. J. Hyg. **22**, 398 (1935).
- SUGIE, HONDA and KAWAI: Results of prophylactic vaccination against diphtheria in the subtropics. J. med. Assoc. Formosa **36**, 1100 (1937).
- SWEENEY, Mc: An evaluation of modern diphtheria prophylactics. Brit. med. J. **1935**, 103.
- TANAKA: Messungsmethode der Antigenität des Diphtherie-Toxoids. Jap. Journ. of exper. Med. **12**, 363 (1934).
- TANON et CAMBESSÉDÈS: Vaccinations associées. Rev. franç. Puéricult. **2**, 298 (1934).
- TAYLOR: (1) Sur la production de la toxine diphtérique de pouvoir antigène élevé. C. r. Soc. Biol. Paris **119**, 510 (1935).
 — (2) Un nouveau milieu de culture pour la production de la toxine diphtérique. Ann. Inst. Pasteur **55**, 474 (1935).
 — and MOLONEY: An investigation on the league of nations standard requirements for SCHICK toxin. J. of Immun. **33**, 191 (1937).
- TEVELI u. FEJES: Diphtherieimmunität und Blutantitoxin. Arch. Kinderheilk. **110**, 73 (1937).
- THEORELL u. NORLIN: Hochgereinigtes Diphtherieantigen. Z. Immun.forsch. **91**, 62 (1937).
- TIMMERMAN: Etude comparative de la réaction de floculation de RAMON effectuée avec une quantité d'antigène constante ou avec une quantité d'antiserum constante. Ann. Inst. Pasteur **52**, 146 (1934).
 — u. BRANDWIJK: Vergleichende Untersuchungen über die immunisierende Wirkung unverdünnter und verdünnter Diphtherie-Anatoxine. Leeuwenhoek **3**, 28 (1936).
- TOMCSIK: Über den Wert verschiedener Anatoxinpräparate bei der Immunisierung von Menschen. Zbl. Bakter. I Orig. **125**, 444 (1932).
- TOP: An appraisal of the SCHICK test. Arch. of Pediatr. **54**, 480 (1937).
- TORNAU: Diphtherieerkrankung und Diphtheriebekämpfung. Dtsch. Ärztebl. **68**, 226 (1938).
- TREVAN: A statistical note on the testing of antidysentery sera. J. of Path. **32**, 127 (1929).
- TURCU et RUSU: La lutte simultanée contre la diphtérie et la scarlatine, par la vaccination préventive, avec les toxines formolées. C. r. Soc. Biol. Paris **119**, 448 (1935).
- UBISCH, v. e DO AMARAL: (1) Diferença da capacidade de imunização da Cobia (Cavia porcellus L.) e do Preá (Cavia rufescens LUND) contra a anatoxina diphtherica. Mem. Inst. Butantan (port.) **10**, 179 (1935/36).
 — — (2) Unterschiede der zahmen und wilden Meerschweinchen (Cavia porcellus L. und Cavia rufescens LUND) bezüglich ihrer Immunisierbarkeit durch Diphtherieanatoxin. Genetica ('s-Gravenshage) **20**, 51 (1938).
- VANŮEK: Über Revaccination mit diphtherischem Anatoxin. Čas. lék. česk. **1935**, 845.
- VEJNAR: Beiträge zur Frage der antidiphtherischen Revakzination. Čas. lék. česk. **1935**, 845.
- VOLK: Diphtheria immunization by one injection. Amer. J. publ. Health **25**, 430 (1935).
- WADSWORTH, CROWE and SMITH: The absorption spectra of the products of C. diphtheriae. Brit. J. exper. Path. **16**, 201 (1935).
 — and QUIGLEY: Studies on the purification of diphtheria toxin by ultrafiltration. Amer. J. Hyg. **20**, 225 (1934).
 — — and SICKLES: Preparation of diphtheria toxoid. The action of formaldehyde. Precipitation by calcium. J. inf. Dis. **61**, 237 (1937).
- WALKER: One dose alum toxoid in diphtheria immunization. J. amer. med. Assoc. **1934**, 227.

- WATSON: Studies on the influence of diet on resistance to infection. *J. of Hyg.* **37**, 396, 420 (1937).
- WELLS, GRAHAM and HAVENS: Diphtheria toxoid precipitated with alum: Its preparation and advantages. *Amer. J. publ. Health* **22**, 648 (1932).
- WIECHOWSKI: Die Messung pharmakologischer Wirksamkeit am lebenden Tier. (Verh. 7. Tagg dtsch.-pharmak. Ges., 21.—23. Sept. 1927.) *Arch. f. exper. Path.* **128**, 135 (1928).
- WILLIAMS, DEAR and STEWART: Active immunization against diphtheria. Relative values of two methods as shown by subsequent SCHICK testing. *Brit. med. J.* **1936**, 1078.
- WINTON: The rat-poisoning substance in red squills. *J. of Pharmacol.* **31**, 123 (1927).
- WOHLFEIL: (1) Über Fermenthemmung und -förderung bakterieller Fermente im infizierten Tierkörper. *Zbl. Bakter. I Orig.* **139**, 417 (1937); **141**, 159 (1938).
- (2) Über Impfstoffe für die aktive Diphtherieschutzimpfung und Gesichtspunkte für ihre Anwendung. *Reichsgesdh.bl.* **1937**, 324.
- (3) Bakterielle Fermente und ihre Beziehungen zur Krankheitsentstehung und zum Krankheitsverlauf. *Klin. Wschr.* **1937 II**, 1369.
- WÜSTENBERG: (1) Vergleichende SCHICK-Untersuchungen vor und nach einer Diphtherieschutzimpfung. *Dtsch. med. Wschr.* **1936 II**, 1300.
- (2) Die aktive Diphtherie-Schutzimpfung in ihrer Bedeutung für die Bekämpfung der Diphtherie. *Med. Klin.* **1937 I**, 531.
- YOUREVITCH: Essai d'immunisation des lapins par voie buccale avec l'anatoxine diphthérique. *C. r. Soc. Biol. Paris* **119**, 516 (1935).
- ZAJDL: Weitere Untersuchungen über die Eindickung des Diphtherieanatoxins. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **17**, 346 (1933).
- u. JAKOBKIEWICZ: (1) Probleme der Konstitutionsserologie im Zusammenhang mit der physiologischen und erworbenen Immunität gegen Diphtheriegifte. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **19**, 258 (1935).
- — (2) L'influence de l'âge et des facteurs constitutionnels sur l'immunisation des enfants contre la diphtérie. *Rev. d'Hyg.* **58**, 427 (1936).
- u. MAYZNER: Einmalige ultrafiltrierbare Impfungen mit Diphtherieanatoxin nach Alaunzusatz. *Med. doświadc. i społ. (poln.)* **19**, 275 (1935).
- ZDRODOWSKI: Das moderne Problem der spezifischen Prophylaxe der Diphtherie und das Massenexperiment antidiphtherischer Impfungen in Leningrad. *Arch. biol. Nauk (russ.)* **35 A**, 123 (1934).
- u. HALAPINE: Études biologiques et immunologiques, sur la diphtérie. *Rev. d'Immunol.* **2**, 221 (1936).

II. Über bakterielle Absterbekurven¹.

Von

HANS SCHUBERT-Königsberg (Pr.)

Mit 4 Abbildungen.

Inhalt.

	Seite
I. Das Todesproblem	69
II. Die Absterbekurven, ihre Bedeutung und ihr Verlauf	70
III. Der bakterielle Absterbevorgang	71
1. Mathematische Grundlagen der monomolekularen Gleichung	71
2. Die physikalischen und chemischen Grundlagen der monomolekularen Kurven	74
3. Verläufe der Bakterientod als monomolekulare Reaktion?	74
4. Die langgestreckte S-Kurve; der Strahlentod	78
5. Die chemischen Abtötungsverfahren	83
6. Die thermische Abtötung und ihre Gleichungen	87
7. Die Frage der Nebenreaktionen und der Autokatalyse	91
8. Die Beziehungen zwischen Keimdichte und Abtötungszeit	94
9. Die neue Desinfektionsgleichung	99
10. Der Faktor n	107
IV. Die Acceptorenthese	122
V. Praktische Schlußfolgerungen	131
VI. Zusammenfassung	132
Literatur	132

I. Das Todesproblem.

Die Erhaltung der Art erfolgt in der Natur auf geschlechtlichem oder ungeschlechtlichem Wege. Während das mehrzellige Lebewesen mit steigender Differenzierung seiner Organe und Zellen immer mehr auf die geschlechtliche Fortpflanzung angewiesen ist, die schließlich in den höheren Klassen des Tierreichs die alleinige Fortpflanzungsmöglichkeit darstellt, finden wir beim Einzeller bevorzugt die ungeschlechtliche Vermehrung, die umgekehrt bei den einfachsten Lebewesen, z. B. Bakterien und den niederen Pilzen wenigstens nach unseren heutigen Kenntnissen allein für die Fortpflanzung in Betracht kommt.

So vollzieht sich der Ablauf des Lebens in jenem fortlaufenden Prozeß, den wir „Altern“ nennen, für den Vielzeller in einer Weise, die ihrem Wesen nach notwendig zu dem Stillstand der Lebensprozesse hinsteuert, ohne daß der Individualtod notwendige Beziehungen zum Fortpflanzungsakt hat. Der Einzeller bzw. alle mit ungeschlechtlicher Fortpflanzungsweise begabten Individuen kennen neben dieser Art des Lebensablaufes noch die Möglichkeit,

¹ Aus dem Hygienischen Institut der Albertus-Universität, Königsberg (Pr.) (Direktor: Professor Dr. BÜRGERs).

das Leben des Einzelindividuums durch direkten Übergang in das Leben zweier oder mehrerer neuer Individuen zu beenden, ein Verhalten, das von seiten des denkenden Vielzellers als „ewiges Leben“ und somit als tiefgreifender Unterschied gegenüber dem eigenen unentrinnbaren Schicksal empfunden wird.

Dieser Gegensatz ist schon in mannigfacher Weise dichterisch und philosophisch behandelt worden. Erst in neuester Zeit versucht man ihn zu überbrücken. Man sieht nun in der Geschlechtszelle des Vielzellers das „ewig“ unsterbliche Prinzip, das seine Existenz in ähnlicher Weise wie der Einzeller direkt von Generation zu Generation weiterträgt, wobei es belanglos ist, daß die „Hülle“, d. h. die das Individuum wesentlich charakterisierenden Merkmale dabei notwendig wechselt und zugrunde geht.

Um der Erhaltung der Art willen erzeugt die Natur immer neue Generationen von Individuen, die als solche von vornherein einfach durch die Tatsache, daß sie leben, zum Tode verurteilt sind.

Gegenüber diesem Gesetz verhält sich die Tierwelt der Natur gehorsamer als der Mensch, und der Kulturmensch beugt sich widerwilliger als der Primitive; es ist, als ob der Geburtenrückgang ein Protest des Individuums sei gegen das Gesetz der Natur, daß seine Existenz unwesentlich ist gegenüber dem Bestand der Art.

Gegenüber diesem Gesetz versagt unser Denken und Verstehen. Wenn nur die Existenz der Geschlechtszelle wesentlich ist, wofür dann dieser ganze komplizierte Apparat drumherum, der das Individuum bildet; hätte die Natur nicht auch Wege finden können, den Bestand der Geschlechtszelle auch ohne den Tod des Individuums sicherzustellen? Es versagt jede teleologische Erklärung, die ja immer in ihrer Selbstzufriedenheit das Erkennen mehr gehemmt als gefördert hat. Die Pyramidenzelle vermag eben, auch in ihrer höchsten Differenzierung, nicht die Unsterblichkeit zu begreifen, welche die erkenntnislose Geschlechtszelle auszeichnet und die ihr selbst versagt ist. Ihr Lebenshunger erzeugte so den Glauben fast aller Völker an ein Weiterleben des Individuums auch nach dem „Tode“. So ist es wohl kein Wunder, daß gerade diejenigen Völker am fruchtbarsten sind, deren Glaube, wie z. B. bei den Chinesen, nur in einer zahlreichen leiblichen Nachkommenschaft die zuverlässigste Sicherung der eigenen Existenz im Jenseits erblickt.

II. Die Absterbekurven, ihre Bedeutung und ihr Verlauf.

Sterben ist Gesetz für alles Leben. Der Arttod tritt ein, wenn die Art, der Individualtod tritt ein, wenn das Individuum nicht mehr jene Beschaffenheit hat, die das Weiterleben zu den gerade herrschenden Bedingungen der Umwelt ermöglicht. Tod kann also an sich durch entsprechende Veränderungen der Umwelt herbeigeführt werden.

Erfahrungsgemäß verändert sich jedoch das Individuum im Laufe der Zeit auch dann, wenn die Umweltbedingungen konstant bleiben. Diese Veränderung erfolgt fortlaufend und führt bis zur Erschöpfung der Lebensfähigkeit in einer Weise, die wir als „Altern“ bezeichnen. Maßstab des Alterns ist die höchstmögliche Lebensdauer der betreffenden Art von Lebewesen, die für die verschiedenen Gattungen zwischen Tagen und Stunden wie bei Insektenarten bis zu tausend Jahren und mehr schwankt. Diese Lebensdauer wird von den ein-

zelen Individuen der Art gemäß der Definition meist mehr oder weniger stark unterschritten, selten nur überschritten. Verfolgt man den Eintritt des Todes bei einer größeren Zahl von Individuen einer Population und trägt die Zahl der Überlebenden (oder auch der Gestorbenen) als Ordinate, die Zeit als Abszisse in ein Koordinatensystem ein, so erhält man die Absterbekurven. Diese Kurven gelten nie allgemein, sondern nur für die speziellen Bedingungen, unter denen die Population (vor und) während der Beobachtungszeit gestanden hat. Hieraus ergeben sich wichtige praktische Möglichkeiten zur Auswertung der Absterbekurven. Es erlaubt uns der Vergleich mehrerer unter bestimmten Bedingungen gewonnener Kurven oder Kurventeile Rückschlüsse, auf welche Weise die Lebensdauer einer Population verlängert oder verkürzt werden kann. Man verwendet diese Kenntnisse dazu, um z. B. Bakterienpopulationen durch Desinfektionsverfahren zu vernichten oder umgekehrt durch hygienische Maßnahmen das Leben von Menschenpopulationen zu verlängern.

Wie betont, lassen sich Absterbekurven stets nur aus der Übersicht über eine große Zahl von Individuen aufstellen; da die Kurven somit das Individuum als einen von vielen erfassen, kann man umgekehrt aus den Kurven Aussagen über das Schicksal eines Individuums auch nur in diesem Umfang, also als Vermutungs- bzw. Wahrscheinlichkeitsaussagen gewinnen.

Die Faktoren, welche den Verlauf der Absterbekurven beeinflussen, kann man sinngemäß in zwei Gruppen aufteilen: Endogen bedingt sind jene Faktoren, welche durch die biologischen Eigentümlichkeiten der betreffenden Tier- oder Pflanzenart gegeben sind, also z. B. Altersaufbau, Widerstandsfähigkeit u. a.; exogen sind die Charakteristika der schädigenden Einwirkung, also Art, Intensität und Dauer. Erst beide zusammen bedingen ein Kurvenbild, das nun für die gerade vorliegenden Verhältnisse spezifisch ist; so wird z. B. eine Menschenpopulation durch einen Krieg, der in erster Linie die männliche Jugend verbraucht, in anderer Weise dezimiert als durch eine Hungersnot, der zuerst die Schwächeren, also Kinder und Greise, erliegen, und wieder anders durch beide zusammen; umgekehrt wirkt ein und dieselbe Wärmeschädigung auf die eine Bakterienart langsam, auf die andere schnell ein. So trägt jeder Absterbevorgang besonders quantitative Merkmale, die in ihrer Gesamtheit wichtige Aussagen über die biologischen Eigentümlichkeiten der zu untersuchenden Tier- oder Pflanzenart gestatten. Hierbei ist es sehr auffällig, daß trotz der unendlichen Variabilität der quantitativen Merkmale rein qualitativ fast nur zwei Kurventypen unter den Absterbekurven in der Natur vorkommen. Das ist 1. die Kurve der monomolekularen Reaktion bzw. eine ihr ähnliche Kurve, 2. die langgestreckte S-förmige Kurve.

III. Der bakterielle Absterbevorgang.

1. Mathematische Grundlagen der monomolekularen Gleichung.

Im Gegensatz zu den mehrmolekularen Reaktionen trägt die monomolekulare Kurve ihren Namen daher, daß sie überall da auftritt, wenn bei einer chemischen Reaktion nur eine Molekülarart Träger der Umsetzung ist. Als Beispiele hierfür nennt REICHENBACH den Zerfall des Arsenwasserstoffs in Arsen und Wasserstoff, den Zerfall der radioaktiven Substanzen und die Inversion des Rohzuckers unter dem Einfluß einer Säure. Wie später noch dargelegt

werden wird, zeigen die Silberhalogene merkwürdigerweise wenigstens bei Verwendung als photographische Schicht ein völlig abweichendes Verhalten, obwohl das zunächst für den photochemischen Zerfall dieser relativ sehr einfachen Moleküle kaum erwartet werden kann. Dieses Beispiel mahnt von vornherein, in der Ablehnung von Absterbekurven als chemischer Prozesse auch dann vorsichtig zu sein, wenn sich diese einer Theorie nicht fügen wollen.

Betrachten wir den quantitativen Ablauf einer reinen monomolekularen Reaktion, so beobachten wir, daß in der Zeiteinheit stets ein gewisser, für die gegebenen Bedingungen charakteristischer Prozentsatz der jeweils noch vorhandenen Menge zerfällt. Sind z. B. anfänglich 100 Teile der reagierenden Molekülart vorhanden und beträgt der zerfallende Prozentsatz $\frac{1}{5}$, so sind nach Ablauf der 1. Zeiteinheit noch 80 Teile des Ausgangsstoffes vorhanden, nach der 2. noch 64, nach der 3. noch 51,2 Teile usw. In mathematischer Darstellung führt dies zu der Gleichung

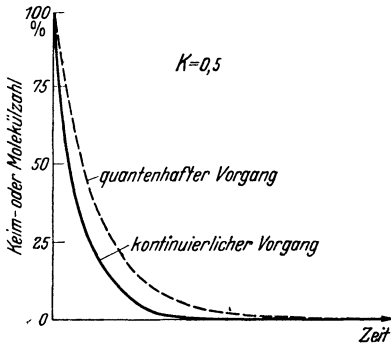


Abb. 1.

$$x = a \cdot e^{-kt}, \tag{1}$$

wobei a die Ausgangsmenge, x der zur Zeit t noch unveränderte („überlebende“) Teil derselben, und k einen für die Schnelligkeit des Prozesses charakteristischen Zahlenwert, die „Geschwindigkeitskonstante“, bedeutet. Letztere ist mathematisch darstellbar durch die Gleichung

$$\ln \frac{x}{a} = kt \quad k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{x}. \tag{2}$$

Der Kurvenverlauf wird dargestellt durch Abb. 1 (ausgezogene Linie).

Die Entstehung dieser Kurve sei an einem einfachen Beispiel abgeleitet. Ein Maler habe den Auftrag, eine durchsichtige Glasplatte zu schwärzen. Er verwendet hierfür eine Spritzpistole. Diese wirft die Deckfarbe in einzelnen Tröpfchen derart aus, daß in einer Sekunde jeweils $\frac{m}{n}$ der Flächeneinheit $\frac{n}{n}$ von Farbe bedeckt werden. So wird in der ersten Sekunde die Fläche $\frac{m}{n}$ geschwärzt. In der zweiten Sekunde wirft die Spritzpistole wieder eine Farbmenge aus, die zur Bedeckung eines Flächenteils $\frac{m}{n}$ ausreichen würde. Da aber ein Teil der Tropfen auf Flächenteile treffen wird, die schon in der ersten Sekunde geschwärzt wurden, so werden diese Tropfen keine Wirkung mehr ausüben können, sondern nur diejenigen Tropfen, die auf noch ungetroffene Stellen fallen, werden die geschwärzte Stelle vergrößern. So wird in der zweiten Sekunde nur der Flächenteil $2 \frac{m}{n} \left(\frac{n-m}{n} \right)$ neu geschwärzt werden. Fassen wir das Fortschreiten der Schwärzung im Laufe der Zeit in einer Tabelle zusammen, so ergibt sich

Zeit	1	2	3	4 usw.
Geschwärzte Fläche	$\frac{m}{n}$	$2 \frac{m}{n} \frac{n-m}{n}$	$3 \frac{m}{n} \cdot \left(\frac{n-m}{n} \right)^2$	$4 \frac{m}{n} \cdot \left(\frac{n-m}{n} \right)^3$
Ungeschwärzte Fläche . . .	$\frac{n-m}{n}$	$\left(\frac{n-m}{n} \right)^2$	$\left(\frac{n-m}{n} \right)^3$	$\left(\frac{n-m}{n} \right)^4$

Hieraus folgt allgemein, daß nach Ablauf der Zeit t der Flächenteil $t \cdot \frac{m}{n} \left(\frac{n-m}{n}\right)^{t-1}$ einmal getroffen ist, während die Fläche $\left(\frac{n-m}{n}\right)^t$ noch ungeschwärzt sein wird.

Dieser „überlebende“ Flächenteil und seine Abnahme mit der Zeit ist in der gestrichelten Kurve der Abb. 1 unter der Annahme $m/n = 1/2$ dargestellt.

Stellt man sich nun vor, die Schwärzung gehe nicht derart vor sich, daß in der Zeiteinheit immer nur eine bestimmte Menge Farbe auftreffe, sondern, daß ein ganz feiner Regen derart gleichmäßig herabkomme, daß auch in unendlich kleiner Zeit ein gewisser, wenn auch sehr kleiner Flächenteil getroffen werde, so läßt sich der ungeschwärzte Flächenteil x/n zur Zeit t darstellen durch die Gleichung der monomolekularen Reaktion

$$\frac{x}{n} = \frac{n}{n} \cdot e^{-\frac{m}{n} \cdot t},$$

d. h.

$$x = a e^{-kt}.$$

Aus dieser Ableitung wird ersichtlich, daß der Wert k der Gleichung (1) den Maßstab für eine gleichmäßige Einwirkung auf einen bestimmten Bruchteil des vorliegenden Körpers darstellt, die nur mit zunehmender Zeit immer weniger reaktionsfähigen Stoff vorfindet, so daß der meßbare Erfolg dementsprechend stets nur einen konstanten Prozentsatz der jeweils noch vorhandenen Menge des Ausgangsmaterials darstellt. Die veränderte Menge des Ausgangskörpers ist aber nicht mehr reaktionsfähig, so daß die Einwirkung auf das Reaktionsprodukt nicht meßbar ist.

Wie Abb. 1 zeigt, ist der Erfolg der Einwirkung größer, wenn sie in unendlich kleinen Zeiträumen gleichmäßig vorschreitet (ausgezogene Linie), als wenn sie diskontinuierlich pro Zeiteinheit in gleichmäßiger Stärke wirkt. Die Abweichung einer echten monomolekularen Kurve von der Form der Gleichung (1) wird also um so stärker sein, je mehr die Einwirkung in Form einzelner, zeitlich begrenzter Energieportionen abläuft. Tatsächlich beobachtet man diesen Vorgang bei intermittierender Belichtung photographischer Platten, als Intermitteffekt, worauf noch später zurückgekommen werden soll.

Soweit die Einwirkung diskontinuierlich vor sich geht, muß sie noch einen weiteren Erfolg zeitigen, Während bei der kontinuierlichen Einwirkung nach Gleichung (1)

$$x = a \cdot e^{-kt}$$

die Einwirkung k und ihre Dauer t den Prozeß gleichsinnig beeinflussen, da beide als Exponenten auftreten, ist in der Beschreibung des gleichen, diskontinuierlich gedachten Vorganges

$$\frac{x}{n} = \left(\frac{n-m}{n}\right)^t,$$

den wir in Anlehnung an Gleichung (1) auch

$$\frac{x}{a} = (1-k)^t \quad (3)$$

schreiben können, die Größe der Einwirkung k von geringerem Einfluß auf den Wert x/a , da sich der Wert dieser Exponentialfunktion durch Veränderung des Exponenten stärker verändert als durch gleich starke Veränderung der Basis. Diese Erscheinung bestätigt sich bei der photographischen Platte.

2. Die physikalischen und chemischen Grundlagen der monomolekularen Kurven.

Unsere heutigen Grundvorstellungen vom Wesen der Materie und der Energie sind atomistisch. Beide lassen sich zwanglos mit dem dargelegten Beispiel über das Wesen der monomolekularen Kurven in Einklang bringen, ohne daß noch viel hinzugefügt werden müßte. Nach der kinetischen Gastheorie herrscht in der Materie eine ungeordnete Bewegung der Moleküle, deren Geschwindigkeiten sich nach der MAXWELLSchen Kurve gruppieren. Die chemische Reaktion setzt mindestens den Zusammenstoß zweier verschiedener Moleküle (Atome, Ionen) voraus, um eine Veränderung der einen Molekülart zu erzielen, wobei sicher nicht jeder Zusammenstoß zu einer Reaktion führt, wie noch erörtert werden wird. Die Wahrscheinlichkeit der Zusammenstöße sinkt, je weniger Ausgangsmoleküle vorhanden sind. Ganz analog liegen die Verhältnisse bei der Strahlenwirkung, besonders einleuchtend in den Fällen der corpusculären Alpha- und Elektronenstrahlung, aber auch bei der Wellenstrahlung bei Zuergründung des modernen Quantenbegriffes.

So stellen alle jenen Fälle, in denen die Physik und die Chemie die Gleichung der monomolekularen Reaktion anwenden, in erweitertem Sinne Absterbevorgänge dar. So bei den vorhin genannten REICHENBACHSchen Beispielen, so beim Durchgang von Licht durch ein absorbierendes Medium und so in unzähligen anderen Fällen, die aufzuführen zu langwierig sein würde.

Wie jedoch schon am Beispiel der Silberhalogene gezeigt, gibt es darüber hinaus noch jene Fälle, wo die theoretisch erwartete monomolekulare Kurve keine empirische Bestätigung fand. Trotzdem beweisen die mathematischen Untersuchungen des vorhergehenden Abschnittes gerade die quantenhafte Natur der photographischen Schwärzung; dies geht daraus hervor; daß der Schwärzungsvorgang weit mehr die physikalischen Merkmale des diskontinuierlichen als des stetigen Verlaufs aufweist. Bei den echten monomolekularen Reaktionen sind diese Merkmale nicht in einem solchen Umfange ausgebildet, daß hierbei merkliche Unstimmigkeiten gegenüber der Gleichung (1) aufträten. Wahrscheinlich liegt das daran, daß Lichtquanten nach LENARD eine erhebliche größere räumliche Ausdehnung besitzen, mithin weit mehr als diese vom „Unendlichkleinen“ verschieden sind.

3. Verläuft der Bakterientod als monomolekulare Reaktion?

Nachdem KRÖNIG und PAUL zum erstenmal den bakteriellen Absterbevorgang quantitativ verfolgt hatten, haben MADSEN und NYMAN die Ergebnisse unter dieser Fragestellung ausgewertet und in diesen und eigenen Versuchen gute Übereinstimmung mit den monomolekularen Kurven gefunden. In der Folge haben dann CHICK, CHICK und MARTIN, ferner PAUL, BIRSTEIN und REUSS ähnliche Gedanken weiterentwickelt. Sehr bald aber entstand Widerspruch, insbesondere von REICHENBACH und REICHEL und ihren Schülern, ferner von EIJKMANN und HEWLETT. Die Einwände, die LANGE und später GÖBEL in Bestätigung der Monomolekulartheorie erhoben, wurden von REICHENBACH und von HÜCKEL angefochten. So kann man insbesondere unter der Ägide REICHELs in Deutschland immer mehr zur Ablehnung der Monomolekulartheorie. Im KOLLE-WASSERMANNSchen Handbuch der pathogenen Mikro-

organismen gibt REICHEL eine bis dahin erschöpfende Darstellung dieses Kampfes deren ausführliches Literaturverzeichnis auch dieser Arbeit zugrunde gelegt worden ist. Doch ist mit der Durchdringung der Biologie mit chemischen Vorstellungen die Frage auch späterhin weitergetragen worden, in besonders unterschiedener Form durch die Untersuchungen von LEE und GILBERT. Auf dem einseitig biologischen Standpunkt REICHENBACHS verharren nur noch wenige Autoren, wie LEMBKE, ferner SCHWIERING, während KNAYSI das Problem für noch unentschieden hält.

Ohne im folgenden die Stellungnahme der einzelnen Autoren und die gegebenen Deutungen zu berücksichtigen, sollen kurz die wesentlichsten Arbeiten angeführt werden, in denen eine wenigstens äußerliche Übereinstimmung der Absterbekurven mit dem Kurventypus der monomolekularen Reaktion behauptet bzw. zugegeben wird. Der typische Kurvenverlauf findet sich bei den verschiedensten chemischen bzw. physikalischen Abtötungsverfahren und bei den verschiedensten Mikroben. REICHENBACH beschreibt ihn an der gleichen Bakterienart für Sublimat- und Hitzewirkung, SCHWIERING für verschiedene Chemikalien, JETMAR und VILJOEN für Hitzewirkung. Für verschiedene chemische Desinfektionsmittel geben KNAYSI und sein Mitarbeiter GORDON einen wenigstens sehr ähnlichen Kurvenverlauf an. BARNETT COHEN beobachtet die Kurve unter Einwirkung verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen. Bei der oligodynamischen Silberwirkung findet HOFFMANN ebenfalls monomolekulare bzw. ähnliche Kurven. Für den Hitzetod der Phagen beschreibt NANAVUTTY ebenfalls einen der Monomolekularkurve ähnlichen Verlauf, während BAKER und NANAVUTTY die reine Monomolekularkurve für den Lichttod der Phagen beschreiben. Auch Kälte kann nach BREHME, PAUL und PRELL, COOPER bei Bakterien, nach TANNER und WILLIAMSON bei Hefen eine monomolekulare Absterbekurve erzeugen, die nach SCHEITZ bei Bodenbakterien auch unter annähernd natürlichen Bedingungen durch Ultraviolettwirkung zustande kommen kann. Für Lichtwirkung beschreiben sie HERTEL und WIENER, für Kathoden- und Röntgenstrahlen WYCKOFF. Bei Röntgenstrahlen deutet sie TRILLAT an; LEA, HAINES und COULSON stellen sie bei den α -, β - und γ -Strahlen des Radiums fest. Endlich geben WILLIAMS und GAINES entsprechende Werte bei Einwirkung von Ultraschallwellen. LLOYD, OSTROM und LINGER finden eine im wesentlichen monomolekulare Kurve bei Untersuchungen über die keimtötende Kraft der Nasenschleimhaut.

FALK und WINSLOW glauben gefundene Abweichungen vom reinen Kurventyp der monomolekularen Reaktion dadurch erklären zu können, daß sie parallel verlaufende höhermolekulare Reaktionen annehmen. SCHLESINGER findet, daß die Bindung der Bakteriophagen an das Bacterium als echte monomolekulare Reaktion abläuft. Die Auflösung des Bakterienleibes durch Bakteriophagen hingegen kann gar keine monomolekulare Reaktion sein, was NAKAMURA experimentell bestätigt.

Den scheinbar triftigsten Einwand gegen die Gültigkeit der Gleichung (1) für den Bakterientod liefert jedoch REICHEL, der den Absterbevorgang nicht durch die fortschreitende Verminderung der Keimzahl einer Population, sondern durch den Desinfektionsversuch mit Endzeiten beschreibt. Die bei geeigneter Methodik relativ genau arbeitende Versuchsanordnung besteht darin, daß man gleiche Mengen von Bakterien steigenden Konzentrationen bzw. Intensitäten des

betreffenden Agens aussetzt und nun in häufigen Entnahmen die Zeit bestimmt, in der die verschiedenen Einwirkungen den Tod aller Individuen herbeiführen.

Bestände der Bakterientod wirklich in einer echten monomolekularen Reaktion, so müßten bei dieser Versuchsanordnung die Zeit t und die Konzentration bzw. Intensität C einander umgekehrt proportional, das Produkt $C \cdot t$ also konstant sein. Jedoch gehorcht der Absterbevorgang diesem Gesetz tatsächlich nicht bzw. nur in den seltensten Fällen, ebensowenig wie das gleichlautende BUNSEN-ROSCOE-,Gesetz“ sich für die photographische Schwärzung als gültig erwies. Für letztere verwendet man heute mit guter Annäherung die SCHWARZSCHILDSche Schreibweise

$$C^p \cdot t = S,$$

wobei S die Schwärzung und p einen Wirkungsexponenten („SCHWARZSCHILDScher Faktor“) darstellt. p kann größer oder kleiner als eins sein; ist es gleich eins, so ist hierdurch das BUNSEN-ROSCOE-Gesetz ebenfalls formuliert. Eine sehr ähnliche Schreibweise

$$C^p \cdot t = \text{konst.} \quad (4)$$

wird nun erstaunlicherweise den bakteriellen Absterbevorgängen gerecht. Die Tatsache, daß für den Lichttod $p=1$ wird, stellt lediglich das Bindeglied für die Fälle dar, in denen p kleiner als eins (z. B. Sublimat — GEGENBAUER, Phenol — REICHEL) oder größer als eins (z. B. Wärmetod, s. unten) ist. Die Gleichung ist also tatsächlich unanfechtbar.

Weitere, heute noch erhobene Einwände gegen die Monomolekulartheorie leitete REICHENBACH aus folgenden Tatsachen ab. Wohl sei die monomolekulare Kurve als Absterbekurve häufig zu finden, aber es gebe Stämme und Zustände, bei denen die Abweichungen groß und regelmäßig seien; die monomolekulare Kurve könne daher nicht wohl ein Gesetz ausdrücken. REICHENBACH sieht daher die Annahme einer geometrischen Resistenzstaffelung als befriedigender an. Auch KNAYSI erhebt ähnliche Einwände, leitet jedoch aus seinen Ergebnissen einen Altersaufbau innerhalb einer Population ab, der etwa den MAXWELLSchen Verteilungskurven entspricht. Solche Deutungen werden jedoch dadurch empfindlich erschüttert, daß in einigen Arbeiten das Vorkommen verschiedener Absterbekurven bei der gleichen Bakterienart abgegeben wird. So beschreibt WIESNER im Blaulicht die monomolekularen oder wenigstens sehr ähnlichen Kurven, im integralen Weißlicht hingegen die langgezogene S-Kurve. Ähnlich findet WYKOFF bei *Bact. coli* für Röntgenstrahlen die monomolekularen Kurven, während seine Werte für Kathodenstrahlen weit besser durch die Formel der S-Kurve ausgedrückt werden. Die Erklärung mit der Annahme besonderer Resistenzgliederungen wird durch solche Beobachtungen erheblich zugunsten der rein chemischen Auffassung zurückgedrängt.

REICHENBACH erklärt die Monomolekulartheorie außerdem noch deshalb für unhaltbar, weil die Bakterien als gegenüber den Molekülen sehr große Körper alle der Einwirkung von gleich vielen Molekülen ausgesetzt seien und deshalb an sich die gleiche Lebens- bzw. Vernichtungschance haben müßten, so daß sie alle in praktisch gleicher Zeit absterben müßten. Da dies aber nicht der Fall sei, so könne der Absterbeprozess im wesentlichen nicht als chemischer, sondern müsse als biologischer Prozess bezeichnet werden, der eben wieder in einer verschiedenen Resistenz der Bakterien begründet sei. Die Absterbe-

ordnung sei somit ein direkter Ausdruck der Resistenzgliederung einer Population. Wenn die Desinfektionsdauer mit der Bakteriendichte ansteige, so rühre das daher, daß das Vorkommen resistenterer Formen mit steigender Dichte eben immer wahrscheinlicher werde. Dieser Standpunkt, der offenbar die gerade damals sehr ausgeprägte Meinung von der Eigengesetzlichkeit des Lebens in hohem Maße berücksichtigt, fand infolgedessen auch die ziemlich uneingeschränkte Annahme von seiten der Biologen, um so mehr, als das Problem nie von seiten der exakten Naturwissenschaften her kritisch beleuchtet wurde. Hierfür wäre an sich reichlich Veranlassung gewesen.

Zwar kann gegen den Begriff „Resistenz“, so unklar er vorläufig auch gefaßt sein mag, weniger eingewendet werden, als es der rein chemisch orientierte Biologe wünschen möchte. Denn anzunehmen, daß der Widerstand von Lebewesen gegen Abtötungsverfahren allein durch chemische Reaktionsfähigkeit bestimmter Moleküle oder Molekülgruppen diktiert würde, hieße die biologische Bedeutung der vielen funktionell post- oder koordinierten Organe oder Organellen, Membranen, Kapseln usw. in törichter Weise leugnen. Aber selbst bei aller Anerkennung dieser Gegebenheiten bietet sich keine andere Möglichkeit, das animalische bzw. vegetative Leben zu erklären, als es an bestimmte Moleküle oder schließlich auch Molekülgruppen, kurz, an stoffliche Einheiten gebunden zu denken. Die tödliche Wirkung jedes Abtötungsverfahrens beruht dann letzten Endes in der Zerstörung dieser Einheit. Jedoch war es aus zwei Gründen nutzlos, dieses Problem dadurch klären zu wollen, daß man das Vorliegen der monomolekularen Reaktion beim Absterbevorgang bestätigte oder ausschloß. Einmal deshalb, weil jede Population durch eine geeignete Versuchsanordnung zu einer monomolekularen Absterbekurve gezwungen werden kann. So stirbt eine Menschenmasse, die den Einwirkungen eines gleichmäßigen Geschosshagels ausgesetzt ist, ohne Rücksicht auf Alter und Geschlecht (Resistenz!) ebenfalls nach den Gesetzen der monomolekularen Reaktion. Zweitens kann auch dann ohne weiteres eine einzige Molekülart bzw. ein Molekülkomplex Träger der eigentlichen Reaktion sein, wenn auch die Reaktion nicht nach der Form der Gleichung (1) verläuft. War schon oben wiederholt auf das Beispiel der Silberhalogene hingewiesen, so seien hier noch katalytische, fermentative oder autokatalytische Prozesse genannt, deren chemische Kinetik erheblich von der Gleichung der monomolekularen Reaktion abweicht, obwohl dabei die Reaktion im wesentlichen an einer Molekülart abläuft. So sind die bisherigen Untersuchungen für die Entscheidung dieser wichtigen und interessanten Frage eigentlich zu spekulativ bzw. zu wenig kritisch.

Auch REICHENBACH'S Einwand, daß die große Bakterienmasse gegenüber der Unzahl reaktionsfähiger Moleküle eine gleiche Vernichtungschance herbeiführe, hält einer Kritik nicht stand. Es gibt eine ganze Reihe von Abtötungsverfahren, die den Bakterienleib, also die große Masse der Moleküle nicht bzw. nicht sichtbar verändern. Insbesondere wissen wir durch die Untersuchungen z. B. von WYCKOFF, daß die Leben-Tod-Alternative gegenüber Kathodenstrahlen auf einen kleinen Bruchteil des Bakterienvolumens beschränkt ist; nichts zwingt dazu, die Zahl der lebenstragenden Einheiten, der „Acceptoren“¹,

¹ Ehrlich verwendet für eine ähnliche Vorstellung die Bezeichnung „Receptor“. Um Verwechslungen mit den vielen Bedeutungen dieses Wortes in der Bakteriologie und Sero-logie zu vermeiden, wurde der Kurzname „Acceptor“ eingeführt.

wie sie im folgenden genannt werden sollen, a priori so groß anzunehmen, daß dadurch die Gesetze des Zufalls aufgehoben werden müßten.

Wenn wir Beweise für die chemische Natur des Absterbevorganges suchen, so ist also zu prüfen, inwieweit die bekannten Tatsachen sich dieser Vorstellung einordnen lassen; so soll zunächst die Natur der langgestreckten S-Kurve untersucht, dann die Temperaturabhängigkeit des Absterbevorganges geprüft werden. Ein weiteres Kapitel wird die rein thermischen Absterbevorgänge behandeln; endlich soll über die Abweichungen vom reinen Kurventyp gesprochen werden.

4. Die langgestreckte S-Kurve; der Strahlentod.

Wie das Beispiel der photochemischen Reduktion der Silberhalogene zeigt, ist die Existenz der Wendepunktskurven kein brauchbarer Gegenbeweis gegen die Annahme einer im weiteren Sinne monomolekularen Reaktion.

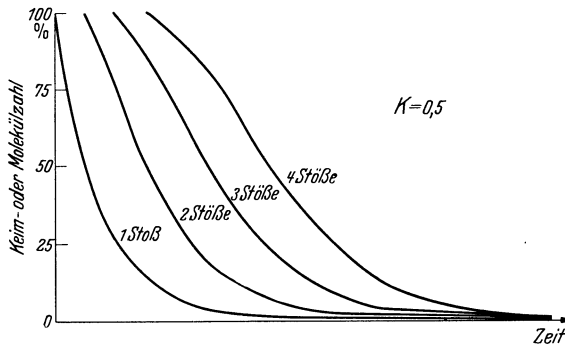


Abb. 2.

Mißt man die Zunahme der photographischen Schwärzung bei Anstieg der Lichtmenge, so erhält man folgenden Kurventyp. Bei der Lichtmenge Null ist die Schwärzung nie genau gleich Null, da immer einige wenige Silberkörner entstehen. An dieser minimalen Schwärzung ändert sich nichts, wenn

wir eine sehr kleine Lichtmenge einfallen lassen. Erst bei Erhöhung der Lichtmenge auf einen (für Plattenart bzw. Emulsionsnummer charakteristischen) bestimmten Wert beginnt die Ausgangsschwärzung stärker zu werden, aber nicht proportional der Lichtmenge, sondern als komplizierte Funktion derselben. Dieses Gebiet der „Schwellenschwärzung“ geht dann über in den Bereich der mittleren Schwärzung, in dem die Schwärzung mehr gradlinig fortschreitet. Ist dann der größte Teil der Silberhalogene reduziert, so strebt die Kurve mit immer flacher werdendem Verlauf der Sättigungsschwärzung zu; sind alle vorhandenen Moleküle reduziert, so läuft die Kurve der Abszisse parallel; denn eine weitere Steigerung der Lichtmenge kann nun natürlich die Schwärzung nicht mehr verstärken. Die Kurve ganz rechts auf Abb. 2 gibt den Verlauf der Schwärzungskurve, 180° um die Abszisse geklappt, im Typus wieder.

Die Tatsache, daß die photographische Schwärzung anfänglich trotz Steigerung der Lichtmenge nicht merklich zunimmt, wird als Trägheit-Inertia der Platte bezeichnet, der Maßstab hierfür sind z. B. die SCHEINER-Grade.

Im Gebiet der mittleren Schwärzung gilt, wie bereits betont, die (hier modifizierte) SCHWARZSCHILDsche Gleichung

$$c^p \cdot t = \text{konst.} \quad (4)$$

Je stärker die Schwärzung in Abhängigkeit von der Lichtmenge zunimmt, desto steiler ist die Schwärzungskurve, desto „härter“ arbeitet die Platte.

Die Gleichung kann so verdeutscht werden, daß bei ein und derselben Platte durch eine bestimmte Lichtmenge ganz verschiedene Schwärzungsgrade erzielt

werden können, je nachdem, ob eine große Intensität kurze Zeit oder eine kleine Intensität entsprechend längere Zeit einwirkt. Wenn wir also eine Schwärzungskurve dadurch gewinnen, daß wir die Intensität anwachsen lassen, während wir die Zeit konstant halten, so verläuft die so gewonnene Kurve steiler „härter“ als beim umgekehrten Vorgehen. Die Zahl der „Überlebenden“ ist also im ersten Fall geringer als im zweiten, ein und dieselbe Lichtmenge kann also zu quantitativ ganz verschiedenen Ergebnissen führen.

Dieses scheinbar paradoxe Ergebnis wird unterstrichen durch eine weitere Merkwürdigkeit, den Intermittenzeffekt. Die photographische Platte liefert eine größere Schwärzung, wenn die Belichtung ununterbrochen, als wenn sie intermittierend erfolgt, selbst wenn die Summe der einzelnen Belichtungsstöße der ununterbrochenen Belichtung zeitlich adäquat gewählt wird. Erst wenn die Frequenz des Lichtwechsels sehr groß wird, unterscheiden sich die kontinuierlich bzw. intermittierend erzielte Schwärzung bei gleicher wahrer Belichtungszeit nicht mehr.

Dieser Intermittenzeffekt ist schon bei Ableitung von Gleichung (1) als notwendig für den diskontinuierlichen Prozeß bezeichnet worden. Um den vollständigen Anschluß an das früher Gesagte herzustellen, soll zunächst das damalige Beispiel weiterentwickelt werden.

Der Maler schwärze die Glasplatte in der früher besprochenen Weise. Nur verwendet er statt der Deckfarbe eine Farbe, die erst nach mindestens k -maligem Auftreffen Schwärzung hervorruft, während jeder noch nicht k -mal getroffene Flächenteil als ungeschwärzt gelten soll.

Unter Beibehaltung aller oben (S. 72 u. 73) angewandten Vorstellungen und Bezeichnungen ergibt sich zunächst, daß die Schwärzung überhaupt erst eintreten kann, wenn eine Stelle k -mal getroffen ist. Da aber die Spritzpistole in der Zeiteinheit nur eine Tröpfchenschar auswirft, so kann frühestens nach der Zeit $t = k$ die erste Schwärzung sichtbar werden. Hiermit ist also bereits die Inertia der Platte erklärbar. Zur Zeit t ist in dieser Vorstellung der bereits k -mal getroffene Flächenteil $\frac{x}{n} k$ ausdrückbar durch die Formel

$$\frac{x}{n} k = t \cdot (t-1) (t-2) \dots (t-k+1) \frac{1}{k!} \left(\frac{m}{n}\right)^k \cdot \left(\frac{n-m}{n}\right)^{t-k} = A \quad (6)$$

Somit berechnet sich allgemein der zur Zeit t bereits geschwärzte, d. h. mindestens k -mal oder öfter getroffene Flächenteil.

$$\frac{x}{n} = \sum_{k=i}^{k=t} A, \quad (7)$$

wobei i die zur Schwärzung erforderliche Mindestzahl von Treffern bedeutet.

Umgekehrt errechnet sich der noch nicht getroffene Flächenteil

$$\frac{y}{n} = \sum_{k=0}^{k=i-1} A \quad (8)$$

In Abb. 2 ist eine solche Kurvenschar der Überlebenden dargestellt unter der Voraussetzung, daß in jeder Zeiteinheit 50% der vorhandenen Flächenelemente getroffen werden. Wenn man weiter annimmt, daß zur Schwärzung des Flächenteils bzw. zur Zerstörung der Moleküle nur ein einziger Treffer ausreicht, so erhält man die Monomolekularkurve, wie sie bereits in Abb. 2 gegeben wurde (Abb. 2,

ganz links). Für die zweite Kurve wurden zwei Treffer zugrunde gelegt; das Kurvenbild ist noch wenig geändert, nur tritt bereits die Inertia der Reaktion in Erscheinung. Die Dreitrefferkurve besitzt bereits einen Wendepunkt, der sich bei der Viertrefferkurve noch deutlicher ausdrückt.

Diese ausgesprochenen Wendepunktskurven, insbesondere noch höherer Ordnung, ändern ihr äußerliches Aussehen (außer einem Steilerwerden) nicht sehr wesentlich, wenn man die Abszisse nicht wie in der Darstellung der Abb. 2 numerisch, sondern logarithmisch einteilt. Inhaltlich decken sie sich dann jedoch mit den Schwärzungskurven, wie man sie z. B. bei Auswertung von Platten mit dem selbstregistrierenden Photometer aufstellt. Die Erklärung der Schwärzungskurve auf der dargelegten Basis erscheint somit gerechtfertigt.

Auch der steilere Anstieg der „Intensitätskurven“, d. h. Kurven mit Variation der Intensität gegenüber den „Zeitkurven“ (Kurven mit Variation der Belichtungszeit) wird durch Gleichung (7) wiedergegeben. Er kommt dadurch zustande, daß die für die Intensität der Einwirkung maßgebliche Größe m/n mehrfach als Basis, die Zeit t der Einwirkung nur einmal als Exponent auftritt. Hierdurch wirkt sich eine Änderung der Intensität nachdrücklicher aus als eine Zeitänderung.

Diese Beziehung bleibt jedoch nur solange erhalten, als man den Prozeß als quantenhaft diskontinuierlich auffaßt. Geht man jedoch zu der Annahme über, daß die Einwirkung in unendlich kleinen Zeiträumen fortschreitet, so verwischen sich diese Unterschiede, weil dann Dauer und Intensität der Einwirkung wie in Gleichung (1) als gleichwertige Exponenten einer e -Funktion auftreten. Hierfür schreibt POISSON:

$$\frac{x}{n} = \frac{1}{r} \cdot k t^r \cdot e^{-k t} \quad (9)$$

wobei x/n den Prozentsatz der Überlebenden, k die Stärke und t die Dauer der Einwirkung und endlich r die notwendige Trefferzahl bedeuten.

Auch der Intermittenzeffekt läßt sich bei Annahme eines diskontinuierlichen Prozesses aus Gleichung (7) ableiten. Es zeigt sich ferner, daß mit Verkürzung der Belichtungsstöße die Schwärzung rascher ansteigen muß, wie ja auch tatsächlich der Intermittenzeffekt in der Natur mit steigender Frequenz immer kleiner wird und schließlich ganz verschwindet.

Aus allem folgt, daß die photochemische Reaktion einer bestimmten Molekularart wohl in Form der langgestreckten S-Kurve verlaufen kann, aber nicht verlaufen muß. Die reine „monomolekulare“ Kurve ist für die verschiedensten Strahlenarten von HERTEL, WIESNER, TRILLAT, WYCKOFF, ferner von LEA, HAINES und COULSON angegeben worden. Die langgestreckte S-Kurve gibt WIESNER an. WYCKOFF gibt für die Wirkung von Kathodenstrahlen Werte an, die unter Zugrundelegung eines größeren Bakterienvolumens, als er ansetzte, eine weit bessere Übereinstimmung mit der Zweitrefferkurve als mit der von ihm angenommenen Eintrefferkurve geben. Diese Korrektur wird vor allen Dingen durch die Arbeit von BAKER und NANAVUTTY gerechtfertigt, die für *Bact. coli* unter der Einwirkung von Ultraviolett eine ausgeprägte Mehrstoßkurve angeben. Für den Hitzetod von Bakterien und Sporen geben EIJKMANN und WILLIAMS Wendepunktskurven an, die allerdings schwer deutbar bleiben. Verständlicher erscheint es, daß nach LIN und NAKAMURA ähnliche Kurven bei der bakteriophagen Lyse vorkommen. Bei den chemischen Abtötungsverfahren

sind S-förmige Kurven nicht bekanntgeworden, wenn man nicht etwas gezwungen die Arbeit von FALK und WINSLOW entsprechend umdeuten will. Diese Autoren behaupten, daß die chemische Desinfektion (in NaCl und CaCl₂) Kurven erzeugen, die wohl in allgemeinen monomolekular, in einzelnen Teilen aber bi-, tri- oder höhermolekular sein können. Die Frage, ob die Lichteinwirkung beim Bakterientod ähnlich wie bei den Silberhalogenen ihren diskontinuierlichen Charakter manifestiere, findet sich in der Literatur in Untersuchungen über die Gültigkeit des „Abstandsgesetzes“. Hierbei wurden die verschiedenen Lichtmengen dadurch erzeugt, daß man bei konstanter Belichtungszeit den Abstand der zu tödenden Kultur von der Lichtquelle variierte. Der so erzeugte Effekt wurde verglichen mit dem Absterbeerfolg bei konstantem Abstand und variabler Zeit; verlief der Abtötungsvorgang hier langsamer, so war das SCHWARZSCHILDSche Gesetz in unserer Schreibweise $C^p \cdot t = \text{konst.}$ erfüllt. Solche Beziehungen müssen an sich in gleicher Weise bei der Ein- wie bei der Mehrtrefferkurve gelten, sofern es sich nur um eine quantenhafte Reaktion handelt. Tatsächlich behauptet WIESNER solche Beziehungen für das sichtbare Licht, ferner GATES und HENRI und CERNOVODEANU für Ultraviolettlicht. Alle anderen Autoren plädieren jedoch für die Gültigkeit des BUNSEN-ROSCOE-Gesetzes $C \cdot t = \text{konst.}$, also für die biologische Gleichwertigkeit von Intensität und Zeit. Allerdings findet sich hierunter keine Arbeit im Gebiet des Sichtbaren, in dessen Bereich das SCHWARZSCHILDSche Gesetz zu den stärksten Differenzen zwischen Intensitäts- und Zeitkurven führen müßte. So beziehen sich die Arbeiten von BACHEM und DUSHKIN, BUCHHOLZ und JENEY, EHRISMANN und NOETHLING, LANGE u. a. alle auf Ultraviolett verschiedener Wellenlänge. HERTEL wie auch COBLENTZ und FULTON erheben ganz abweichende Befunde, indem sie, ebenfalls im Ultravioletten, gar einen SCHWARZSCHILDSchen Faktor (in unserer Schreibweise) $p < 1$, d. h. ein relatives Überwiegen des Zeiteinflusses finden. Entsprechendes wird zwar auch gelegentlich in der Photographie behauptet, scheint aber sehr problematisch. Ähnlich verhält es sich mit den spärlichen Angaben über den Intermitteffekt. Während WIESNER in sichtbarem Gebiet mit Lichtwechselfrequenzen arbeitet, die viel zu hoch sind, um einen merklichen Effekt erwarten zu lassen, experimentierten LEA, HAINES und COULSON mit α - und β -Strahlen, deren Natur als Corpuscularstrahlung an sich schon viel zu sehr intermittent ist, um durch weitere Überlagerung von Intermittenzen eine Steigerung des Effektes zu erreichen. Demzufolge sind auch die Ergebnisse negativ. KLÖVEKORN und GÄRTNER unterbrechen die Belichtungszeit einmal, wobei keine Unterschiede gegenüber der ununterbrochen (mit Röntgenstrahlen) belichteten Kontrolle auftreten. PIRAS endlich findet im Ultravioletten eine Steigerung der tödlichen Wirkung durch Intermitteffekt. Daß aber in Wirklichkeit im Bakterienleib durch die Strahlenwirkung eigentümliche, schwer erklärbare Vorgänge ausgelöst werden, zeigen HOLWECK und LACASSAGNE in einer Versuchsanordnung, die an sich nichts mehr mit Intermitteffekt zu tun hat. Kulturen, die einer weichen Röntgendosis kurze Zeit ausgesetzt waren, erweisen sich am nächsten Tag gegenüber der gleichen Noxe erheblich resistenter. Ähnliche Ergebnisse hat bereits BIE beobachtet.

Wie man sieht, sind die Ergebnisse keineswegs einheitlich. Bei der zu erwartenden Kleinheit des Effektes und der Größe der Fehlerbreite ist hieraus jedoch kaum eine Handhabe gegen die Theorie ableitbar.

Trotzdem erweist sich die aus der Summe der Arbeiten erkennbare Grundlinie als haltbar, wenn man die Temperaturabhängigkeit der biologischen Strahlenwirkung berücksichtigt. Seit FINSSENS, STREBELS und BRES Untersuchungen ist der Temperatureinfluß in allen einschlägigen Arbeiten hervorgehoben worden. Quantitative Angaben bei Bakterien liefert KORB, der eine Erhöhung der Röntgenstrahlenwirkung um 40% bei Temperaturerhöhung bei Coli- und Tuberkelbakterien findet; PAULI und SULGER beobachten, ebenfalls mit Röntgenstrahlen, an *Pyocyanus* eine Wirkungssteigerung, wenn die Temperatur von 37° auf 41° stieg. Nicht ganz so stark war die Wirkung der Temperaturerhöhung bei Staphylokokken. THIELE und WOLF finden gefiltertes Kohlebogenlicht erst bei 40° C bactericid.

Die Wirkungssteigerung in ihrem ganzen Umfang als Funktion eines chemischen Temperaturkoeffizienten zu deuten, verbietet der Mangel an Analogie, wenn auch Ähnliches in geringem Umfange mitspielen mag. Jedoch mag HERČIKS These die Basis einer Erklärungsmöglichkeit liefern. Er erklärt die bactericide Wirkung von α -Strahlen derart, daß sich die kinetische Energie in eine Steigerung der intermolekularen Energie umwandle und so durch intracelluläre Temperatursteigerung den Tod herbeiführe. Ähnliche Vorstellungen entwickelten PASSOW und RIMPAU für die Ultraviolettwirkung. Jedoch nicht nur durch eine Erhöhung der Intermolekularbewegung, sondern zusätzlich durch Erhöhung der BROWNSchen Molekularbewegung des ganzen Bacteriums und schließlich gegebenenfalls noch durch eine lebhafte Eigenbewegung wird eine starke Bewegung des strahlenempfindlichen Acceptors herbeigeführt. Hierdurch bestreicht der Acceptor in der Zeiteinheit eine größere Fläche, als sie durch seine räumlichen Verhältnisse in Ruhe gegeben ist. Dadurch erhöht sich die Trefferchance in der Zeiteinheit um ein Entsprechendes. Wird einerseits durch diese Vorstellung der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenwirkung geklärt, so kann man in der gleichen These auch den Schlüssel für die Abweichung von der SCHWARZSCHILDSchen Gleichung finden. Denn die Bewegung des Acceptors führt naturgemäß dazu, daß er, wie schon gesagt, in der Zeiteinheit häufiger getroffen wird als es der durch Gleichung (7) ausgedrückten Wahrscheinlichkeit entspricht; es beginnt der Einfluß der zeitlichen Quantendichte zuungunsten der räumlichen Quantendichte zu überwiegen. Hierdurch nähert sich der SCHWARZSCHILDSche Faktor dem Wert eins und kann ihn gelegentlich vielleicht sogar (in unserer Schreibweise) unterschreiten. Ähnlich können auch die (unsicheren) Abweichungen vom Intermittenzeffekt eine Deutung finden. Auch ist die von EHRISMANN und NÖETHLING behauptete Keimvermehrung während längerer Bestrahlung für den Kurvenverlauf mindestens theoretisch nicht gleichgültig.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Existenz von Wendepunkts-Absterbekurven nicht als Ausdruck eines biologischen Eigenchemismus gedeutet werden braucht. Der Ablauf der Abtötung unter Strahlenwirkung verläuft nicht grundsätzlich anders als die photochemischen Reaktionen der anorganischen Chemie, wenn auch die Eintrefferkurve häufiger vorliegt. Der quantenhaft diskontinuierliche Charakter der Strahlenwirkung wird durch die thermische bzw. passive Beweglichkeit der strahlenempfindlichen Acceptoren teilweise verwischt.

Trotzdem ist mit unseren heutigen Kenntnissen der Photochemie großer Moleküle keine theoretische Vorstellung ableitbar, inwieweit Änderung der

Lichtwellenlänge, d. h. der Quantengröße die Abtötungszeit beeinflusst. Empirisch ermittelte HERTEL die Gleichung

$$R_{\lambda} = \left(\frac{R}{207}\right)^{11,37},$$

d. h., die spezifische Wellenlängenresistenz ist etwa der 11. Potenz der Verhältnisse der einwirkenden Wellenlänge zu einer Bezugswellenlänge proportional. Dabei erstreckte sich die Untersuchung über einen großen Spektralbereich von Grün bis zum kurzwelligeren Ultraviolett. Wesentlich klarer ist die von GATES getroffene Feststellung, daß die absorbierte, also den Tod herbeiführende Energiemenge für alle Wellenlängen konstant sei. Solche stetigen Funktionen sind an sich nur da zu erwarten, wo das Molekül keine besondere selektive Absorption gegenüber bestimmten Wellenlängen besitzt. Daß eine solche selektive Absorption nicht zu bestehen scheint, wird in neuerer Zeit durch die Untersuchungen von BUCHHOLZ und JENEY, ferner von LIECHTI und FEISTMANN, an verschiedenen Bakterien bestätigt. Indessen beobachten EHRISMANN und NOETHLING einen Knick der Empfindlichkeitskurve bei 270—280 $\mu\mu$.

Bei Röntgenstrahlen wirkt die längere Welle stärker als die kürzere, wie KORB, ferner SCHEPMANN und FLECKE behaupten. Jedoch gibt TRILLAT das Gegenteil an.

Die Sensibilisierung mit Farbstoffen beeinflusst die Wellenlängenempfindlichkeit im Bereich der Lichtwellen stark. Hierüber liefert SARTORIUS eingehende Untersuchungen. Einer theoretisch-quantitativen Betrachtung ist auch dieser Punkt heute noch nicht zugänglich.

Freilich wäre es verfehlt, nun alle Wendepunktskurven als Mehrtrefferkurven deuten zu wollen. Insbesondere scheint der früher oft zitierte Senssamensversuch von HEWLETT, der eine deutliche S-Kurve bei Einwirkung von HgCl_2 fand, besser durch die REICHENBACHSche Annahme einer dem Fehlergesetz folgenden Resistenzverteilung erklärt zu werden. Ferner erscheint es abwegig, die leicht S-förmigen Absterbekurven junger Bakterienkulturen als Mehrtrefferkurve zu deuten, wenn die ältere Kultur der gleichen Bakterienart gegenüber dem gleichen Agens die typische Eintrefferkurve aufweist. Eine solche Annahme würde zu der schwer verständlichen Folgerung führen, daß der Acceptor des jungen Bacteriums andere Reaktionseigenschaften und somit eine andere chemische Beschaffenheit besitze als der des älteren.

5. Die chemischen Abtötungsverfahren.

In den chemischen Desinfektionsversuchen mit Endzeiten hat sich die Gleichung

$$C^p \cdot t = \text{konst.} \quad (4)$$

immer wieder als gültig erwiesen. Dabei pendelt der Wert von p je nach der Art der Bakterien und der Art des Desinfektionsmittels zwischen 0,5 und 2. Wenn $p=1$ wird, d. h., wenn Stärke und Dauer der Einwirkung im einfach reziproken Verhältnis stehen, so ist die Erklärung einfach: Je stärker die Schädigung, desto schneller der Tod. Wird jedoch $p > 1$, so besagt das im wesentlichen, daß beispielsweise bei Verdoppelung der Stärke des Agens der Tod nicht mehr in der halben Zeit, sondern schneller, in einem Drittel, Viertel oder Zehntel, jedenfalls in einem durch die Größe von p bedingten Bruchteil der sonst nötigen

Zeit eintritt. Der umgekehrte Fall $p < 1$ drückt entsprechend eine relative Verlangsamung der Reaktion aus.

Diese Gleichung kann nun nicht nur für die Absterbevorgänge der Einzeller angewandt werden, sondern hat bereits heute auch für den Vielzeller und bei den heterogensten biologischen Vorgängen Gültigkeit. Bereits LEHMANN und später LAZAREW benutzen sie für die Darstellung von Giftwirkungen. PRIGGE drückt in neuester Zeit auch die Antitoxinwirkung durch sie aus. REICHEL erweitert in seiner Phenolgleichung die Schreibweise durch ein Korrektionsglied, das die stets unwirksame Konzentration C_0 mitberücksichtigt: Er schreibt also $(C - c_0)^p \cdot t = \text{konst.}$ Eine weitere Ergänzung gab späterhin LUSZCZAK durch einen Summanden t_0 , der die auch bei stärkster Schädigung stets notwendige Latenz- oder Inkubationszeit erfaßt, seine Gleichung in etwas vereinfachter Darstellung lautet infolgedessen $(C - c_0)^p \cdot (t - t_0) = \text{konst.}$; sie stellt die bisher wohl allgemeinste Formulierung der Giftwirkungen dar. Endlich geben KOLLE und HETSCH die Schlangengiftwirkung in einer Kurve wieder, die sich genau durch die LUSZCZAKSche Formel ausdrücken läßt. GROS und STADLER und KLEEMANN stellen die hämolytische Wirkung durch Gleichung (4) dar. Auch für Agglutinationsvorgänge wurde sie mit Erfolg angewandt.

Für bakterielle Absterbevorgänge ist die Gleichung von vielen Autoren verwendet worden. Abgesehen von abweichenden Schreibweisen, wie z. B. HARIETTE CHICK gab, haben zuerst IKEDA und OSTWALD diese Gleichung benutzt. GREGERSEN gab für die wäßrigen Lösungen von Salzsäure, Sublimat, Jodkalium und Formaldehyd $p = 1$ an; für Phenol, Thymol und Chloralhydrat fand er $p = 4$. RICHET und LE BER stellten eine entsprechende Gleichung für H_2O_2 auf. RIEGER und TRAUNER gaben für den gleichen Körper $p = 1$ (REICHEL $p = 0,56$) an, GEGENBAUER beobachtet an Staphylokokken, die er erst mit Sublimat und dann mit Sulfiden behandelte, $p = 0,50$. REICHEL findet Phenol unterhalb 0,5% überhaupt unwirksam. Die Salzsäurewirkung wird von PAUL, BIRSTEIN und REUSS, sowie von GEGENBAUER und REICHEL ebenfalls als Exponentialfunktion geschrieben. PHELPS drückt allgemein die Säurewirkung so aus.

In neuerer Zeit gibt FUST für Colpidien die Werte (s. folgende Tabelle).

p_H	Abtötungszeit		
	beobachtet Sek.	berechnet	Bemerkungen
3,3	30—90	72	—
3,49	90—120	96	—
3,65	120	120	Bezugspunkt
3,83	120—180	157	—
4,06	216—240	220	—

Beispielsweise ergibt sich hieraus die Gleichung

$$10^{-0,64 p_H} \cdot t = \text{konst.},$$

aus der die berechneten Werte gewonnen wurden. Nach LEVINE, PETERSON und BUCHANAN scheinen ähnliche Beziehungen auch für die OH-Ionen zu gelten.

Die obige Zusammenstellung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sie soll nur darauf hinweisen, daß die Gültigkeit der Gleichung (4) von vielen Seiten erhärtet ist. Gleichzeitig erhellt bereits, daß über die Größe des Exponenten eine Übereinstimmung, selbst nur bis zur guten Annäherung nicht zu erzielen ist. So kann z. B. Wasserstoffsperoxyd sowohl eine beschleunigte (RIEGER und TRAUNER) als auch eine gehemmte (REICHEL) Reaktion auslösen oder auch Sublimat eine gehemmte

(GEGENBAUER) oder einfach monomolekulare (GREGERSEN) Reaktion herbeiführen.

Das Hauptinteresse der vorliegenden Arbeit liegt jedoch gar nicht so sehr darin, den Chemismus der Absterbereaktion im einzelnen zu klären. Angesichts unserer heutigen Kenntnisse dürfte ein solcher Versuch auch vom modernsten Kolloidchemiker als hoffnungslos bezeichnet werden. Zunächst soll nur geprüft werden, ob überhaupt dem unter konstanten Bedingungen ablaufenden Absterbevorgang ein heute formulierbares Gesetz zugrunde liegt. Erst wenn alle Ergebnisse eindeutig ein solches Gesetz erkennen lassen, kann man weiter prüfen, wodurch die Schwankungen der Versuchskonstanten (hier also von p) bedingt sind. Das formulierbare Absterbe-gesetz beweist dann die physikalisch-chemische Natur des Absterbevorganges, die Schwankungen der „Konstanten“ drücken dann lediglich die biologische Variationsmöglichkeit (d. i. letzten Endes aber wiederum chemische Veränderung) der Objekte aus. Über die Konstanten dieser Gleichungen gilt also sinngemäß das gleiche, was MARTINI in anderem Zusammenhang über biologische Konstanten geäußert hat. Es soll deshalb hier auch darauf verzichtet werden, an Hand eines Literaturüberblicks zu prüfen, inwieweit rein qualitative Variationen der Noxe den Absterbevorgang quantitativ beeinflussen, wenn auch die ungeheure theoretische und praktische Bedeutung solcher Untersuchungen voll anerkannt werden muß.

Die allgemeine Erklärung der Gleichung (4) muß versuchen, von ihrem Sinn auszugehen. Für die verschiedenen Werte von p scheint die Gleichung, wie bereits gesagt, eine beschleunigte ($p > 1$), verzögerte ($p < 1$) oder mit gleichförmiger Geschwindigkeit verlaufende Reaktion auszudrücken, namentlich wenn man die Schreibweise

$$C \cdot t^{\frac{1}{p}} = \text{konst.} \cdot \frac{1}{p}$$

wählt, die mathematisch völlig gleichwertig ist. Die Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit kann bedingt sein durch einen besonderen Bereitschafts- oder umgekehrt Trägheitszustand, also durch eine von der Zeit unabhängige Größe, oder durch einen beschleunigenden oder hemmenden Prozeß. Im zweiten Fall müßte sich jedoch die Kurve der monomolekularen Reaktion bis zur Unkenntlichkeit verändern, selbst wenn es sich um die Reaktion einer Molekülart, z. B. Autokatalyse, handeln sollte.

Eine Erklärung, welche die Ursachen der Geschwindigkeitsänderung als zeitunabhängig darstellen würde, liefert der HENRYSCHE Verteilungssatz. Ihn beschreiben BÜRGI und LAUBENHEIMER wie folgt. Wird ein in zwei nicht mischbaren Körpern a und b löslicher Körper c mit diesen Flüssigkeiten geschüttelt, so kommt ihm, vorausgesetzt, daß er in den beiden Lösungsmitteln die gleiche Molekulargröße hat, ein konstanter Teilungskoeffizient C_a/C_b zu (wobei C_a die Konzentration von c in a , C_b entsprechend die in b bedeuten). Nehmen wir an, daß c in a ein n -mal größeres Molekulargewicht besitzt, so erhalten wir das Verhältnis

$$\frac{C_a}{C_b^n} = \text{konst.}$$

Wieweit diese Erklärung richtig sein könnte, müßte durch eingehende Untersuchung des Einzelchemismus jedes Absterbevorganges geprüft werden. Wegen

der noch darzulegenden Gültigkeit der Gleichung (4) auch für rein thermische Abtötungsverfahren scheint mir dieser Erklärungsversuch aber kaum haltbar.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit inaugurierten PAUL, BIRSTEIN und REUSS auf Grund der Adsorptionsgesetze. Indem sie, ebenso wie die vorliegende Arbeit, von der Gleichung der monomolekularen Reaktion ausgingen, setzten sie die Reaktionsgeschwindigkeit aus Gleichung (1)

$$k = C^p$$

und deuteten den Exponenten als Adsorptionsexponenten. Diese Anschauung kann als widerlegt gelten, seit BECHHOLD die beschränkte Rolle der Adsorptionsvorgänge bei den Absterbeprozessen klarlegte. Weniger wesentlich ist der übliche Einwand, daß die Adsorptionsthese nur die Bindung des Agens an den Keim, aber nicht die chemische Reaktion des Todes erkläre; denn die Formel würde dadurch nicht beeinflußt, wenn die chemische Reaktion der Menge des adsorptiv fixierten Agens proportional wäre.

Eine weitere Erklärung, die an sich ein Kompromiß zwischen geschwindigkeitsänderndem Zustand und Prozeß darstellt, geben RIEGER und TRAUNER, welche zwei antagonistische bzw. synergetische Prozesse als koexistent annehmen, von denen einer mit wechselnder, meist praktisch zu vernachlässigender Geschwindigkeit verläuft. Damals schon hätten sich diese Autoren z. B. auf die Arbeiten über die Bildung von Schutzstoffen bei den thermischen Verfahren als reaktionshemmenden Prozeß berufen können oder auch auf die bereits zitierte Arbeit von GEGENBAUER. Als Abnormität unter den Desinfektionsgleichungen lautet dessen Formel für die Wirkung verschiedener Sublimatkonzentrationen auf Staphylokokken (und Milzbrandsporen) $T = \text{konst.}$ Er erklärt dies als die Wirkung einer giftigen Quecksilbereiweißverbindung, die wohl an sich schon den Tod herbeiführen soll. Werden die Staphylokokken nach der Sublimatwirkung mit Sulfiden behandelt, so gilt nun die Gleichung $C^{0,5} \cdot t = \text{konst.}$ Die Arbeit ist indessen in diesem Teil etwas kritisch aufzufassen, da die Bakterien nach der Sublimatwirkung stets intensiv ausgewaschen, also einer zweiten Schädigung ausgesetzt wurden. Bei unbefangener Einstellung könnte man infolgedessen annehmen, daß diese Nachbehandlung das Sublimat entweder restlos oder bis auf einen, durch das osmotische Gefälle bedingten und folglich für alle Sublimatkonzentrationen gleichen Rest herausgelöst hat, so daß die Bakterien nun entsprechend dieser gleichen Schädigungsstärke oder entsprechend dem natürlichen Verlauf alle in der gleichen Zeit absterben und absterben müssen. Obwohl ich diese Deutung vorziehe, ist im folgenden stets die Möglichkeit einer inneren Giftstoffbildung im Sinne GEGENBAUERs im Auge behalten worden. In eigenen Versuchen an dichten Staphylococcus aureus-Suspensionen wirkte Sublimat (ohne Nachbehandlung) in 0,25⁰/₀₀iger Lösung in 225 Minuten, mit 0,5⁰/₀₀iger in 180 Minuten und mit 1,25⁰/₀₀iger in 60 Minuten tödlich. Da bei dieser Versuchsanordnung steigende Mengen Sublimat in konstante Nährbodenvolumina der Nachkultur gebracht werden mußten, so nimmt auch die Wachstumshemmung für die Nachkultur zu, ein Nachteil, der sich bei derartigen chemischen Versuchsanordnungen nicht vermeiden läßt.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit läge in der Annahme entsprechender Veränderungen des osmotischen bzw. des Quellungsdruckes. Auch dies müßte durch eingehende Untersuchungen geprüft werden.

Eine letzte These könnte aber auch die Annahme machen, daß die durch Gleichung (4) dargestellte Beziehung eine reine Zufälligkeit bedeute und in Wirklichkeit die heterogensten Vorgänge in sich vereinige. Tatsächlich ist es wohl kaum möglich, den so mannigfaltigen Chemismus der verschiedenen Desinfektionsverfahren auf einen Generalnenner zu bringen. All die obigen Thesen führen im einzelnen zu nachprüfbaren logischen bzw. naturwissenschaftlichen Notwendigkeiten, durch die ihr Gültigkeitsbereich bereits vielfach eingeschränkt worden ist. So kann dieser letzten These nur entgegengehalten werden, daß die mathematische Wahrscheinlichkeit für differente Formeln viel zu groß ist, als daß die alle Reaktionen ausdrückende kongruente Formel Zufall sein könnte.

6. Die thermische Abtötung und ihre Gleichungen.

Seit ROBERT KOCH ist der Einfluß der Temperatur auf die chemischen Desinfektionsvorgänge bekannt und in älterer Zeit insbesondere durch GRUBER, HEIDER, BEHRING, PAUL, ferner durch MADSEN und NYMANN studiert worden. Aus neuerer Zeit liegen jedoch nicht sehr viele quantitative Angaben vor. ALTHAUS findet starke Verschiedenheiten des Temperaturkoeffizienten der Phenolderivate. COOPER und HAINES teilen die Desinfektionsmittel bezüglich ihres Temperaturkoeffizienten c_T in drei Gruppen ein: Temperaturunabhängig sind die Reduktionsmittel; die Phenole und Alkohole als zweite Gruppe erhöhen ihre Wirkung bei einer Temperatursteigerung von 10^0 um das Doppelte, während bei der dritten Gruppe, der unter anderem die Chinoderivate angehören, die Wirkung um das 8—20fache steigt. Die merkwürdige Tatsache, daß Reduktionsmittel temperaturunabhängig sein sollen, kann vielleicht durch die Arbeiten von KENDALL und seiner Mitarbeiter FRIEDEMANN und ISHIKAWA geklärt werden, die bei *Bact. coli* durch Entfernung der autooxydablen Substanzen einen nekrobiotischen Zustand schufen und dabei erhebliche Stoffwechselveränderungen feststellten. Es ist nun wahrscheinlich, daß oxydative und reduktive Prozesse im Bakterienleib sich gegenläufig in einem bestimmten Gleichgewichtszustand befinden; haben sie dabei noch gleichen Temperaturkoeffizienten, so resultiert Temperaturunabhängigkeit. BARNETT COHEN studiert den Temperatureinfluß bei der Säurewirkung. Bei der Wirkung der Natronlauge findet McCULLOCH zwischen 2^0 und 25^0 C keinen Temperatureinfluß, während sie nach LEVINE und BUCHANAN bei höheren Temperaturen wesentlich zunimmt. Einen negativen Temperaturkoeffizienten bei Phenol und Lysol fand CRONER für das Temperaturintervall zwischen 18^0 und 37^0 C; gegenläufige Lebensprozesse kompensieren hierbei die Desinfektionswirkung, und zwar um so mehr, je mehr Lebenstätigkeit der Bakterien durch die Temperatur angeregt wird. Ebenso ist vielleicht die Hemmung der Sauerstoffwirkung zu erklären, die PAUL, BIRSTEIN und REUSS im gleichen Temperaturintervall beobachteten.

Die Größe des Temperaturkoeffizienten in den einzelnen Fällen zeigt, daß es sich vielfach um sehr komplizierte, im Bereich des Unbelebten kaum bekannte Reaktionen handeln dürfte; der Deutung ist auch dieser Punkt so wenig zugänglich wie der Chemismus der Absterbevorgänge überhaupt.

Die rein thermischen Verfahren (Abtötung durch heißes Wasser, gespannten Dampf, Heißluft, Öl, Paraffin) haben jedoch bereits durch die Arbeiten von

REICHEL und seinem Mitarbeiter SCHINZEL, ferner durch BIGELOW eine mathematische Formulierung erfahren. Es waren jedoch wohl nicht nur die Schwierigkeiten der Berechnung, wenn aus den empirischen Werten die Gleichung aufgestellt werden sollte, welche die Bearbeiter ähnlicher Themen davon abhielt, ihre Ergebnisse in die REICHELSche Formel überzuführen. REICHEL schreibt:

$$t = C^k (T_0 - T).$$

Hierbei bedeutet t die notwendige Desinfektionszeit, bei der (absoluten) Temperatur T ; T_0 jene (absolute) Temperatur, bei der das Bacterium gerade in einer Minute abstirbt (Einminutenresistenz); k einen Wirkungsexponenten, der durch den jeweiligen Kurvenverlauf gegeben ist und jeweils errechnet werden muß.

Tatsächlich ist es möglich, allen empirischen Ergebnissen mit dieser Gleichung gerecht zu werden. Da es sich jedoch um eine rein empirische Formel handelt, ist es schwer, sie mit einer sinnvollen Deutung zu unterbauen. Noch schwieriger wird dies durch die von REICHEL gegebene Ableitung. Er schreibt diese Gleichung ursprünglich

$$t = C^k (\ln T_0 - \ln T)$$

und geht hieraus zur obigen Schreibweise über, da die Logarithmen der absoluten Temperaturen zwischen 300 und 400° ihrem Numerus annähernd proportional sind. Die von mir vorgenommenen Versuche, diese Gleichungen irgendwie mit den physikalisch-chemischen Vorstellungen der kinetischen Gastheorie in Verbindung zu bringen, schlugen sämtlich fehl.

In Verfolg dieser energetischen Vorstellungen wurde nun geprüft, ob sonstige Beziehungen zwischen dem Energieinhalt des Wasserdampfes und der notwendigen Einwirkungszeit erkennbar seien. Da der Druck des gesättigten bzw. gespannten Dampfes die direkte Meßzahl für die Molekülzusammenstöße bedeutet, wurde dieser auch als Meßzahl des Energieinhaltes verwendet. Dabei wurden die in „KOHLRAUSCH, Lehrbuch der praktischen Physik“, Tabellenteil, gegebenen Zahlen zugrunde gelegt. Tatsächlich ließ sich bei diesem Vorgehen das ganze empirische Zahlenmaterial auf die Form der Gleichung (4) bringen

$$(d_T)^p \cdot t = (d_0)^p = \text{konst.} \quad (10)$$

Hierbei bedeutet d_T den Sättigungsdruck des Wasserdampfes bei der Celsius-temperatur T , t die hierbei notwendige Einwirkungszeit und d_0 den Sättigungsdruck jener Temperatur, in der das betreffende Bacterium in einer Minute abstirbt (Einminutenresistenz). Ohne weiteres erlaubt ist auch die Schreibweise

$$d_T \cdot t^{\frac{1}{p}} = d_0 = \text{konst.} \quad (11)$$

Bei der Durchrechnung der experimentellen Daten überrascht immer wieder, insbesondere bei den Arbeiten von BERGMANN und ØRSKOW, wie genau die Übereinstimmung ist, wie gering die Werte von p an den einzelnen Meßstellen um ihren Mittelwert pendeln und wie selten größere Abweichungen sind. Überdies sind die Abweichungen der nach dieser Formel errechneten Werte kleiner und seltener als bei der REICHELSchen Formel. Insbesondere vermag diese Schreibweise auch den SCHINZELschen Werten in besserer Weise gerecht zu werden als die REICHELSche Berechnung. Dies ist erstaunlich, denn SCHINZEL

arbeitete mit Heißluft, Paraffin, Öl, also mit Substanzen, bei denen der Wasserdampfdruck schwerlich eine Rolle spielen kann. Hier erscheint es notwendig, aber auch einleuchtend, auf den Eigenwassergehalt der Bakterien hinzuweisen, der in dieser Auffassung somit als der eigentliche Träger der Abtötungswirkung figuriert. Im folgenden sei eine kurze Zusammenstellung der Ergebnisse der einzelnen thermischen Abtötungsverfahren in Anlehnung an die Zusammenstellung von REICHEL im KOLLE-KRAUS-UHLENHUTHSchen Handbuch gegeben. Hierbei bedeuten die Indices die Temperatur der Einminutenresistenz.

Beobachter	Material	Gleichung nach REICHEL	Werte nach Gleichung (11)	p -Gleichung (10)
FORSTER, DE MAN	Tuberkelbakterien	$e^{0,28(75-t)}$	$d \cdot t^{0,15} = d_{75}$	6,65
HEIDER, RUBNER	Milzbrandsporen	$e^{0,23(102-t)}$	$d \cdot t^{0,16} = d_{102}$	6,25
BALLNER, KOCH	Milzbrandsporen	$e^{0,21(93-t)}$	$d \cdot t^{0,17} = d_{93}$	5,9
SCHUT, ges. Dampf, Wasser	„	$e^{0,26(97-t)}$	$d \cdot t^{0,13} = d_{97}$	7,7
GLOBIG, CHRISTEN.	Mesentericussporen	$e^{0,28(130-t)}$	$d \cdot t^{0,10} = d_{130}$	10,0
BERGMANN	Sporen v. Putrificus	$e^{0,343(112-t)}$	$d \cdot t^{0,11} = d_{112}$	9,1
	Sporen v. Tetanus	$e^{0,343(112-t)}$	$d \cdot t^{0,11} = d_{112}$	9,1
	Sporen v. Bac. oedematiens	$e^{0,385(109-t)}$	$d \cdot t^{0,11} = d_{109}$	9,1
	Sporen v. Bac. botulinus	—	$d \cdot t^{0,08} = d_{108}$	12,5
	Sporen v. histolyticus	$e^{0,375(106-t)}$	$d \cdot t^{0,10} = d_{106}$	10,0
	Sporen v. Pararauschbrand	$e^{0,306(88-t)}$	$d \cdot t^{0,12} = d_{88}$	8,35
BIGELOW	Sporen v. Thermophilen	—	$d \cdot t^{0,135} = d_{135}$	7,4
ØRSKOV	Paraty. B, 2 Std. alt, Salzwasser	—	$d \cdot t^{0,09} = d_{60}$	11,1
	Paraty. B, 24 Std., Bouillon	—	$d \cdot t^{0,12} = d_{62}$	8,3
	Paraty. B, 24 Std., unverdünnt	—	$d \cdot t^{0,065} = d_{61}$	15,4
	Paraty. B, 24 Std., unverdünnt	—	$d \cdot t^{0,09} = d_{65}$	11,1
SCHINZEL	Sporen v. Subtilis, Heißluft	—	$d \cdot t^{0,33} = d_{185}$	3,0
	Öl	—	$d \cdot t^{0,30} = d_{193}$	3,3
	Paraffin	—	$d \cdot t^{0,30} = d_{194}$	3,3
	Sporen v. Vulgatus, Heißluft	—	$d \cdot t^{0,46} = d_{197}$	2,15
	Sporen v. Vulgatus, Öl	—	$d \cdot t^{0,41} = 15\ 500$	2,4
	Sporen v. Mesentericus, Heißluft	—	$d \cdot t^{0,31} = d_{185}$	3,2
	Sporen v. Mesentericus, Öl	—	$d \cdot t^{0,32} = d_{194}$	3,2

Soweit nicht besonders angegeben, handelt es sich um Versuche mit gesättigtem Dampf.

Diese Zusammenstellung, die noch erweitert werden könnte, zeigt: 1. Es ist tatsächlich möglich, die thermischen und die chemischen Absterbevorgänge einheitlich durch die Giftwirkungsgleichung (4) auszudrücken.

2. Die thermischen Abtötungsverfahren verlaufen sämtlich als „beschleunigte“ Reaktionen in dem Sinne, daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei stärkerer Einwirkung nicht nur absolut, sondern auch relativ größer ist als bei schwächerer Einwirkung. Die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur verläuft erheblich steiler als die Zunahme des Wasserdampf-Sättigungsdruckes.

3. Die Gleichung gilt erstaunlicherweise nicht nur für die Abtötung mit Wasserdampf, sondern auch für Heißluft, Öl, Paraffin und Wasser selbst. Für letzteres wird auf die Ergebnisse von SCHUT und ØRSKOV verwiesen.

4. Der Vergleich des Exponenten p für die einzelnen Verfahren ergibt die Tatsache, daß die durch p charakterisierte Beschleunigung der Reaktion im allgemeinen um so größer wird, je größeren Wassergehalt die Umgebung aufweist. Die größten Exponenten errechnen sich aus ØRSKOVs Angaben, der die Bakterien direkt in Wasser- bzw. Kochsalzlösung bzw. Bouillon erhitzte. Bei SCHUT zeigt der Vergleich der Wasser- und Dampfwirkung ebenfalls ein größeres p für Wasser; bei SCHINZEL sind die Exponenten für Heißluft, Öl, Paraffin überraschend klein.

5. Die Größe des Exponenten p wird außer durch den Wassergehalt des Mediums auch noch durch die Bakterienart bestimmt; wahrscheinlich spielt hierbei der Eigenwassergehalt des Bacteriums eine Rolle, was ja bereits für die Erklärung der Heißluftwirkung usw. angenommen wurde.

Wenn wir von dieser Basis aus eine Erklärung der thermischen Abtötungsgleichung suchen, so scheint es am plausibelsten, den Quellungsdruck der Bakterien für den Absterbevorgang verantwortlich zu machen, auf dessen Bedeutung auch REICHEL nachdrücklich hinweist. SCHIROKAUER und ZELTNER betonen ähnlich die Rolle des osmotischen Druckes. Spielt beispielsweise bei der Heißluftsterilisation der relativ geringe Eigenwassergehalt der Bakterien die ausschlaggebende Rolle, so wird der Quellungsdruck als Funktion der Temperatur sehr viel langsamer ansteigen, als wenn sich das Bacterium in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre befindet. Endlich macht diese Annahme auch die Tatsache verständlich, warum die Gleichung (10) auch dann gilt, wenn sich das Bacterium nicht im Wasserdampf, sondern im Wasser oder wäßrigen Lösungen befindet; denn auch in diesem Fall wird der Quellungsdruck als Funktion des Wasserdampfdruckes oder als eine ihm analoge Funktion ansteigen. Auch deckt sich diese Deutung mit der bekannten Tatsache, daß getrocknete Keime, insbesondere Sporen, im allgemeinen resistenter sind als feuchte (z. B. ARLOING, CORNEVIN und THOMAS und REICHEL) und daß nicht Trockenheit an sich, sondern der Trocknungsakt das Bakterienleben gefährdet (REICHEL). Die Richtigkeit der hier dargelegten Auffassung wird weiterhin besonders unterstrichen durch die Angaben RODENBECKs, der durch Zusatz von Wasser den thermischen Abtötungseffekt wasserfreier Substanzen weitgehend steigern konnte. Daß jedoch JETTMARs Ergebnisse über die sporozide Wirkung heißer Sodalösung durch Gleichung (4) nur angenähert wiedergegeben werden, darf nicht als triftiger Einwand gelten, da hierbei der Quellungsdruck durch chemische Wirkungen modifiziert wird.

Weiter wird aus dieser Anschauung auch die Rolle der Schutzkolloide wenigstens teilweise erklärbar. In der Tabelle S. 21 fällt z. B. unter den Ergebnissen ØRSKOVs der Versuch an Paratyphusbakterien in Bouillon durch den relativ niedrigen Wert von p auf. Daß aber akzessorische Kolloide den Quelldruck kolloider Substanzen ebensosehr wie die Permeabilität von Membranen beeinflussen können, ist vielfach bestätigt (s. z. B. HÖBER). Genauere Angaben über die Bedeutung des Suspensionsmediums für die Thermoresistenz von Bakterien liefert insbesondere WILLIAMS, ferner BELIN, MUTERMILCH und SALAMON, FLEISCHER und AMSTER, weiter BOYER und BOYRON, MURRAY und HEADLEE, für die oligodynamischen Verfahren die Arbeit von UGLOW und GAN. Eine besonders umfassende Untersuchung über verschiedene biologische Einflüsse hat SOMMER geliefert.

Die Bedeutung der Luftbeimengung zum Wasserdampf und deren Wirkung auf die Abtötungszeit hat nach KONRICH insbesondere dessen Schüler MUNTSCHE untersucht. Seine Werte lassen sich etwa so formulieren, daß die Differenz der Abtötungszeiten der Differenz der relativen Luftbeimengung umgekehrt proportional ist. Diese Tatsache bedeutet den einfachen und notwendigen Vorgang, daß mit sinkender Außenfeuchtigkeit der Eigenwassergehalt des Bacteriums immer mehr für die Abtötung in den Vordergrund tritt. Theoretische Schwierigkeiten entstehen somit hieraus nicht. Die Arbeit BERGMANNs, der mit geschlossenen Ampullen arbeitete und den Feuchtigkeitsgehalt der Außenluft ohne Einfluß fand, stellte lediglich ein voraussagbares Ergebnis fest.

Auf alle Fälle jedoch wird die früher viel diskutierte These, daß die Desinfektionswirkung des Wasserdampfes in der frei werdenden Kondensationswärme bestehe (s. GRASSBERGER), durch die Gültigkeit der Gleichung (10) erheblich erschüttert.

Der Temperatureinfluß bei anderem mikrobiologischen Material äußert sich in sehr verschiedenartiger Weise. NANAVUTTY stellt mit thermischen Verfahren eine eigentümliche Absterbekurve des Phagen fest, die er als entsprechende Resistenzgliederung deutet und auf die noch zurückgegriffen werden wird. BERGER und ROESLI beobachten bei der übertragbaren Lyse einen negativen Temperaturkoeffizienten, d. h. Abnahme mit steigender Temperatur, was ja wohl verständlich ist. KIGASAWA endlich steigerte die Hitzewirkung in geringerem Maße, wodurch sich der Phage vom großlöchernden in einen kleinlöchernden änderte. Natürlich kann dies ebensogut als Änderung der Phagenqualität wie der Quantität gedeutet werden. Soweit jedenfalls entsprechende Beobachtungen an Phagen vorliegen, stehen diese zu den besprochenen Beobachtungen aus der Bakteriologie in keinem Widerspruch.

7. Die Frage der Nebenreaktionen und der Autokatalyse.

Durch die nach obigem erwiesene Allgemeingültigkeit der Giftwirkungsgleichung (4) ist jedoch die frühere Annahme der monomolekularen Reaktion nicht so unbedingt widerlegt, wie das zunächst den Anschein hat. An sich besagt die Größe C^p ja nur, daß die Reaktion nur bei Änderung der Einwirkungsgröße mit anderer als der erwarteten Geschwindigkeit verläuft; für eine gegebene Einwirkungsgröße C betrüge somit die durch Nebenumstände (Quelldruck, Diffusionsgeschwindigkeit, Adsorptionsvorgänge, Molekulargröße oder sonstiges) modifizierte Reaktionsgeschwindigkeit C^p ; diese bliebe jedoch

für eine gegebene konstante Einwirkung konstant. Würde man z. B. die Verringerung einer Bakterienpopulation mit der anfänglichen Keimdichte D_0 unter der Einwirkung eines bestimmten Agens verfolgen, so könnte diese durchaus als monomolekulare Reaktion verlaufen; nur würde z. B. bei Verdoppelung der Intensität dieses Agens die Reaktion nicht mit der Geschwindigkeit $2C$, sondern mit der Geschwindigkeit $(2C)^p$ abrollen. Die allgemeine Desinfektionsgleichung würde dann lauten:

$$D_t = D_0 e^{-C^p \cdot t}, \quad (12)$$

wobei D_t die zur Zeit t herrschende Keimdichte bedeutet.

Diese Vermutung war jedoch eigentlich bereits durch REICHENBACH widerlegt. In seinen Versuchen läßt die Berechnung der Keimverminderung nach Gleichung (1) oft erkennen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit in Wirklichkeit über die Fehlergrenze hinaus nicht konstant ist, daß also eine echte monomolekulare Reaktion nicht vorliegen kann. Diese Tatsache hat ihn zusammen mit anderen Einwänden zu seiner Annahme der geometrischen Resistenzstaffelung geführt. Auch ELJKMANN hat nachdrücklich auf die Veränderlichkeit der Reaktionsgeschwindigkeit hingewiesen. Weiter stellte SATTLER die Behauptung auf, daß der Wärmetod der Bakterien ein monomolekularer Vorgang sei, der durch eine „Wärmebeschleunigung“ verändert würde.

Ähnliche Vorgänge hat später KNAYSIS, zum Teil mit seinem Mitarbeiter GORDON genauer untersucht. Er setzte verschiedene Keime, insbesondere *Bact. coli* der Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel (Sublimat, Methylenblau, Zuckerlösung usw.) aus, und fand die Reaktionsgeschwindigkeit nur selten im Bereich seiner Fehlergrenze konstant; in der Regel fand sich bei Methylenblau eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit (retardierende Reaktion), bei Sublimat umgekehrt eine Beschleunigung (akzelerierende Reaktion).

Die Worte retardierend und verzögert bzw. akzelerierend und beschleunigt sind zwar Synonyme. Jedoch soll hier prinzipiell der deutsche Ausdruck für die Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit bei Variation der Einwirkungsstärke im Endzeitenversuch, der latinisierte Ausdruck für die progressive Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit im Keimzählungsversuch verwendet werden. Wie sich noch zeigen wird, braucht eine „beschleunigte“ Reaktion nicht auch „akzelerierend“ zu verlaufen und umgekehrt.

Dies war aber erst festzustellen. Zunächst war die Vermutung naheliegend, daß die Giftwirkungsgleichung $C^p \cdot t = \text{konst.}$ vielleicht in der synonymen Form $C \cdot t^{\frac{1}{p}}$ richtiger sei. Hierdurch würde die Gleichung (12) übergehen in

$$D_t = D_0 e^{-C \cdot t^{\frac{1}{p}}}. \quad (13)$$

Falls diese Gleichung tatsächlich den Absterbevorgang darstellte, so würde die Berechnung von C nach Gleichung (2) tatsächlich je nach Größe von p keine Zu- oder Abnahme mit fortschreitender Zeit liefern. Jedoch gab die sorgfältige Durchrechnung der Ergebnisse KNAYSISs keinen Anhaltspunkt für die Richtigkeit der Gleichung (13). Darüber hinaus wurden außerdem die Ergebnisse von BALLANTYNE über das Absterben von Bakterien in Wasser und Salzlösungen, ferner die Angaben von TANNER und WILLIAMSON über den Kälte-tod von Hefen, und endlich die von ISAACS über die Einflüsse verschiedener

Faktoren auf die Absterbekurven genau durchgerechnet. Sie ergaben sämtlich im Grundcharakter den von KNAYSIS beschriebenen akzelerierenden oder retardierenden Gang der Reaktion, aber keine Möglichkeit, mit Gleichung (13) befriedigende Werte zu erhalten. Dasselbe Ergebnis ging aus eigenen Versuchen hervor. Gleichung (12) und (13) stellen daher keinen brauchbaren Ausdruck des Absterbeprozesses dar.

Jedenfalls aber liefert die Berechnung aller Werte die Möglichkeit, KNAYSIS Deutung dieses Kurvenverlaufs abzulehnen. KNAYSIS leitet nämlich hieraus eine der MAXWELLSchen Verteilungskurve ähnliche Resistenzgliederung der Population ab, d. h. um eine große Schar Bakterien mittlerer Resistenz lagern sich abnehmende Mengen von Individuen mit hoher und niederer Resistenz. Aber diese Annahme hätte die schwer verständliche Folgerung, daß diese Kurven für ein und dieselbe Population gegenüber verschiedenen Desinfektionsverfahren ganz verschieden sein müßten; z. B. gegen Sublimat wäre die Anzahl von Individuen mittlerer Resistenz sehr schmal, aber breit gegenüber Methylenblau usw. Wenn auch nicht unmöglich, so ist diese Annahme aber doch zumindestens unwahrscheinlich.

Auf der Suche nach einer richtigen Formel schien die bereits mehrfach zitierte Angabe GEGENBAUERS Erfolg zu versprechen, der bei sublimatbehandelten Staphylokokken die Entstehung von Sekundärgiften annahm. Eine solche These war an sich geeignet, eine akzelerierende Reaktion zu erklären. Umgekehrt konnte man annehmen, daß für das Zustandekommen der retardierenden Reaktion vielleicht die Entstehung von Schutzstoffen verantwortlich sei.

Solche Schutzstoffe, teilweise noch heute angezweifelt, sind bei thermischen Abtötungsverfahren wiederholt nachgewiesen worden. ZOOND hatte z. B. festgestellt, daß bei Erhitzung von Bakterien eine Volumverminderung eintritt, was sich außerdem gut mit der angenommenen Bedeutung des Quellungsdruckes für den Wärmetod in Einklang bringen läßt. Das gleiche teilt EHRISMAN für die Ultraviolettwirkung mit. Einen unmittelbaren, später von ØRSKOV bestätigten Nachweis von Schutzstoffen lieferte HÜCKEL, der Bakterien durch Kochen abtötete und das Filtrat als Suspensionsmedium für einen zweiten Desinfektionsversuch benutzte; nun war eine ganz erstaunliche Erhöhung der Absterbezeit feststellbar. Später hat dann GEWEHR die Schutzstoffe aus Bakterien „rein“ dargestellt und auch aus unbeimpften Nährböden Schutzkolloide gewonnen. Auch BEHRENS findet Schutzstoffe. Durch Waschen der Keime erhöhen BEHRENS, ferner KLEWE die Thermoresistenz um ein Geringes, so daß die von GEWEHR nur indirekt bewiesene Schutzwirkung von anhaftenden Nährbodenbestandteilen bezweifelt werden kann. In diesem Zusammenhang werden meist noch die Arbeiten von LANGE und von GÖBEL zitiert, die in Wirklichkeit jedoch nur den Einfluß der Keimdichte untersuchten. Wie jedoch ØRSKOV in seiner genauen Nachprüfung zeigte, findet sich die Schutzstoffbildung nicht bei allen Bakterienarten und nicht zu allen Zeiten, obwohl auch dann eine retardierende Kurve vorliegen kann.

Die Entstehung von Sekundärstoffen mit Gift- oder Schutzwirkung kann derart mannigfach verlaufen, daß die rein theoretische Suche nach einer die empirischen Werte befriedigenden Formel von vornherein auf den Zufall spekulieren muß. Jedoch wurde als einfachste und relativ plausibelste Annahme die These einer Autokatalyse einer näheren Untersuchung unterzogen. Es bestand

also die Vorstellung, daß der Absterbeprozess in dem Untergang einer einzigen Molekülarart bzw. Molekülgruppe bestehe, die unter der Einwirkung der Noxe mit der Geschwindigkeit C zerfalle; das hierbei entstehende Zerfallsprodukt greife jedoch selbst in den Prozess mit der eigenen Reaktionsgeschwindigkeit h als neues Desinfektionsmittel oder mit umgekehrtem Vorzeichen als Schutzstoff ein. Da nun die Sekundärreaktion mit um so größerer Stärke verläuft, je mehr Zerfallsprodukte durch den Ablauf der Hauptreaktion bereits entwickelt worden sind, so war von vornherein eine sehr komplizierte Formel zu erwarten. Herr Professor Dr. SPERNER in Königsberg (Pr.), dem ich auch an dieser Stelle hierfür danken möchte, hat mir auf meine Bitte die obige Vorstellung in eine mathematische Gleichung umgeformt, die ich mit seiner Erlaubnis hier veröffentliche. Hiernach verringert sich die anfängliche Keimdichte D_0 in der Zeit t auf

$$D_t = \frac{D_0(C + hD_0)}{C \cdot e^{(C + hD_0)t} + hD_0} \quad (14)$$

wenn das nachstehende Produkt selbst wieder giftig ist. Wirkt es als Schutzstoff, so verändern sich die sichtbaren Vorzeichen.

Auch diese Gleichung, die eine sehr schwierige Auflösung hat, wurde an einer großen Reihe empirischer Werte untersucht, ohne daß sich auch nur ein einziges Ergebnis hierdurch hätte erklären lassen. Die rein deduktive Ableitung einer befriedigenden Desinfektionsgleichung aus bereits bekannten Tatsachen hatte sich somit als unmöglich erwiesen, an ihrer Stelle mußte daher die empirische Ableitung mit neuem Material begonnen werden.

8. Die Beziehungen zwischen Keimdichte und Abtötungszeit.

Daß sich die notwendige Abtötungszeit immer mehr verlängert, je größer die Keimdichte gewählt wird, ist seit langem bekannt. In der Desinfektionspraxis wird diese Tatsache allerdings merkwürdig wenig betont.

Die Deutung dieser Tatsache hat sich jedoch stets den vielfachen Theorien über die Natur des Absterbevorganges anpassen müssen. REICHENBACH nahm an, daß mit steigender Keimdichte auch das Vorkommen der resistenteren Formen immer wahrscheinlicher werde, wodurch sich die notwendige Einwirkungszeit ganz einfach entsprechend verlängern müsse. Im übrigen wurde die Tatsache selbst mit der unglücklichen Bezeichnung „Schutzwirkung“ der Keimdichte belegt. Diese Voreingenommenheit lenkte natürlich auch die damit zusammenhängenden Fragen von vornherein in eine bestimmte Blickrichtung, wodurch dieses Gebiet fast unlösbar mit der Frage der Schutzstoffe verquickt wurde. So wählte LANGE folgende Versuchsanordnung. Er stellte sich Suspensionen lebender Keime von der Dichte D_0 her und beobachtete deren Abtötungszeit. Ebenso verfuhr er mit einer zweiten Suspension gleicher Dichte $D_0 = D_1 + D_2$, welche aber nur zu einem Teil D_1 aus lebenden Keimen bestand, während der Rest D_2 bereits schon vorher abgetötet war. Endlich prüfte er noch eine Suspension lebender Keime von der Dichte D_1 allein. Die Abtötungszeit der Suspension D_0 war wesentlich länger als die der Suspension $D_1 + D_2$, letztere aber immer noch etwas länger als die der Suspension D_1 . Da er aber überall die Abtötung durch Erhitzung vornahm, stört die wahrscheinlich überlagerte Mitwirkung der Schutzstoffe die Möglichkeit der Auswertung. Aus

anderer Versuchsanordnung gewinnt HÜCKEL die (auch mathematisch ableitbare) Auffassung, daß wohl die größere Keimdichte die längere Abtötungszeit benötige, daß aber der einzelne Keim in der dünneren Aufschwemmung die relativ höhere Lebensdauer habe. Zur Erklärung zieht er den gleichzeitig geführten, unter 3d beschriebenen Schutzstoffnachweis heran. Er sucht auf diese Weise eine frühere Arbeit von GÖBEL, der den Einfluß der Keimdichte mit nicht ganz eindeutigen Ergebnissen vertrat, zu widerlegen. Sehr schwierig ausdrückbar ist die von WILLIAMS in seiner großen Arbeit mitgeteilte Beziehung zwischen Keimdichte und Einwirkungszeit bei Sporenbildnern; auch hier scheint sich eine Schutzstoffwirkung (Wärmetod!) zu überlagern. Der Einfluß der Keimdichte auf den Eintritt des Strahlentodes ist schon seit FINSEN bekannt. POLTHOFF findet eine arithmetische Beziehung zwischen Keimdichte und Abtötungszeit. In neuester Zeit endlich gibt STUTZ eine kurze Mitteilung über Keimdichte und Abtötungszeit; danach ist die Keimdichte bei Sporen ohne Einfluß auf die Abtötungszeit; in wenigen Sätzen gibt er jedoch einen solchen Einfluß für die vegetativen Formen zu, den er als die Wirkung anhaftender Nährbodenreste erklärt; dabei ist diese These uralt und der Einfluß von Nährbodenresten durch mehrmaliges Waschen so leicht zu eliminieren, daß ein einmaliger Versuch ihn leicht vom Gegenteil hätte überzeugen können.

Alle genannten Versuche sind mit Hitzewirkung vorgenommen, so daß die Wirkung von Schutzstoffen ausschlaggebend an den Ergebnissen beteiligt sein konnte. Diesen Einfluß galt es auszuschalten.

Aus einer Reihe von Gründen schien von vornherein die Schwefelsäure ein geeignetes Mittel. Sie ist chemisch rein erhältlich, besitzt neben einer hervorragenden Desinfektionswirkung die Vorteile der vollständigen Löslichkeit bei bequemster Dosierbarkeit und ist im Gegensatz zu den modernen Desinfektionsmitteln in ihrer Zusammensetzung gleichmäßig. Außerdem ist bei ihr auch eine Einwirkung während der Versuchsdauer durch p_H -Messung verfolgbar.

Protokoll 1. Mit reiner konzentrierter Schwefelsäure und Aqua dest. wurde ein p_H von 0,845 hergestellt und mit der Gaskette gemessen. Hierauf wurden die Bodensätze von 24stündigen *Staphylococcus aureus* und *Bact. coli*-Kulturen mehrfach mit Aqua dest. gewaschen und das p_H der Suspension für *Staphylococcus aureus* bei einer Keimzahl von 98,76 Millionen zu 5,21 (stark schwankend) und *Bact. coli* bei einer Keimzahl von 57,6 Millionen zu 2,76 (stark schwankend) bestimmt. In Parallelröhrchen wurden nun Schwefelsäure, Aqua dest. und Bakteriensuspensionen bis zur gleichen Keimzahl so gemischt, daß das p_H wiederum 0,845 hätte betragen müssen. Dieser Wert wurde zunächst jedoch nicht erreicht, sondern das p_H der *Staphylokokkensuspension* betrug 0,95, der *Colisuspension* 1,26. Jedoch strebten die Werte bei beiden mit verschiedener Geschwindigkeit nach der sauren Seite, so daß nach 2 Stunden bei beiden das Ausgangs- $p_H = 0,848$ betrug.

Nachdem auf diese Weise festgestellt war, daß die Einwirkungsstärke der Schwefelsäure am Ende des Abtötungsvorganges noch die Anfangsstärke besitzt, wurde dieses Desinfektionsverfahren bei vielen Untersuchungen bevorzugt angewandt.

Auch Sublimat konnte in diesem Sinne als geeignetes Mittel gelten; ist doch hierbei nach GEGENBAUER mit dem Auftreten von Sekundär giften, also nicht mit Schutzstoffen zu rechnen. Gerade aus diesem Grunde wurde mit Sublimatversuchen an *Staphylococcus aureus* und *Bact. coli* begonnen.

Protokoll 2. 5 Agarplatten wurden nach 24stündiger Bebrütung mit Aqua dest. abgeschwemmt und 3mal gewaschen. Das Waschen mit Aqua dest. wurde in einem Großteil der Versuche vorgenommen, um möglichst alle anhaftenden, etwa störenden Nährboden-

reste usw. zu entfernen. Hierzu schien Aqua dest. geeigneter als physiologische Kochsalzlösung, da einerseits das Diffusionsgefälle hierbei größer ist und außerdem NaCl-Lösung oft den qualitativen Ablauf der Reaktion erheblich beeinflusst. Zwar erfuhren die Keime, wie Protokoll 1 zeigte, auch in Aqua dest. merkliche Veränderungen (Schädigungen). Es wird jedoch in allen Versuchen auch die Ausgangsdichte von derartig behandelten Keimen gewonnen, so daß dieser Teil des Verfahrens für die anfänglich vorhandenen wie für die dem eigentlichen Abtötungsverfahren unterworfenen Keime sich quantitativ gleich stark auswirken dürfte. Von dem dicken Bodensatz wurden nun 5 verschiedene Keimdichten in 5 Röhrcen à 2,7 ccm in der Weise hergestellt, daß jedes Röhrcen nur noch ein Zehntel der Keimdichte des vorausgehenden enthielt. Die Keimdichte der niedersten Konzentration wurde in Gußplatten nach 24 Stunden ausgezählt. In jedes Röhrcen kam nun 2,7 ccm einer zweipromilligen Sublimatlösung. Nun wurden alle 10 Minuten je 0,1 ccm auf Traubenzuckerbouillon überimpft und nach 48 Stunden abgelesen.

Ablesung.

Keimdichte	Staphylococcus aureus. $K = 0,103$					Bact. coli. $K = 0,0625$			
	$2,58 \cdot 10^8$	$2,58 \cdot 10^7$	$2,58 \cdot 10^6$	$2,58 \cdot 10^5$	$2,58 \cdot 10^4$	$2,13 \cdot 10^8$	$2,13 \cdot 10^7$	$2,13 \cdot 10^6$	$2,13 \cdot 10^5$
10 Min.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	+	+	+	+	—	+	+	—	—
40 „	+	+	+	—	—	+	+	—	—
50 „	+	+	+	—	—	+	+	—	—
60 „	+	+	+	—	—	+	±	—	—
70 „	+	+	—	—	—	+	—	—	—
80 „	+	—	—	—	—	+	—	—	—
90 „	+	+	—	—	—	+	—	—	—
100 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
110 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
120 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>C</i>	0,162	0,179	0,205	0,240	0,339	0,194	0,242	0,486	—

Zunächst zeigt das Protokoll, daß es einen Einfluß der Keimdichte auf die Desinfektionszeit, auch ohne Schutzstoffe und Nährbodenreste tatsächlich gibt. Bevor weitere Protokolle mitgeteilt werden, soll die grundsätzliche Bedeutung dieser Zusammenhänge näher erläutert werden.

Gehen wir zunächst einmal bewußt von der Vereinfachungsannahme aus, daß es sich bei den bakteriellen Absterbevorgängen um einfache monomolekulare Reaktionen handle. Wenn wir hierbei, auch wieder vereinfachend, annehmen, unser Kriterium für die Erzielung einer vollständigen Abtötung sei die Erreichung einer bestimmten Dichte D , so begehen wir hierbei einen Fehler, der sich durch die oben beschriebene Versuchsanordnung völlig ausschalten läßt. Diese Annahme besagt zunächst, daß, gleichgültig wie hoch die anfängliche Keimzahl gewählt wurde, die Desinfektion bei einem bestimmten Wert, den man zweckmäßigerweise $D=1$ wählt, abgeschlossen sein soll. Denn die Auflösung der Gleichung (2) bringt es mit sich, daß für einen Endwert $D=0$ die Einwirkungszeit $t = \infty$ werden muß. Dieses eigentümliche Verhalten begründet sich in der Anwendung der Infinitesimalrechnung, während jeder Naturprozeß stets mit endlichen, wenn auch oft sehr kleinen Größen abläuft. Die zur Erreichung des Endwertes D bei der Annahme einer Anfangsdichte D_1 nötige Zeit t errechnet sich somit aus

$$t_1 C = \ln D_1 - \ln D$$

$$C = \frac{1}{t_1} (\ln D_1 - \ln D). \quad (15)$$

Für eine Anfangsdichte D_2 ist erforderlich

$$C t_2 = \ln D_2 - \ln D$$

$$C = \frac{1}{t_2} (\ln D_2 - \ln D)$$

Zieht man die beiden Gleichungen additiv zusammen, so ergibt sich

$$K (t_1 - t_2) = \ln D_1 - \ln D_2 \quad (16)$$

wobei sich also D , d. h. das willkürlich gewählte Kriterium der vollzogenen Reaktion von selbst eliminiert.

In dieser Form besagt die Gleichung (16), daß die Differenzen der Abtötungszeiten bei einer monomolekularen Reaktion der Differenz der Logarithmen der Ausgangskeimdichten proportional sind.

Die Beziehung ist aber durch das Versuchsergebnis nach Protokoll 2 realisiert. Die Keimdichten sind nebeneinander logarithmisch, die Abtötungszeiten als Ordinate numerisch aufgetragen; die Verbindungslinie der Endzeiten ist eine innerhalb der Fehlergrenze gerade Linie. Die Beziehung zwischen Keimdicke und Abtötungszeit entspricht also in dem Versuch dem bei einer monomolekularen Reaktion zu erwartenden Verhalten. Was bedeutet diese Beobachtung für den Biologen?

Wie am Beispiel der Spritzpistole abgeleitet, drückt die Gleichung (1) der monomolekularen Reaktion nur die Trefferwahrscheinlichkeit bei einer bestimmten Einwirkung aus. Erhöhen wir die Zahl der Ziele, ohne daß gleichzeitig die Dichte des Geschößhagels zunimmt, so wird die Trefferwahrscheinlichkeit geringer, die notwendige Einwirkungszeit nimmt infolgedessen nach Gleichung (16) zu. Übertragen wir dieses Bild vom Flächenhaften ins Räumliche, so ändert sich in dieser Beziehung nichts.

Vergleichen wir aber beispielsweise zwei Töpfe Wasser unter gleichen Bedingungen, so werden diese in der gleichen Zeit zum Kochen kommen. Obwohl für die Moleküle jedes Raumelementes die Zufallsgesetze über die Zahl, Art, Richtung der Moleküstöße entscheiden und die Moleküle um so verschiedenere Zustände aufwiesen, je geringer die betrachtete Zahl ist, so ist trotzdem die Gesamtheit der Moleküle dem Zufall entzogen und dem Gesetz unterstellt.

Hätte daher ein Bacterium eine große Anzahl „Acceptoren“ aufzuweisen, so wäre es der Zufallschance entzogen. Alle Bakterien, die die gleiche Acceptorenanzahl besitzen, müßten dann in der gleichen Zeit absterben. Wenn eine Population dabei irgendeinen Kurvenverlauf im Keimzählungsversuch aufwiese, so wäre dieser ein unmittelbarer Ausdruck der Resistenzgliederung im Sinne REICHENBACHS, in unserem Sinne also der Acceptorenverteilung auf die Individuen; d. h. es müßten die Extreme der Acceptorenzahl bei den einzelnen Individuen im Verhältnis 1:1 Milliarde und darüber schwanken können; denn die mögliche Acceptorenzahl wächst in dieser Vorstellung proportional der Keimdicke (!). Diese These ist jedoch sehr einfach durch eine Umkehrung des unter Protokoll 2 beschriebenen Versuchs zu widerlegen.

Protokoll 3. 5 24stündige Agarplatten von *Staphylococcus aureus* werden mit Aqua dest. abgeschwemmt und 3mal gewaschen, hinterher mit 700 ccm Aqua dest. aufgenommen. Nach Herstellung gleichmäßiger Keimdicke (durch Schütteln) werden 70 ccm der Suspension abgetrennt und der Rest durch Zentrifugieren auf 63 ccm eingengt. Nach nochmaligem intensivem Schütteln werden als zweite Suspension 6,3 ccm abgetrennt, die also die gleiche Zusammensetzung wie die ersten 70 ccm, nur in 10fach stärkerer Konzentration

aufweisen. Die restlichen 56,7 ccm werden nochmals auf 5,7 ccm eingengt und so die 100fache Ausgangskeimkonzentration hergestellt. Von jeder der drei Keimkonzentrationen werden 4 ccm in ein Röhrchen abgefüllt und mit 5% Schwefelsäure ana versetzt. Alle 3 Minuten Abimpfung von je 0,1 ccm auf Traubenzuckerbouillon, Ablesung nach 48 Stunden.

Keimdichte	$1,09 \cdot 10^8$	$1,09 \cdot 10^7$	$1,09 \cdot 10^6$
3 Min.	+	+	+
6 „	+	+	+
9 „	+	+	+
12 „	+	+	+
15 „	+	+	+
18 „	+	+	—
21 „	+	+	—
24 „	+	+	—
27 „	+	—	—
30 „	+	—	—
$K = 0,35$	$C = 0,616$	$C = 0,675$	$C = 0,925$

Wenn der Versuch auch nicht so gleichmäßig ausfiel, was ja durch die unvermeidlichen Keimverluste beim Zentrifugieren (Schädigung?) verständlich ist, so zeigt sich trotzdem eindeutig auch hier die Zunahme der Einwirkungszeit bei Erhöhung der Dichte.

Durch die anfängliche gleichmäßige Durchmischung der Keimabschwemmung mußte jede der drei Suspensionen auch die „resistenten“ Formen im Sinne REICHENBACHS enthalten.

Infolgedessen hätten wohl in den höheren Keimkonzentrationen entsprechend mehr Individuen pro Zeiteinheit absterben müssen, aber die Desinfektionszeit durfte sich nicht verlängern. Wenn die Verlängerung aber trotzdem eintrat, so ist dies nur durch die Gültigkeit chemischer Reaktionsgesetze erklärbar, die ihrerseits wieder nur für das einzelne Individuum, wie dargelegt, Zufallsgesetze darstellen. Es scheint einwandfreier, wenn man konstante Keimmengen in gestaffelte Flüssigkeitsmengen einbringt und diese ana mit dem Desinfiziens versetzt. Denn dann ist tatsächlich in jeder Keimkonzentration der gleiche Populationsaufbau gewährleistet. In den hierbei notwendig werdenden großen Flüssigkeitsmengen verteilen sich die Keime jedoch durch Sedimentieren und durch Schlierenbildung sehr ungleichmäßig, so daß große Fehler zustande kommen. Den größten Fehler bedingt jedoch die Entnahme selbst. Entnimmt man nämlich z. B. je 0,25 ccm mit der Pipette, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß sich hierin die resistentesten Formen im Sinne REICHENBACHS finden, wieder dieselbe Funktion der Keimdichte, die man durch die Staffelung der Suspensionsvolumina vermeiden wollte. So ist es kein Gegenbeweis gegen die entwickelten Anschauungen, daß ein derartiger Versuch mit Staphylokokken und *Bact. coli* in Sublimat mißglückte, sondern lediglich die Feststellung der enormen Fehlergröße dieser Versuchsanordnung. Sie wurde deshalb auch nicht wiederholt. In diesem Zusammenhang sei auf die Arbeit von REINER verwiesen, der die Gründe für das Zustandekommen eines ungleichmäßigen Desinfektionserfolges einer theoretischen Beleuchtung unterzogen hat. Ganz exakt wäre REICHENBACHS Vorstellung mit dieser Versuchsanordnung überhaupt nur in der Weise zu widerlegen, daß auch die einzelnen Entnahmevolumina und entsprechend die Nährbodenmenge gestaffelt würde. Dies scheidet jedoch wohl überall an der Kostenfrage. Zusammen mit Protokoll I schließt jedoch das Ergebnis des Protokolls 3 die von HABS gegebene Erklärung des Keimdichteinflusses aus. Wohl mag in einigen Fällen das Desinfektionsmittel durch die adsorptive Wirkung des Bakterienleibes eine um so größere Konzentrationsminderung erfahren, je größer die Einsaat (lebender oder toter Bakterien) gewählt wurde. Hiermit kann jedoch die Keimdichtewirkung weder bei der thermischen noch bei der

Säureabtötung erklärt werden, da sich deren Wirkungsstärke im Verlauf des Prozesses nicht ändert.

Daß also für das einzelne Individuum die Leben-Tod-Alternative durch Zufallsgesetze entschieden wird, beweist zwangsläufig, daß ein Bacterium nur eine geringe Zahl „Acceptoren“ besitzen kann, da sonst kein Zufall mehr herrschen könnte. Genau so steht der Tod des menschlichen Individuums unter dem Zufall, da es eben nur „ein Leben zu verlieren hat“.

Die Protokolle 2 und 3 lehren jedoch ein weiteres. Man könne an sich geneigt sein, aus der Übereinstimmung der empirischen Ergebnisse mit den durch die Gleichung (16) gegebenen Beziehungen das Vorliegen einer echten monomolekularen Reaktion anzunehmen. Wir erhalten aus Gleichung (16) eine für alle Röhren gleiche Reaktionsgeschwindigkeit K . Bei Berechnung der Werte nach Gleichung (15) erhalten wir jedoch bei allen Röhren ein unter sich wie auch von K verschiedenes Ergebnis C . Die Suche nach einer Erklärung führt zur Einführung einer konstanten Größe $a = t \cdot (C - k)$, wobei

$$K = \frac{t_2 C_2 - t_1 C_1}{t_2 - t_1}.$$

9. Die neue Desinfektionsgleichung.

Durch die Auffindung der Größe a lautet die Desinfektionsgleichung, zunächst ohne Rücksicht auf ihre Änderung durch Variation der Intensität des Agens

$$D = D_0 \cdot C^{-K t \pm a} \quad (17)$$

und ihre Auflösung

$$\ln \frac{D_0}{D} = 2,303 \log \frac{D_0}{D} = K t \pm a. \quad (18)$$

Aus Protokoll 2 und 3 errechnen wir a als positive Größe; sie kann auch negativ oder gleich eins sein; hierdurch würde Gleichung (17) in Gleichung (1) übergehen. Da a völlig zeitunabhängig ist, kann man die Gleichung (17) mit denselben Worten verdeutschen, die RIEGER und TRAUNER zur Erklärung der Giftwirkungsgleichung (4) $C^p \cdot t$ konst. und des Exponenten p angewandt haben: Es handelt sich um einen die monomolekulare Reaktion begünstigenden oder hemmenden Zustand, oder um eine mit praktisch zu vernachlässigender Geschwindigkeit verlaufende begünstigende oder hemmende (Neben-) Reaktion.

Ohne weiteres ist man jedoch berechtigt, die Konstante a als natürlichen Logarithmus einer Größe n aufzufassen. Gleichung (18) geht dann über in

$$\ln \frac{D_0}{D} \pm \ln n = K t. \quad (19)$$

Falls a negativ ist, folgert hieraus die Gleichung der akzelerierenden Reaktion

$$D = n D_0 e^{-K t} \quad (20)$$

oder für positives a die Gleichung der retardierenden Reaktion

$$n D = D_0 e^{-K t}, \quad (21)$$

wobei n jeden Wert größer als eins annehmen kann. Für $n = 1$ geht die Gleichung in die der monomolekularen Reaktion über. Als Beispiel für eine retardierende Reaktion:

Protokoll 4. 5 24stündige Agarplatten mit Diphtheriebakterien werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, 3mal gewaschen und hinterher mit reichlich Aqua dest. aufgenommen.

Dann werden 5 cem der Keimsuspension ana mit 2%iger Schwefelsäure versetzt und in Abständen von 6 Minuten mit je 0,25 cem Agarzählplatten angelegt.

Zeit Min.	Keim- dichte	$Ct = 2,303 \log \frac{D_0}{D_t}$	C	K	a	$\log n$	n
0	200000	—	—	—	—	—	—
6	512	5,97	0,99	—	—	—	—
12	240	6,73	0,56	0,127	5,2	+ 2,26	+ 182
18	180	7,02	0,39	0,088	5,4	+ 2,34	+ 219
24	40	8,15	0,34	0,121	5,26	+ 2,28	+ 191
30	25	8,98	0,30	0,121	5,35	+ 2,32	+ 210
Mittel				0,115	5,30	+ 2,30	+ 200

Als Beispiel für eine akzelerierende Reaktion eine Angabe aus der Arbeit von WILLIAMS über den Wärmetod von Heubacillen-Sporen (95° C):

Zeit Min.	Überlebende in Tausend	Log. der Überlebenden	C	K	a	$\log n$
0	22000000	7,342	—	—	—	—
5	13500000	7,130	0,097	—	—	—
10	3500000	6,545	0,183	0,270	— 0,83	— 0,361
20	190000	5,278	0,237	0,285	— 1,04	— 0,452
25	22000	4,342	0,276	0,320	— 1,10	— 0,478
30	150	2,176	0,396	0,457	— 1,83	— 0,795
35	8,6	0,934	0,183	0,197	— 0,48	— 0,208
Mittel				0,306	— 1,05	— 0,456

Für die Vorzeichen von $\log n$ ist die Schreibweise der Gleichung (21) zugrunde gelegt worden. An sich ist das Protokoll von WILLIAMS hier wenig demonstrativ, da auch die neue Reaktionsgeschwindigkeit K noch einen leicht akzelerierenden Gang zeigt. Jedoch soll auf den hiermit zusammenhängenden Fragenkomplex später eingegangen werden. Ohne vorläufig die Bedeutung der Gleichung (20) und (21) und des Faktors n näher zu erörtern, soll jedoch zunächst die Änderung der Größe K bei Variation der Intensität untersucht werden.

Ergebnis zu

Zeit Min.	Methylenblau 1‰				Methylenblau 2‰			
	Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a
0	196480000				196480000			
15—60	unzählbar				unzählbar			
75	„				„			
90	„				„			
105	20000000				20000000	0,0217		
120	20000000				10000000			
135	20000000	0,0169			10000000	0,0221	0,0233	— 0,162
150	20000000				10000000			
165	10000000				5000000			
180	10000000				5000000	0,0204	0,0215	— 0,192
195	10000000	0,0153	0,0116	+ 0,526	5000000			
210	10000000				4000000	0,0185	0,0145	+ 0,800
225	5000000	0,0163	0,0155	+ 0,18	2000000	0,0204	0,0193	+ 0,247
240	2000000	0,0191	0,022	— 0,576	900000	0,0224	0,0230	— 0,144
Mittel		0,0169	0,0163	+ 0,13		0,209	0,0203	+ 0,11

Wenn man einen Desinfektionsversuch mit Endzeiten ansetzt, so geht man meist von der gleichen Keimdichte aus. Wir können daher in der allgemeinen Giftwirkungsgleichung (4) $C^p \cdot t = \text{konst.}$ die Konstante als $\ln \frac{D_0}{D}$ deuten; es ändert sich hieran nichts, wenn wir die Konstante n -mal vergrößert denken. Es ist daher zu erwarten, daß die Kombination beider Versuchsanordnungen zu der endgültigen Gleichung

$$n D_t = D_0 e^{-K^p \cdot t} \tag{22}$$

bzw.

$$D_t = n D_0 e^{-K^p \cdot t} \tag{23}$$

führen wird.

Zur Nachprüfung dieser Vorstellung wurde folgende Versuchsanordnung gewählt.

Protokoll 5. 5 Agarplatten 24stündige Colikultur werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, dreimal gewaschen und mit etwa 80 ccm Aqua dest. aufgenommen. Die Keimaufschwemmung wird in Portionen à 5 ccm in 4 Röhren verteilt, die nun ana mit 1, 2, 5 und 10⁰/₀₀iger Methylenblaulösung versetzt werden. In 1/4stündigen Abständen werden von jeder Konzentration Agarzählplatten angelegt. Ablesung erfolgte nach 24 Stunden.

In Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen von KNAYSİ ergibt sich für alle Konzentrationen ein sehr niedriger Wert der nach Gleichung (1) errechneten Reaktionsgeschwindigkeit C . Die hieraus errechnete Größe K ist sehr wenig von C verschieden; die Größe a pendelt in auffälliger Weise vom Positiven zum Negativen. Es scheint in Anbetracht der geringen Größe von n und ihres unregelmäßigen Verhaltens am richtigsten, sie einheitlich für alle Methylenblaukonzentrationen gleich eins anzurechnen. Die Gleichung für die Absterbekurve lautet dann

$$D = D_0 e^{-C^p \cdot t} = D_0 e^{-K^p \cdot t},$$

wobei sich für p der Wert 0,48 errechnet. Diese letzte Berechnung erfolgt am einfachsten aus der Gleichung $\log C_2 - \log C_1 = p \cdot (\log \text{Konzentration 2} - \log \text{Konzentration 1})$. Es ist dabei sehr erfreulich, wie gering der Fehler der einzelnen Mittelwerte von C ist.

Protokoll 5.

Methylenblau 5 ⁰ / ₀₀				Methylenblau 10 ⁰ / ₀₀			
Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a
196480000 unzählbar				196480000 unzählbar			
”				20000000	0,0345		
”				2000000	0,0510		
2000000				70680	0,0765	0,220	—15,38
2000000				70000	0,0622	0,114	— 5,74
2000000	0,034			70000	0,0588	0,0747	— 2,58
2000000				57600	0,0541	0,0592	— 0,765
2000000				25600	0,0543	0,0584	— 0,676
900000				24000	0,0505	0,0491	+ 0,16
1000000	0,0271	0,0103	+ 3,08	15000	0,0485	0,0465	+ 0,39
800000	0,0262	0,0122	+ 2,94	10000	0,0470	0,0440	+ 0,63
100000	0,0336	0,0333	+ 0,06	7680	0,0451	0,0410	+ 0,92
20000	0,0383	0,0440	— 1,37	600	0,0526	0,0535	— 0,021
	0,0313	0,0226	+ 1,18		0,0532	0,0780	— 2,32

Der beschriebenen Versuchsanordnung haftet ein methodischer Fehler insofern an, als das schädigende Agens bei der Anlage der Zählplatten in den Agar mit übertragen wird und dort, wenn auch verdünnt, evtl. hemmend oder abtötend oder auch als Wachstumsreiz weiterwirkt. Da die übertragenen Methylengblauengen entsprechend den Konzentrationen der Versuchsröhrchen verschieden sind, so ist eine Beeinflussung der Formel durch die Vorgänge im Agar nicht von der Hand zu weisen.

Andererseits setzt das Auswaschen des Desinfektionsmittels mit Kochsalzlösung oder Aqua dest. oder bei den Sublimatversuchen die Nachbehandlung mit Sulfiden eine zweite, quantitativ jedoch nicht ausdrückbare Schädigung. Es wurde deshalb trotz des obigen Einwandes auf solche Verfahren verzichtet.

So war es von besonderem Interesse, den gleichen Versuch mit Wärme durchzuführen; denn in diesem Fall wird die Noxe schon durch die Entnahme mit der Pipette abrupt abgestoppt. Gleichzeitig konnte auf diese Weise die behauptete Gültigkeit der Giftwirkungsgleichung für den Wärmetod auch im eigenen Versuch erhärtet werden.

Ergebnis zu

Zeit Min.	Temperatur 60° Dampfdruck $d = 149$				Zeit Min.	65° $d = 188$			
	Keimzahl	C	K	a		Keimzahl	C	K	a
0	345600000				0	345600000			
10	1114000	0,571			6	1207000	0,943		
20	403200	0,338	0,105	4,66	12	386400	0,567	0,190	4,52
30	172800	0,254	0,096	4,74	18	207360	0,412	0,146	4,79
40	69120	0,213	0,093	4,80	24	76800	0,351	0,147	4,90
50	115200	0,160	0,0573	5,15	30	57600	0,290	0,127	4,89
60	86400	0,1385	0,052	5,06	36	5800	0,358	0,178	6,48
Mittel 0,084				4,90				0,186	5,12

Protokoll 6. 5 Agarplatten 24stündige Colikultur wurden mit Aqua dest. abgeschwemmt, dreimal gewaschen und mit etwa 30 ccm Aqua dest. aufgenommen. Die Keimsuspension wird in Portionen à 5 ccm in 4 Reagensröhrchen gebracht, die nun möglichst gleichzeitig in Wasserbäder bestimmter vorher eingestellter Temperatur gesetzt werden. Zu den angegebenen Zeiten werden mit Proben à 0,25 ccm Agarzählplatten angelegt.

Wie die Tabelle zeigt, handelt es sich hierbei in allen Fällen um retardierende Reaktionen, jedoch zeigt a nur relativ geringe Schwankungen; so daß es wohl noch für die verschiedenen Temperaturen als konstant bezeichnet werden darf. Sein Mittelwert (aus allen Reaktionen gewonnen) beträgt 4,70; n ist also etwa gleich 110.

Die Mittelwerte von K nehmen mit steigender Temperatur stark zu. Aus der Gleichung $(\log 0,98 - \log 0,084) = p (\log 289 - \log 149)$ errechnet sich $p = 3,71$, ein Wert, der sich mit dem zeichnerisch ableitbaren Wert fast völlig deckt. Auch die Abweichungen der einzelnen Mittelwerte von dieser Gleichung sind wiederum nur sehr gering, so lautet die gesamte Gleichung des Absterbevorganges für den im Protokoll wiedergegebenen Versuch

$$110 D_t = D_0 e^{-d^{3,71} \cdot t},$$

wobei d natürlich nicht den Dampfdruck selbst, sondern nur eine ihm proportionale Größe bedeutet.

Man kann die Gültigkeit der Gleichungen (22) bzw. (23) auch in der Weise prüfen, daß man nicht die Intensität der Einwirkung, sondern die Keimdichte variiert.

Protokoll 7. Je 5 Agarplatten 24stündige Kultur von *Staphylococcus aureus* bzw. *Bact. coli* werden mit Aqua dest. abgeschwemmt und dreimal gewaschen. Nun werden die Bodensätze mit 7 ccm Aqua dest. aufgenommen und je drei Keimdichtestufen in den Konzentrationen 1:1, 1:10, 1:100 durch Überpipettieren hergestellt und in gleichen Portionen à 2,7 ccm in Reagensröhrchen abgefüllt. Die Suspensionen werden in ein Wasserbad gebracht, das schon vorher für *Staphylococcus aureus* auf 65°, für *Bact. coli* auf 60° eingestellt wurde. Alle 10 (bis 100) Minuten werden je 0,1 ccm zu Agarzählplatten überimpft.

Betrachten wir das in der Tabelle zusammengestellte Ergebnis der Zählplatten nach 24stündiger Bebrütung, so stellen wir große und grundsätzliche Verschiedenheiten zwischen den beiden Bakterienarten fest. Zwar handelt es sich bei beiden Keimen um typisch retardierende Reaktionen.

Bei den Staphylokokken behält aber auch *K* einen deutlich abnehmenden Gang bei. Dies weist zunächst darauf hin, daß der Wärmetod bei Staphylokokken noch komplizierter verläuft, als es durch die bisherigen Gleichungen

Protokoll 6.

Zeit Min.	70° d = 234				Zeit Min.	75° d = 289			
	Keimzahl	C	K	a		Keimzahl	C	K	a
0	345600000				0	345600000			
3	1250000	1,88			1	1730000	5,30		
6	115200	1,33	0,79	3,24	2	1028000	2,90	0,56	4,80
9	103680	0,904	0,413	4,42	3	105000	2,70	1,345	4,00
12	34560	0,77	0,396	4,48	4	64400	2,15	1,15	4,16
15	27520	0,63	0,317	4,70	5	Fehler			
18	2100	0,666	0,424	4,36	6	20900	1,62	0,89	5,15
			0,467	4,24				0,98	4,54

ausdrückbar ist. Jedoch ist die Größe *a* in ihren Mittelwerten bei allen Keimkonzentrationen innerhalb der Fehlergrenze konstant, im Gesamtmittel ist $a = 10,21$, der Faktor *n* infolgedessen 27000. Wenn wir nun unter Vernachlässigung der fortschreitenden Abnahme auch die Mittelwerte von *K* bei den einzelnen Keimdichten errechnen, so beobachten wir auch hier die Gleichheit

Staphylococcus aureus.

Zeit Min.	Keimdichte 4800000000				480000000				480000000			
	Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a
0	$4,8 \cdot 10^{10}$				$4,8 \cdot 10^9$				$4,8 \cdot 10^8$			
10	576000	1,133			50500	0,145			10600	1,05		
20	86400	0,665	0,197	9,35	12700	0,641	0,177	10,08	1850	0,625	0,200	8,50
30	69200	0,449	0,106	10,6	7110	0,446	0,0985	10,40	1630	0,420	0,105	9,45
40	50300	0,344	0,0805	10,52	4480	0,347	0,0801	10,75	1200	0,324	0,0807	9,88
50	47200	0,277	0,063	10,70	2520	0,289	0,0750	10,72	260	—	—	—
60	30100	0,239	0,0594	10,78	2000	0,245	0,0605	10,77	30	—	—	—
70	19000	0,208	0,0536	10,60	1620	0,213	0,0573	10,89	140	0,215	0,0759	9,76
80	16640	0,186	0,050	10,90	1190	0,190	0,0537	10,91	120	0,190	0,0671	9,84
90	10100	0,172	0,052	9,60	910	0,169	0,0475	10,92	110	0,170	0,0592	9,96
100	2800	0,166	0,0586	10,74	280	0,167	0,0577	10,93	78	0,157	0,0577	9,93
		Mittel	0,0858	10,42			0,0741	10,68			0,0923	9,61

innerhalb der Fehlergrenze; das Gesamtmittel beträgt $K=0,0841$. Im Mittel ist daher der Wärmetod der Staphylokokken darstellbar durch die Gleichung

$$27000 D = D_0 e^{-0,0841 \cdot t}.$$

Der Zahlenwert von K ist bei dieser Versuchsanordnung natürlich nicht als Funktion des Wasserdampfdruckes darstellbar; die Existenz und die Größe von p werden hierbei infolgedessen nicht erfaßt.

Bact. coli.

Zeit Min.	Keimdichte 61 000 000 000				6 100 000 000				610 000 000			
	Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a	Keimzahl	C	K	a
0	$6,1 \cdot 10^{10}$				$6,1 \cdot 10^9$				$6,1 \cdot 10^8$			
10	unzählb.				120000	1,097			90000	0,884		
20	115800	0,670			57600	0,578	0,058	10,40	30100	0,495	0,108	7,56
30	80100	0,452	0,015	13,10	40000	0,398	0,0475	10,51	28800	0,332	0,056	8,28
40	75000	0,341	0,014	13,10	31000	0,304	0,0404	10,52	10000	0,275	0,0713	8,15
50	60800	0,277	0,014	13,15	26400	0,247	0,0345	10,62	860	0,269	0,115	7,70
60	51300	0,233	0,0147	13,10	24800	0,207	0,0286	10,70	560	0,238	0,101	7,86
70	30100	0,208	0,0224	12,99	19300	0,181	0,0280	10,70	210	0,213	0,101	7,84
80	25200	0,184	0,027	12,99	14000	0,162	0,0287	10,65	40	0,204	0,106	7,84
90	10800	0,173	0,0302	12,83	40	0,1835	0,0695	11,15	10	0,199	0,113	7,74
100	200	0,195	0,0765	11,85	86	0,181	0,0793	10,17	0	0,202	0,126	7,60
			0,0372	12,9			0,046	10,60			0,0998	7,83

Bei Bact. coli hingegen beobachtet man bei steigender Keimdichte einerseits Zunahme von a , andererseits Abnahme von K , die infolgedessen beim Wärmetod dieser Keimart Funktionen der Keimdichte sein müssen. Soweit die relativ geringe Versuchsbreite eine Aussage gestattet, scheint $\log n$ dem \log der Keimdichte direkt, $\log K$ dem \log der Keimdichte umgekehrt proportional zu sein $n = g \cdot D_0^q$; $K = \frac{b}{D_0^s}$, wobei b , g , q und s Konstanten bedeuten ($q=0,91$; $s=4,78$). Hierdurch erhält die Gleichung des thermischen Absterbevorganges bei Bact. coli ein äußerst kompliziertes Aussehen.

$$g D_0^q \cdot D = D_0 \cdot e^{-b \cdot D_0^{-s} \cdot t}$$

oder hieraus

$$g D \cdot = D_0^{(1-q)} e^{-b \cdot D_0^{-s} \cdot t}.$$

Hiermit kombiniert sich noch bei entsprechender Versuchsanordnung der Exponent p . Wenn wir aber überlegen, was der eigentliche Sinn dieser komplizierten Gleichung ist, so können wir feststellen, daß die Geschwindigkeit der Reaktion mit steigender Keimdichte abnimmt. Wir gehen wohl nicht fehl mit der Annahme, daß dieses Phänomen durch die Schutzstoffe HÜCKELs und ØRSKOVs zustande kommt, wenn auch der Chemismus dieser Nebenreaktion trotz der mathematischen Formulierung so unklar bleibt wie vorher. Immerhin können wir im Rückblick auf Protokoll 6 feststellen, daß die Reaktion unabhängig von der Temperatur bei jeder Art von Erwärmung verlaufen muß; denn sonst müßte die dort abgeleitete Gleichung ebenfalls diese oder ähnliche komplizierte Struktur erkennen lassen. Im ganzen können wir also konstatieren, daß beim Wärmetod einer 24stündigen Colikultur Schutzstoffe entstehen, die aber nur die absolute Größe der Reaktionsgeschwindigkeit und des Faktors n beeinflussen, ohne daß die Reaktionsgeschwindigkeit K dadurch retardierenden

Charakter erhält. Die Größe K von 24stündigen *Staphylococcus aureus*-Kulturen trägt beim Wärmetod durch einen noch unbekanntem Einfluß retardierenden Charakter, der manchmal mehr, manchmal weniger hervortritt.

Beziehungen zwischen n bzw. a und p können bereits vermutet werden, sie sind jedoch nur an Hand eines größeren Materials eigens darauf abgestellter Versuche formulierbar und in den bisherigen Ergebnissen wenig erkennbar.

Wahrscheinlich sind es solche Beziehungen, deren stillschweigende Eliminierung durch die neue Berechnung den Exponenten p im Wärmeversuch an Colibakterien (Protokoll 6) auf 3,71 verkleinert hat.

Wenn wir nun nach dem biologischen Sinn dieser Gleichungen fragen, so können wir die Gleichungen (22) und (23) unter Vernachlässigung des Exponenten p etwa so verdolmetschen: Wenn die Ausgangskeimdicke D_0 n -mal größer (akzelerierende Reaktion) oder n -mal kleiner (retardierende Reaktion) wäre als sie tatsächlich ist, so wäre der Absterbevorgang eine monomolekulare Reaktion. Man kann dies auch umgekehrt ausdrücken: Wäre die zur Zeit t gefundene Keimdicke D n -mal größer (retardierende Reaktion) oder kleiner (akzelerierende Reaktion) als sie tatsächlich ist, so wäre der Absterbevorgang eine monomolekulare Reaktion.

Eine befriedigende Erklärung dieser merkwürdigen Feststellung ist zunächst nicht möglich.

Für den Fall, daß die Keimdicke niedriger ist, als sie bei Gültigkeit der reinen molekularen Gleichung (1) sein müßte, lassen sich zwar eine Reihe von Erklärungsmöglichkeiten finden. So könnte man beispielsweise sagen: die Keime werden durch die Noxe nicht nur getötet, sondern auch als Vorstufe des Todes geschädigt. Sie wachsen dann einfach nicht mehr aus, obwohl sie noch als lebend gelten müßten. Daß solche Dinge tatsächlich eine Rolle spielen, ist von ISAACS und ferner von MORRISON und RETTGER eingehend studiert und von letzteren mit der treffenden Bezeichnung *dormancy* belegt worden, nachdem BURKE, SPRAGUE und LA VERNE diesen Ausdruck für ähnliche Vorgänge an ungeschädigten Bakterien verwendet hatten. ISAACS stellte fest, daß erhitzte Colibakterien noch nach Tagen auswachsen, und daß die Hemmung um so stärker ist, je höher die Erhitzungstemperatur war. Die Beobachtungen von MORRISON und RETTGER bestätigten dieses Verhalten für Sporen und stellen außerdem noch einen beträchtlichen Einfluß der Nährbodenbedingungen auf die Entwicklung nach der Schädigung fest. Letzten Endes sind diese Dinge aber schon längst durch die große Arbeit von LANGE bekannt und kurz hinterher wieder von HAYAISHI an Pneumokokken nach Optochinbehandlung kulturell und im Tierversuch bestätigt worden. Im übrigen gelingt es, dieses Hemmungsstadium durch geeignete Nachkultur weit besser zu überwinden, als die genannten Autoren, wie es KNORR in seinen qualitativen Catgutuntersuchungen gezeigt hat. Ein großer Teil der hier wiedergegebenen eigenen Versuche wurde ebenfalls an mehreren Tagen abgelesen und dabei Keimzunahmen bis 48 Stunden festgestellt. Lediglich um zu zeigen, wie wenig jedoch der Faktor n durch Hemmung allein erklärt werden kann, ein instruktives Beispiel.

Protokoll 8. 8—24stündige Agarkulturen von *Staphylococcus aureus* werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, dreimal gewaschen und hinterher in Aqua dest. aufgenommen. 3 ccm der Keimsuspension werden ana mit 5%iger Schwefelsäure versetzt und nun zu den angegebenen Zeiten (0 = vor der Schwefelsäureangabe) mit je 0,1 ccm Agarzahlplatten angelegt, die nach 24stündiger und 48stündiger Bebrütung ausgezählt werden.

Zeit Min.	Ablesung nach 24 Stunden				Ablesung nach 48 Stunden			
	Keimzahl in 0,1	<i>C</i>	<i>K</i>	<i>a</i>	Keimzahl in 0,1	<i>C</i>	<i>K</i>	<i>a</i>
0	34000	—	—	—	34000	—	—	—
2	4608	0,195	—	—	5490	0,107	—	—
4	1280	0,420	0,64	0,88	1408	0,393	0,680	1,148
6	740	0,37	0,457	0,52	810	0,355	0,482	0,762
8	320	0,382	0,445	0,52	350	0,372	0,458	0,689
10	110	0,413	0,467	0,54	150	0,382	0,450	0,680
12	15	0,510	0,574	0,768	21	0,482	0,556	0,888
14	2	0,581	0,647	0,925	2	0,581	0,658	1,078
Mittel	—	—	0,538	0,726	—	—	0,547	0,873

Die Kurve bei 24stündiger Ablesung läßt sich also im Mittel ausdrücken durch

$$D = 2,07 \cdot D_0 \cdot e^{-0,538 t},$$

nach 48stündiger Bebrütung

$$D = 2,39 D_0 e^{-0,547 t}.$$

Da die Keimzahlen sich bei den höheren Dichten prozentual stärker vermehrten als bei den niederen Werten, so ist der Kurvenverlauf nach 48 Stunden im ganzen steiler, *k* also größer als nach 24 Stunden. Da es sich außerdem um eine akzelerierende Reaktion handelt, müßte der Ausgangswert D_0 nach 48stündiger Bebrütung noch größer sein als nach 24 Stunden, um eine monomolekulare Reaktion darzustellen. Anstatt also durch das Auswachen der gehemmten Keime die Annäherung an die monomolekulare Reaktion zu verbessern, wird das Gegenteil erreicht. Es würde zu weit gehen, diese Feststellung durch Wiedergabe anderer Kurven zu erhärten; da auch die retardierenden Reaktionen ähnliches ergeben, kann der Erklärungsversuch als unzureichend abgeschlossen werden.

Eine zweite These führt ebensowenig zu einem Ziel. Man könnte behaupten, daß der Absterbevorgang ein Sonderfall des ARNDT-SCHULZschen Grundgesetzes sei, wonach schwache Reize anregen, starke hingegen lähmen. Ist dieser Tötungsreiz stark, so besäße *n* einen großen Zahlenwert, der als Faktor zu D_t tritt. Liegt ein gleich starker, gegenläufiger Wachstumsreiz vor, so wäre $n = 1$, und tritt *n* als Faktor zu D_0 , so wäre der Wachstumsreiz stärker als der Tötungsreiz. Um aber den mathematischen Gegebenheiten der Gleichungen (20) und (21) gerecht zu werden, müßte dieser gegenläufige Wachstumsreiz praktisch zeitlos wirken, d. h. die Erhöhung der Keimdichte müßte sofort eintreten, woran sich dann die eigentliche monomolekulare Abtötungsreaktion anschließen müßte. Trotz der Unwahrscheinlichkeit einer solchen These wurde sie experimentell geprüft. In der Annahme, daß der durch die Reizwirkung vermehrt entstandene Lebensträger subvisibel oder höchstens von der Größenanordnung der „Körnchen“ GROHs oder LODENKÄMPERS sein müßte, wurde eine 24stündige Coli-Bouillonkultur mit 0,25 vol.-%iger Schwefelsäure ana versetzt und anschließend filtriert. Kleine Mengen dieses Filtrates fortlaufend auf Tarozzibouillon gebracht, blieben auch nach mehrtägiger Bebrütung steril. Noch mehr Beweiskraft gegen die genannte These als dieser negative Versuch hatte die Überlegung, daß die plötzliche Vermehrung der Lebensträger unter der Einwirkung des

Desinfizien eine chemische Reaktion sein müsse. Wenn diese praktisch zeitlos und somit gleichzeitig verläuft, so muß der Zufall ausgeschaltet sein. Schließt sich nun hinterher eine monomolekulare Reaktion an, so bedeutet das einen Widerspruch in sich; denn im ersten Fall kann der Zufall nur durch das Vorliegen einer Vielzahl von reagierenden Molekülen ausgeschaltet werden, während die monomolekulare Reaktion, wie wir gesehen haben, gerade nur durch die zufällige Reaktion weniger Acceptoren bedingt wird.

Eine weitere Deutung könnte versuchen, die Realität der akzelerierenden Reaktion zu bezweifeln. Wenn man bei einer echten monomolekularen Reaktion mit einem fehlerhaft zu niedrigen Ausgangswert D_0 rechnet, so erhalten wir eine akzelerierende Reaktion. Würde man z. B. annehmen, daß im Protokoll 8 der Ausgangswert D_0 durch einen Versuchsfehler gefälscht und in Wirklichkeit 2,07- bzw. 2,39fach höher sein würde, so läge nun eine monomolekulare Reaktion vor. Auch ein Wert $n = 2,85$, wie er in dem Beispiel von WILLIAMS auf S. 100 ($\log n = 0,456$) errechnet wurde, wäre noch als Versuchsfehler möglich. Da aber das n der akzelerierenden Reaktion auch Werte von einigen Hunderten erreichen kann, so befriedigt eine solche These nicht hinreichend.

10. Der Faktor n .

Da die Aufstellung der neuen Desinfektionsgleichung die Möglichkeit eröffnete, die Resistenz der Keime in quantitativ leichter vergleichbaren Größen besser als bisher auszudrücken und somit auch die Resistenzschwankungen zu verfolgen, wurde sofort mit entsprechenden Untersuchungen begonnen, über deren Ergebnisse hier jedoch nicht berichtet werden kann. Der Zweck dieser Untersuchungen erforderte jedoch eine Methodik, deren Einfachheit die Garantie einer gleichmäßigen Durchführbarkeit auch auf längere Sicht bot. Da es auf diese Weise möglich wurde, die große Reihe der neu entstandenen Fragen in raschem Zuge und mit großem Material zu behandeln, so wurden den Untersuchungen über die Resistenzschwankungen die Versuche zur Klärung des Faktors n soweit tunlich parallel geschaltet. Durch diese Verflechtung erhielten beide Probleme eine weitaus sicherere Grundlage, als sie die getrennte Behandlung hätte bieten können. Umgekehrt ermöglichte es diese breite Basis, die Versuchsanordnung bei Wahrung aller erforderlichen Einzelheiten auf das Minimum zu reduzieren. So stützten sich die folgenden Feststellungen auf nahe 600 Versuche, deren Wiedergabe hier jedoch auf das Notwendige beschränkt werden muß.

Nach einigen orientierenden Vorversuchen bildete sich folgende Versuchsanordnung als die zweckmäßigste heraus. Die Überimpfungen und die Versuche selbst werden stets zur gleichen Tageszeit mittags zwischen 12 und 13 Uhr vorgenommen.

Die Kulturen der zu prüfenden Keime werden immer in der Weise gewonnen, daß die eigentliche Versuchskultur von einer 24stündigen Agarplatte abgeimpft wird. Auch wenn der Einfluß des Alters der Kultur geprüft werden sollte, und hierfür neben 24stündigen auch 48- und 72stündige Kulturen benötigt wurden, so wurde immer von 24stündigen Kulturen ausgegangen.

Als Nährmedium für die Versuchskultur dient Traubenzuckerbouillon üblicher Zusammensetzung. Bei einem anfänglichen Teil der Versuche wurde die

Versuchskultur auf Agar gezüchtet, dann mit Aqua dest. dreimal gewaschen und in Aqua dest. aufgenommen. In den späteren Versuchen wurde vorbebrütete Traubenzuckerbouillon in abgemessener Menge von 10 ccm mit 1 Öse 24stündiger Agarkultur beimpft und 24 bzw. 48 und 72 Stunden bei 37° bebrütet.

1 ccm der Versuchskultur wird im Reagensglas mit 2 ccm steriler Traubenzuckerbouillon verdünnt und nun etwa 30 Minuten vor Zugabe des Desinfiziens in ein Wasserbad von 18° gebracht. Die Keimdichte wird durch Zählplatten bestimmt, die nach 24 Stunden ausgezählt werden.

Als Desinfiziens dient Schwefelsäure, die für die resistenteren Formen (*Staphylococcus aureus*) in der Konzentration von 0,75 Vol.-% (= 0,141 molar), für die weniger resistenten (*Bact. coli*) mit 0,25 vol.-%iger (= 0,047 molar) Anwendung kommt. Zur Herstellung der verdünnten Schwefelsäure wird neutrales Aqua dest. verwendet; es werden immer 250 ccm verdünnte Säure hergestellt, die in brauner Flasche aufbewahrt wird und nun langsam verbraucht wird.

Gleichzeitig mit den Keimverdünnungen wird für jedes Röhrchen ein Röhrmit 3 ccm verdünnter Schwefelsäure der betreffenden Konzentration in das Wasserbad gestellt, bis Säure und Keimaufschwemmung sich auf 18° eingestellt haben, was in einem hierfür aufgestellten Kontrollröhrchen mit Quecksilberthermometer kontrolliert wird.

Nun wird mit raschem Schwung die Säure in die Keimaufschwemmung gegossen, wonach das Röhrchen zwecks guter Durchmischung kurz geschüttelt, aber hierbei nicht aus dem Wasserbad entfernt wird. Nach gestoppten 3 bzw. 8 Minuten werden je 0,25 ccm der Mischung unter gleichzeitigem kurzen Schütteln abpipettiert und Agargußplatten angelegt, die ebenfalls nach 24stündiger Bebrütung bei 37° ausgezählt werden.

Obwohl festgestellt wurde, daß die Behandlung des Agars auf das Ergebnis keinen wesentlichen Einfluß ausübt, wird diese doch soweit als möglich gleichmäßig durchgeführt. Der Agar wird in Hochagarröhrchen je 15 ccm etwa 30 Minuten vor Zugabe des Desinfiziens mit kaltem Wasser aufgesetzt, verflüssigt, rasch auf etwa 60° gekühlt und nun in ein Wasserbad von 50° gebracht, wo er bis zu seiner Verarbeitung bleibt.

Anfänglich wurde angestrebt, für die Gußplatte einen Agar zu verwenden, der auch bei Verwendung auf längere Sicht eine absolut gleichmäßige Zusammensetzung verbürgt. Es wurde daher ein Agar angesetzt, der zu 1% aus LIEBIG'S Fleischextrakt (Firma Brunnengräber, Lübeck), 1% Pepton Witte für bakterielle Zwecke, 0,3% NaCl, 0,2% K₂HPO₄, 2% Fädenagar bestand und mit einer Alkali-Standardlösung auf ein p_H = 7,5 eingestellt war. Da dieser Nährboden auch ungeschädigte Keime nur beschränkt zur Entwicklung brachte, konnte er keine befriedigenden Ergebnisse liefern.

Eine Verbesserung des beschriebenen Agars, der außer den genannten Bestandteilen noch Dextrose, Lactose, Na₂HPO₄, (NH₄)₂SO₄, dreibasisches Natriumcitrat und eine größere Menge Kochsalz enthielt, befriedigte ebensowenig. Notgedrungen wurde daher von der Normalisierung des Zucht- und Gußplattenagars abgesehen und auf die Bereitstellung der notwendigen Rohsubstanzen verzichtet. Zur Verwendung kommt heute infolgedessen der für den Gesamtbedarf des Instituts serienmäßig hergestellte Agar, dessen Rezept lautet:

2% Agar, 1% selbsthergestelltes Pepton, 0,2% K_2HPO_4 , 1% Trypton, 0,2% dreibasisches Natriumcitrat, 0,1% Ammoniumsulfat, 0,004% Calciumchlorid und 0,004% Ferrocitrat, 4% Serumalkalialbuminat (KLEIN) und 0,65% Cenovisextrakt, p_H ad 7,5.

Von diesem Agar wird ein größeres Quantum, etwa ein Monatsbedarf, in Kolben und von hier aus je nach Bedarf auf Hochagarröhrchen abgefüllt und so bis zum Verbrauch kühl und dunkel aufbewahrt.

Für die Züchtung der Keime wird heute die hausübliche Traubenzuckerbouillon folgender Zusammensetzung verwendet: 1% selbsthergestelltes Pepton, 1% Trypton, 0,2% Pepton Witte + 0,2% Pepton e carne Merck, 0,2% dreibasisches Natriumcitrat, 0,2% K_2HPO_4 , 0,004% Ferrocitrat, 0,004% $CaCl_2$, 0,25% Cenovisextrakt, p_H ad 7,5, dazu 2% Traubenzucker (Dextropur). Da das selbsthergestellte Pepton bzw. Trypton bereits die nötigen Kochsalzmengen enthält, wird dieses nicht mehr zugefügt.

Die Nährböden werden in solchen Mengen hergestellt bzw. aufbewahrt, daß im Zug einer größeren Versuchsreihe (etwa pro Monat) nur Fabrikate gleicher Herstellung verwendet werden.

Die Berechnung der Ergebnisse wird mit Logarithmentafel (vierstellig) und Rechenschieber durchgeführt, dessen Genauigkeit immer noch das mehrfache des Notwendigen darstellt. Eine Überspitzung der Genauigkeitsansprüche würde sich sehr bald durch die nutzlose Vermehrung der ohnedies langwierigen und mühseligen Rechenarbeit ihr eigenes Grab bereiten.

Die Rechnung wird nach dem auch im folgenden angewandten Schema durchgeführt. Der Reihe nach werden neben Datum, Keimart und Kulturalter die Ausgangsdichte D_0 , und die Keimdichten D_3 und D_8 nach 3 und 8 Minuten, bezogen auf den Kubikzentimeter, protokolliert. Aus der Gleichung

$$C = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{D_0}{D_t} = \frac{1}{t} \cdot 2,303 \cdot \log (D_0 - \log D_t)$$

wird die scheinbare Reaktionsgeschwindigkeit C_3 und C_8 nach 3 und 8 Minuten errechnet und notiert. Hieraus wird nun $K = \frac{1}{t_2 - t_1} \left(\ln \frac{D_0}{D_2} - \ln \frac{D_0}{D_1} \right)$ errechnet, wobei sich für die geschilderte Versuchsanordnung das Schema $K = \frac{2,303}{5} (\log D_3 - \log D_8)$ ergibt. Die Größe a berechnet sich nun sehr einfach aus $a = t(C_t - K)$, d. h. wir können a durch die beiden Gleichungen $a = 3 \cdot (C_3 - K) = 8 \cdot (C_8 - K)$ feststellen, wodurch eine sofortige Kontrolle auf Rechenfehler möglich ist. Durch die Verwendung des Rechenschiebers ergeben sich jedoch meist geringe Differenzen zwischen den aus C_3 und C_8 errechneten Werten von a , die dann unbedenklich gemittelt werden. Nur bei größeren Differenzen wird noch einmal das Ganze durchgerechnet.

Selbstverständlich hat die Methodik ihre schwachen Seiten. Durch die Beschränkung auf nur drei Keimdichtebestimmungen wird zwar die mathematische Behandlung der Werte einfacher, aber dafür wird eine Bestimmung der Fehlergröße des einzelnen Wertes unmöglich, so daß erst eine größere Zahl kongruenter Ergebnisse Aussagen gestattet. Dafür erlaubt aber die Einfachheit der Methodik, die Versuche auch zu jenen Zeiten durchzuführen, in denen eine stärkere Inanspruchnahme des Betriebes kompliziertere Versuchsanordnungen undurchführbar machen würde.

Mit dieser Beobachtung wurde neben der Beobachtung der Resistenzschwankung die Untersuchung über die Abhängigkeiten von K und insbesondere von n durchgeführt.

Von vornherein konnte erwartet werden, daß die Größe von n durch die Bakterienart selbst bestimmt wurde. Dies bestätigt sich im folgenden Versuch.

Protokoll 9.

Keimart	H ₂ SO ₄ %	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Staphylococcus aureus	0,75	430000000	684000	124680	2,14	1,02	0,34	5,41	2,35	224
Diphtheriebacillen	0,75	160000000	40	20	5,08	1,98	0,14	14,78	6,42	2630000
Bact. prodig.	0,75	250000000	44	16	5,18	2,07	0,20	14,95	6,50	3160000
Bact. coli	0,25	806400000	804200	248000	2,30	1,01	0,23	6,22	2,70	501
Bact. typhi	0,25	158000000	240	96	4,46	1,81	0,22	12,70	5,52	331000

Trotz der enormen Unterschiede von n ist K von einer einheitlichen Größenordnung, wenn auch natürlich die verschiedene Schwefelsäurekonzentration berücksichtigt werden muß. Doch ist aus verschiedenen, nicht näher untersuchten Gründen zu erwarten, daß die Schwefelsäurereaktion gehemmt mit einem $p < 1$ verläuft, so daß der Wert von K bei den drei ersten Bakterienarten immer noch größer als ein Drittel des angegebenen Wertes wäre, falls diese Bakterien mit 0,25%iger H₂SO₄ behandelt worden wären.

Die Abhängigkeit von K und n von der Art des Desinfiziens war ebenfalls zu erwarten. Es sei hier verwiesen auf den unter Protokoll 5 angegebenen Methylenblauversuch, in dem ein Wert $n=1$ angenommen wurde. Werte in unmittelbarer Nachbarschaft von 1 lassen sich auch aus den Methylenblauversuchen von KNAYSI errechnen. Insbesondere für die Wärmeabtötung ergibt sich eine starke Abhängigkeit von n von der Art des Prozesses, namentlich bei den Bakterien, die zur Schutzstoffbildung neigen. Hier sollen die durch die Verwendung von Zephirol in 1⁰/₁₀₀iger Lösung erzielten Werte mit den Schwefelsäurewerten verglichen werden.

Protokoll 10.

Keimart	Alter Std.	H ₂ SO ₄ %	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Staphylococcus aureus	24	0,75	345600000	38400	5430	3,04	1,38	0,39	7,94	3,44	2750
	48		960000000	5120	5120	3,28	1,23	0,00	9,86	4,28	19100
	72		294000000	1792	1280	4,00	1,54	0,07	11,78	5,12	132000

Keimart	Alter Std.	Zephirol ‰	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Staphylococcus aureus	24	1,0	345600000	280000	200000	2,37	0,93	0,07	6,89	2,95	891
	48		960000000	120000	52000	2,23	0,94	0,19	6,06	2,63	427
	72		294400000	84200	48000	2,72	1,09	0,11	7,84	3,40	2510

In den Versuchen mit Bact. coli war bei Vergleich der Zephirol- mit der Schwefelsäurewirkung regelmäßig zu beobachten, daß K bei ersterer stets kleiner, n aber gleich oder größer war als bei der letzteren. Hierfür als Beispiel Protokoll 11.

Protokoll 11.

Keimart	Alter Std.	Behandlung	D_0	D_1	D_2	C_1	C_2	K	a	$\log n$	n
Bact. coli	24	0,25% H_2SO_4	250000000	680000	280000	1,97	0,99	0,39	4,88	2,07	118
	48		200000000	480000	196000	2,01	0,86	0,18	5,47	2,38	240
	72		150000000	240000	96000	2,14	0,92	0,19	5,85	2,54	347
	24	1/100 Zephirol	250000000	520000	480000	2,06	0,77	0,01	6,15	2,67	468
	48		200000000	456000	400000	2,03	0,78	0,04	5,94	2,58	381
	72		150000000	324000	348000	2,05	0,76	—0,01	6,17	2,68	479

Der Einfluß des Kulturalters auf die Werte von K und n geht aus diesen und den folgenden Protokollen deutlich hervor. Die 72stündige Kultur weist mit ganz seltenen Ausnahmen große Werte auf, ist also stets weniger resistent als die 24stündige; die 48stündige Kultur pendelt mit ihren Werten ganz unregelmäßig, so daß sie einmal am resistentesten, das andere Mal am anfälligsten scheint; im Durchschnitt hält sie jedoch die Mitte zwischen beiden.

Nach dem früher Gesagten war zu erwarten, daß auch die Zusammensetzung des Nährmediums bei Vor- und Nachkultur nicht ohne Einfluß auf die Zahlenwerte sein würde. Verwendet man jedoch Nährböden, die für die betreffende Bakterienart optimal sind, so ist ein solcher Einfluß nicht deutlich. Die beobachteten Differenzen liegen innerhalb der Fehlergrenze. Es wurde an Bact. coli und Staphylococcus aureus der Versuch mit den gewöhnlichen Agarzählplatten durchgeführt und täglich parallel hierzu sämtliche Zählplatten mit einer zweiten Nährbodenart angesetzt; so wurden filtrierter LEVINTHAL-, Traubenzucker- und Milchzuckeragar und für Bact. coli auch noch Endoagar ausprobiert.

Protokoll 12.

Keimart	Nachkultur	H_2SO_4	D_0	D_1	D_2	C_1	C_2	K	a	$\log n$	n
Staphylococcus aureus, 24stündige Kultur	gew. Agar	0,75%	60000	8300	2100	0,66	0,42	0,28	1,14	0,497	3,14
	Levinthal-Agar		62000	8000	2500	0,68	0,40	0,23	1,34	0,583	3,83
	Traubenzucker		62000	8400	2400	0,67	0,41	0,25	1,24	0,538	3,45
Bact. coli, 24stündige Kultur	gew. Agar	0,25%	62000	4200	400	0,898	0,63	0,47	1,29	0,558	3,61
	Levinthal		62000	4000	400	0,915	0,63	0,46	1,36	0,592	3,91
	Traubenzucker		62000	4500	510	0,875	0,60	0,44	1,30	0,565	3,67
	Endoagar		62000	4800	500	0,855	0,603	0,45	1,21	0,525	3,35

Diese Tabelle könnte noch um weitere 24 Doppelversuche erweitert werden, die, wenn auch oft mit größerem Fehler als im obigen Beispiel, doch prinzipiell den geringen Einfluß des Nährbodens auch bei der 48- und 72stündigen Kultur bestätigen.

Interessant ist die Feststellung, daß für die Vorkultur selbst gleichgültig ist, ob fester oder flüssiger Nährboden verwendet wird, wenn auch HAMPIL über einen Einfluß der in der Vorkultur verwendeten Peptinart berichtet. Bei Sporen hingegen findet HAROLD eine weit geringere Thermoresistenz der auf flüssigen Nährböden gezüchteten gegenüber den festen Kulturen (wegen des Eigenwassergehaltes?). Im folgenden wird der Versuch in der beschriebenen Anordnung mit einem Parallelversuch verglichen, bei dem statt 3 ccm Bakterien-Traubenzucker-

zuckerbuillonsuspension 3 ccm wäßrige Aufschwemmung von auf Agar gezüchteten, dreimal mit Aqua dest. gewaschenen Keimen verwendet werden.

Protokoll 13.

Keimart	Alter Std.	Behandlung	H ₂ SO ₄	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Staphylococcus aureus	24	in Traubenzuckerbouillon	0,75%	26000000	8600	2120	2,67	1,18	0,28	7,19	3,10	1260
	48			10000000	5200	1320	2,52	1,12	0,27	6,77	2,94	871
	72			12100000	200	0 ¹	3,68	2,04	1,06	7,85	3,41	2570
	24	auf Agar gezüchtet, dann 3mal gewaschen		150000000	147160	56840	2,31	0,985	0,19	6,36	2,76	576
	48			125000000	58880	12800	2,56	1,20	0,29	6,52	2,83	676
	72			128000000	31100	4960	2,77	1,27	0,37	7,18	3,12	1320

Keimart.	Alter Std.	H ₂ SO ₄	Behandlung	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Bact. coli	24	0,25%	in Traubenzuckerbouillon	200000000	60000	10400	2,71	1,23	0,35	7,07	3,06	1150
	48			250000000	32000	8400	3,06	1,29	0,22	8,53	3,70	5010
	72			150000000	28000	1400	2,86	1,45	0,60	6,78	2,94	871
	24		auf Agar gezüchtet, dann 3mal gewaschen	200000000	68000	34000	2,66	1,08	0,14	7,54	3,29	1950
	48			200000000	56000	12000	2,73	1,22	0,30	7,35	3,19	1550
	72			200000000	56000	2400	2,73	1,42	0,63	6,31	2,74	550

Trotz der besonders bei Staphylococcus aureus großen Differenzen der absoluten Zahlen liegen die Differenzen von *K* und *n* absolut innerhalb der Fehlergrenze, die bei kongruenter Methodik feststellbar ist. Jedoch wäre es voreilig, hieraus auch auf einen geringen Einfluß des Waschens zu schließen; daß im Gegenteil die Reaktion durch das Waschen tiefgreifend verändert werden kann, soll später noch gezeigt werden. Auch WINSLOW und BROOKE haben auf den Einfluß des Waschens hingewiesen.

Auch die Behandlung des Zählplattenagares ist ohne große Bedeutung. Als einziger bei der gewählten Versuchsanordnung möglicher diesbezüglicher Versuchsfehler könnte es vorkommen, daß der Agar zu lange oder zu intensiv erhitzt wird. Es wurde deshalb der Agar parallel zur üblichen Versuchsanordnung vor der Verarbeitung zu Gußplatten 1 Stunde lang gekocht.

Protokoll 14.

Keimart	Alter Std.	H ₂ SO ₄	Agar	D ₀	D ₁	D ₂	C ₁	C ₂	K	a	log n	n
Staphylococcus aureus	24	0,75%	normal	172800000	14560	5200	3,13	1,30	0,20	8,78	3,81	6460
	48			57600000	5600	1200	3,08	1,35	0,31	8,31	3,61	4070
	72			12800000	1200	800	3,09	1,21	0,06	9,12	3,96	9120
	24		1 Std. gekocht	175000000	14400	5200	3,13	1,31	0,22	8,74	3,79	6170
	48			60000000	5200	1240	3,12	1,35	0,29	8,49	3,68	4790
	72			13000000	1240	840	3,08	1,20	0,08	8,98	3,90	7940
Bact. coli	24	0,25%	normal	256000000	25200	5600	3,08	1,34	0,30	8,35	3,62	4170
	48			110000000	12000	2200	3,04	1,35	0,34	8,25	3,58	3800
	72			22000000	2400	920	3,04	1,26	0,19	8,56	3,71	5130
	24		1 Std. gekocht	254000000	26000	6000	3,06	1,33	0,30	8,26	3,58	3800
	48			112000000	12000	1800	3,05	1,38	0,38	8,00	3,47	2950
	72			22000000	2200	800	3,07	1,28	0,20	8,62	3,74	5500

¹ Hier wurde statt Null ein Keim angenommen.

Auch das mehrfache Aufkochen des Agars ist ohne Einfluß, wie entsprechende Versuche mit 6mal aufgekochtem Agar zeigten.

Die eingeschlagene Methodik ist daher nicht nur bedenkenfrei, sondern geht sogar noch über das notwendige Maß von Vorsichtsmaßnahmen hinaus. Insbesondere sind von der Verwendung des hausüblichen Agars keine störenden Einflüsse zu erwarten.

Gehen wir zwecks Feststellung der Versuchsfehlergröße von der Annahme WOLFFHÜGELS aus, daß der Fehler der einzelnen Plattenzählung 40% nicht zu überschreiten pflegt, so kommen wir zu der Frage, wie sich ein solcher Maximalfehler auf die Größe von K und a bzw. n auswirkt. Aus der allgemeinen Desinfektionsgleichung berechnet sich $K = \frac{1}{t_2 - t_1} (\ln D_1 - \ln D_2)$; die Ausgangsdichte D_0 hat also gar keinen Einfluß auf die Größe von K . Nehmen wir nun an, daß bei der Bestimmung von D_1 und D_2 beide Male der Maximalfehler, aber mit entgegengesetzten Vorzeichen, begangen worden sei, so ergibt sich für unseren Sonderfall $K = \frac{2,303}{5} (\log 1,40 D_1 - \log 0,60 D_2) = K_0 \pm 0,17$. Läßt man den Versuch von 2 Personen ausführen, von denen die eine den Fehler $+0,17$, die andere den Fehler $-0,17$ begeht, so weisen die beiden Ergebnisse eine Maximaldifferenz von 0,34 auf. Zur Berechnung der möglichen Fehlergröße von a bzw. n dient die Gleichung $a = t(C - K) = t \left(\frac{1}{t} \cdot \ln \frac{D_0}{D_t} - K \right)$. Hieraus ergibt sich für a in unserem Sonderfall ein Fehler bis zur Größe $\pm 2,208$; bei der Untersuchung durch 2 Personen und einem Maximalfehler von 40% kann n in unserer Versuchsanordnung um das 18fache schwanken. Kleine negative Werte von K , die also besagen, daß nach 8 Minuten mehr Keime gefunden wurden, liegen innerhalb der Fehlerbreite. Ein solcher Fall ist z. B. im Protokoll 11, letzte Zeile, wiedergegeben. Nun ist es auffällig, daß in der bisherigen Versuchsreihe immer wieder einmal Werte von K vorkommen, die ganz aus dem Rahmen der übrigen Versuche des betreffenden Tages herausfallen. Ein solches Verhalten zeigt z. B. der im Protokoll 13, Zeile 3, angegebene Versuch. Immerhin sind solche Fälle nicht häufig, ihr Vorkommen beträgt etwa 7% aller Versuche.

Soweit die angeführten und weitere Versuche über den Einfluß des Nährbodens usw. negativ waren, konnten aus ihnen Anhaltspunkte über den mittleren Fehler der Versuchsanordnung auch empirisch gewonnen werden. In je 35 solchen Doppeluntersuchungen betrogen bei *Staphylococcus aureus* die Schwankungen von K im Mittel $\pm 0,162$, während n um das 2,02fache schwankte. Bei *Bact. coli* schwankte K um $\pm 0,088$, n um das 2,26fache. Im Vergleich beider Keimarten drücken diese Zahlen die Tatsache aus, daß die säurebehandelten Staphylokokken eine ungenauere Keimdichtebestimmung liefern, als die gleichbehandelten Colibakterien, also physikalisch-chemisch gesehen, labiler reagieren. Die Fehler in der Bestimmung der Ausgangsdichte sind in beiden Fällen geringer.

Das gleiche ergab sich, als die Keimzählungen kontrollhalber durch zwei Assistentinnen parallel aus den gleichen Röhren durchgeführt wurden. In 21 solchen Doppeluntersuchungen an Colibakterien ergab sich eine mittlere Schwankung von K , die mit $\pm 0,12$ kleiner war, als die mittlere Schwankung bei den Untersuchungen der einen Assistentin; n verhielt sich entsprechend. Interessant ist die Feststellung, daß die neu zutretende Assistentin, welche

Protokoll 15. 9. 3. 38.

Keimart	Alter Std.	H ₂ SO ₄ %	D ₀	D ₃	D ₈	C ₃	C ₈	K	α	log n	n · D ₀
Staphylococcus aureus	24	0,75%	246800000	196000000	20000	0,076	1,17	1,83	5,27	2,28	191
	48		512000000	340000000	6000	0,133	1,13	1,73	4,80	2,08	120,2
	72		130000000	56000000	2000	0,281	1,07	1,54	3,76	1,63	42,7
Bact. coli	24	0,25%	480200000	300400000	101600000	0,156	0,156	0,217	0,183	0,0796	1,201
	48		130000000	100800000	44800000	0,0845	0,133	0,163	0,238	0,103	1,268
	72		153600000	116000000	48400000	0,0935	0,144	0,174	0,240	0,104	1,271

mit der Zählplattenmethodik bereits vielfach gearbeitet hatte, stets um im Mittel 16% höhere Absolutwerte der Keimdichten erzielte. Solche Differenzen, die wohl durch andere Handhabung der Pipette bzw. höhere Mensusablesung zustande kommen, haben jedoch auf die Relativwerte *K* und *n* keinen Einfluß.

Ein grundsätzlich anderes Verhalten ergab sich jedoch in den 21 Paralleluntersuchungen an *Staphylococcus aureus*. Hier fand die neu hinzutretende Assistentin zwar nach 8 Minuten ebenfalls höhere, bei 3 Minuten jedoch um etwa 60% geringere Werte als die andere. Wenn auch die beiden Werte nicht unmittelbar miteinander verglichen werden können, da die beiden Assistentinnen die Proben aus den gleichen Röhren, also zeitlich nacheinander entnehmen (die eine nach 3 und 8 Minuten, die andere etwa nach 4 und 9 Minuten), so wird dieses Ergebnis gerade durch diese Versuchsanordnung zunächst doppelt unverständlich. Dieses Verhalten ändert sich auch dann nicht, als beide Assistentinnen völlig getrennte Versuchsreihen ansetzten. Es ließ sich nun wahrscheinlich machen, daß die Differenz in irgendwelchen technischen Verschiedenheiten beim Plattenguß selbst begründet sein mußte; denn eine Versuchsreihe, in der verschiedene Bakterienarten vor und während der ganzen Versuchsdauer im Schüttelapparat geschüttelt wurden, ergab keine verwertbaren Unterschiede gegenüber den ungeschüttelten Parallelproben.

Die nunmehrige Kontrolle der Methodik beider ergab, daß die neu zugetretene Assistentin die Durchmischung der entnommenen Probe mit dem flüssigen Agar so vornahm, daß sie die PETRI-Schale auf dem Laboratoriumstisch, also in einer Ebene, im Kreis bewegte, während die andere Assistentin die PETRI-Schale leicht anhob, und sie nun in den drei Richtungen des Raumes schaukelte. Als nunmehr dieser Akt der Gußplattenherstellung ausschließlich dieser Assistentin übertragen wurde, verschwanden die Differenzen der Verhältnisse *D*₃ : *D*₈ zwischen den beiden Assistentinnen schlagartig.

Hieraus erhellt nicht nur der große Einfluß der Methodik auf das Ergebnis und die Notwendigkeit, größere Versuchsreihen durch eine Hand ausführen zu lassen, sondern auch die Verschiedenheit von Staphylokokken und Colibakterien bezüglich ihrer physikalisch-chemischen Stabilität.

Überblicken wir die bisherigen Abhängigkeiten von *n*, so finden wir Abhängigkeit von der Natur der reagieren-

den Körper Keim und Desinfiziens, auch hinsichtlich einer physikalisch-chemischen Stabilität, die sich als methodischer Einfluß beim Plattenguß verrät, jedoch weitgehende Unabhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährbodens. Die Deutung der grundlegenden Vorgänge wird jedoch durch weitere Beobachtungen kompliziert. So gibt es Tage, an denen die sonst retardierende Schwefelsäurekurve akzelerierend verläuft. Hierbei können wieder zwei Verlaufstypen unterschieden werden. Bei Typ I ist a negativ und K klein, bei Typ II ist a negativ und K groß [s. Gleichung (19)].

Das Protokoll 15 stellt den Kulinationspunkt einer vom 7.—10. 3. 38 dauernden Periode unregelmäßiger Werte (= Abweichungen vom retardierenden Kurvenverlauf) dar. Der durch die Colizahlen wiedergegebene Typ I ist sehr selten (bisher nur damals beobachtet) stellt aber den theoretisch wichtigen Gegenpol zu der retardierenden Reaktion dar. Allerdings läßt der niedrige n -Wert die Deutung zu, daß es sich in Wirklichkeit um eine monomolekulare Reaktion handelt, bei der nur zufälligerweise die D_0 -Werte um 20—27% zu niedrig bestimmt worden sind. Jedenfalls liegt die Abweichung von der monomolekularen Reaktion noch weit innerhalb der mittleren Fehlerbreite.

Der durch die Staphylokokken wiedergegebene Typ II ist nicht allzu selten und kann nach den bisherigen Erfahrungen etwa 1—2mal im Monat beobachtet werden. Jedoch erscheint es fraglich, ob für diese Tage überhaupt die Gleichung (20) gilt; vermutlich tritt der durch den Faktor nD_0 charakterisierte Zustand an solchen Tagen langsamer ein, so daß n eine Funktion der Zeit, d. h. ein Prozeß wird, wodurch dann K die sonst durchschnittlich gültigen Werte von 0,20—0,40 annehmen könnte.

Diese auffälligen Feststellungen können noch erweitert werden. Nicht jedes-

Protokoll 16. 29. 3. 38.

Keimart	Alter Std.	H ₂ SO ₄ %	D ₀	D ₃	D ₈	C ₃	C ₈	K	a	log n	n · D _t
Staphylococcus aureus	24	0,75%	345 600 000	38 400	5 430	3,04	1,38	0,39	7,94	3,44	1 : 2750
	48		96 000 000	5 120	5 120	3,28	1,23	0	9,86	4,28	1 : 19100
	72		294 000 000	1 792	1 280	4,00	1,54	0,07	11,78	5,12	1 : 132000
Bact. coli	24	0,25%	300 000 000	200 000 000	160 000	0,135	0,94	1,43	— 3,91	— 1,69	49
	48		250 000 000	200 000 000	200 000	0,075	0,89	1,38	— 3,92	— 1,70	50,2
	72		160 000 000	120 000 000	120 000	0,096	0,90	1,38	— 3,84	— 1,67	46,8
Keimart	Alter Std.	Zephirol	D ₀	D ₃	D ₈	C ₃	C ₈	K	a	log n	n · D _t
Bact. coli	24	1 ⁰ / ₁₀₀	300 000 000	400 000	200 000	2,20	0,92	0,14	6,21	2,70	502
	48		250 000 000	400 000	160 000	2,15	0,92	0,16	6,02	2,62	417
	72		120 000 000	200 000	80 000	2,23	0,05	0,19	6,10	2,65	446

∞ *

Protokoll 17.

Kelmart	Alter Std.	H ₂ SO ₄	D ₀	D ₃	D ₆	C ₃	C ₄	K	a	log n	n · D ₀
Staphylococcus aureus	24	0,75%	410000000	80000	600	2,84	1,68	0,98	5,95	2,42	1:263
	48		500000000	21000	0 ¹	2,59	2,22	1,98	1,88	0,873	1:7,47
	72		250000000	9600	0 ¹	2,62	2,13	1,83	2,40	1,04	1:11
Bact. coli	24	0,25%	250000000	152000000	20400	0,166	1,17	1,78	— 4,96	— 2,11	129
	48		200000000	44000000	0 ¹	0,505	2,39	3,52	— 9,05	— 3,92	8330
	72		100000000	84000000	0 ¹	2,36	2,30	2,27	+ 0,266	+ 0,115	1:1,31

mals, wenn eine Bakterienart eine solche „Resistenzzacke“ zeigt, reagiert auch eine zweite oder dritte Art. Insbesondere zeigt *Bact. coli* diese Zacken häufiger als *Staphylococcus aureus*. So zeigte *Bact. coli* am 29. 3. 38 eine isolierte Zacke, auf die *Staphylococcus aureus* nicht ansprach.

Da an diesen Tagen zufällig die bereits erwähnte Doppelzählung durch zwei Assistentinnen stattfand, so konnte dieses Ergebnis doppelt bestätigt werden.

Auffällig ist nun die Feststellung, daß es sich hierbei um einen ausgesprochenen Tageseinfluß handeln muß. Denn sowohl 3 und mehr Tage vor- wie hinterher ist in den Versuchen keine Besonderheit zu erkennen. Wäre hier beispielsweise ein Einfluß des Wachstums am Werke, so müßte eine 24stündige Kultur anders reagieren als die 72stündige, die länger unter diesem Einfluß steht. Umgekehrt wird auch kein Einfluß auf das Wachstum ausgeübt, der ja dann hinterher an der 48 bzw. 72stündigen Kultur erkennbar sein müßte.

Das Wesen dieses noch völlig unerklärbaren Tageseinflusses wird der Erklärung etwas näher gebracht durch eine Untersuchung mit Zephirol am gleichen Tage. Protokoll 16 29. 3. 38 (s. S. 47).

Der schwache Elektrolyt Zephirol zeigt also die unveränderte retardierende Kurve auch dann, wenn der gute Elektrolyt Schwefelsäure eine Resistenzzacke ausführt. (Zephirol besitzt in 0,05%iger wäßriger Lösung ein $p_H = 6,15$, wobei das verwendete Aqua dest. ein $p_H = 6,23$ besaß). Auch die elektrischen Einflüsse weisen auf eine weitere Beobachtung hin. In der Periode vom 8.—12. 3. 38 wurde neben der üblichen Methodik, in der Bakterienbouillonkulturen ana mit Schwefelsäure versetzt wurden, eine zweite, sonst völlig gleiche Methodik angewandt, in der mit Aqua dest. abgeschwemmt und 3mal gewaschene Agarkulturen in Aqua dest. aufgenommen mit Schwefelsäure versetzt wurden. Am 9. 3. 38 ergab dieses Verfahren die Werte Protokoll 17 (s. S. 48).

Vergleichen wir hiermit die in Protokoll 15, S. 46, wiedergegebenen Werte der nicht gewaschenen Bakterien am gleichen Tag.

Bei den Staphylokokken bleibt *K* in der gleichen Größenordnung, *a* hat jedoch sein Vorzeichen geändert. Bei *Bact. coli* ist *K* nun ganz gewaltig, *n* etwas weniger größer geworden.

¹ Hier wurde statt Null ein Keim genommen.

Der Versuch, die mitgeteilten Beobachtungen auf einen Generalnenner zu bringen, hat also folgende Tatsachen zu berücksichtigen.

1. Die Bakterien erfahren durch Waschen in Aqua dest. eine elektrische Umladung, die bei den einzelnen Keimen zu einem verschiedenen, jedoch überraschend starken und zunehmenden Säurecharakter der Suspension führt. Bei Zugabe einer stärkeren Schwefelsäure nimmt die Suspension nicht sofort deren p_H an, sondern es besteht zunächst eine elektrolytische Potentialdifferenz, die sich mit verschiedener Geschwindigkeit ausgleicht (Protokoll I). Wie die Nachkontrollen zeigten, kann eine gewaschene Keimaufschwemmung gelegentlich ebensogut ihr p_H unverändert lassen oder auch nach der alkalischen Seite verschieben.

2. Die in der Regel retardierende Schwefelsäurekurve kann an bestimmten Tagen akzelerierend oder fast monomolekular verlaufen, wobei sich dies bei verschiedenen Keimarten oder bei gewaschenen und ungewaschenen Keimen derselben Art verschieden auswirkt. Nichtelektrolytische Desinfizientien brauchen diese Schwankungen nicht mitzumachen. Die Schwankungen werden von zwei Assistentinnen am gleichen Tag an dem physikalisch-chemisch stabilen *Bact. coli* beobachtet. Protokolle 15—17. Sie liegen auch am instabilen *Staphylococcus aureus* außerhalb der methodischen Fehlerbreite.

3. Nährbodeneigenschaften sind dann ohne Einfluß, wenn der Nährboden optimal ist. Geringe Modifikationen der Gußtechnik können jedoch Schwankungen hervorrufen, die bei den Staphylokokken im Mittel auf 60% geschätzt werden.

4. Unter dem Einfluß der Schwefelsäure tritt eine Agglutination ein. Diese altbekannte Tatsache wurde während 8 Tagen auch in diesen Versuchen täglich mikroskopisch beobachtet, ohne daß hierbei Ausnahmen gefunden wurden. Für die Feststellung von Ausnahmen ist die mikroskopische Betrachtung jedoch zu roh.

5. Durch Untersuchungen von GÄRTNER wissen wir, daß eine Keimschädigung (Ultraviolettbestrahlung) die Ausfällbarkeit von Bakterien gegenüber Säuren, Salzen, Farbstoffen und Antiserum im Vergleich zu den ungeschädigten Keimen erhöht.

6. Akzelerierende Absterbevorgänge kommen nur im Zählplattenversuch zur Beobachtung, während sie im Endzeitversuch nicht beobachtet werden. Auch erreicht das n der akzelerierenden Reaktion nicht die Höhe, die das n der retradierenden Reaktion im Durchschnitt auch im Zählplattenversuch besitzt.

Der hierfür einzig mögliche Generalnenner muß in der Annahme gesehen werden, daß die Agglutination auch in der Zählplatte fortdauert. Dann besteht eine Kolonie nicht mehr aus 1, sondern aus im Mittel n Ausgangskeimen, wodurch die Keimzahl D_t um jeweils das n -fache zu klein gefunden wird (retardierende Reaktion). An den „bestimmten Tagen“ hat das Bacterium einen anderen Ladungszustand, der die Agglutination bei der gegebenen Säurekonzentration verhindert, was nur selten der Fall ist. Meist erfolgt an solchen Tagen eine langsame Umladung unter der Einwirkung des Elektrolyten, wodurch nach 3 Minuten eine Agglutination noch nicht besteht, aber nach 8 Minuten eingetreten ist. Hierdurch wird n eine Funktion der Zeit; bei Berechnung von n und K nach Gleichung (20) wird infolgedessen jeder der beiden Werte zu groß (s. auch Protokoll 18). Liegt n also bei einem Versuch mit akzelerierendem Verlauf

wesentlich höher als der methodische Versuchsfehler, so handelt es sich entweder um zeitlich veränderliche Agglutination, oder aber die Keime waren vor Einwirkung des Desinfiziens stärker agglutinabel gegenüber dem Gußplattenagar als hinterher; denn auch diese Möglichkeit ist denkbar. Daß gewaschene und ungewaschene Keime der gleichen Art sich gegenüber dem Desinfiziens so entgegengesetzt verhalten, bestätigt nur die Richtigkeit der Erklärung. Ebenso wird es verständlich, inwiefern geringe Differenzen bei der Herstellung der Gußplatten zu regelmäßigen Differenzen in den Ergebnissen führen können.

Jedoch vermag diese These keineswegs zu erklären, inwiefern der Faktor n auch in den Endzeitversuchen eine Rolle spielen kann; er ist ja gerade aus solchen Versuchen abgeleitet worden und besitzt dort oft eine ganze beträchtliche Größe. So errechnet sich für *Bact. coli* aus Protokoll 2 (Sublimat) $n = 725000$, für Staphylokokken aus dem gleichen Protokoll $n = 1260$, aus Protokoll 3 (Schwefelsäure) für Staphylokokken $n = 17000$.

In flüssigen Kulturen muß es nun gleichgültig sein, ob ein Keim agglutiniert ist oder nicht; solange er lebt, muß er auswachsen. Die Agglutination kann folglich die Abweichung von der monomolekularen Reaktion bei flüssigen Kulturen nicht erklären. Berücksichtigen wir jedoch, daß bei solchen Versuchen immer gewisse Mengen des Desinfiziens mitübertragen werden, die nun wachstumshemmend und sicher auch weiter abtötend wirken und dies noch bei bereits vorher geschädigten Keimen in stärkerem Ausmaße tun werden als bei unbehandelten Keimen, so werden wir verstehen, warum in flüssigen Kulturen nur ein Bruchteil der gesamten eingepfchten Keime auswächst.

Diese Schädigung muß jedoch auch bei der Zählplattenmethodik im festen Nährboden wirken, und somit bei der retardierenden Reaktion die scheinbare Keimverminderung durch Agglutination noch um die entsprechende Hemmungs- bzw. Tötungswirkung vergrößern, wodurch die großen Zahlenwerte von n erst recht verständlich werden. Andererseits muß die Wachstumshemmung durch beigemischte Desinfektionssubstanz die absolute Größe von n bei der akzelerierenden Reaktion entsprechend verringern; denn in beiden Fällen würden ohne die Hemmungswirkung z. B. unser D_3 und D_8 wesentlich größer sein. Diese Auffassung der Hemmung bzw. Abtötung der Bakterien im Nährboden ist weiter als die dormancy der Amerikaner.

Der Versuch, die Hemmungs- und Agglutinationswirkung im einzelnen zu unterscheiden bzw. zu trennen, verlief negativ. Zu diesem Zweck wurde in einer weiteren Paralleluntersuchung mit Endzeitenanordnung die Schwefelsäurewirkung in der Nachkultur dadurch neutralisiert, daß die zur Nachkultur dienenden Bouillonröhrchen mit einem der Schwefelsäuremenge äquivalenten Überschuß von wasserfreier Soda vorher versehen wurden. Es ergab sich jedoch nicht die mindeste Änderung gegenüber der nicht alkalisierten Kontrollreihe, so daß die Hemmungswirkung als unabhängig von der mitüberimpften Schwefelsäure bezeichnet werden muß. Auch in Wärmeversuchen, bei denen ja die Desinfektionswirkung ohnedies im Moment der Probeentnahme ein Ende hat, zeigte der Endzeitversuch ein großes n also eine ausgesprochene Hemmungswirkung. Dieser Effekt der Hemmung bzw. Abtötung geschädigter, jedoch noch lebender Keime muß als Wirkung des Nährmediums selbst aufgefaßt werden, was durch die Ergebnisse von Protokoll 19 bestätigt werden wird.

In weiteren, bisher etwa 30 Doppelversuchen wurde der Einfluß des Ionen- vorzeichens auf den Absterbevorgang untersucht. Als Desinfiziens diente einerseits wieder Schwefelsäure, andererseits äquimolare Natronlauge. Während K , also die wahre Reaktionsgeschwindigkeit in beiden Reihen innerhalb der Fehlergrenze konstant bleibt, zeigt die Größe a hierbei ebensooft Gleichheit wie Differenzen. Mit einer einzigen Ausnahme blieb das Vorzeichen von a jedoch hierbei paarweise gleich; an dem gleichen Tag verläuft also Säure- und Basenagglutination nur gelegentlich größenmäßig verschieden, aber qualitativ gleich. Dieses Ergebnis kann jedoch nicht ohne weiteres gegen die elektrische Natur des Tageseinflusses verwertet werden, da das Eiweiß als amphoterer Elektrolyt die Ladungsvorzeichen denen seiner Umgebung anpaßt.

Als letzter, für die Größe von n maßgeblicher Faktor ist die absolute Keimdichte auf den Zählplatten heranzuziehen, worauf auch REICHEL hinweist. Aus Versuchen an *Bact. typhi* und *Bact. typhi flavum*, die in anderem Zusammenhang ausgeführt wurden, ergab sich, daß eine Suspension um so schlechter zu Einzelkolonien auswächst, je dichter gedrängt diese stehen müssen.

Das Phänomen ist bereits Gegenstand einer Kontroverse zwischen RUATA und CLAUDITZ gewesen und wurde in neuerer Zeit von MUNTSCHE wieder aufgegriffen. Neben dem absoluten Raumbedarf der Kolonie scheint der Verdünnungsakt als solcher die Hauptursache dieser Diskrepanzen zu sein. Im allgemeinen wird der Fehler des Verdünnungsverfahrens jedoch als relativ niedrig angesehen (s. auch KLEIN).

Berücksichtigen wir ferner die Tatsache, daß die Anwendung der Zählkammer anstatt des Plattengußverfahrens oft höhere Werte liefert, in unseren Versuchen etwa 2—6mal mehr als das letztere, so könnte sich ein nicht unberechtigtes Mißtrauen gegen die erhaltenen Werte einschleichen. Dieser letztere Fehler eliminiert sich jedoch, wenn man sich auf das Zählplattenverfahren festlegt, dadurch, daß alle gewonnenen Werte damit behaftet sind, wodurch die Proportionen dieselben bleiben. Der erste Fehler kann entweder durch Herstellung verschiedener Keimverdünnungsstufen unterdrückt werden, wobei dann nur Platten annähernd gleicher absoluter Dichte verglichen werden. In unseren Versuchen wurde diesem Fehler dadurch entgegengearbeitet, daß die Ausgangsdichte in der Verdünnung 1:1000 angesetzt und ausgezählt wurde, wodurch annähernd gleiche absolute Keimdichten wenigstens im großen Durchschnitt erzielt werden sollten. Im übrigen spielt dieser Einfluß bei Relativmessungen, um die es sich hierbei in erster Linie handelt, keine so bedeutende Rolle.

Je nachdem, ob bei der gewählten Versuchsanordnung die absolute Keimdichte der Zählplatten zu Beginn oder zu Ende des Versuchs größer ist, wird das Ergebnis in einem oder anderen Sinne verzerrt werden, so daß Überlegungen für die einzelnen möglichen Fälle zu weit führen würden.

So stellt sich n als eine sehr komplexe Größe dar, die je nach Art des Bacteriums, des Desinfiziens und der Versuchsanordnung anders zu bewerten ist.

Je nach Versuchsanordnung ist außerdem eine Beziehung von n zu dem Exponenten p der Giftwirkungsgleichung zu erwarten oder abzulehnen. Mathematisch konstruierbar sind solche Beziehungen vorläufig nicht.

Die Annahme all dieser Einflüsse bringt es mit sich, daß die Keimzahlbewegung namentlich geschädigter Keime keineswegs immer als unmittelbarer Ausdruck des tatsächlichen Lebens bzw. Todes gewertet werden darf.

Dies ist jedoch in jenen Fällen möglich und notwendig, wo eine einfache monomolekulare Reaktion vorliegt. Denn im Vergleich längerer Serienuntersuchungen erweist sich unser Faktor n als biologische Variable, so daß alle Absterbevorgänge als durch Nebenumstände modifizierte monomolekulare Reaktionen gelten müssen.

Beim Vergleich der verschiedenen Versuchsergebnisse bleibt jedoch manches rätselhaft. Bei unseren sämtlichen Wärmeversuchen gelang es beispielsweise nie, einfache monomolekulare Reaktionen zu finden. Demgegenüber betrachte man die schönen glatten Kurven, die REICHENBACH in vielen Fällen fand. Ebenso schöne und glatte Kurven liefert VILJOEN bei dem Wärmetod von Thermophilen in 1,5%iger Kochsalzlösung und in Aqua dest. Sollten hier lediglich methodische Differenzen vorliegen, oder hemmt der von uns verwendete Nährboden die wärmebeschädigten Keime mehr als die unbehandelten? Oder muß an noch unbekannte örtliche Einflüsse gedacht werden?

Wenn umgekehrt KNAYSI in seinen Methylenblauversuchen an *Bact. coli* Werte fand, die ein $n \sim 1$ errechnen lassen, so deckt sich das jedoch wieder mit unseren Versuchen (Protokoll 5). Die Versuche EIJKMANNs, ISAACS, WILLIAMs und auch ein Teil der Versuche REICHENBACHs über den Wärmetod verschiedener Bakterien lassen sich ebenfalls mit unseren Ergebnissen in Einklang bringen. Auch unter der Wärmewirkung tritt, allerdings nicht sofort, sondern nach 1, 2 oder auch 3 Minuten, je nach der Temperatur, eine Agglutination ein, die gelegentlich im Laufe der Wärmewirkung wieder langsam oder schneller zerfallen kann. Wenn man, wie die genannten Autoren, die Entnahmen sehr kurz nach Beginn der Erwärmung vornimmt, kann man das Fortschreiten der Agglutination an dem anfänglich steilen, später flacheren Ablauf der Ct-Werte erkennen. So werden insbesondere EIJKMANNs Ergebnisse wohl besser mit dieser als mit der Mehrstoßthese erklärt. In unseren Versuchen wie auch in den meisten Versuchen der genannten Autoren bleibt nun K annähernd konstant.

Die Annahme, daß sich der Agglutinationszustand im Laufe der Schädigung gelegentlich ändern kann, daß somit das n unserer Gleichung unter entsprechenden Bedingungen eine Funktion der Zeit wird, kann nicht entbehrt werden, wenn auch die zur mathematischen Formulierung notwendigen Grundsätze noch nicht entwickelt werden können. Wohl jedem Beobachter der Absterbevorgänge sind die Kurven begegnet, in denen eine anfängliche Keimabnahme von einer späteren Zunahme abgelöst wurde, die außerhalb der Fehlergrenze des Zählverfahrens lag. Durch solche Schwankungen werden die Zählergebnisse z. B. von BALLANTYNE oder von TANNER und WILLIAMSON für die mathematische Behandlung zwar sehr unhandlich, jedoch ohne daß hieraus ein berechtigter Einwand gegen ihre Richtigkeit abgeleitet werden könnte. In besonders krasser Form trat diese Erscheinung in einem Versuch über die tatsächliche Existenz von Schutzstoffen beim Wärmetod von Keimsuspensionen zutage.

Protokoll 18. 15 Agarplatten 24stündige Colikultur wurden mit Aqua dest. abgeschwemmt und 3mal mit Aqua dest. gewaschen. Das Sediment wird mit 50 ccm Aqua dest. aufgenommen, 1 Stunde bei 60° erhitzt, durch BERKEFELD-Kerzen filtriert. 3 TAROZZI-Bouillonröhrchen wurden mit je 0,5 ccm des Filtrates beimpft und blieben in 4tägiger Bebrütung steril.

5 Agarplatten 2stündige Colikultur werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, 3mal mit Aqua dest. gewaschen und in 5 ccm Aqua dest. aufgenommen.

Reihe 1. 2,5 dieser konzentrierten Keimsuspension werden mit 40 ccm Filtrat gemischt.

Reihe 2. 2,5 dieser konzentrierten Keimsuspension werden mit 40 ccm Aqua dest. gemischt.

Beide Reihen werden in ein Wasserbad von 60° gestellt und hier 30 Minuten gehalten. Alle 5 Minuten werden aus beiden Reihen mit je 0,25 ccm Zählplatten angelegt.

Ablesung nach 24 Stunden:

Zeit	Keimdichte mit Filtrat	Dichte mit Aqua dest.	Ct	C	K	a	$\log n$	nDt
0	720 000 000	810 000 000	—	—	—	—	—	—
5	72 000	840 000	6,88	1,372	—	—	—	—
10	14 300	69 120	9,38	0,938	0,50	4,38	1,90	—
15	1 696	46 160	9,78	0,652	0,29	5,42	2,35	—
20	5 120	7 078	11,63	0,582	0,316	5,32	2,31	—
25	2 560	2 560	12,67	0,506	0,29	5,40	2,34	—
30	10 240	960	13,63	0,465	0,27	5,85	2,54	—
Mittel					0,333	5,26	2,28	191

Zunächst scheint das Protokoll auf eine Schutzwirkung hinzuweisen. Jedoch zeigt die genaue Analyse, daß am Ende zwar 960 Kolonien in der Reihe mit Aqua dest. nachweisbar sind, daß aber bei Vernachlässigung der Hemmung und Abtötung im Nährboden jede einzelne Kolonie aus einem Bakterienflockchen hervorgegangen ist, das aus im Mittel $n = 191$ Keimen bestand. In Wirklichkeit müssen wir also mit $n \cdot D_t = 191 \cdot 960 = 18300$ lebenden Keimen am Ende der 30 Min. in der Aqua dest.-Reihe rechnen. Wenn wir demgegenüber 10240 Keime in der Filtratreihe finden, so scheint eine Schutzwirkung nicht wahrnehmbar. Betrachten wir aber den ganzen geradezu paradoxen Kurvenverlauf der Filtratreihe, so liegt der einzig mögliche Weg in der Annahme einer zunächst sehr starken, später abnehmenden Agglutination, die sich der eigentlichen Keimtötung überlagert. In dieser Form läßt sich das Ergebnis mit der auf S. 103 und 104 entwickelten Analyse der Schutzstoffbildung bei *Bact. coli* wohl vereinbaren. Zu welcher absurden Vorstellung wäre man aber gezwungen, wenn man die Ergebnisse der Filtratreihe in Protokoll 18 als unmittelbaren Ausdruck des Lebenszustandes der Bakterien ansehen wollte.

Es scheint daher wohl erlaubt, eine Änderung des Agglutinationsvorganges als Funktion der Einwirkungszeit auch bei der Säurewirkung anzunehmen. Berücksichtigt man die Tatsache, daß bei säurebehandelten Staphylokokken eine teilweise Zertrümmerung des Agglutinationsverbandes schon durch geringe Variationen der Plattengußtechnik verursacht bzw. hintangehalten werden kann, so erhebt sich die Frage: Gelang der experimentelle Beweis dieser Annahme bloß deshalb nicht, weil bei den einschlägigen Versuchen der flüssige Gußplattenagar „zufällig“ sorgfältiger geschüttelt wurde als bei den gleichförmigen und deshalb technisch uninteressanten Routineuntersuchungen. Oder ist wirklich ein besonderer Tageseinfluß am Werk, der bei Berücksichtigung aller Tatsachen am ehesten elektrischer Natur sein könnte?

Für die Zwecke dieser Arbeit ist diese Frage an sich belanglos. Es galt zunächst den Nachweis zu führen, daß alle Absterbevorgänge letzten Endes auf die einfache monomolekulare Reaktion rückführbar sind. War es hierzu zwar nötig, den Einfluß des Agglutinationsvorganges als solchen herauszuheben, so war es gleichgültig festzustellen, ob es im Einzelfall mechanische oder elektrische

Momente sind, die ihm entgegenarbeiten können. Daß Erschütterung an sich Zellverbände zu sprengen vermag, haben BECKWITH und WEAVER gezeigt. Unter der Einwirkung an sich tödlicher Überschallwellen trat zunächst eine Keimvermehrung auf, die durch den Zerfall von Zellhäufchen zu erklären war. Ferner finden WOHLFEIL und EWIG die Keimzahlen geschüttelter Kulturen regelmäßig um 10—30% höher als die ungeschüttelter Kontrollen, was MUDGE und SMITH bestätigen.

Immerhin liegt die Wahrscheinlichkeit zugunsten der elektrischen anstatt der „psychomotorischen“ Natur dieses Tageseinflusses. Denn stets hat sich *Bact. coli* im Vergleich aller Untersuchungen als der stabilste aller bisher untersuchten Keime erwiesen, und die normale Schwankungsbreite liegt um Tausende von Prozenten niedriger als an den „auffälligen“ Tagen. Außerdem sind bei den beiden Bakterienarten in bisher nahe 600 Versuchen nie fließende Übergänge zwischen den beiden Extremen beobachtet worden. Jedoch stehen diese Fragen noch mitten in ihrer Untersuchung.

Falsch wäre es, die quantitative Seite dieser Versuchsergebnisse verallgemeinern zu wollen. Die Wahl der reagierenden Körper Schwefelsäure, Staphylokokken und Colibakterien muß nach den bisherigen Erfahrungen mit anderen Keimen als glücklicher Griff bezeichnet werden. Relativ stabil, aber schon empfindlicher als die Staphylokokken, ist *Vibrio Metschnikoff*. Wenn auch die hohe Labilität von Streptokokken und den an sich schon krümelig wachsenden Diphtheriebakterien kaum überrascht, so setzt die ganz enorme Labilität von Typhusbakterien in Anbetracht ihrer nahen Beziehungen zu *Bact. coli* doch enorme Unterschiede im physikalisch-chemischen Sinne voraus. Hier scheint entweder die Art oder auch die Konzentration des Desinfiziens Schwefelsäure zur genaueren Analyse des Absterbevorganges absolut ungeeignet. So offenbart sich auch mit der primitivsten Methodik die Mannigfaltigkeit der Lebensreaktionen.

IV. Die Acceptorenthese.

Überblicken wir das Vorausgegangene, so kann zusammenfassend gesagt werden: der bakterielle Absterbevorgang trägt alle Merkmale einer chemischen Reaktion.

Die Keimzahlverminderung einer Population unter der Einwirkung einer Schädigung verläuft grundsätzlich als einfache monomolekulare Reaktion. Durch eine Reihe von Nebenumständen wird die Reaktion in ihrem Erscheinungsbild oft erheblich modifiziert. Solche Nebenumstände sind Agglutinationsvorgänge, die absolute Keimdichte der Zählplatten, die Schutzstoffbildung unter Wärmewirkung. Auch ein Einfluß der Methodik ist gelegentlich sicher feststellbar. Endlich spielt die Entwicklungshemmung und Abtötung der Keime in der Nachkultur eine große Rolle. Diese Einflüsse sind teilweise nicht ausschaltbar. Ob damit alle Einflüsse erfaßt sind, bleibt fraglich.

Für bestimmte Schädigungen, insbesondere die Strahlenwirkung, kommt auch die Möglichkeit in Betracht, daß die Reaktion mehrerer Molekül- oder Quantenstöße bedarf.

Ändert man die Intensität der Schädigung, so ändert sich die Keimverminderung einer Population in ihrem grundsätzlichen Verlauf nicht, jedoch wird die

Reaktionsgeschwindigkeit eine andere. Diese Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit ist, abgesehen von anfechtbaren Ausnahmen, stets eine Funktion der Konzentration bzw. Intensität der Schädigung. Nur in den seltensten Fällen geht die Änderung der Konzentration bzw. Intensität der Schädigung proportional; meist deutet ein von eins verschiedener Exponent darauf hin, daß das Reaktionsniveau des reagierenden Prinzips selbst hierdurch geändert wird, wodurch die Reaktion mit anderer als der zu erwartenden Geschwindigkeit verläuft.

Es konnte weiter gezeigt werden, daß die thermischen Abtötungsverfahren nur ein Sonderfall der allgemeinen Giftwirkung sind. Die Abhängigkeit des Wärmetodes vom Druck des gesättigten Wasserdampfes der betreffenden Temperatur macht es wahrscheinlich, daß der Tod durch die Änderung des Quellungsdrukkes erfolgt. Mit dieser einen Ausnahme konnte eine Erklärung der physikochemischen Bedeutung des Exponenten p nicht, d. h. wenigstens nicht einheitlich gefunden werden. Wahrscheinlich wird durch den Exponenten p ähnlich wie durch den neuen Faktor n jeweils ein ganzer Komplex synergetischer und antagonistischer Größen verkörpert, die ganz heterogene Bedeutung besitzen können.

Aus den empirischen Ergebnissen vornehmlich eigener Versuche wird eine neue Größe K gewonnen, welche die wahre, von Nebenumständen bereinigte Reaktionsgeschwindigkeit des Abtötungsvorganges darstellt. Nur wo alle Nebeneinflüsse bei der ungeschädigten, wie der geschädigten Kultur gleiche Richtung und gleiche Größe besitzen, wird diese Größe K mit der aus der einfachen monomolekularen Gleichung errechenbaren Reaktionsgeschwindigkeit C identisch.

Auch diese neue Größe K wird ihrer Natur nach nur eine komplexe Bedeutung besitzen können. Sie wird nicht nur das Maß der chemischen Affinität oder der physikalischen Zerstörbarkeit des reagierenden Prinzips der Bakterienzelle gegenüber dem Desinfiziens darstellen, sondern wohl zugleich ein Ausdruck aller Widerstände sein, die sich der Reaktion infolge der mannigfaltigen biologischen Schutzvorrichtungen entgegenstemmen. So wird sie wohl gleichzeitig die Kapsel- oder Membranwirkung, das osmotische Gefälle oder schließlich auch die elektrolytische Pufferung oder ähnliches ausdrücken.

Daß K tatsächlich diesen komplexen Charakter besitzt, kann daraus abgeleitet werden, daß wir im ganzen Überblick eine Resistenzstaffelung der einzelnen Altersstufen der Bakterien feststellen können. Nach einem insbesondere von REICHENBACH beobachteten wenig resistenten Jugendstadium werden die Bakterien resistenter, wie das die Arbeiten von KLÖVEKORN und GÄRTNER, STENSTROM und GAIDA, WINTERSTEIN, SULGER, ferner von BACHEM und DUSHIN zeigen. Auch STARK und STARK beobachteten, daß *Strept. faecalis* erst eine Resistenzsteigerung, dann nach 24 Stunden aber langsam eine Resistenzschwächung erfährt. Im längeren Vergleich von 24-, 48- und 72stündigen Kulturen von *Bact. coli* und *Staphyl. aureus* (während etwa 60 Tagen) zeigte sich im Durchschnitt eine Abnahme von K mit zunehmendem Alter. Da wir das chemisch reagierende Prinzip in seinen stofflichen Eigenschaften und somit seinen chemischen Affinitäten doch wohl als unveränderlich postulieren müssen — wie wäre es sonst möglich, daß sich die Lebenscharakteristika durch Millionen von Bakteriengenerationen unverändert weiter fortpflanzen — so muß die Abnahme von K mit zunehmendem Alter als Abschwächung sekundärer Schutzvorrichtungen gewertet werden.

Wenn somit alle Größen, die zur gesetzmäßigen Verbindung der empirischen Werte, also zur Aufstellung von Gleichungen, notwendig wurden, komplexen Charakter tragen, so können die gewonnenen Gleichungen lediglich als vereinfachte Symbole des tatsächlichen Geschehens gewertet werden. So scheinen die Forscher recht zu behalten, die behaupten, daß man das Leben nicht in Formeln pressen könne. Jedoch ist sicher die umgekehrte Auffassung fruchtbarer. Denn das an die Materie unlösbar gebundene Leben muß durch die Gesetze der Materie beherrscht sein, und es wäre müde Resignation, vor einem traditionellen „Unmöglich“ Halt zu machen, von dessen Unmöglichkeit sich noch kein Mensch überzeugt hat. Wir kommen weiter nur dann, wenn uns jener Optimismus FRIEDEMANNs leitet: Die Biologie ist nicht zum Sonderkapitel der Physik, sondern umgekehrt diese zum Grenzfall jener zu machen (zitiert nach MITTASCH).

Kein qualitatives Geschehen kann wirklich verstanden werden, wenn nicht der Vorgang als solcher auch in seinem quantitativen Ablauf erklärt werden kann. Jedoch war es nicht nur die geringe Schulung des Biologen in den mathematischen Grundlagen solcher Untersuchungen, sondern wohl auch eine gewisse Skepsis gegen die abgeleiteten Ergebnisse, welche die nähere Beschäftigung mit dieser Materie als unrentabel erscheinen ließ, so daß gerade dadurch im Circulus vitiosus wieder das Bedürfnis, diese Grundlagen zu erwerben, unterbunden wurde. Diese Skepsis wiederum war nicht unberechtigt, denn lohnt ein Schema, oder eine Formel, wenn sie nur dazu dient, Ausnahmen erkennen zu lassen oder ist eine solche Formel denn nicht nur eine wertlose Fiktion? Jede Formel scheint ja den Anspruch auf Allgemeingültigkeit zu stellen, und so oft führt die Verallgemeinerung in eine Sackgasse.

Der richtige Weg ist einfacher, er ist im Prinzip analytisch, wenn er auch wie kaum eine andere biologische Methode der Synthese zustrebt.

Wenn wir feststellen, daß die Gültigkeit der monomolekularen Gleichung für den bakteriellen Absterbevorgang das Walten der Zufallsgesetze und somit nur wenige Moleküle im einzelnen Bacterium voraussetzt, so liegt auch hierin die Gefahr der Verallgemeinerung, der durch die Einführung des Begriffs „Acceptor“ vorgebeugt werden sollte. Dieser Begriff soll hier in seinen Grundlagen näher erläutert werden.

Wenn wir im einzelnen Falle beobachten, daß eine Population nach der reinen oder durch die genannten Nebenumstände modifizierten monomolekularen Kurve stirbt, so wissen wir hierdurch, daß gegenüber der betreffenden Schädigung nur wenige Moleküle als Lebensträger fungiert haben. Wir können uns nun nicht vorstellen, daß es irgendeine Molekülart geben kann, die auf die heterogensten Chemikalien reagieren könnte. Trotzdem beobachteten wir an der gleichen Bakterienart wenige Lebensträger bei Oxydation wie bei Reduktion, wenige Lebensträger bei Säuren wie Alkalien; in diesem speziellen Falle scheint sogar Schwefelsäure in äquimolarer Konzentration auch quantitativ gleich stark wie Natronlauge zu wirken; oder wir beobachten wenige Lebensträger gegenüber Zuckern, Alkoholen, Estern, Wasserdampf, Strahlung oder Kälte usw. Es hieße nun die Grenzen der Methodik überschreiten, wenn man aus der Tatsache, daß gegenüber jedem Mittel nur wenige Moleküle reagieren können, auf insgesamt wenige lebenstragende Moleküle schließen wollte.

Es wurde daher als Ausweg aus diesem Dilemma die Konstruktion „Acceptor“ gewählt.

Denken wir uns verschiedenartige Moleküle mit ganz heterogenen Affinitäten in irgendeiner chemisch tragbaren Weise als Kette oder als Ring zu einem großen Molekülkomplex vereinigt, so wird die Reaktionsfähigkeit beseitigt, wenn der Ring oder die Kette an irgendeiner Stelle gesprengt wird. Dank der heterogenen Affinitäten der Einzelmoleküle ist aber die Zerstörung des Gleichgewichts an vielen Stellen und auf die verschiedenartigste Weise denkbar.

Überlegen wir weiter, daß wir als Kriterium des Lebens oder des Todes in allen Versuchen die Vermehrungsfähigkeit der Zellen verwenden. Die Vermehrung des Acceptors kann jedoch nur als positive Autokatalyse gedacht werden, d. h. der Lebensträger ist ein Stoff, für den die eigene Existenz die Voraussetzung seiner Vermehrung darstellt. Andererseits wissen wir gerade von den biokatalytischen Vorgängen, daß sie auf geringste Gleichgewichtsstörungen oft in empfindlicher Weise reagieren, so daß schließlich auch die Reaktion scheinbar unwesentlicher Seitenketten die Vermehrungsfähigkeit, d. h. in unseren Versuchen das Leben, vernichten kann.

Selbstverständlich steht nichts im Wege, diese Konstruktion durch irgendeine beliebige andere zu ersetzen; sie entstand auch weniger aus einer inneren Notwendigkeit, sondern lediglich als Hinweis darauf, daß aus dem quantitativen Verlauf des Absterbevorganges nichts über die chemische Beschaffenheit des Lebensprinzips abgeleitet werden kann.

Letzten Endes hätte das Beispiel, daß eine Menschenansammlung unter der Einwirkung eines Geschoßhagels nach demselben Gesetz abstirbt, uns ebensoweit gebracht. Der Tod tritt ein, wenn Hirn oder Blutkreislauf ausgeschaltet werden; trotzdem können wir weder das Hirn oder das abgeschossene Bein oder das Herz als den Lebensträger ansprechen. Immer wenn Leben vernichtet wird, geht eine Einheit zugrunde, ohne daß wir gerade die geschädigte Stelle als „das Leben“ erklären dürften. Nur die vielseitige chemische Angriffstätigkeit des bakteriellen Lebensträgers erlaubt es, ihn uns als einfach stoffliche und nicht als organische Einheit vorzustellen.

Gerade die Funktion eines solchen Acceptors als Autokatalysator macht für das Bacterium eine größere Zahl von Acceptoren entbehrlich, da sie je nach Bedarf nachgebildet werden können, ja vielleicht schon als „Präacceptor“ in einer Vorstufe latent vorhanden sind. Die Behauptung, daß ein Bacterium nur wenige Acceptoren besitze, ist infolgedessen gar nicht so absurd, namentlich wenn wir hier das Verhalten des Bakteriophagen mit heranziehen. Insbesondere fanden BAKER und NANAWUTTY beim Strahlentod (U.V.) des Phagen eine rein monomolekulare Kurve, während NANAWUTTY für den Wärmetod des Phagen die typische retardierende Kurve angibt. Nach HEIBERG besteht beim Wärmetod kein Resistenzunterschied zwischen alten und jungen Phagen. HALLAUER findet bei der Ultraviolettbestrahlung annähernd gleiches Verhalten des Phagen und der Bakterien. Sogar die Abhängigkeit der Einwirkungszeit von der Dichte wird von FISHER und MCKINLEY für den ultraviolettbestrahlten Coliphagen beschrieben, wenn danach auch die Widerstandsfähigkeit der Phagendichte direkt proportional gehen soll. Dies scheint unglaubwürdig, bestehe doch der ganze Phage nach der Ansicht vieler oft nur aus wenig Molekülen. (Siehe z. B. HETLER und BRONFENBRENNER.) Überhaupt scheinen die methodischen Schwierigkeiten

oft die Klarheit der Ergebnisse zu trüben. So beobachteten auch ANDREWES und ELFORD, daß bei Neutralisation des Phagen durch im Überschuß gebotenes Serum kein Einfluß der Phagendichte erkennbar sei. Dieses Resultat wäre mit unserer Theorie vereinbar nur unter der Annahme, daß der eigentliche Phagenantikörper als Molekül ungefähr gleich häufig vorhanden ist wie der Phage selbst. Im Gegensatz zu den Letztgenannten fassen jedoch CLIFTON, MÜLLER und ROGERS die Neutralisation des Phagen durch sein homologes Antiserum als Adsorptionsvorgang auf. Ähnlich ist das Ergebnis SCHLESINGERS, der die Bindung des Phagen an die homologen Bakterien darstellt und eine wertvolle Bestätigung der Theorie auch hinsichtlich des Einflusses der Phagendichte liefert. Trotzdem bleiben noch auffällige biologische Eigentümlichkeiten übrig, die den Phagen vom Bacterium abtrennen, so z. B. die von KNORR und RUF gefundene frappante Elektronenresistenz des Phagen und andere.

Es sei hier auch daran erinnert, daß man heute die belebte Natur des Phagen mit einer ganzen Reihe von Gründen bestreitet. Zeigen solche Meinungsverschiedenheiten letzten Endes nicht deutlich, daß die Grenze zwischen der Chemie des Lebens und der übrigen organischen Chemie vielmehr von unserem Definitionsbedürfnis als von der Natur konstruiert werden?

In neuerer Zeit haben insbesondere WYCKOFF und RIVERS, dann HERČIK, endlich STERLING-OKUMIEWSKI und KAWECKI bei verschiedenen Bakterienarten, ferner LACASSAGNE und HOLWECK bei *Polytoma uvella* die Ansicht entwickelt, daß lediglich ein Teil des Zelleibes der Träger der Vermehrungsfähigkeit, also das Leben sei. RAHN, ferner WYCKOFF und RIVERS gehen sogar soweit, die Resistenzunterschiede der Bakterienarten als durch Größenunterschiede bedingt zu erklären. Auch EHRISMANN und NOETHLING zeigen, wie die zum Zelltod notwendige Lichtenergie mit wachsender Zellgröße zunimmt. Wenn die genannten Volumina von 1—50% des Bakterienleibes zwar immer noch zu sehr großen Molekülzahlen führen, so beweist das nur, daß die räumliche Struktur des Lebensträgers nicht zu einfach gedacht werden darf. Es kommt dazu, daß das Bacterium den Treffern infolge der verschiedenen Bewegungen eine relativ größere Fläche darbietet, als seinen geometrischen Verhältnissen entspricht, was im vorigen bereits näher entwickelt worden ist. Hierdurch verkleinern sich die errechneten Raumteile merklich.

Daß es einer Reihe von Autoren, wie PANETH, SOMMER, GUTFELD und PINCUSSEN, HOLWECK und LACASSAGNE, MÜNDEL und SCHMIDT, JUNGEBLUT und andere gelang, durch Änderungen der Versuchsbedingungen die Resistenz zu variieren, widerspricht den entwickelten Vorstellungen in keiner Weise. Die Mutationen, die man gelegentlich annimmt, oder auch die von MAGOON abgeleitete Herauszüchtung von besonders wärmeresistenten Formen aus hitzebehandelten Formen, also die Selektion, lassen sich ebenfalls mit der Annahme eines chemischen Lebensträgers wohl vereinbaren, wenn auch solchen Selektionen meist, so in neuerer Zeit von WILLIAMS und von MÜNDEL und SCHMIDT widersprochen wird.

Über die Zahl der Acceptoren im einzelnen Bacterium läßt sich aus den Ergebnissen aller Versuche nur ableiten, daß es so wenige sein müssen, daß die Zufallsgesetze noch ihre Gültigkeit haben. Es kommen also maximal nur einige Hunderte von Acceptoren, wahrscheinlich noch viel weniger, in Betracht. Ob nun bei einer Bakterienpopulation eine Staffelung der Acceptorenzahl der

einzelnen Individuen vorkommt, oder ob die Zahl bei allen Individuen gleich oder generell gleich eins ist, kann mit den rohen Keimzählungsmethoden wohl nie festgestellt werden. Wohl könnte gelegentlich die Schwankung von K im Ablauf eines Keimzählungsversuches in diesem Sinne gedeutet werden, wozu KNAYSI bereits die rechnerischen Ansätze entwickelt; aber diese Schwankungen sind meines Erachtens namentlich bei Vergleich mehrerer Versuche an einer Population zu ungleichmäßig und oft mehrdeutig, so daß bindende Schlüsse erst aus dem Zusammenklang mehrerer Tatsachen gezogen werden dürfen.

An sich ist die Notwendigkeit, wenige Acceptoren für das einzelne Bacterium anzunehmen, überhaupt nur in den Fällen bewiesen, in denen neben der Abhängigkeit der Abtötungszeit von der Keimdichte noch die einfache oder modifizierte Ein- oder Mehrtrefferkurve nachweisbar wird. Von diesen hieraus möglichen Kurvenscharen konnten in der vorliegenden Arbeit auch nur wieder die einfachsten Fälle entwickelt werden. Immerhin reichen die erhobenen Befunde aus, um auch in dieser Beziehung vor vorschnellen Verallgemeinerungen nach der einen oder anderen Seite hin zu warnen. So z. B. ergab sich eine glatt der Rechnung folgende Beziehung zwischen Keimdichte und Abtötungszeit außer bei den schon angeführten Versuchen noch bei *Vibrio Metschnikoff* unter Einwirkung von 0,5%iger Schwefelsäure, wobei sich $K = 0,138$ und $n = 5170$ errechnete. Pneumokokken und Diphtheriebakterien zeigen ebenfalls die starke Abhängigkeit der Desinfektionszeit von der Keimdichte, ohne daß jedoch hier wirklich glatte rechnerische Beziehungen entwickelt werden konnten. Wahrscheinlich liegt dies daran, daß das Wachstum bei diesen Keimen in flüssigen Kulturen nicht ganz sicher ablesbar ist.

Besonders interessant schien deshalb die Untersuchung von Sporenbildnern; hatte doch *Stutz* die Behauptung aufgestellt, daß die Abtötungszeit von Sporen beim Wärmetod nicht von der Sporendichte abhänge. Dies würde besagen, daß die Trefferwahrscheinlichkeit für alle Sporen gleich sein muß, daß also für die einzelne Spore die Zufallschance durch eine große Zahl von Acceptoren aufgehoben ist. Die Nachprüfung mit einer anderen Methode schien infolgedessen lohnend.

Protokoll 19. 5 24stündige Agarplatten mit Heubacillen werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, 3mal mit Aqua dest. gewaschen. Mikroskopisch wenig Sporen. 5 viertägige Agarplatten mit Heubacillen werden mit Aqua dest. abgeschwemmt, abzentrifugiert und mit 3%iger NaCl-Lösung 1 Stunde lang versetzt. Durch die Differenzen des spezifischen Gewichtes sollen die vegetativen Formen aufschwimmen, so daß der Bodensatz aus möglichst reinen Sporen besteht. Das Sediment wird 3mal gewaschen. Mikroskopisch wenig vegetative Formen. Von der 24stündigen und der 4tägigen Kultur werden parallele Untersuchungsreihen mit 5 Keimichtestufen angelegt.

- | | | | | |
|-----------|---------|---------------|-----------------|----------------------|
| Röhren 1. | 2,7 ccm | konzentrierte | Aufschwemmung, | |
| 2. | 0,3 | „ | „ | + 2,7 ccm Aqua dest. |
| 3. | 0,3 | „ | aus Röhrechen 2 | + 2,7 ccm Aqua dest. |
| 4. | 0,3 | „ | „ | 3 + 2,7 „ „ „ |
| 5. | 0,3 | „ | „ | 4 + 2,7 „ „ „ |

nach Durchmischen werden 0,3 ccm hieraus entfernt.

Jedes Röhrechen erhält 2,7 ccm 8%ige Schwefelsäure; aus jedem Röhrechen werden alle Viertelstunden je 0,1 ccm in Traubenzuckerbouillon überimpft, aus Röhrechen 5 außerdem Zählplatten gegossen. Ablesung bzw. Auszählung nach 48 Stunden.

1. Vegetative Formen.

Min.	R. 1	2	3	4	5	Dichte in R. 5	Ct	C	K	a	log n	n
0	+	+	+	+	+	115200000	—	—	—	—	—	—
15	+	+	+	+	+	15760	6,6	0,44	—	—	—	—
30	+	+	+	+	—	9600	7,1	0,236	0,033	6,09	2,649	—
45	+	+	+	+	—	5760	7,62	0,169	0,034	6,08	2,640	—
60	+	+	+	—	—	4600	7,82	0,130	0,0271	6,18	2,685	—
75	+	+	+	—	—	2800	8,32	0,111	0,0287	6,18	2,685	—
90	+	+	+	—	—	1300	9,10	0,101	0,0333	6,10	2,650	—
105	+	+	—	—	—	400	10,30	0,098	0,0412	5,96	2,590	—
120	+	+	—	—	—	10	13,95	0,116	0,0700	5,52	2,400	—
135	+	+	—	—	—	0	Mittel	—	0,0375	6,02	2,618	415
150	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
165	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
180	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
195	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
210	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
225	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
240	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
usw.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

2. Sporen.

Min.	R. 1	2	3	4	5	Dichte in R. 5	Ct	C	K	a	log n	n
0	+	+	+	+	+	34560	—	—	—	—	—	—
30	+	+	+	+	+	8960	1,35	0,045	—	—	—	—
60	+	+	+	+	+	6500	1,67	0,0279	0,0107	1,03	0,45	—
90	+	+	+	+	+	5280	1,88	0,0208	0,0089	1,07	0,465	—
120	+	+	+	+	+	6280	1,71	0,0142	0,0040	1,22	0,50	—
135	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
150	+	+	+	+	+	5480	1,83	0,0123	0,0040	1,24	0,54	—
165	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
180	+	+	+	+	+	3840	2,19	0,0122	0,0056	1,19	0,516	—
195	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
210	+	+	+	+	+	3300	2,32	0,0111	0,0054	1,19	0,52	—
225	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
240	+	+	+	+	+	2860	2,49	0,0104	0,0054	1,20	0,512	—
255	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
270	+	+	+	+	+	2620	2,58	0,0096	0,0051	1,21	0,528	—
285	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
300	+	+	+	+	+	1200	3,36	0,0112	0,0075	1,11	0,482	—
315	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
330	+	+	+	—	—	960	3,58	0,0109	0,0075	1,12	0,482	—
345	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
360	+	+	+	—	—	760	3,81	0,0127	0,0073	1,94	0,844	—
375	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
390	+	+	+	—	—	520	4,20	0,0108	0,0079	1,13	0,491	—
405	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
420	+	+	+	+	—	250	4,92	0,0117	0,0092	1,05	0,455	—
435	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
450	+	+	+	—	—	0	—	—	Mittel	1,215	0,528	3,36
475	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
480	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—

Dieses Ergebnis des Sporenversuchs ist nicht so, daß eine eindeutige Unabhängigkeit der Einwirkungszeit behauptet werden könnte. Art und Ausmaß der Keimdichte-Desinfektionszeitbeziehung dieses Versuchs deckt sich jedoch einigermaßen mit den Ergebnissen der Literatur an Sporenversuchen, die KNORR zusammengestellt hat. Überlegen wir uns jedoch, daß die Suspension auch vegetative Formen enthielt, die nie völlig entfernt werden können, so sind wir doch

geneigt, die Behauptung von STUTZ als im Grunde richtig anzuerkennen. Fälle, in denen die Sporendichte gar keinen Einfluß auf die Abtötungszeit hat, werden von BIGELOW und ESTY berichtet.

Hierzu scheint jedoch das Ergebnis der Zählplattenreihe im Widerspruch zu stehen, die eine fortlaufende Keimabnahme in einer Weise zeigt, daß sie sich bei oberflächlicher Betrachtung mit den monomolekularen Kurven deckt (s. Berechnung). Die zeichnerische Darstellung des Versuchsergebnisses zeigt jedoch, daß die Werte sehr nahe auf einer Geraden liegen, wenn man von den Anfangswerten absieht. Ein zweiter Versuch zeigt diese Verhältnisse noch besser.

Die arithmetische Staffelung der Keimabnahme ist nach allem jedoch nur möglich, wenn 1. die Sporen viele „Acceptoren“ besitzen und 2. die Acceptorenmenge der einzelnen Sporen variabel ist. Die Gesamtkurve besagt daher, daß in dieser Suspension von wenig vegetativen Formen und vielen Sporen die Acceptorenmenge pro Individuum von sehr wenigen bis sehr vielen gestaffelt ist. Diese Staffelung muß jedoch der Zahl der Individuen umgekehrt proportional gehen; nur wenige Individuen besitzen eine solche Menge Acceptoren, daß sie bis zum Ende des Versuchs noch lebensfähig sind.

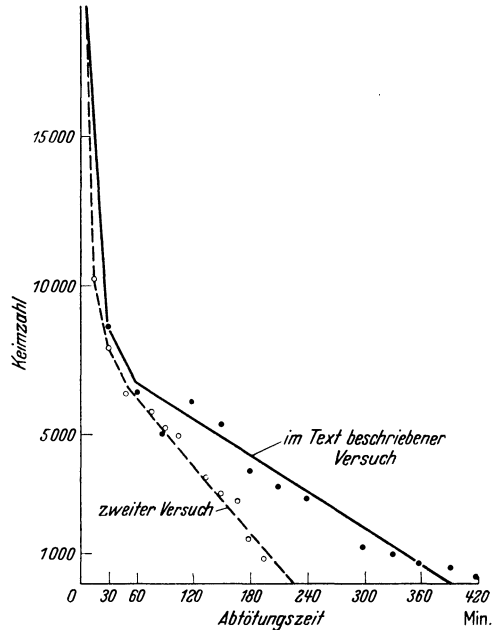


Abb. 3.

Hieraus ergibt sich nun eine Möglichkeit, die Resistenzgliederung einer Sporenpopulation zu entwickeln. Trägt man die Zahl der Individuen in Prozenten als Abszisse, die für die betreffende Sporenart höchstmögliche Acceptorenmenge in Prozent als Ordinate auf, so erhalten wir als Ausdruck der umgekehrten Proportionalität eine gerade Linie.

Nehmen wir jetzt nur einmal beispielsweise an, die Bakterien teilten sich wie die Menschen in zwei Geschlechter, und zeichnen die Akzeptorenmenge für jedes

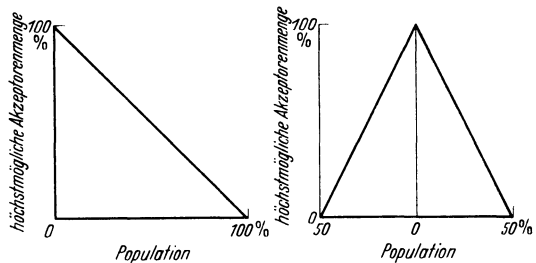


Abb. 4.

Geschlecht getrennt rechts bzw. links von der Ordinate auf, so erhalten wir aus der einfachen Beziehung dieselbe Verteilung von resistenten Individuen, wie sie BURGDÖRFER in seinen Pyramiden für den Altersaufbau (letzten Endes fast auch eine „Resistenzstaffelung“) eines gesunden Menschengeschlechtes gibt. Diese überraschende Feststellung soll nun nicht so verstanden werden, daß man eine Geschlechterteilung der Bakterien sporen annehmen müsse, sondern soll lediglich

darauf hinweisen, daß hier, abgesehen von den Geschlechtsverhältnissen des Menschen, bei den höchsten wie bei den niedersten Formen des Lebens oft dieselben einfachen Grundgesetze herrschen. Mit anderer mathematischer Methodik gelangt FISCHER zu einer ganz ähnlichen Auffassung, die er allerdings auf Grund einer a priori postulierten generellen Unabhängigkeit der Abtötungszeit von der Keimdichte auch auf die vegetativen Formen ausdehnt.

Diese These gründet sich aber in erster Linie auf die Unabhängigkeit der Abtötungszeit von der Sporendichte und steht und fällt mit dieser. Bei *Bact. prodigiosum* können ähnliche Verhältnisse vermutet werden, da es bisher nicht gelang, eine eindeutige Beziehung zwischen Keimdichte und Abtötungszeit zu entwickeln. So ist vorläufig eine Verallgemeinerung der Ergebnisse verfrüht, zumal ja auch VILJOEN, wie berichtet, für Sporen von Thermophilen glatte monomolekulare Absterbekurven angibt.

Die mathematische Behandlung des Absterbevorganges einer Population mit gestaffelter Acceptorenmenge ist nicht ganz einfach; wenn aber die Staffe- lung innerhalb des Begriffs „sehr viele Acceptoren“ vorliegt, kann sie durch die einfache Gleichung $a \cdot (D_0 - D_t) = C^p \cdot t$ ausgedrückt werden.

Diese Formel ist deshalb wertvoll, und die ganze, vorläufig doch noch unsichere Annahme der „vielen“ Sporena- cceptoren ist nur deshalb bereits hier entwickelt worden, weil diese bzw. sinngemäß variierte Gedankengänge das Bindeglied zu den quantitativen Giftwirkungsabläufen des Vielzellers darstellen dürften. Aus der Analyse zur Synthese zu gelangen, die Vielgestalt des Lebens auf einfache, der ganzen auch unbelebten Natur gemeinsame Gesetze zurückzuführen, muß aber das Ziel aller Biologie sein und bleiben.

In Parantese soll noch auf weitere Ergebnisse der in Protokoll 19 wieder- gegebenen Versuche hingewiesen werden.

Die enorme Säureresistenz der Sporen, die durch das Keimzahlverhältnis noch unterstrichen wird, braucht nicht besonders betont zu werden. Erstaunlich ist, daß sowohl bei den Sporen wie auch bei den vegetativen Formen das Röhrchen 5 nicht mehr bewachsen ist, obwohl auf den hieraus gleichzeitig angelegten Agar- gußplatten noch sehr viele Keime zur Entwicklung kommen. Da Agar und Bouillon gleich stark gepuffert sind und auch die Volumproportionen von der- selben Größenordnung sind, so ist eine Erklärung hierfür schwierig. Möglicher- weise verläuft die Diffusion und der Stoffaustausch im Agar langsamer und für eine bereits geschädigte Zelle schonender als in der Bouillon. Der Sachverhalt selbst bestätigt aber unsere Annahme, daß viele Störungen der monomolekularen Kurve durch Wachstumshemmung bzw. Abtötung der geschädigten Keime im Nährboden selbst bedingt sind. Wenn wir diese Hemmung in den Röhrchen zahlenmäßig festlegen wollen, so können bei den vegetativen Formen die Ab- tötungszeiten für Röhrchen 5 $t_5 = 15$ Min., für Röhrchen 1 der Mittelwert $t_1 = 240$ als Fixpunkte benutzt werden. Hieraus errechnet sich $K = 0,0400$ und $n = 276000$. Es wächst also in der Bouillon nur jeder 276000. Keim aus, während im Agar jeder 415. Keim eine Kolonie bildet. Sicher sind jedoch im Agar noch mehr Keime lebensfähig, da oft 2 oder 3 oder n lebende Keime agglutiniert sein mögen. Wir können daher die im Protokoll wiedergegebene Hemmung auch zahlenmäßig ausdrücken, und zwar ist der Agar mindestens um $276000 : 415 =$ „665mal besser“ für die geschädigten Keime als die Traubenzuckerbouillon.

Man beachte auch die gute Übereinstimmung von dem aus der Röhrenreihe errechneten Wert $K_R = 0,0400$ mit dem aus der Agarreihe errechneten $K_A = 0,0375$; die Reaktionsgeschwindigkeiten sind also trotz der verschiedenen Verfahren praktisch gleich. Selbst wenn wir die Abweichung der Röhren 2—4 von der theoretisch errechenbaren Abtötungszeit etwas mehr berücksichtigen, so bleiben die Werte von $K_R = 0,0472$ für $t_1 = 210^m$ noch innerhalb der Fehlergrenze. Wollte man jedoch die Werte einfach nach der monomolekularen Gleichung berechnen, so käme man zu ganz unvereinbaren Resultaten. Der Versuch bestätigt also die Richtigkeit der Beweisführung.

V. Praktische Schlußfolgerungen.

Namentlich aus dem Letztgesagten geht hervor, daß die Beurteilung des Desinfektionserfolges oft in erheblicher Weise durch die Wahl des Nährbodens beeinflußt werden kann. Sichere Abtötung kann daher nur erwartet werden, wenn die der wahren Reaktionsgeschwindigkeit K zugehörige Einwirkungszeit erreicht oder überschritten worden ist. Dies setzt jedoch wieder die Kenntnis der anfänglichen Keimdichte voraus.

Die Anwendung der entwickelten Gleichung ermöglicht es jedoch, die Wirkung eines Desinfektionsverfahrens und die wahre Abtötungszeit auch ohne den langwierigen Endzeitversuch und unabhängig von der Art des Nährbodens lediglich aus einer kurzen Zählplattenreihe zu bestimmen, wenn sich nur der Agglutinationszustand der Bakterien nicht während der Einwirkung ändert.

Man benutzt zur Berechnung der wahren Reaktionsgeschwindigkeit K die Tatsache, daß sich die zeitlich aufeinanderfolgenden Keimzahlwerte eines Zählplattenversuchs meist mit Ausnahme des Ausgangswertes durch die Gleichung der monomolekularen Reaktion verbinden lassen. Die Abtötung ist dann durch das Desinfektionsmittel völlig erreicht, wenn die Einwirkungszeit t gleich ist der durch die Gleichung

$$\frac{\ln D_0}{K} = t \quad (25)$$

gegebenen Zeit t oder noch besser sie überschreitet. Dies gilt jedoch nur für die Keime, bei denen eine Abhängigkeit der Abtötungszeit von der Keimdichte sicher erwiesen ist. Bei Sporen, die eine solche Abhängigkeit nicht oder nicht sicher erkennen lassen, kann diese wahre Abtötungszeit vorläufig noch nicht theoretisch entwickelt werden, da eine Maßzahl für die Abtötung der vorher geschädigten Sporen im Nährboden aus den gefundenen Beziehungen nicht abgeleitet werden konnte. Ob die Ausrichtung der Desinfektionsversuche nach Gleichung (25) die Bedürfnisse der Praxis nicht übersteigt, mag angezweifelt werden. Da aber Verfahren, die in der Regel rasch die Keimzahl auf Null absenken, trotzdem gelegentlich einen wesentlich langsameren Verlauf nehmen können, so scheint diese Verlängerung der Desinfektionszeit nicht überflüssig.

Bei locker agglutinierenden Bakterien führt das Plattenzählverfahren zu inkonstanten Werten, da der Agglutinationsverband durch etwas lebhaftere Manipulationen beim Plattenguß leicht wieder zerschüttelt werden kann. Der Vergleich von Werten, die an solchen Bakterien durch verschiedene Personen gewonnen worden sind, ist nur mit Vorbehalt möglich. In diesen Fällen kann der WOLFFHÜGELSche Zählplattenfehler von 40% um das Mehrfache über-

schritten werden. Die Stärke des Agglutinationszustandes ist durch die Wechselbeziehung zwischen Bacterium, Desinfiziens und gegebenenfalls durch Art und Menge bestimmter Schutzkolloide festgelegt. Bei Elektrolyten als Desinfiziens kommen unklare Schwankungen des Agglutinationszustandes vor.

Die hier neu entwickelte Größe K ist geeignet, namentlich in Verbindung mit dem Exponenten p , eine allgemein vergleichbare Maßzahl für die Wirkungsstärke der Abtötungsverfahren auch für den örtlichen und zeitlichen Vergleich abzugeben.

VI. Zusammenfassung.

An Hand namentlich der neueren Literatur und eigener Versuche wird der bakterielle Absterbevorgang in einer neuen Gleichung ausgedrückt, die auch für die rein thermischen Verfahren gilt.

Es wird nachgewiesen, daß der Absterbevorgang im allgemeinen als einfache monomolekulare Reaktion verläuft, die lediglich durch eine Reihe von Nebenumständen in mannigfaltiger Weise modifiziert wird. Diese Nebenumstände beruhen im wesentlichen in Agglutinationsvorgängen, in Wachstumshemmung und Keimtötung in der Nachkultur, endlich in den Einflüssen der absoluten Keimdichte auf den Zählplatten.

Der monomolekulare Verlauf der Absterbekurven zwingt jedoch zu der Annahme, daß jeweils nur ganz wenige Moleküle an der Reaktion beteiligt sind. Aus der Vielheit heterogener Leben-Todreaktionen geht hervor, daß der Lebens-träger des Bakteriums am besten als Molekülkomplex gedacht wird, der infolge seiner Zusammensetzung vielseitige Reaktionsmöglichkeit besitzt. Als Terminus technicus wird hierfür die Bezeichnung Acceptor gebildet. Es wird zur Diskussion gestellt, ob gewisse Bakterien oder Bakteriensporen „viele“ solcher Acceptoren besitzen. Abschließend werden hieraus Notwendigkeiten und Möglichkeiten für die Praxis abgeleitet.

Literatur.

- ALTHAUS: Über die Wirkung der gebräuchlichsten Desinfektionsmittel bei verschiedenen Temperaturen. Diss. Gießen 1937.
- ANDREWES and ELFORD: Observations on anti-phage sera. Brit. J. exper. Path. **14**, 367 (1933).
- ARLOING, CORNEVIN, THOMAS: J. Bacter. **8**, 359 (1922).
- BACHEM and DUSHKIN: Time factors concerned in the germicidal action of u.v. light. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **30**, 700 (1933).
- BAKER and NANAVUTTY: A quantitative study aso. J. of exper. Path. **10**, 45 (1929).
- BALLANTYNE: On certain factors influencing the survival of bacteria in water and in saline solutions. J. Bacter. **19**, 303 (1930).
- BECHHOLD: (1) Halbspezifische Desinfektion. Münch. med. Wschr. **1914 II**, 1929.
— (2) Halbspezifische Desinfektionsmittel. Z. Hyg. **64**, 113 (1917).
- BECKWITH and WEAVER: Sonic energy as a lethal agent for yeasts and bacteria. J. Bacter. **32**, 361 (1936).
- BEHRENS: Über die Bedingungen der Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzung. Z. Hyg. **100**, 388 (1923).
- BÉLIN, MUTERMILCH et SALAMON: Action des substances protectrices sur la thermorésistance de certaines bactéries. C. r. Soc. Biol. Paris **114**, 1278 (1933).
- BERGER u. ROESLI: Die übertragbare Lyse als Funktion der Temperatur. Z. Hyg. **107**, 731 (1927).

- BERGMANN: Zur Kenntnis der Dampfdesinfektion. I. Untersuchungen über die Sporenresistenz der anaeroben Bakterien usw. Sv. Läk. sällsk. Hdl. 58, 1 (1932). Ref. Zbl. Hyg. 27, 586 (1932).
- BERGMANN, ROLF: Zur Kenntnis der Dampfdesinfektion. II. Mitt. Sv. Läk. sällsk. Hdl. 58, 159 (1932). Ref. Zbl. Hyg. 29, 26 (1933).
- BIGELOW: The logarithmic nature of thermal death time curves. J. inf. Dis. 29, 528 (1921). — and ESTY: Thermal death point of thermophiles. J. inf. Dis. 27, 602 (1920).
- BOLTZMANN: Vorlesungen über Gastheorie, 3. Aufl. 1923.
- BOYER et BOYRON: Variation avec la durée de son séjour dans l'eau de la sensibilité du colibacille aux hypochlorites. C. r. Soc. Biol. Paris 108, 982 (1931).
- BREHME: Über die Widerstandsfähigkeit der Choleravibrionen und Typhusbacillen gegen niedrigere Temperaturen. Arch. f. Hyg. 40, 320 (1901).
- BUCHHOLZ u. JENEY: Über das Wesen der bakteriziden Wirkung von monochromatischen ultravioletten Strahlen. Zbl. Bakter. I Orig. 133, 299 (1935).
- BÜRGI u. LAUBENHEIMER: Desinfektions- und Sterilisationslehre. 2. Chemischer Teil. KOLLE-KRAUS-UHLENHUTH's Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. 3/2, S. 987—1040. Jena, Berlin u. Wien 1931.
- BURKE, SPRAGUE and LA VERNE: Dormancy in bacteria. J. inf. Dis. 36, 555 (1925).
- CHICK: The Investigation of the laws of disinfection. J. of Hyg. 8, 92 (1908). — and MARTIN: The principale involution in the standardisation of disinfection. J. of Hyg. 8, 654 (1908).
- CLAUDITZ: Ein Beitrag zur quantitativen bakteriologischen Wasseruntersuchung. Hyg. Rdsch. 14, 665 (1904).
- CLIFTON, MUELLER and ROGERS: Neutralization of the bacteriophage. J. of Immun. 29, 377 (1935).
- COBLENTZ u. FULTON: Radiometrische Untersuchungen über die keimtötende Wirkung der ultravioletten Strahlung. Amer. J. Electrother. 43, 251 (1925).
- COHEN, B.: Disinfection studies. The effect of temperature and hydrogen ion concentrations upon the viability of *bact. coli* and *bact. typhosum* in water. J. Bacter. 7, 183 (1922).
- COOPER and HAINES: The influence of the temperature on bactericidal action. J. of Hyg. 28, 163 (1928).
- CRONER: Zur Theorie der Desinfektion. Zbl. Bakter. I Orig. 61, 175 (1911).
- EHRISMANN: Über den Mechanismus der bactericiden Wirkung ultravioletter Strahlen. Z. Hyg. 111, 618 (1930). — u. NOETHLING: Über die bakterizide Wirkung monochrom. Lichtes. Z. Hyg. 113, 597 (1932).
- EIJKMANN: (1) Die Überlebenskurve bei Abtötung der Bakterien durch Hitze. Biochem. Z. 11, 12 (1908). — (2) Onderzoekingen op het gebied der desinfectie. Amsterdam. Koningk. Head van Wetensch. 17, 735 (1909). — (3) De reactiesnelleid van Microorganismen. Amsterd. Koningk. Head van Wetensch. 21, 507 (1912).
- FALK and WINSLOW: Dynamics of toxicity. J. Bacter. 11, 1 (1926).
- FISCHER: Die Bedeutung der Ergebnisse von Desinfektionsversuchen. Zbl. Bakter. I. Orig. 108, 327 (1928).
- FISHER and MCKINLEY: The resistance of different concentrations of a bacteriophage to ultraviolet rays. J. inf. Dis. 40, 399 (1927).
- FLEISCHER u. AMSTER: Über den Einfluß des Mediums auf die Resistenz der Bakterien. Desinfektionsversuche mit Hitze. Z. Hyg. 99, 209 (1923).
- FUST: Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung schwacher Säuren. Naunyn-Schmiedebergs Arch. 142, 248 (1929).
- GATES: The quantitative action of ultraviolet light on *Staphylococcus aureus*. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 21, 61 (1923).
- GEGENBAUER: Studien über die Desinfektionswirkung des HgCl₂. Arch. f. Hyg. 90, 23 (1921). — u. REICHEL: Die Desinfektion milzbrandiger Häute und Felle in HCl + NaCl. Arch. f. Hyg. 78, 1 (1913).
- GEWEHR: Untersuchungen über den resistenzerhöhenden Einfluß von Bakterienchutzstoffen in Desinfektionsversuchen. Arch. Mikrobiol. 1, 599 (1930).

- GÖBEL: Über die Beziehungen zwischen der Dichte der Bakterien und ihrer Widerstandsfähigkeit. *Z. Hyg.* **100**, 389 (1923).
- GRASSBERGER: Die Desinfektion in Theorie und Praxis. Leipzig 1913.
- GREGERSEN: Untersuchungen über die desinfizierende Kraft usw. *Zbl. Bakter. I Orig.* **77**, 188 (1915).
- GROS: ferner STADLER u. KLEEMANN. Zit. nach REICHEL (2).
- GUTFELD, v. u. PINCUSSEN: Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. II. Mitt. *Zbl. Bakter. I Orig.* **118**, 187 (1930).
- HABS: Die Aufnahme eines gelösten Stoffes durch Bakterien. III. Ein Beitrag zur Theorie der Desinfektion. *Z. Hyg.* **114**, 358 (1933).
- HALLAUER: Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von Bakterien und übertragbarem Lysin im Ultraviolettpektrum. *Z. Hyg.* **117**, 18 (1935).
- HAMPIL: Bactericidal properties of the acyl and the alkyl derivatives of resorcinol. *J. inf. Dis.* **43**, 25 (1928).
- HAROLD: The influence of some environmental factors upon the thermal resistance of bacterial spores. *J. inf. Dis.* **56**, 196 (1935).
- HAYAISHI: Zur Absterbeordnung der Bakterien. *Z. Hyg.* **102**, 87 (1924).
- HEADLEE: Thermal death point III. Spores of *Clostr. Welchii*. *J. inf. Dis.* **48**, 468 (1931).
- HEIBERG: Die Thermoresistenz bei jungen und alten Bakterien, und „jungen“ und „alten“ Phagen. *Z. Hyg.* **114**, 425 (1932).
- HENRI et CERNOVODEANU: Etat de l'action des rayons u.-v. sur les microbes. *C. r. Acad. Sci. Paris* **151**, 724 (1910).
- HERČIK: (1) Polonium und die Treffertheorie bei Bakterien. *Strahlenther.* **47**, 374 (1933). — (2) Zum Mechanismus der α -Strahlenwirkung. *Strahlenther.* **49**, 438 (1934).
- HERTEL: Über die physiologische Wirkung von Strahlen verschiedener Wellenlängen. *Z. allg. Physiol.* **4**, 1 (1904); **5**, 95 (1905).
- HETTLER and BRONFENBRENNER: On the particulated size of bacteriophage. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **26**, 644 (1929).
- HEWLETT: Disinfection and Disinfectants. *Lancet*, 13. März 1909.
- HÖBER: Physiologische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1924.
- HOFFMANN: Bakteriologische und hygienische Erfahrungen bei Desinfektionsversuchen vermittels des Elektrokataodynverfahrens. *Arch. f. Hyg.* **120**, 129, H. 3 (1938).
- HOLWECK et LACASSAGNE: Etude de la radiosensibilité etc. *C. r. Soc. Biol. Paris* **100**, 1101 (1929).
- HÜCKEL: Über die Abhängigkeit der Hitzeresistenz verschiedener Bakteriensuspensionen von ihrer Dichte. *Z. Hyg.* **106**, 730 (1926).
- ISAACS: Factors which influence tests of bacterial survival. I. *J. Bacter.* **20**, 161 (1930); II. *J. Bacter.* **20**, 175 (1930).
- JETTMAR: (1) Über das Vorkommen von Mikroorganismen höchster Thermomoresistenzgrade in der Natur. *Abh. Gesamtgeb. Hyg.* **1936**, H. 22, 1. — (2) Über die sporozide Wirkung heißer Sodalösung. *Arch. f. Hyg.* **119**, 223—244 (1938).
- JUNGBLUT: Über Festigungsversuche an Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der physikalisch-chemischen Veränderungen. *Z. Hyg.* **99**, 254 (1923).
- KENDALL, FRIEDEMANN and ISHIKAWA: (1) Methods for the study of resting bacteria. *J. inf. Dis.* **47**, 186 (1930). — — — (2) Quantitative observations on the chemical activity of resting *Bacillus coli*. *J. inf. Dis.* **47**, 194 (1930).
- KIGASAWA: Versuche über die Veränderlichkeit der Bakteriophagenwirkung auf Agar. *Z. Immun.forsch.* **60**, 80 (1929).
- KLEIN: Die Methoden der Keimzählung. KOLLE-KRAUS-UHLENHUTHS Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. 10. 1930.
- KLIEWE: Über die Bedingungen der Widerstandsfähigkeit von Bakteriensporen gegen Erhitzung. *Z. Hyg.* **103**, 733 (1924).
- KLÖVEKORN u. GÄRTNER: Die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf einzellige Lebewesen. *Strahlenther.* **23**, 148 (1936).
- KNAYSI: (1) Disinfection I. The development of knowledge of disinfection. *J. inf. Dis.* **47**, 293 (1930).

- KNAYS: (2) Disinfection IV. Do bacteria die logarithmically. *J. inf. Dis.* **47**, 322 (1930).
— (3) Disinfection V. Some properties of frequency curves and their use in studies of disinfection. *J. inf. Dis.* **47**, 328 (1930).
— and GORDON: (1) Disinfection II. The manner of death of certain bacteria and yeasts aso. *J. inf. Dis.* **47**, 303 (1930).
— — (2) Disinfection III. The taking up of iodine by yeast cells. *J. inf. Dis.* **47**, 318 (1930).
- KNORR u. RUF: Bakterien und Bakteriophagen im Elektronenfeld. *Arch. f. Hyg.* **113**, 92 (1935).
- KNORR, M.: (1) Die qualitative Katgutuntersuchung. *Arch. f. Hyg.* **105**, 385 (1931).
— (2) Über die widerstandsfähigen Keime in Sterilisationsproben (Aktinomyceten). *Zbl. Bacter. I Orig.* **127**, 269 (1933).
- KOLLE u. HETSCH: Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten, 7. Aufl., Bd. 1, S. 102. Berlin u. Wien 1929.
- KORB: Beitrag zur Strahlenempfindlichkeit von Bakterien. *Radiol. Rdsch.* **2**, 120 (1933).
- KRÖNIG u. PAUL: Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. *Z. Hyg.* **25**, 1 (1897).
- LACASSAGNE et HOLWECK: Les qualités qu'offre *Polytoma uvella* pour l'étude de la radiosensibilité cellulaire. *C. r. Soc. Biol. Paris* **107**, 120 (1931).
- LANGE, B.: Keimmenge und Desinfektionserfolg. *Z. Hyg.* **96**, 92 (1922).
- LANGE, BR.: (1) Die Bedeutung des für die Nachkultur verwendeten Nährbodens für die Beurteilung des Desinfektionserfolges. *Z. Hyg.* **94**, 125 (1921).
— (2) Beiträge zur Methodik der Desinfektionsmittelprüfung. Die Prüfung des Desinfektionserfolges durch Kultur und Tierversuch. *Z. Hyg.* **105**, 214 (1926).
- LANGE, FR.: Das Bunsen-Roscoe-Gesetz für die Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Bakterien. *Desinfekt.* **6**, 10 (1921).
- LAZAREW: Zur Toxikologie des Benzins. *Arch. f. Hyg.* **102**, 230 (1923).
- LEA, HAINES and COULSON: (1) The action of radiations on bacteria. III. γ -rays on growing and on non-proliferating bacteria. *Proc. roy. Soc. Lond. B.* **123**, 1—21 (1937).
— — — (2) The mechanism of the bactericidal action of radioactive radiations. *Proc. roy. Soc. Lond. B.* **120**, 47 (1936).
- LEE u. GILBERT: Anwendung des Massenwirkungsgesetzes auf den Vorgang der Desinfektion — ein Beitrag zur mechanischen Theorie im Gegensatz zur vitalistischen Theorie. *J. physic. Chem.* **22**, 348 (1918). *Ref. Zbl. Bacter. I Ref.* **73**, 569 (1922).
- LEHMANN, K. B.: *Arch. f. Hyg.* **74**, 1 (1911); **75**, 1 (1912).
— u. SCHMIDT-KEHL: *Arch. f. Hyg.* **116**, 131 (1936).
- LEMBKE: Die Hitzewiderstandsfähigkeit der Colibakterien usw. *Zbl. Bacter. II* **96**, 92 (1937).
- LEVINE and BUCHANAN: Some factors influencing the germicidal efficiency of alkalies. *Amer. J. publ. Health* **1928**, 1361.
— PETERSON and BUCHANAN: Germicidal efficiency of sodium hydrate, sodium carbonate and trisodium phosphate at the same H-ion concentration. *Ind. Chem.* **19**, 1838 (1927).
- LIECHTI, A. u. E. FEISTMANN: Über die Empfindlichkeit von Einzellern auf ultraviolettes und sichtbares Licht. *Strahlenther.* **62**, 393—405 (1938).
- LIN: Photometric study of bacteriophage action. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **32**, 488 (1934).
- LLOYD, OSTROM and LINGER: Autosterilizing power of the nasal mucous membrane. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **25**, 624 (1927/28).
- LUSZCZAK: Über den funktionellen Verlauf von Giftwirkungskurven. *Abh. Gesamtgeb. Hyg.* **1936**, H. 22, 99.
- MADSEN u. NYMANN: Zur Theorie der Desinfektion. *Z. f. Hyg.* **57**, 389 (1907).
- MAGOON: Studies upon bacterial spores. Thermal resistance as affected by age and environment. *J. Bacter.* **11**, 253 (1926).
- MARTINI: Über eine unzweckmäßige Vereinfachung meiner Seuchengleichungen. 3. Bemerkungen über die Konstanten in biologischen Gleichungen. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **41**, 743 (1937).
- MCCULLOCH: The germicidal efficiency of sodium hydroxyde. *J. Bacter.* **25**, 469 (1933).
- MITTASCH: Über katalytische Verursachung im biologischen Geschehen. Berlin 1935.
- MORRISON and RETTGER: Bacterial spores. I. *J. Bacter.* **20**, 299 (1930); II. **20**, 313 (1930).

- MUDGE and SMITH: Effect of agitation upon bacterial growth. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **31**, 154 (1933).
- MÜNDEL u. SCHMID: Über Resistenzänderung von Erds sporen durch thermische Einflüsse. Arch. f. Hyg. **119**, 20 (1938).
- MUNTSCH: Über die sterilisierende Kraft des gespannten Dampfes bei Luftbeimengung. Z. Hyg. **111**, 480 (1930).
- MUNTSCH, O.: Ein Beitrag zur kulturellen Keimzählmethode. Zbl. Bakter. I. Orig. **114**, 438—445 (1929).
- MURRAY: Thermal death point II. Spores of *B. anthracis*. J. inf. Dis. **48**, 457 (1931).
- and HEADLEE: Thermal death point I. Spores of *clostridium tetani*. J. inf. Dis. **48**, 436 (1931).
- NAKAMURA: Über die Geschwindigkeit der bakteriophagen Lyse. Sci. Rep. Gev. Inst. Dis. Tokyo Univ. **6**, 111 (1927).
- NANAVUTTY: The thermal death-rate of the bacteriophage. J. of Path. **33**, 203 (1930).
- NERNST, WALTHER: Theoretische Chemie. Stuttgart 1926.
- ØRSKOV: Versuche über Thermoresistenz. Z. Hyg. **105**, 317 (1926).
- PANETH: Über experimentelle Veränderungen der chemischen Resistenz von Bakterien. Klin. Wschr. **1926 II**, 1603.
- PASSOW u. RIMPAU: Untersuchungen über photodynamische Wirkungen auf Bakterien. Münch. med. Wschr. **1924 I**, 733.
- PAUL, BIRSTEIN u. REUSS: (1) Beitrag zur Kinetik des Absterbens von Bakterien usw. Biochem. Z. **25**, 367 (1910).
- — — (2) Beitrag zur Kinetik der Giftwirkung von gelösten Stoffen. Biochem. Z. **29**, 201 (1910).
- u. PRELL: Die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln mit Staphylokokken. Arb. ksl. Gesdh. amt **26**, 129 (1907).
- PAULI u. SULGER: Über die baktericide Wirkung von Röntgenstrahlen usw. Strahlenther. **29**, 128 (1928).
- PHELPS: Desinfection of sewage and s. effluents. J. amer. eng. Soc. **1911**, 24.
- PIRAS: L'azione battericida dei raggi ultravioletti intermittenti. Igiene mod. **21**, 65—67 (1928).
- POTTHOFF: Über die Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Bakterien und Bakteriensporen. Desinfekt. **1921**, 10, 41.
- PRIGGE: Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit von Diphtherieimpfstoffen. Dtsch. med. Wschr. **1937 I** und **II**, 894, 1478, 1906.
- RAHN: The size of bacteria as the cause of the logarithmic order of death. J. gen. Physiol. **13**, 179 (1929).
- REICHEL: (1) Zur Theorie der Desinfektion. Biochem. Z. **22**, 149 (1909).
- (2) Desinfektions- und Sterilisationslehre, Teil I. KOLLE-KRAUSE-UHLENHUTHS Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 3/2, S. 835. 1931. Dort weitere Literatur.
- (3) Über die Thermo- und Aktinoresistenz der Bakt. usw. Abh. Gesamtgeb. Hyg. **1931**, H. 7.
- (4) Die Methodik der Desinfektion. ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 4, Teil II, S. 771—898. 1936.
- (5) Die wichtigsten mathematischen Methoden bei der Bearbeitung von Versuchsergebnissen und Beobachtungen. ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 5, Teil 10, S. 987—1074. 1936.
- REICHENBACH: (1) Zur Theorie der Desinfektion. Zbl. Bakter. I Ref. **47**, 75 (1910).
- (2) Die Absterbeordnung der Bakterien und ihre Bedeutung für Theorie und Praxis der Desinfektion. Z. Hyg. **69**, 171 (1911).
- REINER: Relation between toxicity, resistance and time of survival. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **30**, 574 (1933).
- RICHEt et LE BER: De la relation de la durée et la concentration d'une substance stérilisante. C. r. Acad. Sci. Paris **178**, 2022 (1924).
- RIEGER u. TRAUNER: Über die Wirkung des H₂O usw. Arch. f. Hyg. **98**, 176 (1927).
- RODENBECK: Über die thermische Sterilisation wasserfreier Stoffe und die Resistenz einiger Bakterien bei Erhitzung in solchen Stoffen. Arch. f. Hyg. **109**, 67 (1933).

- RUATA: Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer. Zbl. Bakter. II 11, 220, 287 (1904).
- SARTORIUS: Über Farbstoffwirkung auf Bakterien. I. Zbl. Bakter. I Orig. 107, 134 (1928). II. 107, 398 (1928).
- SATTLER: Untersuchungen über die Absterbegeschwindigkeit, die Wärmebeschleunigung und den Resistenzwechsellpunkt usw. Wien. milchwsch. Forsch. 7, 100 (1929).
- SCHEITZ: Die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Lebensverhältnisse der Bodenbakterien. Arch. Mikrobiol. 1, 577 (1930).
- SCHPEMANN u. FLECKE: Über die Einwirkung überweicher Röntgenstrahlen auf Bakterien. Klin. Wschr. 1926 II, 1608.
- SCHINZEL: Zur Hitzeentkeimung wasserfreier Stoffe: Öl, Heißluft. Abh. Gesamtgeb. Hyg. 16, 41 (1934).
- SCHIROKAUER u. ZELTNER: Der osmotische Druck als bakterizider Faktor. Ther. Gegenw. 1927, 200.
- SCHLESINGER: Über die Bindung des Bakteriophagen an homologe Bakterien. I. Die Unterscheidung von Gruppen usw. Z. Hyg. 111, 136 (1932).
- SCHWIERING, H.: Über die Einwirkung von Desinfektionsmitteln auf die Vermehrung und Lebensdauer von Bakterien. Diss. Frankfurt a. M. 1937.
- SOMMER: Heat resistance of the spores of Clostr. botulinum. J. inf. Dis. 46, 85 (1930).
- STARK, C. N. and P. STARK: The relative thermal death rate of young and mature bacterial cells. J. Bacter. 18, 333 (1929).
- STENSTROM and GAIDA: Action of ultraviolet rays on new and old bacterial cultures. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 104, 94 (1932).
- STERLING-OKUMIEWSKI u. KAWECKI: Über die Einwirkung der α -Strahlen der Emanation auf Bakterien. Bull. internat. Acad. pol. Sci., Cl. Med. 416, 171 (1931). Ref. Zbl. Hyg. 27, 450 (1932).
- STUTZ: Spielt die Dichte von Keimaufschwemmungen eine Rolle für die Widerstandsfähigkeit der Keime gegen Wärme? Z. Hyg. 120, 243 (1938).
- SULGER: Über den Einfluß der Bebrütungszeit einer Bakterienkultur auf ihre Röntgenstrahlenempfindlichkeit. Strahlenther. 36, 596 (1930).
- TANNER and WILLIAMSON: The effect of freezing of yeasts. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 25, 377 (1928).
- THIELE u. WOLF: Über die Abtötung von Bakterien durch Licht, Teil I. Arch. f. Hyg. 57, 29 (1906); Teil II 60, 29 (1907).
- TRILLAT: (1) Recherche sur l'action bactéricide des rayons. Ann. Inst. Pasteur 41, 583 (1927).
— (2) L'action des rayons sur les microbes. Presse méd. 1927, 182.
- UGLOW u. GAN: Über neue oligodynamisch wirkende chemische Verbindungen von Silber und Mangan. Z. Hyg. 117, 488 (1935).
- VILJOEN: Heat resistance of spores in Pea liquor. J. inf. Dis. 39, 286 (1927).
- WIESNER: Die Wirkung des Sonnenlichts auf die pathogenen Bakterien. Arch. f. Hyg. 61, 1 (1907).
- WILLIAMS: (1) Heat resistance of spores. J. inf. Dis. 44, 421 (1929).
— (2) Attempts to increase the heat resistance of bacterial spores. J. Bacter. 32, 589 (1936).
— and GAINES: The bactericidal effects of high frequency sound waves. J. inf. Dis. 47, 485 (1930).
- WINSLOW and BROOKE: The viability of various species of bacteria in aqueous suspensions. J. Bacter. 13, 235 (1927).
- WINTERSTEIN: Lichtwirkung auf Bakterien. Strahlenther. 39, 619 (1931).
- WOHLFEIL u. EWIG: Über Atmung und Gärung ihrer Abhängigkeit von der Bakterienzahl. Zbl. Bakter. I Orig. 133, 491 (1934/35).
- WYCKOFF: (1) The killing of certain bacteria by x-rays. J. of exper. Med. 52, 435 (1930).
— (2) The killing of colon bacilli by x-Rays of different wave lengths. J. of exper. Med. 52, 769 (1930).
— and RIVERS: Effect of cathode rays upon certain bacteria. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 27, 312 (1930).
- ZOOND: The interpretation of changes in electrical resistance accompanying the death of bacterial cells. J. Bacter. 14, 279 (1927).

III. Über das Vorkommen von Influenzabacillen in epidemiefreier Zeit am laufenden Sektionsgut während eines Jahres¹.

Von

J. WÄTJEN und KL. WASMUHT-Halle a. d. S.

Mit 11 Abbildungen.

Inhalt.

	Seite
Einleitung: Ausgangspunkt der Untersuchungen. Die im bisherigen Schrifttum niedergelegten Arbeiten über Influenzabacillenbefunde am Lebenden und am Sektionsgut	138
I. Eigene Untersuchungen	143
1. Methodik und Stoffeinteilung	143
2. Weitere Auswertungen des tabellarisch nach Monaten zusammengestellten Materials	146
3. Meteorologische Beobachtungen	148
4. Grundleiden und Influenzabacillenbefunde	156
II. Kritische Besprechung der Gesamtbefunde	158
III. Zusammenfassung	165
Literatur	166

Einleitung.

Eine im Winter 1936/37 in Halle zur Beobachtung kommende Grippe-epidemie größeren Ausmaßes gab dem einen von uns (WÄTJEN) Gelegenheit, Untersuchungen über das Vorkommen von Influenzabacillen (IB.) am Leichengut der an Grippe Verstorbenen anzustellen. Durch weitgehendstes Entgegenkommen des Hygienischen Institutes der Universität (Professor Dr. PAUL SCHMIDT) konnten die pathologisch-anatomischen und bakterioskopischen Befunde einer regelmäßigen bakteriologischen Nachprüfung unterworfen werden.

In reinen Grippefällen, die an pneumonischen Komplikationen zugrunde gegangen waren, fanden sich IB. in 67% der untersuchten Fälle. Bei andersartigem Grundleiden und hinzutretendem Grippeinfekt wurden IB. sogar in 94% der Fälle gefunden.

Es lag nahe, bei diesen Befunden, den IB. eine pathognomonische und auch diagnostische Bedeutung nicht absprechen zu sollen. Der Eindruck wurde von neuem erweckt, daß die IB. keine für die Grippe, auch in ihrer epidemieartigen Verbreitung, bedeutungslose Rolle spielen, und daß ihr Nachweis in den tieferen Luftwegen (Bronchiolen) bei den zur Untersuchung gelangten Fällen für die Annahme eines vorliegenden Grippeinfektes sprechen konnte.

¹ Aus dem Pathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Direktor: Professor Dr. J. WÄTJEN.

Die gut eingespielte Zusammenarbeit zwischen dem pathologischen und hygienischen Institut ließ es wünschenswert erscheinen, auch nach Abklingen der Grippeepidemie, etwa Februar 1937, die IB.-Forschung auch auf die zunächst nun folgende epidemiefreie Zeit noch weiter auszudehnen.

Der eine von uns (WÄTJEN) hat über die Resultate dieser Untersuchungen am 26. Mai 1937 in der Medizinischen Gesellschaft zu Halle schon ausführlich Bericht erstattet.

Am laufenden Sektionsgut, in dem von anatomisch sicheren Grippe-lungenentzündungen im März und Mai 1937 noch je 3 Fälle zur Beobachtung kamen, wurden im März in 33%, im April in 38% und im Mai in 28% der untersuchten Fälle IB. in den Bronchiolen gefunden. Diese hohen Prozentzahlen nach Abklingen der Epidemie mußten überraschen. Wenn durchschnittlich in diesen Monaten in 30% der Fälle IB. sich nachweisen ließen, so mußte man zunächst an eine Nachwirkung der vorausgegangenen Grippeepidemie denken, bei der eine weitgehende Durchseuchung mit IB. stattgefunden haben konnte. Der Fundort der IB. in den Bronchiolen ließ weiter ein ungewöhnliches Tiefenwandern dieser Keime annehmen, wofür wieder günstige Bedingungen während der vorausgegangenen Epidemie gegeben sein mochten.

Die lebhaft ausgesprochene, die sich an diesen Vortrag anschloß, zeigte, daß hier Probleme von allgemeiner Bedeutung vorlagen. Sollte nicht das unerwartet häufige Vorkommen der IB. bei klinisch nicht an Grippe erkrankt gewesenen Menschen ein besonders bedenkliches Zeichen dafür sein, daß nun bei gegebener Umweltskonstellation, etwa bei Eintritt naßkalter Witterung, im kommenden Winter eine neue, vielleicht noch größere Grippeepidemie als im Winter 1936/37 zu erwarten wäre?

Waren die der Epidemie zunächst folgenden Monate vielleicht durch die vorausgegangene Grippewelle noch als belastet anzusehen, so schien schon aus diesem Grunde eine Fortführung der Untersuchungen unter gleichbleibenden Bedingungen lohnend und aussichtsreich zu sein. Der Entschluß, die Arbeit auf den Zeitraum eines ganzen Jahres auszudehnen, wurde durch die nie ermüdende Hilfsbereitschaft des hygienischen Institutes erst ermöglicht. So nur hatte man Gelegenheit, im Wechsel der Jahreszeiten mit ihren etwa grippebegünstigenden Konstellationen ein Sinken oder Steigen der IB.-Befunde zu kontrollieren, und damit ihren Einfluß auf einen etwaigen neuen Ausbruch einer Grippeepidemie zu Ende des Jahres nachzuprüfen.

Wenn solche Untersuchungen hier an einem besonders gearteten Beobachtungsgut angestellt werden mußten, so wird man mit Verallgemeinerung auf die Verhältnisse beim lebenden Menschen grundsätzlich vorsichtig sein müssen, und es ist deswegen zu begrüßen, daß im Schrifttum schon eine größere Anzahl von Untersuchungen über das Vorkommen von IB. beim gesunden Lebenden vorliegen, die als Ergänzung zu den unserigen sehr willkommen erscheinen. Dabei sollen im folgenden besonders einige solcher Arbeiten Erwähnung finden, die sich der Frage des Vorkommens der IB. bei Gesunden im Anschluß an eine Grippeepidemie zugewandt haben.

Eine schon länger zurückliegende Untersuchungsreihe von KRETZ stammt aus dem Jahre 1897. Das Sputum von 950 Kranken aus der Zeit vom 6. Juni bis 10. Juli ergab in 47 Fällen positive IB.-Befunde = 5%. Es war eine grippeepidemiefreie Zeit, bei der nur in 12 Fällen klinisch influenzaverdächtige Symptome vorgelegen hatten, und bei 6 Todes-

fällen auch pathologisch-anatomische Zeichen einer Grippe sich fanden. Da bei manchen dieser Fälle ein Zurückbleiben bzw. ein Fortvegetieren der Bacillen nach einem akuten Anfall nicht ausgeschlossen werden konnte, sprach KRETZ hier von chronischen Influenzafällen mit fehlenden oder wenig auffallenden Symptomen. Noch mehrere Monate nach solchen akuten Anfällen fand er vereinzelt IB., so daß neben chronisch Influenzakranken auch gesunde Bacillenträger von ihm angenommen wurden. Bei der wahrscheinlich kurzen Dauer der erworbenen Immunität wird nach seiner Ansicht ein Rezidiv durch die im Organismus fortvegetierenden Bacillen leicht zustande kommen. Tuberkulöse Kavernen, Bronchiektasien, Lungenschwielen und Anomalien der Nasennebenhöhlen bezeichnete er als Veränderungen, die als Depots für IB. in Betracht kämen.

THALMANN fand im Anschluß an eine Grippeepidemie der Dresdener Garnison 1910 in der Zeit vom November d. Js. bis Ende Oktober 1912 im Auswurf von 489 Militärpersonen in 359 Fällen IB. Bemerkenswerterweise waren unter den negativen Fällen auch zahlreiche mit Lungenentzündungen und Bronchialkatarrhen. Seine positiven Befunde wertete er als Zeichen einer nicht lange andauernden Influenzaimmunität. Bei solchen Grippefällen, in denen der Katarrh erst nach langem Bestehen beseitigt werden konnte, fanden sich IB. noch nach Wochen in großer Menge im Auswurf. Neben Bronchiektasien sieht er als mögliche IB.-Depots die Lacunen der Gaumenmandeln an. Von hier aus soll bei Erkältungen die Verbreitung über die Schleimhäute der Luftwege ausgehen.

LEVINTHAL gab 1929 Untersuchungsreihen über positive IB.-Befunde bei gesunden Personen (Kursteilnehmerinnen) bekannt, die er in epidemiefreier Hochsommerzeit 1926 und 1927 an Nasenrachenschleimkulturen gewonnen hatte. So hatten 1927 von 77 Personen 15 IB. = 19,9%. Anders wie manche Autoren, die in einer gesetzmäßigen und stufenweisen Abnahme positiver I.B.-Befunde mit wachsender Distanz von Seuchenwellen darin eine Stütze ihrer ätiologischen Bedeutung sehen wollen, glaubt LEVINTHAL, daß auch das Vorkommen der IB. in einem hohen Prozentsatz von Trägern in epidemiefreier Zeit ihre ätiologische Rolle nicht erschüttern könne.

Von KLIENECKER liegen aus dem Jahre 1929 über 7 Monate (März bis September) nach einer Grippeepidemie im vorangehenden Winter sich erstreckende Untersuchungen an 425 Gesunden mittels Rachenabstrich vor. Die Zahl der positiven IB.-Befunde war in diesem Zeitraum sehr groß, bei Erwachsenen 42%, bei Kindern sogar 76%. Eine Fortführung dieser Untersuchungen an Schulkindern von Oktober 1929 bis Oktober 1930 ergab noch in 75% positive Befunde. Eine Entscheidung über eine ätiologische oder komplikatorische Bedeutung der IB. wird nicht durchgeführt, doch hält er sie nicht für gewöhnliche Saprophyten, eher für an den menschlichen Nasenrachenraum gebundene Kommensalen.

Auch R. PFEIFFER führt in seinem großen Referat über die Ätiologie der Influenza 1931 aus, daß die IB. nicht als banale Saprophyten ohne jede pathogene Bedeutung aufzufassen wären. Bei einer in Pécs 1925 beobachteten Epidemie waren sie nach seiner Angabe in 20% der Fälle im Rachenabstrich von Gesunden zu finden, nach Abklingen der Epidemie allerdings nur in 1,6%. Eine von ihm als Beispiel erwähnte in der Halleschen Kinderklinik 1927 genauestens verfolgte Grippeepidemie ließ bei manchen Personen monatelang positive Bacillenbefunde erkennen, mit verstärktem Auftreten bei neuerlichen katarrhalischen Erscheinungen. Es gibt nach ihm gesund bleibende Bacillenträger, aber auch chronisch Influenzakranke, die monatelang IB. entleeren, vor allem aus tuberkulösen Kavernen und Bronchiektasien.

Das Vorkommen von IB.-Dauerausscheidern im Anschluß an die große Pandemie 1918/19 betonte schon bald nach dieser 1922 PREUSS. Seine Untersuchungen gingen auf eine Anregung R. PFEIFFERS zurück und umfassen eine erste Periode von Anfang Juli bis Mitte September 1920 und eine zweite Periode von Mitte November bis Mitte Januar 1921, in der in Breslau kaum noch Influenzafälle vorkamen. Von 205 Personen, die zur Zeit der Entnahme gesund waren, hatten in der ersten Periode 11 von 129 positive IB.-Befunde = 8,3%. In der zweiten Periode 2 von 76 positive IB.-Befunde = 2,6%. PREUSS nimmt auf Grund dieser Resultate an, daß auch die IB.-Träger verschwinden, je weiter man sich zeitlich von der Pandemie entfernt.

Aus neuester Zeit sei noch ein holländischer Autor, MULDER, angeführt, dessen über 9 Jahre in den Tropen und Europa durchgeführten Untersuchungen den IB. in Hals-

ausstrichen von gesunden Menschen in etwa 50% der Fälle nachgewiesen haben. Der IB. wurde in allen Jahreszeiten im schleimig-eitrigem Sputum bei akuten und chronischen Katarrhen der Luftwege gefunden ohne Vorhandensein eines ausgesprochenen klinisch-epidemischen Syndroms. Eine verstärkte Aufnahmebereitschaft für Infektionen mit IB. mag nach ihm konstitutionell bedingt sein, so bei exsudativer Diathese; sie wird ferner bei hilfälligen Kindern, im Alter, nach Operationen, nach erschöpfenden Infektionskrankheiten, bei Diabetes, Nephritis und Lungenstauung zu erwarten sein. Er hält den IB. für keinen Lungenparasiten, sondern für einen Oberflächenkeim mit hauptsächlichstem Sitz an den Schleimhäuten des Respirationstraktes.

Diese vornehmlich an Rachenabstrichen und in Sputen nachgewiesenen IB.-Befunde sind sicherlich von allergrößtem Interesse, da sie zeigen konnten, daß im Anschluß an Epidemien ein Bacillenträgertum sich ausbilden kann, dem man dann eine große Bedeutung beilegen muß, wenn man den IB. ätiologisch eine maßgebende Rolle für das Zustandekommen einer Grippeepidemie zuerkennen will. Allerdings scheinen die positiven Befunde mit der Entfernung von einer Epidemie zunächst regelmäßig abzusinken. Beachtenswert ist auch die Feststellung von MULDER, daß die meisten Fälle einer gewöhnlichen akuten eitrigen Tracheitis, Bronchitis und Capillärbronchitis durch IB. bedingt sind. Ist der IB. ein Oberflächenschleimhautparasit und ist er, wie das von PFEIFFER, HUEBSCHMANN, P. SCHMIDT und vielen anderen immer wieder betont wurde, imstande eitrig-entzündliche Reaktionen hervorzurufen, so muß er unter gegebenen Bedingungen aus seinem saprophytären Dasein zur Pathogenität erweckt werden können. MULDER hat in dieser Beziehung treffend auf etwa in Betracht kommende begünstigende Bedingungen dafür von seiten des Bacillenträgerorganismus schon hingewiesen. Der in epidemiefreier Zeit IB. beherbergende menschliche Organismus scheint also eine gewisse Gefahrenquote in sich zu tragen, sei es in Form der Erlangung eines gewöhnlichen Schleimhautkatarrhes der Respirationswege, sei es in Form eines grippalen Infektes, zu dem es sicher noch besonderer Konstellation bedarf. HUEBSCHMANN nimmt an, daß der IB. aus im großen und ganzen unbekanntem Einflüssen eine gewisse Virulenz erlangen kann, aus der bei ihm als alleinigem Erreger eine Influenza, mit sekundären Infektionen durch Eitererreger eine Grippe resultieren könne.

Rachenabstriche und Sputumuntersuchungen sagen über Herkunft und Verbreitung der IB. im Respirationstractus nur Unsicheres aus. Ob die Gegend des Rachenabstriches wirklich der alleinige Aufenthaltsort der Bacillen gewesen ist, und aus welchen Abschnitten der Luftwege sich das Sputum mit den Keimen beladen hat, ist schwer am Lebenden mit Bestimmtheit zu sagen. Auch das, was in den angeführten Arbeiten über IB.-Depots angeführt wurde, scheint zumeist mehr eine verständliche Annahme zu sein, als durch Untersuchungen an Ort und Stelle mit Sicherheit schon erwiesen. Wenn LEICHTENTRITT Bronchiektasenbildung und positive IB.-Befunde als eine Einheit bezeichnet, so scheinen diese Feststellungen doch einer Nachprüfung an negativen Fällen mit Bronchiektasen noch zu bedürfen. Das gleiche gilt für die tuberkulösen Kavernen, die PFEIFFER und KRETZ neben anderen Untersuchern zu IB.-Depots besonderer Häufigkeit stempeln.

Man sieht, daß den Untersuchungen am Lebenden in betreff der IB.-Aufenthaltsorte, der I.B.-Verbreitung und der von ihnen ausgelösten oder fehlenden Reaktionserscheinungen aus den gegebenen Verhältnissen heraus

mancherlei verständliche Mängel anhaften, die ihre Ergänzung durch gleichgerichtete Untersuchungen am Leichengut wieder dringlich forderten.

Von diesem Gesichtspunkt aus erwecken Veröffentlichungen von LIEBER aus dem Jahre 1928 und 1931 besonderes Interesse. LIEBER hat besonders die epidemiefreien Zeiten für seine Beobachtungen ausgewählt und benutzte das Leichengut des Freiburger Pathologischen Institutes. Eine besondere Auslese der Fälle fand nicht statt, regelmäßig wurden Trachea und kleine Bronchien bakteriologisch und auch bakterioskopisch untersucht. Die Untersuchungen begannen nach Abflauen einer Wintergrippewelle in Freiburg am 21. 2. 27 und ergaben bis 4. 3. 27 bei 11 Sektionen 5 positive IB.-Befunde. Vom 4. 3. bis 22. 4. 27 waren die folgenden 40 Sektionen ohne jeden positiven IB.-Befund. Als gegen Mitte Mai naßkalte Witterung mit starkem Temperaturrückschlag einzog, fanden sich einige Tage später bei 6 Sektionsfällen innerhalb einer Woche gleich wieder 4 positive Fälle. Vom 1. 6. bis 16. 11. 27 unter 92 Sektionen kein positiver Fall, was LIEBER veranlaßt, auf das im Herbst damals herrschende schöne und gleichmäßig warme Wetter hinzuweisen. Vom 16. 11. bis 15. 12. 27 bei 14 Sektionen wieder 3 positive Befunde, wobei auch klinisch seit Ende Oktober wieder Grippefälle beobachtet wurden. Bei der Hälfte aller seiner positiven Befunde hatte klinisch entweder Influenza bestanden oder ließ sich als vorausgegangen feststellen.

Hatte LIEBER 1927 vom 21. 2. bis 15. 12. 181 Sektionen untersucht, so berichtet er in einer zweiten Mitteilung über die Fortsetzung seiner Beobachtungen mit gleicher Methodik. Vom 16. 12. 27 bis 7. 1. 28 und nach Unterbrechung vom 22. 1. bis 8. 3. 29 wurden weitere 228 Sektionen ausgewertet. Während vom 16. 12. 27 bis 7. 1. 28 bei 16 Sektionen nur negative Befunde zu erhalten gewesen waren, so traten in der Zeit vom 7. 1. 28 bis 23. 5. 28 bei 26 Sektionen in 9 Fällen wieder positive IB.-Befunde auf, ausgenommen 1 Fall im Juni waren von da ab alle Befunde bis Anfang Dezember wieder ganz negativ. Auch für 1928 erwähnt LIEBER während des Sommers und Herbstes außerordentlich warme, trockene und gleichmäßige Witterung. Er schließt nun aus seinen Ergebnissen aus diesen beiden Jahren, daß in den Winter- und Frühjahrsmonaten zur Zeit der „Saisongrippe“ positive Befunde in den tieferen Abschnitten des Respirationstraktes, zumeist bei Bronchitiden und Bronchopneumonien, auftraten, während in der völlig grippefreien Zeit des Sommers und des auf fallend trockenen Herbstes keine positiven IB.-Befunde zu erhalten waren. Das wechselnde Auftreten und Verschwinden der IB. im Bereich der Schleimhäute der tieferen Atemwege bringt er mit Witterungsverhältnissen und Erkältungsmöglichkeiten in Verbindung. „Der IB. scheint trockene, warme oder heiße Luft nicht gut zu ertragen“, sagt LIEBER. In den beiden fast grippefreien Jahren 1927/28 wurden bei insgesamt 385 Sektionen 23mal IB. gefunden bei nur 4 sicheren Grippefällen = 6%. Eine letzte Untersuchungsreihe wird von LIEBER auf dem Höhepunkt einer Grippeepidemie im Frühjahr 1929 durchgeführt. Die Gesamtzahl betrug 24 Sektionen. Bei 9 Grippe-sektionen waren 7 mit positiven IB.-Befunden, unter 15 Nichtgrippe-sektionen nur 2 positive IB.-Befunde zu erhalten.

Wir haben die Beobachtungen LIEBERs hier auch in den Einzelheiten genauer wiedergegeben, weil sie sich viel eher mit den im folgenden mitzuteilenden Befunden unserer Untersuchungsergebnisse vergleichen lassen als die vorher erwähnten Untersuchungen am Lebenden. Die Schlußfolgerungen von LIEBER sind aber sicher einer Nachprüfung wert, gerade, wo in letzter Zeit klimatisch-meteorologische Einflüsse auf das Krankheitsgeschehen des Menschen ein so wichtiges Arbeitsgebiet geworden sind.

Eine Arbeit von GUNDEL und LINDEN aus dem Jahre 1931 sei zum Schluß noch angeführt, da sie sich auch mit IB.-Befunden in Leichenlungen beschäftigt. Bei 273 Leichen in epidemiefreier Zeit seit Anfang Februar 1930 wurden in 23 Fällen positive IB.-Befunde erhoben, was einem Prozentsatz von 8,42% entspricht. In der Mehrzahl fanden sich Bronchopneumonien in den Lungen. Nach diesen Autoren kann der IB. in den Lungen kein gleichgültiger Befund und auch bei Grippepneumonien nicht ohne ätiologische Bedeutung sein, um so mehr, als sie ihn im Sputum bei akuten Erkrankungen der Atmungsorgane in 88,1% im Sputum von Grippekranken regelmäßig fanden.

Zur besseren Übersicht über die von den verschiedenen Autoren erhobenen IB.-Befunde sei auf die Tabelle 1 hingewiesen.

Tabelle 1. Übersicht über prozentuale +IB.-Befunde bei Gesunden oder Nichtgrippekranken aus der Literatur.

Autor	Jahr	Untersuchung am Lebenden		Untersuchungs- dauer	Aus Leichen- lungen %
		aus Sputum %	aus Rachenabstrich %		
KRETZ	1897	5	—	1 Monat	—
THALMANN	1913	73,4	—	2 Jahre	—
PREUSS	1922	—	a) 8,5 b) 2,6	a) 1. Periode 1½ Monate b) 2. Periode 2 Monate	—
LIEBER	1928	—	—	—	6
	1931	—	—	—	—
LEVINTHAL	1929	—	19,9	2 Sommer	—
KLIENEBERGER	1931	—	a) Erwachsene 42,0 Kinder 76,0 b) Kinder 75,0	a) 7 Monate	—
GUNDEL und LINDEN	1931	88,1	—	b) 1 Jahr	8,42
MULDER	1938	etwa 50	—	9 Jahre	—

Wenn auch die einzelnen Ergebnisse der erwähnten Untersuchungen nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden können, da sie bei wechselnder Methodik von zahlenmäßig und zeitlich ungleichem Untersuchungsgut ausgehen, so ist doch der relativ hoch erscheinende Prozentsatz positiver IB.-Befunde bei lebend Untersuchten während längerer Beobachtungszeit beachtenswert. Im Vergleich dazu ist das Auftreten völlig negativer Intervalle bei LIEBERs Untersuchungen besonders auffallend. Wir werden im folgenden zeigen, daß unsere Leichenuntersuchungen in mancher Beziehung einen von LIEBER abweichenden Befund ergeben haben.

I. Eigene Untersuchungen.

1. Methodik und Stoffeinteilung.

Die Untersuchungsmethodik blieb die gleiche, die sich schon in der Zusammenarbeit mit dem Hygienischen Institut während der Wintermonate 1936/37 gut bewährt hatte. Bei dem jetzt in Betracht kommenden Zeitabschnitt von April 1937 bis April 1938 kam es nicht mehr darauf an, Grippefälle herauszusuchen, sondern es wurde, wie das schon LIEBER gemacht hatte, ohne Auswahl der Fälle, das laufende Sektionsgut des Pathologischen Institutes Halle während dieser Zeit von 13 Monaten untersucht. Eine gewisse Beschränkung mußten wir uns insofern auferlegen, als wir unser sehr reichlich zuströmendes Sektionsmaterial mit Rücksicht auf die ohnehin schon reichliche Arbeitslast des Hygienischen Institutes nicht restlos erfassen konnten. Auch auswärts sezierte Fälle ließen wir meist unberücksichtigt, um möglichst frisches Material zur Verarbeitung zu bekommen.

Von einer Gesamtzahl von 1370 Sektionen in dem betreffenden Zeitraum wurden 615 Fälle bakteriologisch untersucht, was einem Hundertsatz von 45,0 entspricht. Im Gegensatz zu LIEBER (385 Sektionen in epidemiefreier Zeit) ist unser Beobachtungsgut also zahlenmäßig ein erheblich größeres. Gleich bei der Sektion wurden von uns Ausstriche aus den Bronchiolen einer Lunge gemacht, die, nach der GRAM-Methode gefärbt, auf Influenzabacillen durch-

mustert wurden. Die Lungen wurden dann gleich nach Beendigung der Sektion dem Hygienischen Institut überwiesen, das mit seiner großen Erfahrung auf dem Gebiet der Influenzabacillenkultur aus Bronchiolen und Lungengewebe auf Kochblutagar und Blutplatte Kulturen anlegte und auch in Nativausstrichen untersuchte.

Tabelle 2. Gesamtübersicht von April 1937 bis April 1938.

Monat		Gesamtzahl der Sektionen	Bakteriologisch untersucht		A	%	B	%
			%		+		-	
April	1937 . . .	113	71	62,8	27	38,0	44	62,0
Mai	1937 . . .	108	43	39,8	12	28,0	31	72,0
Juni	1937 . . .	106	54	50,9	19	35,0	35	64,8
Juli	1937 . . .	96	41	42,7	11	25,0	30	73,0
August	1937 . . .	97	42	43,3	8	19,0	34	80,9
September	1937 . . .	88	44	50,0	10	22,7	34	77,3
Oktober	1937 . . .	86	43	50,0	10	23,2	33	76,7
November	1937 . . .	99	40	40,4	12	30,0	28	70,0
Dezember	1937 . . .	137	54	39,0	20	37,0	34	63,0
Januar	1938 . . .	116	56	48,0	17	30,4	39	69,6
Februar	1938 . . .	97	40	41,2	12	30,0	28	70,0
März	1938 . . .	125	51	40,8	10	19,6	41	80,4
April	1938 . . .	102	36	35,3	13	36,1	23	63,9
Gesamt:		1370	615	45,0	181	29,4	434	70,6

Tabelle 2 gibt einen Überblick über das Gesamtmaterial mit Zahlenangabe für jeden Monat. Beigefügt sind die Prozentzahlen der positiven und negativen bakteriologischen Befunde, bezogen auf die Gesamtzahl der bakteriologisch untersuchten Fälle jeden Monats.

Von 615 bakteriologisch untersuchten Fällen waren danach 181 positiv und 434 negativ. Das entspricht Hundertsätzen von 29,4 positiven und 70,6 negativen Fällen.

Da von 1370 Sektionen in der Zeit vom 1. 4. 37 bis 30. 4. 38 durchschnittlich nur 45% bakteriologisch untersucht werden konnten mit einem Durchschnittswert von 29% positivem Ausfall, so ergab sich die Frage, wie das Verhältnis der positiven Befunde zur Gesamtzahl der Sektionen bei ihrer restlosen Erfassung sich stellen würde.

Nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung ergibt sich aus der Formel

$$\frac{2}{3} \sqrt{\sum \frac{\epsilon n^2}{n}}$$

ein Anhaltswert über die wahrscheinliche Schwankung. Es ist in dieser Rechnung der durchschnittliche Prozentsatz der positiven Gesamtergebnisse, also der Wert 29%, in Abhängigkeit gebracht zu den positiven Ergebnissen in den einzelnen 13 Monaten.

Es ergeben sich die Werte in die Formel eingesetzt:

$$\frac{2}{3} \sqrt{39,23} = 4,16 \cong \pm 4,2\%.$$

Es ist also die Annahme berechtigt, daß bei Untersuchung aller Sektionen *im günstigsten Falle* 29 + 4,2 = 33,2% positive Ergebnisse gezeigt hätten, und *im ungünstigsten Falle* 29 - 4,2 = 24,8%. Die Schwankung von $\pm 4,2\%$ in den Endergebnissen ist also tragbar und nicht von ausschlaggebender Bedeutung.

Weiter geht aus Tabelle 2 hervor, daß bei den bakteriologisch positiven Fällen die Höchstzahl mit 27 Fällen im April 1937 erreicht wurde. Relativ hohe Zahlen wies dann der Juni auf. Dann folgen ein Abfall bis zum August,

und von September und Oktober an ein allmähliches Aufsteigen, das seinen Gipfelpunkt im Dezember hat, mit dann wieder folgendem staffelförmigen Abfall bis zum März und Wiederanstieg im April 1938.

Eine kurvenmäßige Darstellung (Abb. 1) veranschaulicht das eben Ausgeführte gut.

Die regelmäßig durchgeführten bakterioskopischen Untersuchungen in den bakteriologisch positiven Fällen (Gruppe A) und bakteriologisch negativen Fällen (Gruppe B) sind für die einzelnen Monate auf Tabelle 3 zur Darstellung gebracht. Sie betragen für Gruppe A 27,0% und für Gruppe B 12,4%.

Bei allem Wert bakterioskopischer Untersuchungen glaubten wir doch zunächst für eine Gruppeneinteilung des Gesamtmaterials den bakteriologischen Ausfall als maßgebend hinstellen zu müssen. Daß unsere bakterioskopische Ausbeute der bakteriologischen im

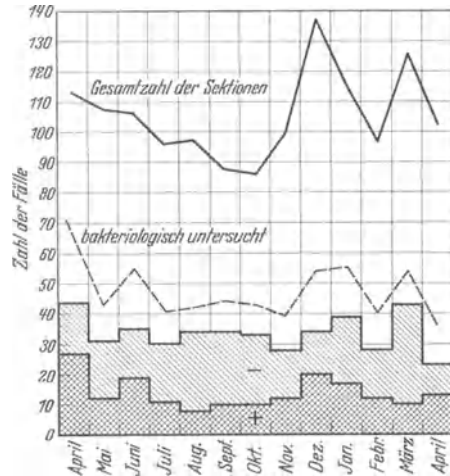


Abb. 1. (Erklärung im Text.)

ganzen recht gut entsprach, zeigt die Annäherung der Hundertsätze zwischen beiden in Gruppe A. Um so mehr wird man auch für die Gruppe B beanspruchen können, daß, mit gewisser Vorsicht allerdings, der Hundertsatz von

Tabelle 3. Bakterioskopische Befunde im Vergleich zu den bakteriologischen. () bakteriologisch nicht untersucht.

Monat	Gruppe A = bakteriologisch +				Gruppe B = bakteriologisch -			
	Gesamtzahl der Sektionen	bakteriologisch +	bakterioskopisch +	bakterioskopisch -	bakteriologisch -	bakterioskopisch -	bakterioskopisch +	bakterioskopisch + A + B
April 1937	113	27	9 (1)	17	44	41 (2)	1	10
Mai 1937	108	12	7	5	31	20 (1)	10	17
Juni 1937	106	19	4	15	35	30	5	9
Juli 1937	96	11	3	8	30	23	7	10
August 1937	97	8	0	8	34	32	2	2
September 1937	88	10	3	7	34	31	3	6
Oktober 1937	86	10	0	10	33	30	3	3
November 1937	99	12	3	9	28	26	2	5
Dezember 1937	137	20	3	17	34	28	6	9
Januar 1938	116	17	6	11	39	30 (2)	7	13
Februar 1938	97	12	3	9	28	23	5	8
März 1938	125	10	5	5	41	37 (2)	2	7
April 1938	102	13	3	10	23	22	1	4
	1370	181	49	131	434	373	54	103
		= 29,4%	= 27,0%	= 72,3%	= 70,6%	= 85,9%	= 12,4%	= 16,6%

70,6 eine Reduzierung bei der Bewertung durch die 12,4% betragenden positiven Ausstrichresultate erfahren kann. Wir verweisen in der Beziehung auf die ungewöhnlich hohen positiven Zahlen der Gruppe B für den Monat Mai 1937,

wo bei 31 bakteriologisch negativen Fällen 10 bakterioskopisch positiv waren. Der verhältnismäßig starke Abfall im Mai bei Gruppe A zwischen den bakteriologisch hohen Werten des April und Juni mag dadurch einen gewissen Ausgleich finden. Das Ansteigen der Zahlen im Dezember und Januar bei Gruppe A erfährt ebenso durch Ansteigen der bakterioskopisch positiv gefundenen Werte bei Gruppe B eine deutliche Unterstreichung.

Was die Beteiligung des männlichen und weiblichen Geschlechtes auf unsere Gruppen A und B anlangt, so hat sich folgendes ergeben. Bei Gruppe A waren

95 Fälle männlichen und 86 Fälle weiblichen Geschlechtes. Die Gruppe B umfaßte 254 männliche und 189 weibliche Personen. Unterschiede auffallender Art konnten also hinsichtlich der Verteilung auf das Geschlecht nicht festgestellt werden.

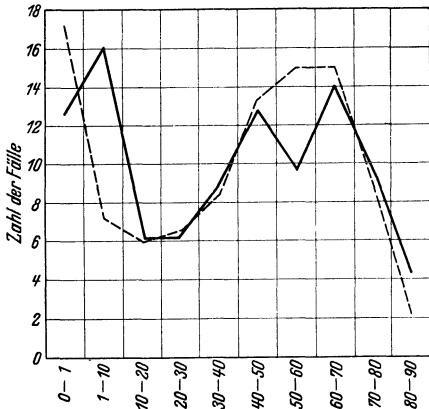


Abb. 2. Der prozentuale Anteil der Altersklassenbeteiligung.

— bakteriologisch positiv.
 - - - bakteriologisch negativ.

Eine Übersicht über die Altersverteilung ergab bei Gruppe A die höchste Zahl mit 29 Fällen in der Altersklasse von 1—10 Lebensjahren. Es folgt mit 26 Fällen die Stufe von 60—70 Jahren, mit je 23 Fällen die Altersklassen von 0—1 Jahr und von 40—50 Jahren. Wenn man daraus schließen wollte, daß ganz allgemein die jugendliche Altersstufe von 1—10 Jahren besonders günstig für die Ausbeute bakteriologisch positiver Fälle gewesen sei,

so ist dem entgegenzuhalten, daß bei der Art des von uns untersuchten Materials hinsichtlich der Altersklassen doch mancherlei Zufälligkeiten vorkommen mußten, so daß sichere Schlüsse für die Altersbevorzugung nicht daraus gezogen werden können. Auch die Ausrechnung der Hundertsätze nach Lebensjahrzehnten hat im Vergleich beider Gruppen miteinander keine allgemeinen Schlußfolgerungen möglich gemacht, was in Abb. 2 kurvenmäßig zu ersehen ist.

2. Weitere Auswertungen des tabellarisch nach Monaten zusammengestellten Materials.

Die im April, Mai und Juni 1937 bei Gruppe A beobachteten relativ hohen Zahlen der bakteriologisch positiven Fälle (vgl. Tabelle 2) können nicht ohne weiteres mit der Höhe der in dieser Zeit bakteriologisch untersuchten Gesamtzahl der Fälle in Einklang gebracht werden. Das geht schon aus dem Vergleich der Zahlenverhältnisse beim Anstieg der positiven Fälle am Ende des Jahres 1937 hervor. Im Januar 1938 sank trotz erhöhter Untersuchungszahl der positive Anteil, noch ausgesprochener war das im März 1938 der Fall. Da im Winter 1936/37 in Halle eine ziemlich umfangreiche, zum Teil mit schweren Krankheitsbildern einhergehende Grippeepidemie mit Höhepunkt im Dezember geherrscht hatte und im März 1937 bei laufender Untersuchung des Sektionsmaterials noch in 33% positive IB.-Befunde zu erheben waren, so mögen die Prozentzahlen im April mit 38,0, im Mai mit 28,0 und im Juni mit 35,0 eine gewisse Fortsetzung davon bedeuten. April und Juni 1937 liegen jedenfalls deutlich

über dem Gesamtdurchschnitt von 29,4%. Man wird versucht sein, darin mit LIEBER die Abhängigkeit der Bacillenbefunde vom Verlaufe einer Epidemie erkennen zu sollen.

Ist in der kurvenmäßigen Darstellung der Abb. 1 für die bakteriologisch positive Ausbeute von April bis Juni eine Art Frühjahrgipfel anzunehmen, so lag der Wintergipfel im Dezember und Januar, ohne daß damit das Ansteigen der positiven Fälle im untersuchten Zeitabschnitt mit einer epidemischen Ausbreitung der Grippe einherging.

Will man demungeachtet unseren Frühjahrgipfel als eine Art Ausläufer der vorausgegangenen Epidemie betrachten, so scheint die Frage weiter von Bedeutung zu sein, auf welche der Untersuchungsmonate sich an unserem Sektionsgut grippeverdächtige Todesfälle verteilen.

Im Bereich des IB.-positiven Frühjahrgipfels fanden wir bei Gruppe A 3 Fälle mit grippeverdächtigen, bunten Herdpneumonien und 1 Fall einer IB.-Meningitis mit Empyem. Bei Gruppe B wurden im Mai 3 Fälle und im Juni 2 Fälle mit ebensolchen Herdpneumonien gefunden, von denen im Mai 3 Fälle und im Juni 1 Fall bakterioskopisch positive IB.-Befunde zeigten. Nach einer Pause von Juli bis Oktober setzen dann die grippekomplikationsverdächtigen Fälle wieder im November ein, erreichen im Dezember mit 3 Fällen einen Höhepunkt und sinken dann ab bis Februar und März mit je 1 Fall. Bei Gruppe B sind ebenfalls im Dezember 3 Grippepneumonien mit zweimal bakterioskopisch positivem IB.-Befund und im Januar eine mit bakterioskopisch positivem IB. beobachtet worden.

Im Vergleich zum Dezember 1936 stellen diese 6 Grippetodesfälle der beiden Gruppen zusammen allerdings nur eine sehr geringe Ausbeute dar. Als Zeichen, daß eben eine Häufung von Grippefällen epidemieartigen Charakters im Winter 1937/38 nicht stattgefunden hatte. Jedenfalls ist festzuhalten, daß im Frühjahrs- und Wintergipfel der positiven IB.-Befunde auch das Auftreten der Grippetodesfälle eine Zunahme erfahren hat, und es bleibt die Frage, was Wintergipfel positiver IB.-Befunde und Wiederauftreten der Grippetodesfälle von Dezember und Januar besonders veranlaßt haben könnte. Haben hier klimatische Faktoren eine Rolle gespielt, wie das LIEBER aus seinen Beobachtungen annimmt?

Wenn man nur die bakteriologisch positiven IB.-Befunde unserer Fälle berücksichtigt und sie nach Sterbe- und Sektionstagen geordnet für die einzelnen Monatstage in meteorologische Tabellen einträgt, so ist vielfach ein gewisses gruppenweise gehäuftes Auftreten der positiven Befunde nicht zu erkennen. Der von LIEBER behauptete Zusammenhang mit einem Witterungswechsel, den er besonders für die Jahre 1927 und 1928 im Mai beobachten zu können glaubte, wie auch im negativen Sinne für die trockenen und warmen Sommer- und Herbstmonate ließ den Gedanken in Erwägung ziehen, diese Erscheinungen mit einem übergeordneten Faktor in Verbindung zu bringen.

Da aus der Art der Zusammensetzung unseres Beobachtungsgutes das Moment der Ansteckung für diese Gruppenbildung nicht in Betracht kommen konnte, so mochten als auslösende Faktoren kosmische oder terrestrische (DE RUDDER) Vorgänge maßgebend sein.

Mit einer einfachen Feststellung von schlechtem Wetter ist es aber ebenso wenig getan, wie mit der Hervorhebung eines gleichmäßigen trockenen und

warmen Wetters. Wir haben aus diesem Grunde für jeden Monat die genaue Wetterlage mit unseren positiven und negativen IB.-Befunden zusammen tabellarisch dargestellt.

3. Meteorologische Beobachtungen.

Für die Beantwortung der Frage, inwieweit bestimmte Witterungsverhältnisse sowohl für das zahlenmäßige Auftreten der IB. als auch für die Reaktionen des Organismus auf deren Vorhandensein von Bedeutung sind, mußten die Zusammenhänge untersucht werden, die bestehen können:

a) zwischen gruppenförmig gehäuftem Auftreten von IB. bei in *kurzer* Zeit sich abspielenden Witterungseinflüssen und

b) zwischen *Jahreszeiten* und IB.-Vorkommen (Abb. 3).

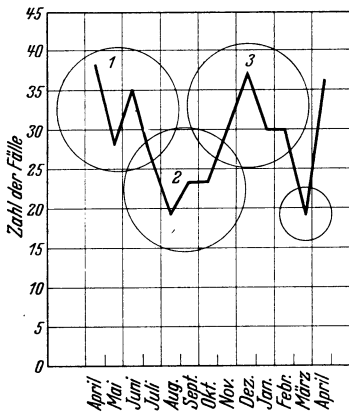


Abb. 3.
Der jahreszeitliche prozentuale Anteil der positiven Influenzabacillenbefunde.

Die Häufungen der positiven IB. finden wir in der zweiten Hälfte des Monats. Die erste Gruppenbildung am 18. und 19. finden wir einen Tag *nach* dem Einbruch der kontinental arktischen Kaltluft — deutlich gekennzeichnet durch den schroffen Temperatursturz. Der Luftdruck fällt zur gleichen Zeit stark ab, steigt aber bereits ab 19. wieder stetig an und bleibt ab 22. ungefähr gleichbleibend hoch bis zum Monatsende.

Die zweite Häufung leitet sich am 23. ein, zu einem Zeitpunkt, der einen erneuten Temperatursturz mit Erscheinen von kontinental arktischen Kaltluftmassen am 22. bringt, nachdem die Lufttemperatur für einige Tage durch das Vordringen wärmerer Luftmassen aus gemäßigten Breiten gestiegen war.

Der *Dezember 1937* (Abb. 5), der die höchsten positiven Bacillenbefunde dieser Gruppe aufweist, bringt bei normaler Sonnenscheindauer starke Niederschlagsmengen. 20 Tage lang fällt Schnee. Die Temperaturen liegen etwas unter dem Normalwert. Das winterliche Wetter hält weiterhin bis Anfang Januar an.

Die positiven Befunde drängen sich zusammen:

- a) in der Zeit vom 5. bis 10. und
- b) vom 18. bis 22.

Die erste deutliche Gruppenbildung fällt in einen Zeitraum, in dem unser Gebiet von einem Tiefdruck beherrscht wird. Die Temperatur, die zum Monatsanfang mit dem Vordringen der warmen Luftmassen höhere Grade aufweist, fällt jedoch mit dem Einbruch der kühleren Luftkörper am 5. — dem Tag, an dem sich die erste Häufung einleitet — wieder ab.

Die zweite ausgeprägte Gruppenbildung beginnt am 18. — dem Zeitpunkt *etwa*, in dem das Tiefdruck — in ein lang andauerndes kräftiges Hochdruckgebiet übergeht. Zur gleichen Zeit sinkt die Temperatur stark ab, erreicht ihren tiefsten Punkt am 22. und steigt vorübergehend mit dem Vorstoßen wärmerer Luftmassen wieder stark an.

Wegen der besonderen Bedeutung, die der Gruppe 3 (Abb. 3) zukommt, sei kurz auf die Wetterlage während dieser Zeit und der Monate März und April 1938 eingegangen. Gleichzeitig sollen die Abb. 4—9 als Beispiele für etwaige Zusammenhänge dienen, die zwischen Gruppenbildungen von IB. und *kurzfristig* sich abspielenden Witterungseinflüssen bestehen.

Im *November 1937* (Abb. 4) herrschten Temperaturen, die den normalen Werten fast entsprachen. Die Niederschläge betragen jedoch nur die Hälfte der gewohnten Mengen. Die Sonnenscheindauer war normal; der Sonnenschein jedoch so verteilt, daß die trüben Tage in den ersten zwei Dritteln zusammengedrängt waren.

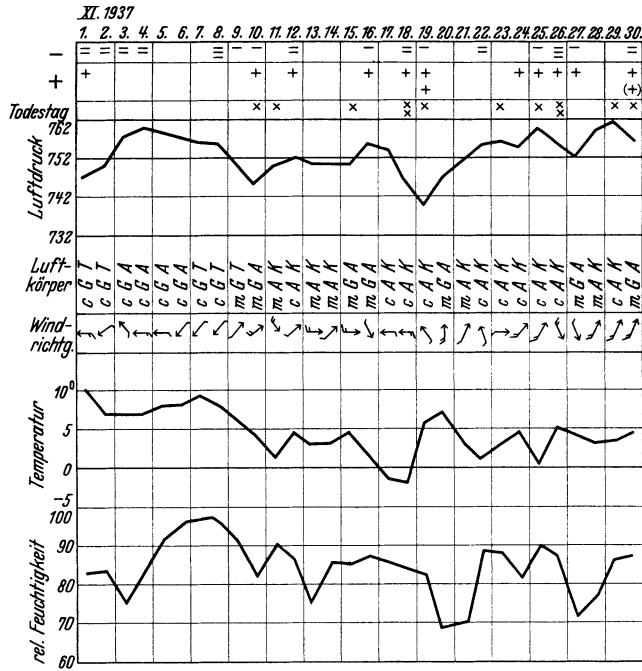


Abb. 4. Liegendes Kreuz: Todestag; stehendes Kreuz: Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

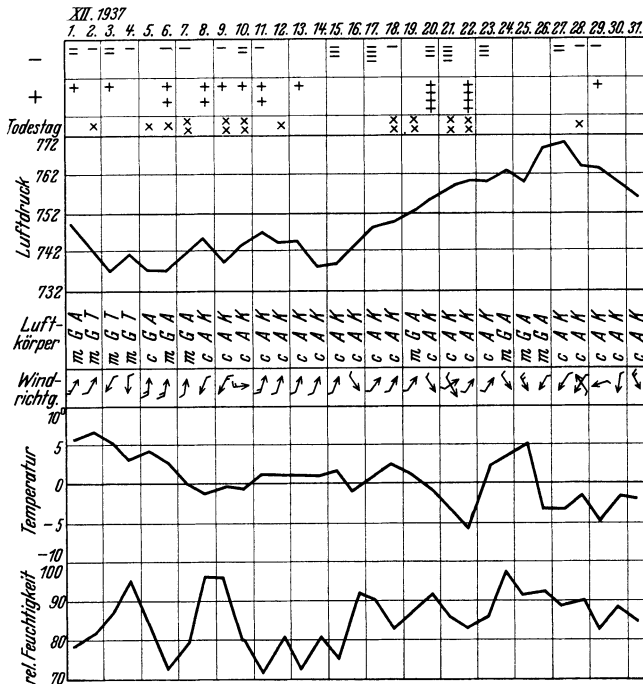


Abb. 5. Liegendes Kreuz: Todestag; stehendes Kreuz: Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

Wir finden demnach beide Häufungen positiver IB.'s *nach* einem Kälteeinbruch, die erste jedoch während eines Tiefdruck-, die zweite während eines Hochdruckgebietes. Bemerkenswert ist, daß auf den rapiden Temperaturabsturz am 25. keine Reaktion erfolgt.

Das winterliche Wetter des Dezember hält weiterhin bis Anfang *Januar 1938* (Abb. 6) durch. Dann steigen die Temperaturen beträchtlich an, so daß eine Wetterlage entsteht, die der des Februar entspricht. Es setzt Tauwetter ein, und jeder Tag bringt reichliche Regenfälle. Die Sonnenscheindauer ist bei der starken Bewölkung zu gering. Trotz dieses „ungesunden“ Wetters sind die prozentualen positiven Befunde gefallen (Abb. 3).

Die positiven Befunde — die ziemlich gleichmäßig über den ganzen Monat verteilt sind — beginnen sich am 7. wiederum *nach* dem starken Kälteeinbruch am 5. einzustellen. Gleichzeitig sinkt der Luftdruck stark ab. Die Monatsmitte bringt bei gleichmäßig hohen

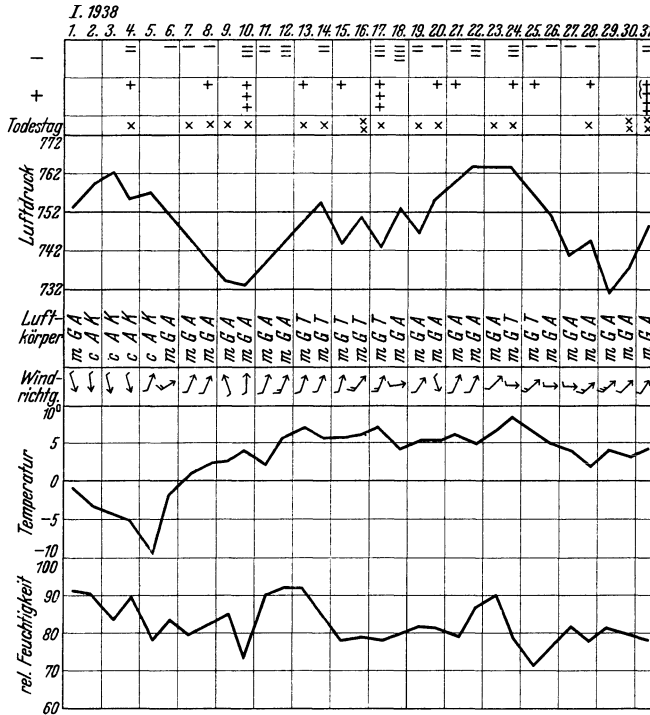


Abb. 6. Liegendes Kreuz: Todestag, stehendes Kreuz; Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

Temperaturen und einem nur in geringen Grenzen schwankenden Luftdruck fast täglich positive Befunde. Der Abfall der Temperaturen und des Luftdruckes, der sich am 24. einleitet, bleibt ohne besondere Reaktion.

Erst am 30. und 31. 1. und 2. und 3. 2. (s. Abb. 7) finden wir wieder eine Häufung von IB., die diesmal aber nicht mit einem *Kaltluft*-, sondern einem *Warmluft*einbruch und starkem Luftdruckanstieg zusammenfallen.

Auf den sehr feuchten Januar folgt ein trockener *Februar* (Abb. 7) mit hoher Sonnenscheindauer und nur geringen Niederschlagsmengen bei schwacher Bewölkung.

Nach einer vorübergehenden Erwärmung, hervorgerufen durch Luftmassen aus gemäßigten Breiten mit subtropischem Einschlag beginnen am 10. kältere Luftmassen unser Gebiet zu überfluten. Die Temperaturen sinken und erreichen den tiefsten Grad am 15. Im Anschluß an diesen Kälteeinbruch findet sich — wohl als Reaktion darauf aufzufassen — eine Häufung der positiven Befunde bis zum 19.

Die Temperaturen des *März 1938* (s. Abb. 8) waren viel zu hoch. Niederschläge erfolgten nur in den letzten 4 Tagen. Die Sonnenscheindauer war ungewöhnlich hoch. Die Bewölkung sehr gering.

Die Wetterlage des März wird durch ein kräftiges Hochdruckgebiet beherrscht, das gegen Ende des Monats einer unbeständigen Witterung mit Niederschlägen Platz macht. An den Tagen vom 22. bis 24., an welchen das Hochdruckgebiet abebbt und der Luftdruck sinkt, und die Luft durch kontinentale Warmluft mit subtropischem Einschlag sehr hohe Temperaturen aufweist, finden wir eine ausgeprägte Gruppenbildung der positiven IB.

Der Einbruch kalter Luftmassen, der den schroffen Temperaturabfall am 25., 26. herbeiführt, bleibt ohne eine nachfolgende Häufung von Influenzabacillen. In diesem Monat fällt also eine IB.-Häufung mit dem Einbruch kontinental-subtropischer Warmluft zusammen. Kaltlufteinbrüche, wie wir sie am 11., 12., 13. und besonders deutlich am 25. und 26. haben, werden dagegen nicht durch eine Gruppenbildung positiver IB. wie in den vergangenen Monaten beantwortet.

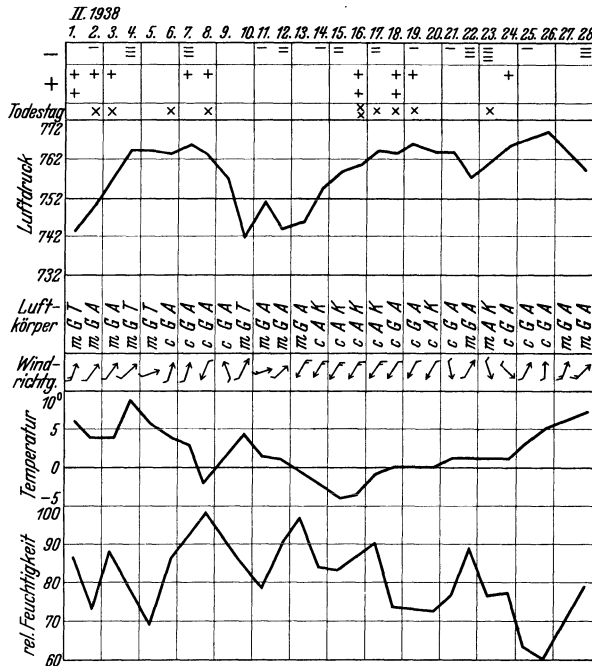


Abb. 7. Liegendes Kreuz: Todestag; stehendes Kreuz: Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

Ähnlich verhält sich die erste Häufung der positiven IB. zu Anfang April 1938 (Abb. 9), als Luftmassen mit subtropischem Einschlag warme Temperaturen mit sich gebracht haben.

Die zweite Häufung tritt erst im 2. Drittel des Monats wieder deutlich auf, am Ende einer Kälteperiode, die sich mit dem Einbruch arktischer Kaltluft in dem Abfall der Temperaturkurve deutlich ausprägt.

Demnach finden wir die erste Häufung mit dem Eintreffen von Warmluft, die zweite nach einem Kaltlufteinbruch.

Auf einen Einfall kalter Luftmassen am 9. zeigt sich keine Reaktion.

Wie aus den angeführten Beispielen hervorgeht, besteht ein sicherer Zusammenhang zwischen Wetter und Häufungen von IB. nicht. Wohl findet sich eine Beziehung zwischen Häufigkeitsgruppen positiver Befunde und sog. „schlechtem“ Wetter — wenn man darunter Sonnenscheinarmut, hohe Bewölkungsdauer und große Niederschlagsmengen versteht. Aber aus dem Vergleich der fortlaufenden Aufzeichnungen geht hervor, daß sich positive Befunde bei sog. „gutem Wetter“ ebenso häufen, wie wir Gruppenbildungen bei „schlechtem Wetter“ zu anderen Zeiten vermissen.

So finden sich im Februar 1938 (Abb. 7) nur 9 Tage mit meßbarem Niederschlag bei einer viel zu hohen Sonnenscheindauer. Die Bewölkung war wegen der nur kurzdauernden Niederschläge sehr gering. Es herrschte also — wenn es überhaupt erlaubt ist, diesen unklaren Begriff zu verwenden — „gutes Wetter“. Trotzdem ist der prozentuale Anteil der positiven IB. hoch (s. Abb. 3).

Es kann also eine Häufung von positiven IB. bei *jedem* Wetter auftreten — eine Feststellung, die FLACH ebenfalls für das Eintreten rheumatischer Schmerzattacken machte.

Überprüfen wir das Verhalten der Häufigkeitsgruppen und der meteorologischen Elemente (Luftkörper und Fronten, Luftdruck, Temperaturen, relative

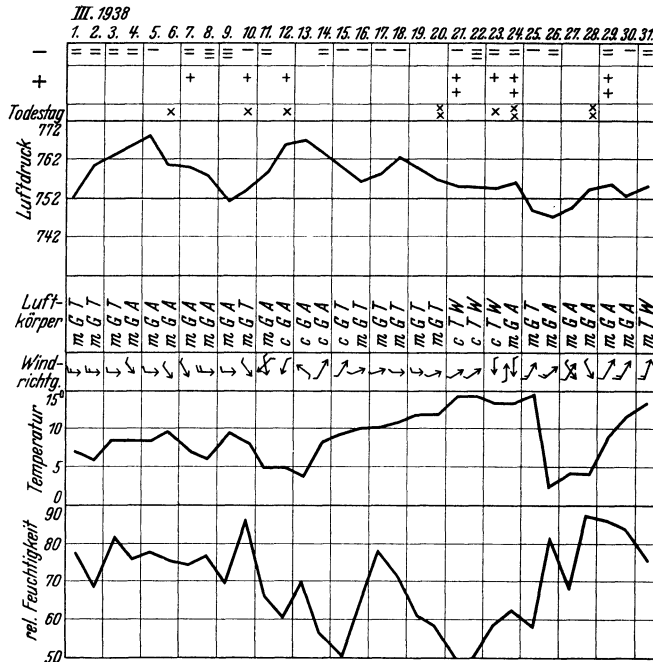


Abb. 8. Liegendes Kreuz: Todestag; stehendes Kreuz: Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

Feuchtigkeit, Sonnenschein und Bewölkungsdauer, Niederschlagsmengen) gesondert und in ihren Beziehungen zueinander, so ergibt sich auch hier kein sicherer Anhaltspunkt für einen witterungsbedingten pathogenen Faktor.

Eine geringe Vermehrung von positiven Befunden scheint mit Tagen zusammenzufallen, die eine fallende Tendenz des Barometers aufweisen. Ein wiederkehrender, sich bestätigender Zusammenhang kann jedoch nicht festgestellt werden.

Im März 1938 (Abb. 8) fallen die positiven Befunde jedesmal mit den Tagen zusammen, die ein Fallen des Luftdrucks zeigen. Im Oktober 1937 dagegen zeigen sich auf einen starken Barometersturz, der am 18. beginnt und in wenigen Tagen von 768 auf 736 sinkt, keine Häufung der Befunde.

Keinerlei Einfluß zeigt die Windrichtung — etwa Nord- oder Ostwind bei tiefen Temperaturen.

Ebensowenig ergibt sich ein *sicherer* Zusammenhang mit besonderen Temperaturverhältnissen. Wir finden Häufungen positiver Befunde sowohl bei gleich-

bleibend hohen wie tiefen Temperaturen als auch bei plötzlichen Temperaturänderungen.

Auf die starken Temperaturstürze am 11. und 25. März 1938 (Abb. 8) finden wir keine nennenswerte Reaktion.

Eine gewisse Häufung von IB. läßt sich bei tiefen Temperaturen feststellen, welche als Zeichen von arktischen Kaltlufteinbrüchen auftreten. Beispiele dafür finden sich am 18. November (Abb. 4), am 18. und 19. Dezember (Abb. 5), am 16. Februar (Abb. 7) und am 24., 25. April (Abb. 9).

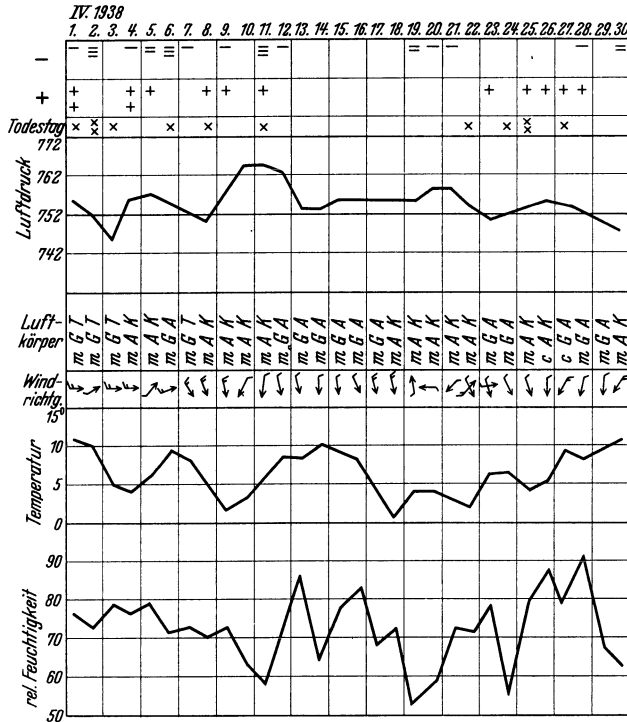


Abb. 9. Liegendes Kreuz: Todestag; stehendes Kreuz: Sektionstag der positiven Influenzabacillenbefunde.

Eine Beziehung von Gruppenbildungen positiver IB. und den heute weitgehend als krankheitsauslösend verantwortlich gemachten *Luftkörpern* und deren *Fronten* läßt sich nur in sehr bedingtem Umfange feststellen. Es scheint, als ob die positiven IB. sich nach dem Einbruch arktischer Kaltluftmassen häufen (Abb. 4, 5, 7, 9). Andererseits finden sich deutliche Gruppenbildungen nach dem Eintreffen subtropischer Warmluftmassen, wie ein Vergleich mit Abb. 8 (21. März 1938) und 9 (Anfang April 1938) zeigt. Beispiele für ein gleichartiges Verhalten zeigen auch die anderen hier nicht aufgeführten Monate. Ende Juni 1937 erfolgt ein Einbruch kontinental-subtropischer Warmluft: in den 3 folgenden Tagen drängen sich 7 positive Befunde zusammen. Die Einbrüche tropischer Warmluft im Sommer und solche arktischer Kaltluft im Winter gehören zu den regelmäßigen Vorkommnissen. Es sind daher *Warmlufteinbrüche* im Winter und *Kaltlufteinbrüche* im Sommer von größerer Bedeutung. Es zeigt sich jedoch dabei, daß auf einen Einbruch subtropischer Warmluft Ende

Oktober 1937 keine Häufung erfolgt, ebensowenig auf das Eintreffen arktischer Kaltluft Anfang Juni 1937.

Das bloße Einbrechen von Kalt- bzw. Warmluft allein genügt offenbar noch nicht, um es zu einer Häufung positiver IB. kommen zu lassen.

Wenn sich auch für die Erscheinungen an den Fronten keine eindeutige Beziehung zur Häufung positiver Befunde ergeben hat, so lassen sich doch mit gewissen Einschränkungen Zusammenhänge zwischen dem Bestehen eines bestimmten Luftkörpers (arktische Kaltluft und tropische Warmluft) und einer solchen erkennen.

Eine solche Feststellung muß immerhin mit Vorsicht getroffen werden, da die Zahl der Luftkörperwechsel sehr groß ist. An Hand der Wetterkarten¹ konnten wir für 1937 159 Luftmassenwechsel über unserem Gebiet feststellen. Das bedeutet also jeden 2. bis 3. Tag eine Änderung der Luftkörper. Bei einem derartig schnell aufeinanderfolgenden Wechsel der Luftmassen lassen sich jedoch Beziehungen zwischen Krankheitsgeschehen und Luftkörperwechsel leicht herstellen. Nach den Angaben von FLACH muß man jedoch noch wesentlich mehr Fronten in Rechnung stellen, Fronten von Luftkörpern, die in den Angaben der Wetterkarten gar nicht in Erscheinung treten. Danach hat man ebenso die Unstetigkeitsschichten der Luftkörper, die in einiger Höhe über unserem Gebiet herrschen, zu berücksichtigen, wie auch diejenigen, die bereits den Erdboden schneiden. Wir können uns im Bereich eines Kaltluftberges befinden, während in geringer Höhe über diesen Kaltluftmassen eine Warmluftschicht liegt, deren Front uns einige Zeit später erreicht — ohne daß diese Front in den Wetterkarten ihren Ausdruck finden kann.

Konnten für die in *kurzer* Zeit sich abspielenden Witterungsvorgänge gewisse — wenn auch nicht eindeutige Beziehungen zur Gruppenbildung gefunden werden, so sind diese noch wesentlich schärfer ausgeprägt bei den *jahreszeitlichen* Schwankungen.

Die jahreszeitliche prozentuale Verteilung der positiven IB. ergibt drei Gruppen (Abb. 3). Jede dieser Gruppen besteht aus drei bzw. vier aufeinander folgenden Monaten. Die Schwankungen der Werte innerhalb der einzelnen Gruppen sind gering.

Gruppe 1 umfaßt die Monate: April—Mai—Juni 1937,

Gruppe 2 die Monate: Juli—August—September—Oktober 1937,

Gruppe 3 die Monate: November—Dezember 1937 und Januar—Februar 1938 (s. Abb. 3).

Fast gleichhohe Werte zeigen die Gruppen 1 und 3. Die Gruppe 2 dagegen, die die Sommermonate und Herbstmonate umfaßt, weist gleichbleibend tiefe Werte in diesen Monaten auf.

Ob das Maximum der Werte in Gruppe 1 als Ausläufer der abklingenden Epidemie zu werten ist oder ob es sich um einen „physiologischen“ Hochstand der Werte während der Winter- und Frühjahrsmonate handelt, ist aus dem Untersuchungsmaterial nicht sicher zu erkennen.

¹ Benutzt wurden die Karten des Reichswetterdienstes Ausgabeort Magdeburg und die Aufzeichnungen des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Halle. Für die lebenswürdige Überlassung der Aufzeichnungen danken wir Herrn Prof. Dr. HOLDEFLEISS bestens.

Der Gedanke, daß es sich um einen jahreszeitlich bedingten Hoch- und Tiefstand der positiven Werte handelt, muß deshalb erwogen werden, weil die Untersuchungen, die sich mit dem Stoffwechsel des Organismus befaßt haben, zeigen konnten, daß die Reaktionen des Körpers ebenfalls jahreszeitlichen, rhythmischen Schwankungen unterworfen sind.

So teilt PRIGGE mit, daß die Immunisierbarkeit der Meerschweinchen deutlichen Jahreschwankungen mit einem Minimum im Januar, Februar unterworfen ist.

Ähnliche Ergebnisse erzielte LOEW, der fand, daß der Komplementgehalt des Meerschweinchenserums im Sommer höher als im Winter ist.

MORO stellte Untersuchungen über die jahreszeitlichen Unterschiede der Erregbarkeit des vegetativen Nervensystems an und fand eine solche besonders stark im Frühjahr.

Die Kohlensäurebindungskurve des Blutes zeigt ihre höchsten Werte zur Zeit der kürzesten Tage und die tiefsten zur Zeit der längsten Tage (STRAUB, GOLLWITZER-MEIER, SCHLAGINTWEIT).

Das Körpergewicht steigt im Winter an; ebenso wie Pulsdruck und Pulsfrequenz vermehrt sind (HOPMANN und REMEN).

Der Kalkspiegel zeigt nach den Untersuchungen von BALKWIN seinen Tiefpunkt im März; ähnlich verhalten sich nach den Angaben von HESS und LUNDHAGEN die Phosphatwerte.

Will man nicht zu einer Überbewertung zweier parallel verlaufender Kurven kommen — die beispielsweise hohe Untersuchungswerte und niedrige Sonnenscheindauer angeben — so erscheint es überhaupt fraglich, ob man Wetter und Verhalten positiver IB. in einen Zusammenhang bringen kann, wenn nicht eine abnorme Wetterlage mit einem auffallend starken Absinken der prozentualen Anteile der positiven IB. zusammenfiel: im März 1938 (Abb. 8) haben wir eine prozentual sehr niedrige positive IB.-Zahl. Unterschied und Abfall der Werte vom Februar ist ebenso schroff wie der Wiederanstieg im April (Abb. 9). Meteorologisch nimmt der März eine Sonderstellung ein und wird als „Außenseiter“ wegen seiner sommerlichen Temperaturen in der Wettergeschichte bezeichnet.

Wie aus Abb. 8 ersichtlich ist, handelt es sich um einen Monat, dessen Wetterlage bereits sommerlich war und in welchem die positiven Befunde in der Höhe etwa denen der Sommermonate entsprechen.

Auf diese Tatsache läßt sich nur hinweisen, ohne daß man aus dem Vergleich der beiden Tiefpunkte der Kurve auf Abb. 3 im August und März Hinweise gewinnen kann, die über das Maß von Hypothesen hinausgingen (Ultraviolett-einstrahlung usw.).

Zusammenfassend: Es ergeben sich demnach für unser Beobachtungsgut keine sicheren Anhaltspunkte dafür, daß die Luftmassen mit ihren Fronten und die meteorologischen Elemente wie Luftdruck, Temperatur, relative Feuchtigkeit, Sonnenschein und Bewölkungsdauer als Faktoren anzusehen sind, die zu einer Häufung von IB. führen.

Eine Ausnahme scheinen arktische Kaltluftmassen zu bilden, nach deren Einbruch in unser Gebiet eine Häufung positiver Befunde nicht zu verkennen ist. Die jahreszeitliche prozentuale Verteilung der positiven Influenzabacillenbefunde zeigt ausgeprägte Gruppenbildungen mit Höhepunkten im April 1937, Dezember 1937 und April 1938 und tiefen Werten während der Sommermonate mit einem Minimum im August und dem Monat März 1938, welcher sich durch abnorm hohe — bereits sommerliche — Temperaturen auszeichnet.

4. Grundleiden und IB.-Befunde.

Wenn wir während eines 13 Monate betragenden Zeitraumes, der ohne Grippeepidemie verlief, im Durchschnitt 29,4% bakteriologisch positive Fälle beobachten konnten, so lag weiter die Frage nahe, ob nicht bestimmte Grundleiden einen Vorschub dafür geleistet haben könnten. Gerade, wo wir als Orte der Wahl unserer Befunderhebungen die Bronchiolen untersucht haben, mußte zu klären versucht werden, ob die IB. in diesen tiefen Luftwegen an sich saprophytär vorkommen können, oder ob sie erst aus oberen Teilen des Respirationstraktus aus bestimmten Gründen dorthin gewandert sind. Ein solches Tiefenwandern könnte ein allgemeiner in seiner Abwehr reduzierter körperlicher Zustand ebenso begünstigen wie pathologische Reizzustände des Respirationstraktus selbst. Man wird auch hier nur klare Verhältnisse übersehen können, wenn man nicht einseitig die positiven Fälle allein berücksichtigt, sondern durch Hinzuziehung auch negativer Fälle eine Art Gegenprobe anstellt.

Aus diesem Gesichtspunkt heraus ist die Tabelle 4 entstanden.

Tabelle 4. Bakteriologische + und — Befunde und Grundkrankheiten.

		A + %	B — %
1.	Rachendiphtherie	2,2	2,07
2.	Keuchhusten	2,2	1,3
3.	Masern	1,6	0,7
4.	Scharlach	0,55	0,23
5.	Diabetes	0,55	3,4
6.	Leukämie	2,2	1,8
7.	Chronisch-cavernöse Lungentuber- kulose	2,7	3,08
8.	Bronchiektasien	9,4	5,7
9.	Krebsträger	13,2	14,7
10.	Herzleiden	12,7	11,5
11.	Nierenleiden	3,3	5,03
12.	Allgemeinfektion	3,3	8,06
13.	Lobäre Pneumonie	5,5	3,0
14.	Herdpneumonien	50,8	40,5
15.	Tracheobronchitis	65,7	55,3

Heben wir zunächst die entzündlichen Veränderungen am Respirationstraktus und an den Lungen hervor, so sehen wir bei Gegenüberstellung der Gruppe A und B ein deutliches prozentuales Überwiegen der positiven IB.-Befunde bei Tracheobronchitis, Herdpneumonien und lobärer Pneumonie.

Die schon von MULDER hervorgehobene Tatsache, daß in den meisten Fällen von gewöhnlicher eitriger Tracheitis, Bronchitis und Capillärbronchitis IB. gefunden werden, erhält somit durch

unsere Beobachtungen eine gewisse Unterstreichung. Ob diese Erscheinungen allerdings, wie MULDER annehmen möchte, auch stets durch die IB. bedingt sind, ist nicht so einfach zu beantworten. Sicher ist, daß der IB. als anerkannter Oberflächenschleimhautbewohner unter bestimmten Verhältnissen entzündliche Erscheinungen in Gestalt eines eitrigen Katarrhs der Luftwege hervorrufen kann.

Kulturell wie auch bakterioskopisch ist der IB. nur in den seltensten Fällen aus den Bronchiolen in Reinkultur erhalten worden. Hämolytische und grün wachsende Streptokokken, Pneumokokken, seltener Staphylokokken waren ihm in der Regel beigemischt, deren Anteil an der Entstehung der entzündlichen Erscheinung nicht leicht wird abzugrenzen sein. Ist aber der IB. in den Bronchiolen zum Nachweis gekommen, so wird sein Anteil am Entstehen einer Tracheobronchitis auch nicht von der Hand gewiesen werden können.

Kurvenmäßig dargestellt zeigen die positiven und negativen IB.-Befunde bei Tracheobronchitis Gipfelpunkte, die im Juni 1937 und Januar 1938 nicht aber

z. B. im März 1938 zusammenfallen (Abb. 10). Ein in unserer Zusammenstellung (Tabelle 4) vermerktes prozentuales Überwiegen der Tracheobronchitis mit IB. im Vergleich zu solchen Fällen ohne IB. kann sowohl dafür sprechen, daß der IB. ursächlich an dem Entstehen der Tracheobronchitis beteiligt ist, wie auch dafür, daß er bei andersartig entstandenem Tracheobronchialkatarrh vielleicht günstige Bedingungen für Tiefenwanderung und Vermehrung gefunden hat.

Das Überwiegen der IB. prozentual in Gruppe A gegenüber Gruppe B bei Fällen mit Herdpneumonien (Abb. 11) mag zum Teil mit der bei Herdpneumonien meist sich findenden Tracheobronchitis zusammenhängen. Ob der IB. überhaupt ein Zustandekommen von Herdpneumonien direkt veranlassen kann, wird verschieden beantwortet und MULDER z. B. lehnt ihn als Lungenparasit ganz ab. GUNDEL und LINDEN halten ihn bei Grippepneumonien nicht ohne ätiologische Bedeutung, was auch mittelbar durch seine Bronchitis auslösende Fähigkeit recht wahrscheinlich ist.

Setzt man, wie in Abb. 11 geschehen ist, in eine kurvenmäßige Darstellung die als Grippepneumonien angesprochenen Fälle, so erkennt man eine Abhängigkeit der Kurvengestaltung vom Auftreten dieser Grippekomplikationen für die bakteriologisch positiven, aber nicht für die bakteriologisch negativen Fälle.

Man wird also auch für die Herdpneumonien bei Grippe aus den gehäuften positiven IB.-Befunden nicht absolut sicher auf eine direkte ursächliche Rolle der IB. schließen können, wenngleich eine mittelbare keineswegs auszuschließen ist.

Fälle von lobären Pneumonien sind in unserem bakteriologisch untersuchten Gesamtmaterial nur 23mal gefunden worden. Klinisch war dabei keinmal ein Grippeverdacht geäußert worden und wir hatten auch anatomisch keine Möglichkeit, ihn aus unseren Befunden mit Sicherheit zu erschließen. 10 Fälle bei einer Gesamtzahl von 181 Fällen verteilen sich auf die Gruppe A = 5,5%, 13 Fälle auf die Gruppe B (434 Fälle insgesamt) = 3,0%. Bei der an sich nur kleinen Gesamtzahl lobärer Pneumonien wird ihre besondere Bevorzugung als Fundort von IB. kaum ins Gewicht fallen.

Wie in der Schrifttumzusammenstellung schon mehrfach erwähnt wurde, sind *Bronchiektasien* wiederholt schon von den Autoren als sog. IB.-Depots

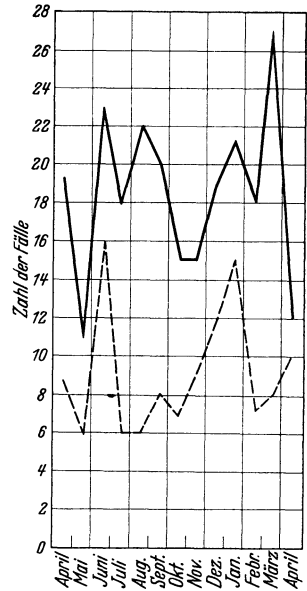


Abb. 10. Tracheobronchitis.
— bakteriologisch negativ,
- - - bakteriologisch positiv.

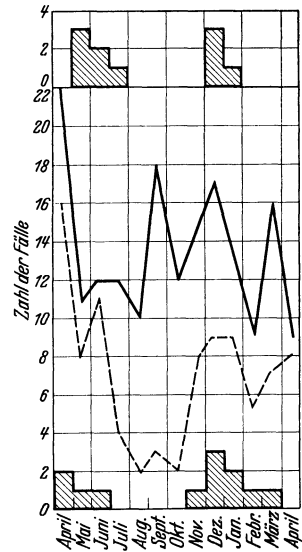


Abb. 11. Herdpneumonien.
— bakteriologisch positiv,
- - - bakteriologisch negativ,
▨ Fälle mit Grippeverdacht.
Oben: bei Fällen mit negativen
Influenzabacillenbefund.
Unten: bei Fällen mit positiven
Influenzabacillenbefund.

angesprochen worden. Die mit chronischer Bronchitis als Begleiterscheinung zumeist sich entwickelnden Bronchiektasien könnten bei Sekret- und Exsudatstauung sehr wohl als Rückhaltungsorte von IB. in Betracht kommen. KRETZ, THALMANN, R. PFEIFFER und besonders LEICHTENTRITT, treten, wie wir gesehen haben, für ihre Bedeutung als IB.-Depots ein.

Unsere diesbezügliche Zusammenstellung scheint auch in diesem Sinne sprechen zu können. Positive IB.-Befunde aus erweiterten Bronchien überwiegen mit 9,4% bei Gruppe A (17 Fälle von 181 Fällen) doch nicht unbeträchtlich die negativen IB.-Befunde bei Gruppe B mit 5,7% (25 Fälle von 434 Fällen). Der Satz LEICHTENTRITTS „Bronchiektatiker-IB.-Träger“ ist in dieser verallgemeinernden Art aber nicht aufrecht zu erhalten.

Das Eintreten für die Bedeutung tuberkulöser Kavernen als IB.-Depots von seiten KRETZS und R. PFEIFFERS ist an Hand unserer Untersuchungen nicht zu bestätigen gewesen. Das Gesamtbeobachtungsmaterial von 19 Fällen bei beiden Gruppen ist allerdings nicht groß, und vielleicht hätte eine noch stärkere Heranziehung von Fällen chronisch-kavernöser Lungentuberkulose die Hundertsätze von 2,7% für Gruppe A und 3,08% für Gruppe B etwas verschieben können.

Fälle mit *Rachendiphtherie*, *Keuchhusten*, *Masern* und *Scharlach* als Grundleiden haben ein leichtes prozentuales Überwiegen der Gruppe A erkennen lassen (Tabelle 4). Ob man, wie MULDER es getan hat, hier Grundleiden annehmen darf, die für die IB.-Infektion besonders begünstigende Bedingungen ergeben, ist in unseren Untersuchungsreihen nicht ganz überzeugend hervorgetreten, gerade, wenn man die prozentuale Annäherung der Gruppe B berücksichtigt. Für Allgemeininfektionen im Sinne einer *Sepsis* und *Septikopyämie* überwiegt sogar deutlich die Gruppe B.

Mit ähnlich ungünstigem Ausgang für Gruppe A prüften wir die Fälle mit *Krebs* als Grundleiden durch. Auch *Diabetes*, *Leukämie* und *Nierenleiden* lassen sich nur schwer als für IB.-Befunde günstige Grundleiden ansprechen.

Es bleiben noch die Fälle mit einem *Herzleiden* übrig, bei denen die Gruppe A einen Vorsprung vor der Gruppe B erhalten hat. Die Herzbefunde wie Klappenfehler, chronisches Herzaneurysma, Endocarditis ulcerosa und lenta sind nach ihrer Art und Dauer zur Ausbildung von Stauungslungen mit Stauungskatarrh der Bronchien befähigt. Ein solcher Stauungskatarrh disponiert zweifellos zu Infekten der Luftwege und Bronchien, wie aus aller Erfahrung zur Genüge hervorgeht. Gerade für die hämophilen IB. könnten dadurch günstige Bedingungen für Fortkommen und eventuell für Tiefenwanderung entstehen. Vielleicht erklärt diese Vorstellung auch unsere überwiegend positiven IB.-Befunde, deren Gruppe B auch durch bakterioskopische zusätzliche positive Befunde (von 50 Fällen bei nur 3 Fällen) keine ausschlaggebende Unterstützung erfährt.

II. Kritische Besprechung der Gesamtbefunde.

Wenn in den vorangehenden Kapiteln eine Übersicht über die eingehaltene Methodik, über den Gesamtstoff und über Einzelbefunde gegeben wurde, so wird auf Grund dieser Darstellungen eine kritische Besprechung mit Berücksichtigung mehr allgemeiner Fragestellungen nunmehr möglich sein.

Man könnte zunächst die Frage aufwerfen, ob für den Nachweis des Vorkommens von IB. beim Menschen die Untersuchung am Leichengut geeignet ist, um daraus Schlüsse über die Verhältnisse beim lebenden Menschen zu ziehen. Wir glauben, daß diese Frage unbedingt zu bejahen ist. Bei sorgfältiger Beurteilung des gesamten Leichenbefundes sind wir imstande, ein Grundleiden mit seinen Begleitumständen und Auswirkungen in viel umfassender Weise zu erkennen, als das in allen Fällen beim Lebenden möglich sein wird. Soll das Vorkommen einer bestimmten Keimart, wie hier der IB., am laufenden Sektionsgut untersucht werden, so wird man also diese Feststellungen unter Bedingungen vornehmen können, wie sie am lebenden Menschen in dieser umfassenden Weise nicht gegeben sein werden.

Man darf aber nicht in den Fehler verfallen, nur die positiven Fälle zu registrieren und die negativen Fälle einfach der Zahl nach anzuführen, wie das meist bei den früheren Untersuchern der Fall war. Gerade, wenn wir bei Untersuchung eines sorgfältig auf alle vorkommenden Veränderungen hin durchgesehenen Sektionsgutes das Vorkommen von IB. nach verschiedenster Fragestellung durchprüfen, können uns die negativen Fälle viel sagen. Daß solche Untersuchungen auf einen größeren Zeitraum ausgedehnt werden müssen, liegt auf der Hand, und man wird nur dann einen genügenden Überblick gewinnen können, wenn man sie ohne Unterbrechungen ausführt.

Die Bronchiolen als Orte der Wahl für den Nachweis der IB. zu benutzen schien uns deswegen ratsam, weil aus früheren Erfahrungen bei Grippeepidemien die IB. dort mit einer großen Regelmäßigkeit anzutreffen sind. Wenn wir also im Anschluß an die im Winter 1936/37 in Halle grassierende Epidemie untersuchten, war es wünschenswert, die bei Grippe erkannten Aufenthaltsorte der IB. weiterhin dauernd auf diese Keime hin zu untersuchen.

Das Vorkommen der IB. an diesen Orten hat man ja geradezu als pathogenomisch für die Grippe bezeichnet und hat darin auch wohl den Ausdruck für das Aggressivwerden dieser Keime gesehen. Als Entzündungserreger sollen sie entweder direkt oder als Wegbereiter für die banalen Eiterkeime, also indirekt, eine Rolle für das Zustandekommen der Grippekomplikationen im Bereich der Lungen spielen. Die Frage demnach, ob die IB. als Saprophyten oder als pathogene Keime die tiefen Luftwege bewohnen, war besonders gut am Leichenmaterial zu prüfen.

Die Auswertung des Sektionsgutes mittels bakteriologischer Untersuchungsmethoden war dringendes Gebot dabei. Das Ausstrichverfahren von Schleim und Eiter kleiner Bronchien und die Suche nach IB. auf diesem Wege genügt auf keinen Fall, wie aus unseren Tabellen zur Genüge hervorgehen dürfte. Allerdings mag auch die von noch so erfahrener Seite vorgenommene bakteriologische Untersuchung Versager haben. Wir haben das bei anatomisch einwandfreien Grippekomplikationen mehrfach erfahren können, bei denen dann die Nativausstriche mitunter noch positive Befunde boten. Bakteriologische und bakterioskopische Befunde zeigten eine gute Übereinstimmung und die Zahl bakterioskopisch positiver Fälle unserer Gruppe B hat eine wesentliche Verschiebung des Gesamtergebnisses nicht erbracht.

Die schon vielfach *bei gesunden Lebenden durchgeführten IB.-Untersuchungen* sind auf Sputum- und Rachenabstriche angewiesen. Ein Vorkommen der IB.

im Rachenschleim zeigt uns diese Keime an Orten, an denen sie entzündliche Erscheinungen nicht gemacht zu haben brauchen, und wo über die Möglichkeit ihrer pathogenen Potenz wenig Gewisses zu erschließen ist. Ihre Anwesenheit im Sputum kann bei Vorhandensein eines schleimig-eitrigen Katarrhes der Luftwege die Frage offen lassen, ob sie allein oder in Zusammenarbeit mit anderen Keimen diese Reaktion ausgelöst haben.

Daß auch die tiefen Luftwege, bei unseren Beobachtungen die Bronchiolen, fast stets Keime der verschiedensten Art enthalten können, ohne daß stets ein eitriger Katarrh vorhanden zu sein braucht, ist eine weitere Feststellung, die dafür zu sprechen scheint, daß Bacillenbefunde an sich auch an autoptisch kontrolliertem Beobachtungsgut für die Frage der Pathogenität dieser Keime noch nicht unbedingt beweisend zu sein brauchen. Wir waren immer wieder erstaunt darüber, wenn bei IB.-positiven und -negativen Fällen hämolytische und grünwachsende Streptokokken kulturell gezüchtet werden konnten, ohne das, wie in manchen Fällen festgestellt werden konnte, ein entzündliches Äquivalent bei der mikroskopischen Gewebsuntersuchung sich fand. Es ist dies nur eine Bestätigung der heutigen Auffassung vom Wesen infektiöser Erkrankungen, daß erst die Wechselwirkung zwischen Keim und menschlichem Organismus den infektiösen Krankheitsprozeß bewirkt. Aus diesem Grunde wird man aus dem Vorkommen von IB. am Lebenden auch nicht von chronisch Influenzakranken sprechen können, ganz abgesehen davon, daß die alleinige ursächliche Rolle der IB. für die Entstehung einer Grippe doch immer noch zur Erörterung steht.

Ein fast regelmäßiges Vorkommen der IB. im Respirationstraktus bei Grippefällen zu Zeiten einer Epidemie, wenigstens an einwandfrei bakteriologisch untersuchtem Material, hat fast immer wieder eine Erörterung über die ätiologische Bedeutung dieser Bacillen für das Zustandekommen dieser Krankheit ausgelöst. Auch die von dem einen von uns während der Grippeepidemie im Winter 1936/37 so auffallend häufig erhobenen IB.-Befunde schienen eine gewisse Stütze für die ätiologische Rolle zu sein. Von diesem Gesichtspunkt aus konnten die hohen prozentualen positiven IB.-Befunde nach Abklingen der Winterepidemie alarmierenden Charakter tragen und als ein IB.-Trägertum erscheinen, das auf eine sehr starke Durchseuchung der Bevölkerung mit IB. schließen ließ.

Wenn damals die Befunde als Zeichen dafür gewertet wurden, daß bei dem hinlänglich bekannten, saisonweisen Auftreten von Grippe in epidemieartiger Form nun auch im Winter 1937/38 eine solche vielleicht noch heftigere Epidemie auftreten würde, so wurde diese Erwartung enttäuscht. Interessant ist nun die Feststellung, daß vom November 1937 an mit Höhepunkt im Dezember, abflauend im Januar 1938, ein Ansteigen der positiven IB.-Befunde sich fand, zugleich mit anatomisch echten Grippelungenkomplikationen. Will man diese Tatsache im Sinne einer ätiologischen Bedeutung der IB. für die Grippe bewerten, so hat man sich kritisch zuvor mit der Zwischenzeit zu befassen.

Zwischen dem Frühjahrsgipfel positiver IB.-Befunde und dem Wintergipfel (vgl. Abb. 3) tritt von Juli bis Oktober ein Wellental auf, das prozentual unter dem Durchschnittshundertertsatz von 29,4 liegende Werte ergab. Eine annähernd gleiche Senkung erfahren in diesem Abschnitt die Fälle mit Tracheobronchitis und Herdpneumonien bei den vorliegenden IB.-Fällen und anatomisch auf Grippe nur verdächtige Pneumoniefälle sind ganz vermißt worden. Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß auch LIEBER gerade im Sommer und Herbst

zweier Untersuchungsjahre den gänzlichen Ausfall positiver IB.-Befunde feststellte. Wie allerdings bei ihm das Vorkommen von Tracheobronchitis und Herdpneumonien damit auch eine Einschränkung erhielt, hat er nicht genauer angegeben.

Wir sind für unsere Untersuchungsreihe den klimatisch-meteorologischen Umweltsverhältnissen schon deshalb um so gründlicher nachgegangen, weil die von LIEBER gemachte Feststellung eines gleichmäßig trockenen und warmen Wetters für das Fehlen der IB. uns eine zu oberflächliche Beurteilung dieser Frage zu sein schien.

Wenn wir während des ganzen Beobachtungsjahres, allerdings in wechselnder Stärke, positive Bacillenbefunde erhalten hatten, so mußten dabei auch Zeiten getroffen sein, deren klimatische Werte den LIEBERSchen bacillenfreien Zeiträumen annähernd wenigstens gleichkamen. Auch ist an sich das Verschwinden der IB. aus den tieferen Luftwegen beim Eintritt warmer Witterung eigentlich nur zu verstehen, wenn mit gleichzeitigem Aufhören der Neigung zu Katarrhen die Lebensbedingungen der IB. sich bis zum gänzlichen Schwund verschlechtern.

Wäre das eine Gesetzmäßigkeit, so ist nicht einzusehen, warum wir nicht gleiche Beobachtungen wie LIEBER hätten machen müssen.

Die Frequenznote der positiven IB.-Befunde auf die einzelnen Sterbe- und Sektionstage bezogen, hat im Vergleich zu den meteorologischen Umweltsverhältnissen überzeugend sichere Beziehungen mit Ausnahme eines gewissen Einflusses arktischer Kaltluftmassen nicht ergeben. Ein Vergleich der für jeden Monat angelegten Kurven hat die Häufung positiver Fälle vor fallendem Barometerstand manchmal, keineswegs immer, hervortreten lassen.

Ob damit bei der Übersicht über einen Zeitraum von 13 Monaten schon Endgültiges ausgesagt werden kann, mag fraglich erscheinen. Die auffallenden Befunde LIEBERS mit unseren sorgfältig durchgeführten Beobachtungen in Vergleich zu bringen, wird bei der ungleichen Behandlung des Untersuchungstoffes jedenfalls in dieser Beziehung erschwert. Hochsommerliche positive IB.-Befunde am Lebenden (LEVINTHAL) decken sich für August 1937 mit der von uns errechneten Prozentzahl.

War also einmal ein gänzliches Verschwinden der IB. an unserem Material nicht festzustellen, und zeigte sich dabei im täglichen Auftreten und Fehlen der IB. kein deutlich erkennbarer meteorologisch wirksamer Faktor, mit Ausnahme der arktischen Kaltluft, so geht aus Abb. 3 doch hervor, daß mit Eintritt der warmen Jahreszeit unterdurchschnittliche Werte bei den positiven Befunden erhalten wurden. Wie wir fand auch MULDER, daß der IB. zu allen Jahreszeiten, sowohl in den Tropen wie in Europa, wenigstens im Sputum vorkommt.

Ob das IB.-Vorkommen in Fällen der Sommermonate nun noch in Zusammenhang mit einer IB.-Durchseuchung während der vorausgegangenen Winter-epidemie zu bringen ist, wird sich schwer entscheiden lassen. Eine Abnahme positiver IB.-Befunde mit der Entfernung einer vorausgegangenen Epidemie stimmt auch in unseren Befunden mit der Ansicht zahlreicher Autoren überein. Bemerkenswert ist die Feststellung, daß die IB. in der Regel mit anderen Keimen gemischt in den Bronchiolen so häufig überhaupt zu finden sind, ohne daß den Trägern dadurch ein als Grippe zu deutender Gesundheitsschaden zu erwachsen braucht.

Ob irgendwelche Grundleiden für das Bronchiolenvorkommen der IB. in Betracht kommen, ist eine Frage von grundsätzlicher Bedeutung schon deshalb, weil bei ihrem Aufenthalt im Bereich der Bronchialendäste der Schritt zu direkt oder indirekt erzeugter Lungenentzündung nur ein kleiner ist.

Aus unserer Übersicht (Tabelle 4) sieht man, daß Stauungskatarrhe im Gefolge von Herzleiden prozentual höhere IB.-Befunde als die bakteriologisch negative Gruppe aufwiesen. Wie günstig Stauungszustände im Respirationstraktus als Nährboden pathogener Keime sein können, geht aus den Erfahrungen über das Zustandekommen der hypostatischen Pneumonie zur Genüge hervor. Wenn diese auf Blutstauung beruhenden Schleimhautveränderungen im Sinne von Transsudatbildungen und Blutaustrittsneigung zur Auswirkung kommen, wird eiweiß- und hämoglobinhaltiges Nährmaterial gerade für die hämophilen IB. reichlich zur Verfügung stehen. Auf diesen veränderten Schleimhautoberflächen mag auch das Tiefenwandern der IB. besonders leicht vor sich gehen. Hier würde also durch das bestehende Grundleiden die Bronchiolenlokalisierung der IB. verständlich gemacht werden können. Daß eine solche durch Masern, Keuchhusten, durch erschöpfende Infektionskrankheiten, durch Diabetes und Nephritis begünstigt wird, ist an sich gut vorstellbar. Jede Schwächung des Gesamtorganismus wird ihn der Invasion und Angriffslust lebender Mikroorganismen gegenüber leichter zugänglich machen. Die natürlichen Schutzvorrichtungen am Respirationstraktus könnten durch die genannten Grundleiden, ebenso wie durch Katarrhe und Kreislaufstörungen, eine Hemmung erfahren, so daß ein Tiefeneindringen von Keimen lungenwärts nunmehr erfolgen kann. Wir stellen uns vor, daß dies auch für die an Schleimhautorten der oberen Luftwege und des Rachens mit Vorliebe sich aufhaltenden IB. Gültigkeit haben wird.

Die im vorangehenden Kapitel bekannt gegebenen Resultate haben bei den dort erwähnten Grundleiden markante Ausschläge zugunsten der bakteriologisch positiven Fälle nicht ergeben. Ob man überhaupt auf eine gesteigerte IB.-Infektionsbereitschaft aus dem Vorkommen der IB. in den Bronchiolen bei diesen Grundleiden schließen kann, ist bei der Gegenüberstellung unserer positiven und negativen Befunde keineswegs eindeutig zu beantworten. Bronchiektasien als IB.-Depots haben aber eine erneute Bestätigung durch unsere Befunde erfahren.

Die Frage des *saprophytären Vorkommens der IB.* im menschlichen Körper wird auch durch unsere Untersuchungen berührt. Diese Frage in der früher beliebten scharfen Gegenüberstellung zur Pathogenität der IB. aufzurollen, erscheint heute untunlich zu sein. Nach LEVINTHAL kann der Befund von IB. auf der Schleimhaut der Luftröhre oder gar der Bronchien nicht mit ihren saprophytären Eigenschaften in Verbindung gebracht werden. Er scheint damit ausdrücken zu wollen, daß ein saprophytäres demnach harmloses Vorkommen der IB. auch ein gewisses Innehalten bestimmter Schleimhautregionen des Respirationstractus voraussetzt. Für ihn ist das Auftreten der IB. in den tieferen und gar tiefsten Abschnitten des Respirationstractus ein Zeichen des Verlustes des Saprophytentums dieser Keime.

Auch wir möchten nach allen unseren Erfahrungen in der Tiefeninvasion der IB. doch den Ausdruck einer gewissen Aggressivität dieser Keime sehen, für deren Zustandekommen man komplexe Vorgänge anzunehmen hat. Sie beziehen sich sowohl auf den Keim selbst (Virulenzsteigerung) wie auf den

Gesamtorganismus (mangelnde Abwehrfähigkeit). Sind lokal begünstigende Bedingungen wie ein Stauungskatarrh oder allgemein die Abwehrfähigkeit des Organismus herabsetzende Umstände eingetreten, so scheint die Pathogenität der IB. zu erwachen, die nach unserer Vorstellung auch in dem Auftreten derselben in den tiefen Luftwegen abzulesen ist. Wir stimmen also LEVINTHAL bei und weisen darauf hin, daß sowohl in den Fällen von LIEBER wie auch in der erdrückenden Mehrzahl unserer Fälle, das Vorhandensein einer Bronchitis oder Bronchiolitis mit dem Bronchiolenvorkommen der IB. zusammenfiel. Da die IB. ohne allen Zweifel entzündungserregende Keime sein können, wird man ihren Anteil am Zustandekommen dieser katarrhalischen Bronchiolenveränderungen nicht bestreiten können, auch wenn man ein Bakteriengemisch zugleich mit diesem fand. Man sollte die Frage, ob die IB. saprophytäre oder pathogene Keime sind, in dieser scharfen Gegenüberstellung überhaupt vermeiden. Wie PAUL SCHMIDT es richtig formuliert, muß die Frage lauten, unter welchen Bedingungen werden diese Keime pathogen und erzeugen als solche die klinischen und anatomischen Veränderungen, die sie zu machen zweifellos fähig sind.

Überblicken wir (vgl. Abb. 3) jedoch größere Abschnitte des Untersuchungsjahres, so kann an der Tatsache nicht vorübergegangen werden, daß sowohl in den Sommermonaten wie auch im unverhältnismäßig warmen März 1938 je ein Wellental in der Kurve der positiven IB.-Befunde aufgetreten ist. Der vom November 1937 bis Januar 1938 vorhandene Wintergipfel muß den Eindruck eines saisongebundenen Vorkommens der IB. erwecken. Der besonders auffallende Tiefstand im März 1938 läßt unwillkürlich an die LIEBERSCHEN Vorstellungen denken, daß mit Eintritt ungünstiger Jahreszeit ein Anschwellen und mit Eintritt warmer Witterung ein Abfall in den positiven Befunden auftritt. Wenn LIEBER meint, daß der IB. trockene, warme oder heiße Luft nicht gut zu ertragen scheine, so können wir dem in dieser allgemeinen Fassung nicht zustimmen, da völlig negative Fälle in keinem unserer warmen Jahresabschnitte vorgekommen sind. Da auch die von uns vorgenommenen täglichen Wetterkontrollen im Vergleich zum IB.-Vorkommen eine solche Behauptung nicht zu stützen vermögen, so stehen wir vor einer schwierigen Erklärung dieser „saisonmäßigen“ Schwankung in unserem Befunde.

Nach allgemeiner Erfahrung ist aber in der rauheren Jahreszeit die Neigung zu Erkältungskrankheiten eine erhöhte. Besonders der Eintritt naßkalter Witterung im Spätherbst und Winter ist gefürchtet. Wir möchten annehmen, daß das Auftreten von Erkältungskatarrhen der Luftwege mit durch Kälte erzeugten Abwehrschäden und Kreislaufstörungen an ihnen (P. SCHMIDT) auch den IB. das Tiefenwandern bis in die Bronchiolen erleichtern kann. So erklären sich vielleicht die vermehrten positiven IB.-Befunde in unserem Wintergipfel. Wir legen hier also mehr Wert auf die Verhältnisse im Gesamtorganismus als LIEBER das getan hat, der seine Beobachtungen nur in Beziehung zu den IB. selbst bringt.

Wenn wir bei dem Ausbleiben einer Grippeepidemie im Winter 1937/38 feststellen müssen, daß auch der gesteigerte IB.-Befund in diesem Zeitraum noch nicht genügt hat, um eine epidemieartige Ausbreitung dieser Erkrankung hervorzurufen, so ist der Befund doch insofern bedeutungsvoll als er zeigt, daß der IB. für das Zustandekommen der in diesem Zeitraum wieder

auftretenden vereinzelt Grippelungenentzündungsfällen doch irgendetwas zu tun haben muß. Ich erinnere dabei an das Auftreten atypischer, als Grippekomplikationen gedeuteter Lungenentzündungen, die der eine von uns (WÄTJEN) bei Kindern in Monaten der warmen Jahreszeit 1933 beobachtet hat, bei denen auch der regelmäßige Befund von IB. als diagnostisches und pathognomonisches Zeichen für das Vorliegen eines Grippeinfektes gewertet wurde. Es ließ sich damals der Schluß ziehen, das bei diesen Fällen außerhalb einer Grippeperiode doch Bedingungen zusammengewirkt haben müssen, wie sie zuzeiten einer Grippeepidemie zum Zustandekommen einer Grippepneumonie als notwendige Voraussetzungen des Krankheitsgeschehens gegeben sein werden.

Die IB. scheinen dabei eine dieser Bedingungen zu sein. Ihr Vorkommen allein im Wintergipfel unserer Beobachtungszeit genügte aber nicht zum epidemieartigen Auftreten der Krankheit. Diese mehr negative Feststellung aus unserer Untersuchungsreihe scheint wichtig zu sein.

Daß für das Zustandekommen einer Grippeepidemie eine Vielheit von Faktoren maßgebend sein wird, ist eine Erkenntnis, die sich immer mehr Bahn bricht. Bedingungen zur Erlangung von Erkältungsschäden werden auch im Winter 1937/38 bei uns vorhanden gewesen sein und eine deutliche Steigerung IB.-positiver Fälle am Leichenmaterial wird den Schluß zulassen, daß das Vorkommen dieser Keime ganz allgemein eine Zunahme erfahren haben wird. Diese beiden Faktoren haben aber nicht vermocht, eine Grippeperiode zu erzeugen.

Muß man den fehlenden Faktor nun in einem Grippevirus suchen, das nach Ansicht englischer und amerikanischer Autoren als Erreger der epidemisch-pandemisch auftretenden Grippe allein genügen soll? Wir halten die Virusfrage noch nicht für genügend geklärt, um jetzt schon eine eindeutige Klärung der Frage zu erwarten. Jedenfalls ist mit dem Faktor Virus als alleinigem Auslöser einer Grippeepidemie noch nicht mit Sicherheit zu rechnen, zumal die schönen Untersuchungen von P. SCHMIDT und KAIRIES seine Rolle als provokatorisches Moment und Stimulans zur Aktivierung IB.-ähnlicher körpereigener Pasteurellen beim Tier (Frettchen) sehr nahegelegt haben. Ein gleiches könnte auch für die IB. beim Menschen angenommen werden. Eine Aktivierung, der im Respirationstractus befindlichen Keime nur durch ein von außen kommendes Virus anzunehmen, scheint uns aber eine Beschränkung der sonst noch in Betracht kommenden Möglichkeiten zu bedeuten. Provokationen durch Erkältungseinflüsse, durch hierdurch ausgelöste Kreislaufstörungen und katarhalische Erscheinungen können ihre Erklärung sowohl in Schädigungen der Abwehrfähigkeit des Gesamtorganismus wie auch des örtlichen Resistenzvermögens finden. Virussteigerungen durch Menschenpassagen, Erhöhung der Infektionsmöglichkeit durch ungünstige hygienische Verhältnisse sind auf der anderen Seite Faktoren, die für die Keime wohl zu berücksichtigen sind. Das Problem scheint ein so verwickeltes zu sein, daß man zu einfach erscheinenden Lösungsversuchen von vornherein wenig Vertrauen entgegenbringen wird. Ein Anschwellen positiver IB.-Befunde aber zur Zeit einer erfahrungsgemäß saisongebundenen Grippeperiode kann nicht als Zufallsbefund gedeutet werden, da das IB.-Vorkommen in Fällen von Grippeinfekten innerhalb, seltener allerdings außerhalb, einer Grippeepidemie aus aller bisheriger Erfahrung für ihre Bedeutung zu sprechen scheint. Im Bereich unserer Beobachtungen hat sich der IB.-Faktor saisongemäß durch erhöhten Nachweis angekündigt, aber

die notwendige sonstige Konstellation auslösender Faktoren wird gefehlt haben. Diese nur im Witterungscharakter erblicken zu wollen, mag ebenso einseitig erscheinen, als die alleinige Verantwortlichmachung eines Virus. Mikroorganismen und Makroorganismus werden eine Beeinflussung erfahren müssen, die sie zur Wechselwirkung veranlassen. Das Vorkommen der IB. in den Bronchiolen auch als Ausdruck einer erlangten Pathogenität genügt noch nicht ohne weiteres zur Auslösung einer Grippe und ihrer epidemischen Ausbreitung. Es ist aber, wie auch wir gezeigt zu haben glauben, ein warnendes Vorzeichen dafür, daß nun bei gegebener Konstellation der Träger an der Schwelle einer Grippeerkrankung stehen mag. Ob durch die noch hinzukommenden Einflüsse eine Virulenzsteigerung der IB. sie für den Gesamtorganismus toxisch werden läßt, oder ob sie als Wegbereiter für andere Keime dabei eine Rolle spielen, sind Fragen, die durch unsere Untersuchungen keine eindeutige Erklärung erhalten konnten.

III. Zusammenfassung.

1. Aus einem laufenden Sektionsgut von insgesamt 1370 Sektionen wurden in einem Zeitraum von 13 Monaten (April 1937 bis April 1938) 615 Fälle = 45,0% bakteriologisch und bakterioskopisch auf das Vorkommen von Influenzabacillen (IB.) in den Bronchiolen untersucht.

2. Von diesen 615 Fällen zeigten 181 = 29,4% bakteriologisch positive IB.-Befunde (Gruppe A), während 434 Fälle = 70,6% bakteriologisch negativ blieben (Gruppe B). Bakterioskopisch positiv waren bei Gruppe B 54 Fälle = 12,4%.

3. Alters- und Geschlechtsverteilung waren ohne ersichtliche Beziehung zu positiven wie negativen Befunden.

4. Im Gegensatz zu LIEBER fanden sich auch in den Sommermonaten positive IB.-Befunde, wie überhaupt in jedem Monat ein IB.-Vorkommen sich nachweisen ließ.

5. Meteorologische Einflüsse auf Häufung positiver IB.-Befunde ließen sich in den einzelnen Monatstagen, abgesehen von arktischen Kaltluftmassen, nicht mit genügender Sicherheit herausfinden, ebensowenig konnte die von LIEBER geäußerte Ansicht des Verschwindens der IB. bei warmer, gleichmäßiger und trockener Witterung an unserem Beobachtungsgut eine Bestätigung erhalten.

6. Jahreszeitlich betrachtet war in den Sommermonaten eine Senkung der positiven IB.-Befunde festzustellen, während in den Wintermonaten ein stärkeres Ansteigen sich bemerkbar machte.

7. In Fällen mit Tracheobronchitis und Herdpneumonien überwog die Gruppe A deutlich die Gruppe B. Von vorliegenden Grundleiden zeigten Fälle mit Herzleiden und Stauungszuständen in Tracheobronchialtractus und Lungen ein Überwiegen der positiven Befunde.

8. Bronchiektasien spielen als IB.-Depots zweifellos eine Rolle, ein Gleiches konnte für tuberkulöse Kavernen nicht erkannt werden.

9. Die in den Bronchiolen vorkommenden IB. sind nicht als saprophytäre Keime anzusehen, sondern bringen mit ihrer Tiefenwanderung ihre pathogenen Eigenschaften zum Ausdruck.

10. Für die Entstehung einer Grippepneumonie scheint diese IB.-Lokalisation an sich noch nicht zu genügen. Das Wiederauftreten von Grippelungenentzündungen gleichzeitig während des Wintergipfels positiver IB.-Befunde macht es wahrscheinlich, daß erst bei Vorhandensein weiterer Faktoren die IB. auch für die Grippelungenentzündung eine pathognomonische Bedeutung erlangen können.

11. Die für das Auftreten einer Grippeepidemie notwendige Konstellation auslösender Faktoren fehlte allem Anschein nach im Bereich unseres Beobachtungsgebietes für den Winter 1937/38 trotz saisonmäßiger Steigerung von IB.-Funden mit jahreszeitlich geeignet erscheinender klimatischer Umweltfaktoren.

12. Die Annahme der maßgeblich auslösenden Wirkungsweise eines Virus für die Entstehung einer Grippeepidemie ist an sich als alleiniger Faktor bislang noch nicht bewiesen und kann auch, nur als provokatorischer Reiz gedacht, zu einer Aktivierung von Keimen in einem Körper führen, dessen Abwehrmechanismus durch das Virus und andere Umweltfaktoren, auch klimatischer Natur, herabgesetzt ist. Von dieser Keimaktivierung scheinen nach unseren Befunden auch die IB. betroffen zu werden, deren Bedeutung für die Entstehung der Grippe, auch in epidemischer Ausbreitung, nach wie vor in Rechnung zu setzen ist.

Literatur.

- BALKWIN, H. and R.: Seasonal variation in the calcium content of infants serum. *Amer. J. Dis. Childr.* **34**, 994 (1927). Ref. bei ORTMANN.
- BAUER, J.: Grippe und Wetter. *Z. klin. Med.* **134**, (Schluß-)Heft 6, 778.
- ELKELES: Die ätiologische Bedeutung der Influenzabacillen für die Entstehung von Bronchiektasien. *Schweiz. med. Wschr.* **1937 I**, 356—359. Ref. *Zbl. Bakter.* **126**, 526 (1937).
- FLACH: Atmosphärisches Geschehen und witterungsbedingter Rheumatismus. Leipzig: Theodor Steinkopff 1938.
- GSELL, O.: Die Grippe. *Erg. Med.* **17**, 3/4, 454 (1931).
- GUNDEL u. LINDEN: Experimentelle und epidemiologische Studien zum Influenzaproblem. *Arch. f. Hyg.* **105**, 133 (1931).
- HARE, R.: Recent advances in the study of influenza. *Canad. publ. Health J.* **28**, 157—165 (1937).
- HESS u. J. LUNDHAGEN: Seasonal tide of blood phosphat of infants. *J. amer. med. Assoc.* **79**, 2210 (1922). Ref. bei ORTMANN.
- HOPMANN u. REMEN: Blutdruckhöhe und Jahreszeiten. *Z. klin. Med.* **122**, H. 5/6 (1932).
- HUEBSCHMANN: Die Ätiologie der Influenza. *Erg. Hyg.* **5**, 19 (1922).
- KLIENEBERGER: Influenzabazillen bei Gesunden nach einer Epidemie. *Zbl. Bakter.* **121**, 72 (1931).
- KRETZ, R.: Influenzabeobachtungen im Jahre 1897. *Wien. klin. Wschr.* **1897 I**, 877.
- LEICHTENTRITT: Klinisches und Epidemiologisches vom PFEIFFERSchen Influenzabazillus. *Zbl. Bakter.* **106**, 176 (1928).
- LEVINTHAL: Das Vorkommen des PFEIFFERSchen Influenzabazillus bei Gesunden. *Z. Hyg.* **109**, 93 (1929).
- KUCZYNSKI u. WOLFF: Die Ätiologie, Epidemiologie, pathologische Morphologie und Pathogenese der Grippe. *Erg. Path.* **19**, 2, 848 (1921).
- LIEBER: Untersuchungen an Leichenmaterial über das Vorkommen des PFEIFFERSchen Influenzabazillus mit besonderer Berücksichtigung epidemiefreier Zeiten. *Zbl. Bakter.* **106**, 190 (1928).
- Über Influenzauntersuchungen an Sektionsmaterial (Respirationsorgane) in epidemiefreier Zeit im Frühjahr 1929. *Zbl. Bakter.* **122**, 476 (1931).

- LOEW, W.: Über Schwankungen des Komplementgehaltes bei Meerschweinchen. Wien. klin. Wschr. **1922 I**, 12.
- MULDER: Haemophilus influenzae (PFEIFFER) as an ubiquitous cause of common acute and chronic purulent Bronchitis. Acta med. scand. (Stockh.) **94**, F. I/II (1938).
- MORO: Über Erregbarkeit des vegetabilen Nervensystems im Frühjahr und Ekzemtod. Münch. med. Wschr. **1920 I**, 657.
- ORTMANN: Witterungseinflüsse auf den menschlichen Organismus. Erg. Path. **32**, 141.
- PETZELT, K.: Die Influenza-Meningitis. Z. klin. Med. **131**, 691—705 (1937).
- PEYRER, K.: Grippestatistik und Wetter. Arch. Kinderheilk. **111**, 8—23 (1937).
- PFEIFFER, R.: Die Ätiologie der Influenza. Zbl. Bakter. **121**, 241 (1931).
- PREUSS: Epidemiologische und morphologische Influenzabazillenstudien aus dem Ende der letzten Pandemie. Zbl. Bakter. **87**, 283 (1922).
- PRIGGE: Jahreszeitliche Schwankungen der Immunisierbarkeit von Meerschweinchen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **47**, 543 (1935). Aussprache zu OBERLAND.
- RUDDER, DE: Grundriß einer Meteorobiologie des Menschen. 2. Aufl. Berlin: Julius Springer 1938.
- SCHMIDT, P.: Zum Problem der Grippe-Ätiologie. Zbl. Bakter. **106**, 325 (1928).
- Grippe und Lungenentzündung. Dtsch. med. Wschr. **1937 I**, 172.
- u. A. KAIRIES: Zur Ätiologie der epidemischen Influenza. Münch. med. Wschr. **1938 I**, 86.
- STRAUB, GOLLWITZER-MEIER u. SCHLAGINTWEIT: Die Kohlensäurebindungskurve des Blutes und ihre Jahreszeitschwankungen. Z. exper. Med. **32**, 229 (1923).
- WÄTJEN, J.: Zur Kenntnis atypischer Pneumonien im Kindesalter. Dtsch. med. Wschr. **1934 I**, 201.
- Pathologisch-anatomische Erfahrungen bei der Grippeepidemie des letzten Winters mit besonderer Berücksichtigung der Influenzabazillenbefunde. Dtsch. med. Wschr. **1937 I**, 993.
- Über Influenzabazillenbefunde während und nach der Grippeepidemie des letzten Winters. Klin. Wschr. **1937 II**, 1476. Med. Ges. Halle, 26. Mai 1937.

IV. Über den neuesten Stand der Epidemiologie der WEILSchen Krankheit.

Von

W. BLUMENBERG-Breslau¹.

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	168
II. Der Begriff der WEILSchen Krankheit	169
1. Die nosologischen Beziehungen zu ähnlichen Krankheitszuständen	169
2. Der ätiologische Zusammenhang zwischen Spirochäten vom Icterogenestyp	171
III. Die örtliche Gebundenheit der WEILSchen Krankheit und die jahreszeitliche Verteilung der Krankheitsfälle	178
IV. Die geographische Verbreitung der WEILSchen Krankheit	181
V. Die Infektionsquellen	185
1. Die Ratten als Virusreservoir	185
2. Die Rolle der Ratten bei den Infektionen durch Wasser, Schlamm und Nahrungsmittel	201
3. Andere Nagetiere als Spirochätenträger	208
4. Spirochätenträgetum und WEILSche Krankheit bei Hunden.	209
5. Die WEILSche Krankheit bei Füchsen	215
6. Seltene Infektionsquellen	217
VI. Die Eintrittspforten der Weilschpirochäten	219
VII. Die WEILSche Krankheit als Berufskrankheit	223
VIII. Morbidität und Letalität	226
Literatur	228

I. Einleitung.

Der von GOTSCHLICH geprägte Satz, daß „die epidemiologische Erforschung der Volkskrankheiten auf sich allein gestellt und ohne das Licht der ätiologischen Erkenntnis häufig in die Irre gehen oder ganz unfruchtbar bleiben muß“, führt zu der Konsequenz, daß ätiologische Momente auch in einer *speziell* auf die Epidemiologie gerichteten Darstellung unentbehrlich sind. Ihre Berücksichtigung bei der WEILSchen Krankheit ist umso notwendiger, als die Frage der Einheitlichkeit sowohl des Krankheitsbildes wie des Erregers einer endgültigen Lösung noch nicht zugeführt ist. Die Ergebnisse der ätiologischen Forschung werden daher in dieser Übersicht in dem Umfang, den eine deduktive Epidemiologie im Sinne KISSKALTS erfordert, herangezogen, aber in dem Rahmen gehalten werden, der zur Gewinnung epidemiologischer Klarheit unerlässlich ist.

Zwischen der kritischen Übersicht FROMMES in Band IV dieser Ergebnisse und dem jetzigen auf Wunsch der Schriftleitung erstatteten Bericht liegt eine Zeitspanne von 19 Jahren, in der ungemein zahlreiche Einzelmitteilungen in vielen Weltsprachen und nicht weniger Zusammenfassungen über den gleichen

¹ Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau. Direktor: Professor Dr. W. BLUMENBERG.

Gegenstand erschienen sind. Die bekannteste und eingehendste Monographie ist von UHLENHUTH und FROMME im Jahre 1930 für das Handbuch der pathogenen Mikroorganismen verfaßt worden und gibt den damaligen Stand des Gesamtproblems unter Verwertung eines reichhaltigen Schrifttums erschöpfend wieder. Seither ist eine Fülle neuen Materials zusammengetragen, ohne daß man behaupten könnte, die letzten Rätsel um die Epidemiologie des Morbus Weil gelöst zu haben.

II. Der Begriff der WEILSchen Krankheit.

1. Die nosologischen Beziehungen zu ähnlichen Krankheitszuständen.

Es ist kaum ein Zweifel möglich, daß der infektiöse Ikterus viel häufiger sporadisch und endemisch vorkommt, als man allgemein annimmt, und außerordentlich oft übersehen wird. Nach den Hamburger Erfahrungen HEGLERs erfolgen die Einweisungen in das Krankenhaus meist unter anderen Diagnosen (Grippe, Gelbsucht, Blinddarmentzündung, Magen- und Darmkatarrh, Gelenkrheumatismus, Lungenentzündung, Urämie usw.), wobei noch zu bedenken ist, daß nur die schweren Fälle in klinische Behandlung kommen und erkannt werden. Diese Vielgestaltigkeit des Krankheitsbildes und der oft atypische Verlauf, insbesondere die Häufung ikterusloser Fälle, stellen den Arzt heute vor eine andere Situation, als sie WEIL zu sehen glaubte. Die WEILSche Krankheit als nosologische Einheit hat sich über den „klassischen“ Symptomenkomplex (Nephritis, Fieber, Gelbsucht und Milztumor) hinaus eine Erweiterung ihres Begriffes gefallen lassen müssen. Die Forderung WEILS (1916), daß nur die Erkrankungen als „Morbus Weil“ angesprochen werden dürften, die das von ihm 1886 beschriebene Bild vollständig treu widerspiegeln, ist nach den in aller Welt gemachten Erfahrungen nicht mehr aufrecht zu halten. Ebenso wenig dürfte das Postulat, nur die ätiologisch auf Grund des Erreger- oder Antikörpernachweises geklärten Fälle der WEILSchen Krankheit einzuordnen, erfüllbar sein. Nach neueren klinischen und autoptischen Befunden (STRASBURGER und THILL) kann die Milzvergrößerung nicht mehr als Kardinalsymptom der WEILSchen Krankheit angesehen werden. v. HECKER und OTTO haben bereits bei der Hildesheimer Epidemie des Jahres 1911 die Mehrzahl der Erkrankungen ohne Ikterus verlaufen sehen. In den Arbeiten deutscher, französischer und englischer Autoren aus der zweiten Hälfte des Krieges ist von zahlreichen unzweifelhaften und durch Erregernachweis gesicherten Krankheitsfällen berichtet worden, wo Ikterus, Nephritis oder Milzschwellung völlig fehlten. Von den 73 Fällen WEILScher Krankheit, die KRAMER im Sommer 1932 in Rotterdam zu beobachten Gelegenheit hatte, zeigten 28 Ikterus und 45 keinen Ikterus. Es darf allerdings nicht übersehen werden, daß der fieberhafte Ikterus auf sehr verschiedenen Ursachen beruhen kann. Zahlreiche mit Gelbsucht verlaufende Erkrankungen infektiösen Charakters, die als WEILSche Krankheit beschrieben sind, haben sicherlich mit dem echten Weil nichts zu tun gehabt. So sind die angeblich großen Weilepidemien zur Zeit des amerikanischen Bürgerkrieges, die 71 000 ausnahmslos mild und ohne Fieber verlaufende Erkrankungen an Gelbsucht zusammenfassen, nach den kritischen Betrachtungen von TOWLER und WALKER (1927) offenbar auf andere Ursachen zurückzuführen gewesen. Umgekehrt ist auch nach der Entdeckung des Erregers mancher leichte Weillfall

unerkannt geblieben, sei es, daß das Krankheitsbild verschleiert war, sei es, daß versäumt war oder die Unmöglichkeit bestand, sämtliche Hilfsmittel für die Diagnose heranzuziehen. Der Polymorphismus der Krankheitserscheinungen, von denen keine für die WEILSche Krankheit spezifisch ist und jede bei vielen akuten Infektionen angetroffen werden kann, muß sich naturgemäß auch auf die epidemiologische Forschung auswirken. Die 1883 von dem russischen Forscher S. P. BOTKINE aufgestellte Hypothese, daß ein- und derselbe Erreger alle Formen der Krankheit vom leichten Verlauf bis zum schweren Ikterus mit Leberatrophie hervorrufen könne, ist längst zur Evidenz erwiesen. Die Verbesserung der diagnostischen Methoden bietet zwar dem erfahrenen Beobachter einen gewissen Ausgleich, vermag aber nur in einem gut eingespielten Laboratorium die Erkennung solcher sporadischer Fälle zu fördern. Die in der Literatur beschriebenen bakteriologisch, serologisch und tierexperimentell gesicherten Fälle zeigen die bestehenden Schwierigkeiten und die fließenden Übergänge zwischen klassischen Weil- und atypischen Verlaufsformen deutlich auf. Es ist das Verdienst besonders französischer Forscher, den anscheinend nicht seltenen meningealen Symptomenkomplex mit Herpes nasolabialis und Conjunctivitis, der ebenso an cerebrospinale Meningitis wie an spinale Formen akuter Poliomyelitis erinnern kann, ätiologisch als Weilinfekt geklärt zu haben (TROISIER, NICAUD, LAIGNEL-LAVASTINE, GARNIER und MAISLER, MARIE und GABRIEL, COCHEZ und FICHET, BICKEL, DEMOLE und ARNOLD, TETZNER). Von 270 serologisch untersuchten Weilkranken konnten SCHÜFFNER, WALCH und SORGDRAGER die meningeale Form bei 12% der Patienten ohne Ikterus und nur bei 3% der Erkrankten mit Ikterus feststellen. Möglicherweise gibt das Schrifttum nur einen schwachen Eingriff der Wirklichkeit; aller Wahrscheinlichkeit nach wird nur ein sehr geringer Prozentsatz dieser Verlaufsform überhaupt als Weilerkrankung erkannt.

Derartige Schwierigkeiten vermindern sich bei epidemischem Auftreten der Erkrankung. Schon vor Jahrzehnten sind zahlreiche Epidemien beschrieben worden, die trotz der sehr unterschiedlichen Ausprägung der Symptome in den einzelnen Fällen und bei den verschiedenen Epidemien als echte Weilerkrankungen angesprochen wurden. Das früher gehäufte Auftreten beim Militär gab bereits 1879 FRÖHLICH Veranlassung, von einer „Armee-Krankheit“ mit örtlicher und zeitlicher Gebundenheit zu sprechen. Diese Kennzeichnung hat vielfach als zu Recht bestehend bestätigt werden können, wobei nicht zuletzt die während des Weltkrieges beobachteten Epidemien wertvolle Hinweise lieferten. Aus der jüngsten Vergangenheit ist die Mitteilung von PACK-CHANIAN (1937), welche die bisher in den Vereinigten Staaten von Nordamerika bekannt gewordenen Weilfälle chronologisch ordnet und den häufigen Zusammenhang mit größeren Truppenkonzentrationen aufzeigt, bemerkenswert. Es darf freilich nicht verschwiegen werden, daß auch in der neueren Zeit die Klassifizierung als WEILSche Krankheit keineswegs stets durch den Erreger- bzw. Antikörpernachweis gestützt, sondern vielfach aus epidemiologischen Erwägungen und Feststellungen heraus gewonnen worden ist. Da die letzteren für das europäische Schamm-, Ernte- und Wasserfieber (Feldfieber) in gleicher Weise gelten wie für die tropischen sog. kurzfristigen Spirochätenfieber ist ein Faktor der Unsicherheit in das Weilproblem hereingetragen, der die Abgrenzung klinisch ähnlich verlaufender Krankheitszustände ohne Erregernachweis erschwert

oder ganz ausschließt. FRIEDRICH MÜLLER hat bereits im Jahre 1891 die in Schlesien aufgetretene Epidemie von Schlammfieber mit der WEILSchen Krankheit verglichen und die Frage gestellt, ob der Ikterus überhaupt ein pathognomisches Zeichen der WEILSchen Krankheit sei. Seine Kennzeichnung der Epidemie als einer „Krankheit von äußerst variablem Charakter“ hat ihre Gültigkeit für den Seuchenverlauf von 1926/27 behalten. KATHE sah „alle Übergänge von den leichtesten ambulant überstandenen Fällen bis zu den tödlich endenden“ und deutet auf Grund epidemiologischer Daten, klinischer Erscheinungen und autoptischer Befunde das Schlammfieber als abortiven Morbus Weil. In dem gleichen Rahmen dürften das Erntefieber des niederbayrischen Donaubegebietes (Rimpau), das 1927/28 im Moskauer Gouvernement aufgetretene Wasserfieber (Baschenin), das japanische Akiyama, das ebenfalls in Japan heimische Siebentagefieber und die ihm nahestehende HASAMIYAMA-Krankheit unterzubringen sein. Die Aufklärung der Ätiologie durch Nachweis der morphologisch und biologisch der Weilsprochäte gleichenden *Spirochaeta grippotyphosa* (TARASSOFF, RIMPAU), der *Spirochaeta hebdomadis* (IDO, ITO, HOKI, WANI) und der *Spirochaeta autumnalis* (KITAMURA und HARA) fügt der Ähnlichkeit in klinischer und epidemiologischer Hinsicht die nahe Verwandtschaft in ätiologischer Beziehung hinzu (PAEZ, SCHLOSSBERGER u. a.). Noch enger sind anscheinend die Beziehungen der „echten“ WEILSchen Krankheit zu den sog. kurzfristigen Spirochätenfiebern auf Sumatra, von denen BAERMANN und ZUELZER und ihre Mitarbeiter sehr eingehende Beschreibungen geliefert haben. Nach BAERMANN und SMITS stellt jede Endemie eine festgefügte Kette von leichtester Erkrankung bis zum schwersten klinischen Morbus Weil dar; es handelt sich um „nichts anderes als graduell verschiedene, leichte Weilerkrankungen, d. h. Erkrankungen, die auf der langen Stufenleiter vom leichtesten klinisch noch unausgesprochenen „Weil“ bis zum schwersten klassischen Krankheitsbild des „Weil“ die untersten Sprossen bilden“ (BAERMANN).

2. Der ätiologische Zusammenhang zwischen Spirochäten vom Icterogenes-Typ.

Die Erreger dieser kurzfristigen Spirochätenfieber halten BAERMANN und ZUELZER für identisch mit den sog. echten Weilstämmen, die ihrerseits wieder den im Wasser saprophytisch lebenden Spirochäten vom Typus der *Spirochaeta icterogenes* gleichen sollen. Durch die systematischen Untersuchungen von UHLENHUTH und ZUELZER wurden Spirochäten vom Weiltyp im Schlamm von Flüssen und Seen, in den Reinigungsbecken und biologischen Tropfkörpern von Kläranlagen sowie in den schleimartigen organischen Filzpfropfen wenig benutzter Zapfhähne auch einwandfreier Grundwasserleitungen in ungeheurer Menge festgestellt. M. ZUELZER hat auch im Meerwasser Spirochäten angetroffen, die morphologisch der *Spirochaeta icterogenes* völlig gleichen. Die hohe Kochsalzempfindlichkeit der Weilsprochäte veranlaßte UHLENHUTH zu der Vermutung, daß durch besondere Versuchsanordnung die *Spirochaeta icterogenes* langsam und allmählich an das Kochsalz gewöhnt werden kann. In entsprechenden Versuchen SHIGAS gelang es in der Tat, die *Spirochaeta icterogenes* an 0,85%igen, die *Spirochaeta pseudoicterogenes* an 1,2%igen Kochsalzgehalt des Nährbodens zu gewöhnen. Schon dieses Ergebnis deutet auf ein nahes phylogenetisches Verwandtschaftsverhältnis zwischen den Spirochäten der WEILSchen Krankheit und den saprophytischen Wasserstämmen

hin. Zahlreiche Forscher haben sich um die endgültige Lösung der Frage bemüht und zu der Biologie der Spirochäten sowie zu der serologischen und immunisatorischen Differenzierung verschiedener Spirochätenarten wichtige Beiträge geliefert. Der Wert derartiger Untersuchungen zur Abgrenzung morphologisch ähnlicher Stämme ist sehr eindeutig bei der Identifizierung der sog. *Leptospira icteroides*, die sich im Gegensatz zu NOGUCHIS Annahme als Weilspirochäte herausstellte, erwiesen (SCHÜFFNER und Mitarbeiter). Die Vielzahl der in ihrer Empfindlichkeit stark voneinander abweichenden Methoden schließt es gleichwohl aus, die vorliegenden Untersuchungsergebnisse auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen. Bereits allgemein biologische Erwägungen führen zu der Erkenntnis, daß die phylo- bzw. ontogenetische Entwicklung der Mikroben im Sinne eines fortgesetzten Anpassungsprozesses an ihre Umwelt verläuft. Jeder Wirtswechsel muß irgendwelche Änderungen der Keimeigenschaft herbeiführen, die in den Variabilitätserscheinungen ihren Ausdruck finden. Der von APPELMANN (1934) festgestellte und von VAN THIEL (1935) bestätigte Antagonismus zwischen echten und unechten Weilspirochäten, der sich durch die allmähliche Verdrängung des echten Stammes äußert, schließt daher eine Verwertung im Sinne allgemeiner Abgrenzung ebenso aus, wie die Symbioseversuche SHIGAS mit *Faecalisbacillen*, in denen keine prinzipiellen Unterschiede in der Empfindlichkeit von Menschen- und Rattenstämmen einerseits und einigen Wasserstämmen andererseits aufzuzeigen waren. Allgemeine Schlüsse von prinzipieller Bedeutung sind aus solchen Versuchen nicht zu ziehen. M. ZUELZER (1936) erkennt demzufolge eine Berechtigung, einen Antagonismus zwischen Weil- und Wasserspirochäten anzunehmen, nicht an. Sie verweist darauf, daß pathogene, infektiöse Weilspirochäten besonders häufig in bakterienreichem, organisch verunreinigten Wasser vorhanden sind, und daß erfahrungsgemäß die meisten Weilinfectionen in derartigem Wasser erfolgen.

„Auch hat das Verhalten der Spirochäten sowohl in Reinkultur wie in der freien Natur gezeigt, daß sowohl in bezug auf den Stoffwechsel wie gegenüber der elektrischen Ladung sich *Spirichaeta icterogenes* und *Spirochaeta pseudoicterogenes* durchaus gleichartig verhält.“

UHLENHUTH und ZUELZER haben als erste eine kräftige Stütze für die These der Einheitlichkeit aller Spirochäten vom Icterogenestyp beigebracht. Sie konnten nachweisen, daß frisch aus dem Wasser gezüchtete Spirochäten völlig spezifische Antikörper lieferten. Wurde der gleiche Stamm systematisch an Kaninchenserum gewöhnt, dann entstanden Varianten, die sich von der Weilspirochäte nicht mehr serologisch und immunbiologisch unterscheiden ließen. M. ZUELZER gelang es weiter, auf dem gleichen Wege einen Wasserstamm pathogen zu machen und im Meerschweinchenversuch mit ihm noch nach 70 Kulturpassagen das typische Bild der WEILSchen Krankheit hervorzurufen. Immuneserum, das mit Hilfe dieser umgewandelten Weilspirochäte gewonnen war, schützte Meerschweinchen gegen die echten Spirochäten und umgekehrt (UHLENHUTH und ZUELZER), während das Serum von Wasserspirochäten, die keinen serologischen Zusammenhang mit der Weilspirochäte aufwiesen, versagte. In Fortsetzung dieser Studien über das Umwandlungsproblem züchteten UHLENHUTH und GROSSMANN einen seit mehreren Jahren in Kaninchenserumwasserkultur weiter geimpften Wasserstamm in normalem Rattenserum fort und nahmen nach drei Passagen eine intraperitoneale Verimpfung auf Meer-

schweinechen vor. Beide geimpften Tiere starben mit typischen Weilbefund. In Gemeinschaft mit ERIKA HERRMANN führte UHLENHUTH einige Zeit später erneut den Nachweis, daß die Wasserspirochäte „Erlangen“ im Körper der Ratte und auch ohne Zwischenwirt in einen hoch pathogenen Parasiten unter Änderung seiner biologischen Eigenschaften umgewandelt werden konnte, der im Schutzversuch den echten Weilsprochäten glich. Da diese Umwandlung selbst unter gleichen Bedingungen der Kultur und des Tierversuchs nicht reproduzierbar war, nimmt UHLENHUTH Faktoren unbekannter Art an und rechnet damit, daß die Vorgänge in der Natur sich noch unter wesentlich komplizierteren Verhältnissen (besonders örtlicher und klimatischer Einflüsse) abspielen.

Den umgekehrten Weg hat SARDJITO (1932) eingeschlagen, indem er einen menschenpathogenen Rattenstamm in einer ihm zusagenden Wasserprobe 5 Monate lang alle 2—3 Wochen überimpfte und alsdann seine antigenen Eigenschaften mit dem Ausgangsstamm verglich. Jetzt beeinflusste das Antiserum des Ausgangsstammes den umgezüchteten Stamm nicht mehr und dessen Antiserum agglutinierte den Ausgangsstamm nur noch sehr schwach. Der Autor glaubt schließen zu dürfen, daß pathogene Spirochäten in der Natur allmählich zu Wasserspirochäten werden, unter bestimmten Verhältnissen aber auch Wasserspirochäten pathogene Eigenschaften erwerben.

Die Annahme, daß sich die Weilsprochäte auf dem Weg der Variabilität aus einer Wasserspirochäte entwickelt hat (UHLENHUTH und HERRMANN), hat eine sehr geteilte Aufnahme gefunden. BAERMANN und ZUELZER, die in ihren sehr umfangreichen Versuchsreihen alle irgendwie verfügbaren Methoden zur Virulenzsteigerung primärer Wasserspirochäten angewandt haben, wollen sämtliche bisher bekannten, aus den verschiedensten Weltgegenden und Gewässern stammenden Wasserspirochäten vom Typus icterogenes virulent gemacht haben und setzen sich für die biologische Einheitlichkeit aller Stämme, die durch Übergangsformen mit einander in Verbindung stehen sollen, ein. Anderen Autoren ist demgegenüber eine Umwandlung niemals gelungen, KIRSCHNER (1931/32), der auf Java unter fast gleichen klimatischen Verhältnissen wie BAERMANN und ZUELZER auf Sumatra arbeitete, konnte trotz Anwendung der gleichen Technik, der gleichen Wasserstämme und der gleichen Meerschweinchenrasse nicht ein einziges positives Resultat verzeichnen. Ebenso wenig Erfolg hatten Versuche von DINGER und VERTSCHAFFELT (1930, 1932), von VAN THIEL (1932/33) und v. VAGEDES (1934). SCHÜFFNER (1934) erkennt zwar bei den Wasserspirochäten eine Spaltung in zahlreiche serologische Varietäten an, schreibt ihnen aber als Art eine hohe Festigkeit ihrer charakteristischen Eigenschaften, insbesondere ihrer antigenen Struktur zu. Diese gegensätzlichen Anschauungen erstrecken sich in gleichem Maße auf die Frage der Einheitlichkeit aller pathogenen Weilsprochäten untereinander. Wieder sind es BAERMANN und ZUELZER sowie M. ZUELZER, die an Stelle der von SCHÜFFNER, KAGAYA u. a. vertretenen Meinung, daß jede Spirochäte eine Art *sui generis* darstelle, die Auffassung der biologischen Einheit setzen. Sie verlegen dabei den Kernpunkt ihrer Beweisführung mehr in die Klinik und Epidemiologie als in den Ausfall der an sich spezifischen Agglutination. Da die letztere sich als abhängig von der jeweiligen, ganz verschiedenen Agglutinationsfähigkeit der einzelnen Stämme erwies, lehnt es ZUELZER (1936) ab, aus einem negativen Agglutinationsausfall Schlüsse auf einen qualitativen Unterschied dieser Stämme gegenüber agglutinierenden Stämmen hinsichtlich ihrer antigenen Eigenschaften zu ziehen, und denkt eher

an die Möglichkeit quantitativer Differenzen. Zur Begründung dieses Standpunktes (der von dem Berichterstatter geteilt wird) hat ZUELZER auf eigene große Reihenuntersuchungen verwiesen, in denen mit Seren von sicheren Weilsprochäten die Existenz von sowohl mit Weil- als mit Hebdomadissen reagierenden Stämmen festgestellt werden konnte. ZUELZER hält mit Recht solche Übergangsformen für ungemein wertvoll. Ihr Vorkommen dürfte als einwandfrei erwiesen gelten und liefert die Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse anderer Autoren. KANEKO (1935) konnte mittels intratestikulärer Impfung eine beachtliche Virulenzsteigerung der *Spirochaeta autumnalis* erzielen und sie nach 6 Tierpassagen bis zu einer gewissen Konzentration für Weils Serum agglutinierbar machen. PETTIT (1928) verfügt über einen aus Kloakenwasser isolierten jahrelang in Kultur gehaltenen Stamm, der im Verlauf immer erneuter Aussaaten die Eigenschaft erworben hatte, mit Seren von Weilsrekonvaleszenzen positiv zu reagieren. BESSEMANS, THIERY und TIELLIU (1933) fanden bei Weilsinfizierten Meerschweinchen die Lyse gegen Wassersprochäten stets negativ, beobachteten aber in 7 Fällen (von 24) eine Agglutination bis zu einem Titer von 1:5000. In den diagnostischen Versuchen VAUCELS (1936/37) zeigte die *Spirochaeta hebdomadis* nur eine Mitagglutination bis zu ganz geringen Titern; auch nach SCHLOSSBERGER gelingt eine klare serologische Abgrenzung. Die Tatsache, daß es schwer agglutinable Stämme sowohl bei *Spirochaeta hebdomadis* (KAGAYA) wie bei *Spirochaeta icterogenes* (VAUCEL, KITAOKA) gibt, zwingt jedoch zu einer zurückhaltenden Beurteilung derartiger Einzelergebnisse. Selbst das Auftreten von Agglutininen im Serum der Kranken, die gegen die eigenen oder typengleichen Sprochäten gerichtet sind, scheint kein gesetzmäßiges Ereignis zu sein. So erwähnen VAUCEL und SOULLIER (1937) als Eigentümlichkeit eines von ihnen gezüchteten Sprochätenstammes, der als Erreger einer Endemie in Mitteltonking ermittelt war und bei Meerschweinchen die charakteristischen Veränderungen der Weilschen Krankheit erzeugte, daß er von keinem einzigen Krankenserum agglutiniert wurde. Bei einem von MURGATROYD (1936) beschriebenen Fall, der durch Nachweis von Weilsprochäten im Urin gesichert war, konnten mit 16 verschiedenen Sprochätenstämmen weder im Blutserum noch im Liquor Agglutinine nachgewiesen werden. Die von VAUCEL und SOULLIER mit 10 verschiedenen Stämmen angestellten Serumreaktionen ergaben bei 195 verdächtigen Kranken 42mal positive Resultate mit *Spirochaeta icterogenes*, 4mal solche mit *Spirochaeta autumnalis* und 2mal mit einer anderen Sprochäte. Serologische Beziehungen zwischen *Spirochaeta autumnalis* Typ A und *Spirochaeta hebdomadis* sind bereits 1928 von STÉFANOPOULO und HOSOYA festgestellt worden. Nach zahlreichen Überimpfungen auf Kaninchenserumnährböden wurde der Stamm der *Spirochaeta autumnalis* A mehr und mehr durch die Seren von Weilskranken beeinflußt. Die dabei festgestellten quantitativen Differenzen waren auch im Schutzversuch nachweisbar. Das Serum von Weilskranken schützte Meerschweinchen zwar nicht gegen die nachfolgende Infektion mit *Spirochaeta autumnalis*, verzögerte aber den Tod um einige Tage. Versuche zur kreuzweisen Immunisierung sind auch von YANG und THEILER (1930) sowie von SMITH (1937) ausgeführt worden. Meerschweinchen, die aktiv gegen den Bostoner Stamm von *Spirochaeta icterogenes* immunisiert waren, zeigten sich auch gegen des Typus A des Akiyami-Stammes unempfindlich; die umgekehrte Versuchsanordnung brachte die entsprechenden Ergebnisse.

Während die Immunisierungsversuche SHIOZAWAS (1928) der *Spirochaeta hebdomadis* eine immunbiologisch selbständige Stellung zuweisen, die Agglutinationsversuche SCHLOSSBERGERS (1937) bestätigten, gelang es SMITH, durch Impfungen sowohl mit *Spirochaeta hebdomadis* wie mit *Spirochaeta canicola* die meisten Tiere in gleicher Weise vor der WEILSchen Krankheit zu schützen wie mit der *Spirochaeta icterogenes* selbst.

Genau entgegengesetzte Schlüsse glaubt KORTHOFF (1932) aus seinen serologischen Befunden ziehen zu können. Bei 9 experimentell mit einem Moskauer Schlammfieberstamm infizierten Paralytikern traten niemals Agglutinine oder Lysine für Weilsprochäten auf, dagegen ließ sich stets ein hoher Titer (bis 1:64000) für Schlammfieberleptospiren nachweisen. WEILSche Krankheit und Schlammfieber, so folgert KORTHOFF, sind demnach verschiedene Erkrankungen.

KANEKO (1935) läßt nach dem Ausfall einschlägiger Versuche die Möglichkeit offen, daß zwischen der *Spir. icterogenes*, der *Spir. autumnalis* und der *Spir. hebdomadis* ab und zu in der Natur Übergangsformen auftreten, und rechnet damit, daß der Charakter der *Spir. autumnalis* durch Tierpassagen in den der Weilsprochäte übergehen kann.

Die Meerschweinchenpathogenität ist freilich, wie zahlreiche Beobachtungen lehren, kein sicheres Kriterium für die Unterscheidung morphologisch gleicher Spirochätenarten. Bereits die Erfahrung, daß in Niederländisch-Indien die Krankheitsdauer beim weilsinfizierten Meerschweinchen kürzer ist als in Europa (DINGER), gibt einen Hinweis auf die Kompliziertheit der hier vorliegenden Bedingungen. WALCH und WALCH-SORGDRAGER (1927) fanden von 17 aus Rattenurin isolierten Stämmen nur 6 im Meerschweinchenversuch pathogen, konnten aber durch intraperitoneale oder intrahepatische Passagen die Virulenz erhöhen. Der Ikterus der zugrunde gegangenen Tiere trat in späteren Passagen gegenüber den Blutungen zurück. Andererseits ist auch von einem Virulenzverlust ursprünglich pathogener Stämme berichtet worden. Ein von MURGATROYD (1937) aus dem Harn eines Weilkranken gezüchteter Stamm verlor in der 6. Meerschweinchenpassage seine Pathogenität. JACOBSTHAL hat 1927 über ein ähnliches Vorkommen berichtet; hier wurde der Stamm nach Abbrechen der Tierpassagen plötzlich avirulent und blieb es. Analoge Beobachtungen haben BUCHANAN (1927) sowie ALSTON und BROWN (1937) mitgeteilt. Gewiß waren die von TARASSOFF und später von RIMPAU identifizierten Stämme vom Typus der *Spir. grippo-typhosa* zunächst für Meerschweinchen apathogen; das allein begründet aber noch keineswegs die Forderung, diese Spirochäte als besondere „Art“ anzusprechen. Dafür sind letztes Endes die epidemiologischen Beziehungen und die Gesamtheit jener Erkenntnisse maßgebend, die RIMPAU, SCHLOSSBERGER und KATHE (1938) zur Anerkennung des Schlammfiebers als einer eigenen Krankheit mit eigener Epidemiologie und eigener Spirochätenart geführt haben.

Im Lichte der bisher angeführten, vielfach widerspruchsvollen Untersuchungsergebnisse müssen sich Zweifel darüber aufdrängen, ob die Agglutination bzw. der Schutzversuch wirklich als unbedingt zuverlässige Trennungs- und Einteilungsmethoden anzusehen sind. Die Schwierigkeiten bei der Interpretierung serologischer Ergebnisse haben neuerdings auch UHLENHUTH (1937) zu einer sehr zurückhaltenden Stellungnahme Veranlassung gegeben. Nachdem ihm bereits 1925 mit GROSSMANN der Nachweis gelungen war, daß ebenso wie unter „Wasser-Weil-Stämmen“ auch unter „echten“, für Meerschweinchen hoch pathogenen Weilsprochäten biologische Unterschiede vorkommen können, präzisiert er seinen Standpunkt zur Typenfrage der *Spirochaeta icterogenes* und pseudoicterogenes nunmehr dahin, daß die europäischen Stämme der *Spir. icterogenes* im allgemeinen den gleichen Charakter zeigen. Die geringfügigen serologischen Abweichungen, wie sie bei Anwendung der Agglutination (Lysis),

des „Wachstumsverfahrens“ usw. beobachtet worden sind, erscheinen ihm zur Unterscheidung besonderer Typen mit vom klassischen Weilstamm völlig abweichenden Antigengehalt nicht ausreichend. Eine Sonderstellung als Typ — und zwar auch in klinischer und epidemiologischer Hinsicht — erkennt UHLENHUTH in Europa nur für den Erreger des Schlammfiebers und die *Spirochaeta canicola* an; die freilebenden Wasserspirochäten sollen demgegenüber durch eine so außerordentlich große Verschiedenheit ihrer antigenen Struktur ausgezeichnet sein, daß serologisch gleichartige Typen bisher nicht auffindbar waren.

Anhangsweise mag die auf einer völlig anderen Ebene liegende Ansicht von SANARELLI und PERGHER (1929 und 1936) über die Pathogenese des Morbus Weil kurz gestreift werden. Nach den genannten Autoren können sich Spirochäten vom Ikterogenes- und Autumnalstyp beim Meerschweinchen lange Zeit vermehren, ohne daß der Gesundheitszustand der Tiere nennenswert beeinträchtigt wird. Sie sehen in der Spirochäte lediglich den Wegbereiter für die Mobilisierung gewisser, normalerweise saprophytisch im Organismus vegetierender Keime („Microbes de sortie“), aber nicht die eigentliche Krankheitsursache. Für SANARELLI ist die WEILsche Krankheit ein allergischer Shock, der sich auf dem Boden eines durch die Spirochäteninfektion sensibilisierten Organismus infolge einer bacillären Zweitinfektion entwickelt.

In den Auseinandersetzungen der letzten Jahre nimmt die Frage nach der Stellung der *Spirochaeta canicola* einen breiten Raum ein. Da ihr Angelpunkt nicht so sehr auf serologischem und immunbiologischen, als vielmehr auf epidemiologischem Gebiet liegt, dürfen die von SCHLOSSBERGER (1936/37/38) und seinen Mitarbeitern gewonnenen Ergebnisse, so wertvoll sie — vom Laboratorium aus gesehen — im einzelnen auch sein mögen, nicht überschätzt werden. Schon in früheren Untersuchungen war SCHLOSSBERGER — in Übereinstimmung mit BAERMANN und ZUELZER — die Feststellung gelungen, daß die einzelnen von Weil-kranken Menschen und von Ratten isolierten Spirochätenstämme in serologischer Hinsicht Unterschiede aufweisen können, daß aber zwischen diesen serologischen Gruppen keine scharfen Grenzen, sondern fließende Übergänge bestehen. Die geprüften Stämme wurden durch die Sera von Weilkranken und durch monovalente Antisera verschieden stark beeinflusst, verhielten sich also in antigener Hinsicht nicht gleichartig. Der Antigenapparat der einzelnen Stämme glich vielmehr einem „Mosaik aus Partialantigenen“, das unterschiedlich auf die Stämme verteilt war. So ließ z. B. der Stamm Moskau V der Spir. grippotyphosa eine gewisse Rezeptorengemeinschaft mit einzelnen Weilstämmen erkennen, die ihn als immunbiologische Variante der Spir. icterogenes kennzeichnete. Bei der Untersuchung von Patientenseren auf ihren Gehalt an spezifischen Antikörpern reagierte zwar die Mehrzahl der positiven Sera mit verschiedenen Stämmen der Weilstammspirochäte; es kamen aber gelegentlich Sera zur Prüfung, welche nur mit wenigen Stämmen, mitunter nur mit einem, ein positives Ergebnis lieferten. Diese Erfahrung hat SCHLOSSBERGER in die Forderung ausklingen lassen, zur Diagnose stets eine größere Anzahl serologisch differenter Weilstämme zu verwenden; nur so sind einwandfreie Resultate zu erhalten.

Bei der Ausdehnung dieser Untersuchungen über die WEILsche Krankheit auf die als Stuttgarter Hundeseuche (Maladie de Stuttgart, Typhus des chiens) bezeichnete Gastroenteritis haemorrhagica infectiosa canum stellte sich heraus, daß in den Seren von etwa 100 an Stuttgarter Hundeseuche erkrankten Tiere

ausnahmslos erhebliche Mengen von Antikörpern auch gegen die *Spir. icterogenes* vorhanden waren. Einige Male ließen sich Stämme aus den Organen durch Meerschweinchenpassage reinzüchten, die auf Grund ihrer agglutinogenen Eigenschaft eine Mittelstellung zwischen den von SCHÜFFNER als klassische *Weilspirochaeta* und als *Spirochaeta canicola* bezeichneten Formen einnahmen. Durch Verwendung hochwertiger monovalenter Immunsereen konnten ferner bei den von Weil-Patienten, von Ratten und von kranken Hunden gewonnenen Spirochätenstämmen serologische Unterschiede nachgewiesen werden, die fließende Übergänge bildeten. SCHLOSSBERGER hält es nach diesen Befunden für „durchaus denkbar, daß einzelne Teilantigene vorzugsweise, vielleicht sogar ausschließlich, bei manchen Hundestämmen, andere Faktoren hauptsächlich oder lediglich bei gewissen, von Ratten oder Menschen isolierten Stämmen vorkommen, daß aber wieder andere Komponenten eine weitere Verbreitung bei den Leptospiren der verschiedenen Gruppen aufweisen“. Erst eine Klärung dieser zweifellos sehr komplizierten Verhältnisse kann nach SCHLOSSBERGER die Grundlage für eine Unterscheidung verschiedener Leptospirenarten bilden.

Auch nach den Erfahrungen, die KANTOROWICZ (1935) und DÜRING (1937) bei der Diagnose und der Therapie der Stuttgarter Hundeseuche gemacht haben — vielfach lebensrettende Wirkung bei Anwendung von polyvalenten Immunsereen typischer Weilstämme — besteht eine enge Verwandtschaft der beiden Erreger. In dem gleichen Sinne läßt sich auch eine von SCHÜFFNER (1935) selbst (SCHÜFFNER, KOTTER und SCHULTZ) mitgeteilte Beobachtung auswerten, wo das Serum eines Weilkranken die *Spir. canicola* vorübergehend stärker agglutinierte als die *Spir. icterogenes*.

Diese Resultate lassen zwar den Schluß zu, daß ein enges Verwandtschaftsverhältnis zwischen der *Spir. icterogenes* und der *Spir. canicola* besteht, sprechen aber — für sich allein gesehen — noch nicht für eine Sonderstellung der *Canicola*. Die zweifellos vorhandenen sehr beträchtlichen quantitativen Unterschiede in der Höhe des Agglutinationstiters rechtfertigen wohl die Auffassung der *Canicola* als besonderen „Typ“, lassen aber die Anwendung des „Art“-begriffs solange nicht zu, bis eine Einigung darüber erzielt ist, was man als wirklich spezifische, was als unspezifische Reaktion (Mitagglutination) ansehen soll. Nach den Feststellungen von WALCH-SORGDRAGER und SCHÜFFNER (1938) nimmt das Serum, das von einem *Canicola*-Fall stammt, den klassischen Stamm mit, das von einem klassischen Stamm herrührende die *Canicola*, wobei die Werte der Mitagglutination um das 10—100fache unter der artspezifischen liegen. Ähnliche Befunde sind von SCHLOSSBERGER selbst erhoben worden, auch KAUFMANN (Hamburg) weiß derartiges zu berichten. Es muß hinzugefügt werden, daß die holländischen Forscher (VAN THIEL, KORTHOFF, BYL, VAN DER HOEDEN, SCHÜFFNER und WALCH-SORGDRAGER, KLARENBEEK) in nahezu 10jähriger Fahndungsarbeit immer nur den klassischen Stamm, gleichgültig, ob er vom Menschen, von der Ratte oder vom Hunde stammte, gefunden haben. Erst im Jahre 1932 ist es KLARENBEEK und SCHÜFFNER geglückt, aus dem Urin eines kranken Hundes einen serologisch stark abweichenden Stamm zu züchten, der sich auch beim Kreuzversuch nicht vollkommen mit dem klassischen deckte. Obwohl Absorptionsversuche zur Differenzierung herangezogen wurden und der Selbständigkeit der *Spir. canicola* eine weitere Stütze gaben, hat doch erst die Epidemiologie SCHÜFFNER und seine Mitarbeiter dazu bestimmt, der *Canicola* einen selbständigen Platz einzuräumen. Beim „*Canicolafieber*“ muß, wie SCHÜFFNER mit Recht hervorhebt, die Quelle der Infektion beim Hunde gesucht werden, beim

klassischen Weil ist dagegen nach denjenigen Infektionsquellen Ausschau zu halten, die mittelbar oder unmittelbar mit infizierten Ratten zusammenhängen. Diese Beziehungen machen es — weit mehr als die serologischen Unterschiede — notwendig, den Standpunkt SCHÜFFNERS anzuerkennen und der *Spir. canicola* die heiß umstrittene Sonderstellung zuzubilligen. Dabei ist es für die Epidemiologie unwesentlich und höchstens von formaler Bedeutung, ob man den Begriff der Sonderstellung im Sinne der Art oder im Sinne des Typs fassen soll.

Versucht man die fast verwirrende Fülle des Materials kritisch zu sichten und praktisch auszuwerten, dann ergibt sich bei Anerkennung verschiedener Typen im Rahmen der Leptospirengruppe für die Epidemiologie die Schlußfolgerung, daß die Verbreitung der Spirochäten vom Icterogenestyp — mindestens stellenweise — nicht sehr weit von Ubiquität entfernt ist. Mit einer Ansteckungsmöglichkeit ist daher in erheblich höherem Maße zu rechnen als bei den meisten anderen Infektionskrankheiten. Wenn die praktische Erfahrung diese theoretische Konstruktion Lügen straft, dann können die Voraussetzungen für die Gewinnung von Erregereigenschaften bei den Wasserspirochäten und die Bedingungen für ihr Haften im menschlichen Organismus nur verhältnismäßig selten verwirklicht sein.

III. Die örtliche Gebundenheit der WEILSchen Krankheit und die jahreszeitliche Verteilung der Krankheitsfälle.

Die Kenntnis von der örtlichen Gebundenheit der WEILSchen Krankheit und von dem streng lokalen Charakter der Infektionsquelle findet schon in der älteren Literatur klaren Ausdruck. Nahezu regelmäßig ist von dem Wasser- und Sumpfreichtum der betreffenden Gegend die Rede; recht häufig wird die Berührung mit verunreinigtem Wasser, insbesondere das Baden in verschmutzten Flüssen oder stagnierenden Gewässern, als auslösendes Moment ins Feld geführt und hinzugefügt, daß nach Erlaß von Badeverboten oder nach Ausbau der Kanalisation die Erkrankungen aufhörten (H. J. W. SCHMIDT, KÖRNER, WELEMINSKY). Im Weltkrieg war der Morbus Weil in ganz bestimmten Frontabschnitten, die durch Wasserläufe und sumpfiges Gelände auffielen, heimisch, auf deutscher Seite insbesondere in der Aisne-Niederung und im Maastal in Nordfrankreich (UHLENHUTH und FROMME, HÜBNER und REITER), auf französischer bevorzugt in Flandern, bei Amiens, am Damenweg und bei Verdun (PETIT). Wie UHLENHUTH ausgeführt hat, „wurde die Krankheit fast ausschließlich in den vordersten Stellungen, in feuchten Schützengräben, Unterständen und sonstigen Unterkünften beobachtet, zumal wenn die Truppen im Stellungskrieg schon lange den gleichen Standort innegehabt hatten.“ REITERS Kriegserfahrungen bringen das Auftreten der WEILSchen Krankheit mit Schanzarbeiten in feuchter Erde in Zusammenhang. Sehr bemerkenswert erschien damals das ganz zerstreute Auftreten der Erkrankungen. Die UHLENHUTH und FROMME bekannt gewordenen 71 Fälle verteilten sich auf 41 Formationen und ließen nicht die leisesten Beziehungen zueinander erkennen, trotzdem es gerade unter den Feldverhältnissen an Infektionsgelegenheit gewiß nicht fehlte. TARASSOFF (1934) erinnert in einem Übersichtsreferat über den infektiösen Ikterus in der Sowjetunion an die nur in Regenzeiten aufgetretenen Weil-epidemien, die 1916 bei den russischen Truppen in Galizien herrschten, und berichtet bei der gleichen Gelegenheit von einer Epidemie, die 1928 in der Nähe

von Odessa unter denjenigen Soldaten der roten Armee aufgetreten war, die im Bug gebadet und brackiges Wasser getrunken hatten. In all diesen Schilderungen kehrt die Angabe wieder, daß die WEILSche Erkrankung mit besonderer Zähigkeit an Gegenden haftet, die durch Sumpf- und Wasserreichtum ausgezeichnet sind. Auch in Holland sind es die wasserreichen Provinzen Holland und Utrecht, in denen die Krankheit bevorzugt registriert wird (SCHÜFFNER, BIJL und KORT-HOF). FORLEO sowie ROMITI und SESTINI haben 1934 auf das Vorkommen zahlreicher epidemischer Fieberformen bei den Arbeitern in den Sümpfen von Fucecchio aufmerksam gemacht und in einer Reihe von Fällen die *Spirochaeta icterogenes* isoliert. Auch bei zwei von MIYARA, MARTINEZ-LEANES und FUNES (1936) geschilderten sporadischen Fällen (Argentinien) findet die sumpfige Beschaffenheit der Wohngegend besondere Erwähnung.

BAERMANN und SMITS sowie M. ZUELZER (Sumatra) betonen den stets vorhandenen Zusammenhang mit Wasser und Schlamm und schieben dem langen und innigen Kontakt, vor allem bestimmten Arbeitsleistungen, die langdauernden Aufenthalt in stehendem Wasser erforderlich machen, besondere Bedeutung zu. Dem reihen sich die Beobachtungen, die TAYLOR und GOYLE (1931) auf der Inselgruppe der Andamanen im bengalischen Meerbusen in Gebieten mit nassem Reisbau, Dschungelrodung und Sumpfgelände gemacht haben, an. Die 64 durch Laboratoriumsmethoden gesicherten Fälle WEILScher Krankheit betrafen in der überwiegenden Mehrzahl Wald- und andere landwirtschaftliche Arbeiter, die in engen Kontakt mit feuchtem und sumpfigen Boden gekommen waren. TOHYAMA (1927) fiel in Japan die Lokalisation der Krankheit in Gegenden mit Reiskulturen und im sumpfigen Tiefland auf; auch der von DREW (1934) stammende Bericht aus Queensland verlegt die meisten Krankheitsfälle auf tiefliegende, an Flußläufen befindliche Farmen. Regenperioden ließen die Frequenz der Kranken in die Höhe steigen, während dauernd trockenes Wetter sie dem Nullpunkt nahe rückte.

Der Ausbruch der von TARASSOFF (1934) beschriebenen weilähnlichen Wasser-epidemien in verschiedenen Gegenden Rußlands war stets an sumpfiges feuchtes Prairieland und an die Zeit der Heuernte gebunden, wie auch das Schlammfieber in Schlesien jedesmal im Gefolge von Überschwemmungen auftrat und zum mindesten eine starke Durchnässung des Bodens zur Voraussetzung hatte (KATHE 1928 und 1938). RIMPAU (1937) konnte bei dem Versuch, die Epidemiologie des Erntefiebers im bayrischen Donaugebiet aufzuklären, zwar weder Überschwemmungen noch eine feuchte Beschaffenheit des Bodens ermitteln, wohl aber ergab die Besichtigung der verseuchten Felder stets die für das Gedeihen der Spirochäten notwendige Feuchtigkeit. Diese Bedingungen sind auch bei den Weilerkrankungen verwirklicht gewesen, die in japanischen, schottischen und französischen Kohlengruben aufgetreten sind. Die entsprechenden Berichte für Japan stammen von MIYAJIMA (1916), TOHYAMA (1927) und TSURUMI (1934), für Schottland von BUCHANAN (1924 und 1927), GULLAND, LOVELL und BUCHANAN (1924), für Frankreich von JANBON, ERBER, SOLLIER und QUET (1937). Auch in einem Bergwerk des Saargebietes ist 1934 — erstmalig in Deutschland — eine Weilendemie beobachtet worden (UHLENHUTH).

Über die jahreszeitlichen Bedingungen, an die das Auftreten der WEILSchen Krankheit gebunden ist, geben die vorliegenden Mitteilungen weniger eindeutige Auskunft. HECKER und OTTO haben die bis zum Jahre 1911 bekannten Tat-

sachen dahin zusammengefaßt, daß die WEILSche Krankheit fast ausschließlich in der heißen Jahreszeit auftritt, wenn die Epidemien auch nicht immer im heißesten Monat selbst, sondern häufig in dem darauf folgenden einsetzen. Vielfach seien stärkere Niederschläge dem Ausbruch einer Epidemie vorangegangen oder hätten sie begleitet.

Die kurzfristigen Spirochätenfieber Sumatras (abortive Formen der WEILSchen Krankheit) lassen naturgemäß diese Abhängigkeit nicht erkennen, da dort die Außentemperatur immer hoch ist. Immerhin sahen BAERMANN und SMITS (1928) nach längeren Trockenperioden die Erkrankungsziffer sinken.

Ebenso werten TAYLOR und GOYLE (1931) eine Zusammenstellung sämtlicher auf der Inselgruppe der Andamanen beobachteten Weilfälle dahin aus, daß die Erkrankungsziffer in den Monaten Juni bis Oktober, also während des regnerischen Monsuns, ihren Höhepunkt erreicht und in den trockenen Monaten stark fällt.

Aus einem von JITTA (1933) verfaßten Bericht über eine Epidemie von 184 Erkrankungen in den Niederlanden (1932) ist zu entnehmen, daß die ersten Fälle im Juni auftraten, während der Sommermonate zahlreicher wurden und im September die Zahl von 30—40 wöchentlich erreichten. Von den innerhalb von 7 Jahren in Rotterdam gemeldeten 40 Fällen kamen 22 allein auf die Zeit zwischen dem 21. Juli und dem 2. September 1932 (KRAMER), 47 in den Jahren 1924—1928 im Amsterdamer Institut für Tropenhygiene von SCHÜFFNER untersuchte Fälle ließen eine deutliche Belastung des Spätsommers mit einer besonderen Steigerung im September erkennen. Auch die von PETZETAKIS (1932) und LORANDO (1932) untersuchte, zunächst irrtümlich als Dengue angesprochene (COPANARIS) Weilepidemie auf der Insel Syra im Ägäischen Meer begann im August und erlosch im September (1931). Bei zwei von CUMPSTON (1935) erwähnten Weilepidemien in Nord-Queensland (Australien), die 40 bzw. 130 Erkrankungen umfassen, dauerte die eine von Juli bis November, die andere von Juli bis August.

UHLENHUTH und FROMME fanden zwar die warme Jahreszeit bevorzugt, stellten aber schon bei ihren ersten Untersuchungen fest, daß auch die Wintermonate keineswegs frei von Erkrankungen blieben. Nach SCHÜFFNERs (1934) Erfahrungen erfolgte eine epidemische Ausbreitung von Juli bis Oktober, doch erwiesen sich die sporadischen Fälle als unabhängig von der Jahreszeit. KLOSE (1917) sah Krankheitsfälle, die mit einer Außentemperatur von minus 18° zusammentrafen. Derartige Beobachtungen stehen nicht vereinzelt da (SICK, HAUCK, HARZER, BUTTERSACK, L. R. MÜLLER). NOWOCHATNY (1929) hat aus der Zeit von 1920—1927 1274 Fälle (Dmitrowscher Bezirk des Moskauer Gouvernements) zusammengestellt, von denen 10,7% in den Frühling, 11,8% in den Sommer, 48,2% in den Herbst und 29,3% in den Winter fielen. Mehr als die Hälfte der von HEGLER in den Jahren 1932/33 in Hamburg beobachteten 45 Erkrankungen traf auf die Monate August und September. In den Jahren 1934/35 häuften sich aber bei HEGLER gerade die schweren Fälle von Oktober bis Dezember.

Im allgemeinen bestätigt sich so die Gebundenheit der WEILSchen Krankheit, soweit sie epidemisch oder endemisch auftritt, an die warme Jahreszeit. Die Tatsache, daß auch im Winter Epidemien beobachtet worden sind, läßt aber gewisse Rückschlüsse auf den verschiedenen Infektionsmodus und die keineswegs einheitlichen Ansteckungsquellen zu.

IV. Die geographische Verbreitung der WEILSchen Krankheit.

Daß die WEILSche Krankheit ein Kosmopolit ist, geht schon aus einer Zusammenstellung von DOERR und RUSS aus dem Jahre 1914 hervor. Von europäischen Ländern sind vertreten Deutschland (einschließlich Österreich), Frankreich, Belgien, Holland, Ungarn, Italien, Spanien, Polen, Rußland, England, Schweden sowie die Inseln Lissa, Minorka und Malta und die Mittelmeerküsten. Aus den übrigen Erdteilen (mit Ausnahme des nicht erwähnten Australien) werden bestimmte Länder und Gegenden genannt, so für Afrika Ägypten, für Asien Smyrna und Indien und für Amerika Washington, Yorktown, Chikahonwing-River, Ostinie, Tennessee und Martinique. Die nicht selten vorgekommene Verwechslung mit Gelbfieber, gelegentlich auch mit Schwarzwasserfieber (GRAF) läßt keinen Zweifel, daß die Liste lückenhaft ist, sei es, daß die WEILSche Krankheit für Gelbfieber (oder Ikterus anderer Ätiologie) gehalten wurde, sei es, daß Gelbfieberfälle dem Morbus Weil zugerechnet wurden.

Nach dem heutigen Stand des Wissens, das die Kenntnis des Vorkommens sporadischer Fälle einschließt, muß damit gerechnet werden, daß die WEILSche Krankheit in den gemäßigten und warmen Zonen *aller* Erdteile auftritt und daß man sie findet, wenn man nur danach sucht. In Deutschland haben sich vor allem UHLENHUTH und seine Mitarbeiter um die Aufklärung der Epidemiologie verdient gemacht. Ihren Bemühungen dürfte es zuzuschreiben sein, daß sich neuerdings die Gesundheitsbehörde der WEILSchen Krankheit in stärkerem Maße annimmt und 1935 ein für Ärzte bestimmtes Merkblatt (Ratschläge für Ärzte bei WEILScher Krankheit) herausgegeben hat. Da die Meldepflicht aber erst mit Wirkung vom 1. Januar 1939 eingeführt ist, müssen die in den letzten Jahren mitgeteilten, durch Laboratoriumsuntersuchungen gesicherten Fälle aus Köln (BERGWALL), Frankfurt (STRASSBURGER und THILL, HOESCH), Düsseldorf (HOESCH), Freiburg (UHLENHUTH, UHLENHUTH und ZIMMERMANN, KRAUSE und WILKEN), Wien (LAINER) und anderen Städten und Gegenden als Einzelereignisse eines sehr viel umfassenderen epidemiologischen Geschehens gewertet werden. Eine Ausnahmestellung nehmen nur die von KISTER (1933), GAEHTGENS (1934) und HEGLER (1936) aus Hamburg beschriebenen Fälle ein. Wenn dort in der Zeit von 1926—1935 109 Weilerkrankungen bekannt geworden sind, so erklärt sich diese verhältnismäßig hohe Zahl nicht so sehr aus einer besonders starken Verseuchung dieser Stadt, als vielmehr durch die Einführung der Anzeigepflicht und durch die besondere Sorgfalt, die GAEHTGENS dem Ausbau der Serodiagnostik gewidmet hat.

Die Meldepflicht und die erfolgreichen diagnostischen Bemühungen SCHÜFFNERS haben zweifellos auch mit dazu beigetragen, daß *Holland* in bezug auf die Häufigkeit der WEILSchen Krankheit an der Spitze der europäischen Länder steht. SCHÜFFNER hat durch serologische Untersuchungen eine große Anzahl sporadischer Fälle aufklären können, meint aber, daß nach wie vor die Mehrzahl der Erkrankungen von den Ärzten nicht erkannt wird. 1932 wurden 207, 1933 180 Fälle registriert, in jedem einzelnen Jahr fast ebensoviel wie in den Jahren 1924—1931 zusammen. Einzelberichte sind von mehreren Autoren gegeben worden. So schildert ROMIJN (1932) eine Epidemie von 47 im Sommer und im Herbst 1932 in Dordrecht vorgekommenen Erkrankungen, KRAMER (1933) 73 Rotterdamer Fälle aus dem Sommer 1932, JITTA (1933) mehrere

Epidemien mit im ganzen 184 Erkrankungen, WOLFERT (1936) für den Zeitraum von 1925—1935 205 in Rotterdam aufgetretene Fälle. Insgesamt hat die Zahl der offiziell gemeldeten Fälle bis Ende 1936 756 betragen (ESSEVELD).

Von der eigentlichen Verbreitung der Krankheit in *Frankreich* ist nach ERBER (1934) wegen der Ungenauigkeit der französischen Statistik ein klares Bild nicht zu gewinnen. 2232 in dem Zeitraum von 1923—1932 untersuchte Blutproben lieferten 286mal (23,1%) ein positives Agglutinationsergebnis.

Nachdem die SCHWEIZ bis zum Jahre 1935 so gut wie vollständig von der WEILSchen Krankheit verschont geblieben war, haben GSELL sowie BICKEL, DEMOLE und ARNOLD 1936 einige in Zürich, Aarau und Luzern aufgetretene Fälle mitgeteilt.

In *Italien*, speziell in Rom, soll nach MARCHESI (1935) die WEILSche Krankheit schon in früheren Jahren beobachtet worden sein. CAPELLINI und BERZI (1932) haben zwei Fälle in der Umgebung von Florenz, VANUCCI (1933) zwei schwere tödlich verlaufende Fälle in der Provinz Parma gesehen. Von dem epidemischen Charakter der Krankheit in der Provinz Pistoia hat FORLEO (1934) berichtet.

Aus *Portugal* mag die oft zitierte Schilderung von JORGE (1932) über eine ziemlich bösartige Epidemie in Lissabon (126 Erkrankte) Erwähnung finden. Wenn die Krankheit dort auch an und für sich nicht häufig zu sein scheint, sind doch in den beiden Seestädten Setubal und Cezumba schon 1914 gehäufte Fälle einer als WEILSche Krankheit gedeuteten Infektion vorgekommen. Seit dem Jahre 1929 sind 5 einwandfreie Fälle im Lissaboner Krankenhaus behandelt worden.

Die aus *Griechenland* mitgeteilten Fälle ordnen sich sämtlich in den Rahmen örtlich begrenzter Epidemien auf den Inseln Syra, Kephalaria und Korfu ein (Caminopetros, Copanaris, Petzetakis, Kyriazidis).

In *Großbritannien* sind in den letzten Jahren wiederholt Epidemien von „infektiösem Ikterus“, vor allem in Schulen und Internaten, beobachtet worden. Da der Nachweis von Spirochäten nie gelungen ist und die Verbreitung der Infektion anscheinend durch persönlichen Kontakt geschah, dürfte es sich um Weil-ähnliche Erkrankungen unbekannter Ätiologie gehandelt haben. Die Auffassung MONTFORDS (1934) von der relativen Häufigkeit solcher Epidemien in England — entweder in der schweren Form der WEILSchen Krankheit oder in der mildereren des „epidemischen katarrhalischen Ikterus“ — ist nach der ätiologischen Seite hin zweifellos abwegig. Die Zahl der typisch verlaufenen Weilfälle ist nicht allzu hoch; sie wird von ALSTON und BROWN (1937) für die Zeit von Juli 1933 bis Februar 1937 mit 142 angegeben.

Dabei kann freilich als sicher unterstellt werden, daß unter den Kranken mit der Diagnose „katarrhalischer Ikterus“ oder „Influenza“ besonders in bestimmten Berufsgruppen (Berg-, Kanal-, Fischereiarbeiter) ein erheblicher Prozentsatz echter Weilfälle gewesen ist. Sehr aufschlußreich sind nach dieser Richtung die Befunde von SMITH und DAVIDSON (1936). Die Untersuchung des Blutes von 210 Fischereiarbeitern in Aberdeen auf den Gehalt an spezifischen Lysinen und Agglutininen führte 51mal zum Nachweis von Weil-Antikörpern im Blutserum in einer Verdünnung von 1:30 bis 1:1000 (völlig negative Befunde bei 400 Kontrollpersonen). Nur bei 15 Arbeitern ließ sich anamnestisch eine ikterische Erkrankung ermitteln. Bei 18 Untersuchten war keine der WEILSchen Krankheit ähnliche Infektion in der Vorgeschichte vorhanden, bei 18 weiteren nur eine „grippeähnliche“ Erkrankung. Die von den Autoren angenommene Möglichkeit einer unterschwelligen (stummen) Weilinfection dürfte hiernach kaum zu bestreiten sein.

Die Verbreitung der WEILSchen Krankheit in den nordischen Ländern ist sehr gering. In *Schweden* kam der erste Erkrankungsfall im Jahre 1923 zur Beobachtung (Provinz Schonen). 1933 wurden 6 Fälle sicher diagnostiziert (Olin); insgesamt sind bis 1936 22 Fälle erfaßt worden, davon allein 13 im Jahre 1935 (MALMGREN). In *Norwegen* beläuft sich die Zahl der sicheren Weilfälle bis zum Jahre 1936 auf nicht mehr als fünf (MOTZFELD). *Dänemark* reiht sich mit dem Jahre 1934, wo 14mal die Diagnose gestellt wurde (ZUELZER) ein.

Eine aus der *Tschechoslawakei* (Preßburg) stammende Beobachtung von BÁRDÖS (1936) betont die ungeweine Seltenheit des Ereignisses. Daß diesem Werturteil aber ein Trugschluß zugrunde liegt, lehrt eine Veröffentlichung aus dem Hygienischen Institut der Prager Universität. EHLER (1938) beschreibt hier (ohne Angabe des Ortes) eine Endemie WEILScher Krankheit, die in der Zeit vom März bis Oktober 1937 aufgetreten war und 29 Schulkinder und 2 Erwachsene befallen hatte.

In *Polen* sind nach einer Mitteilung von CHODZKO (1937) seit 1924 15 Weilerkrankungen erkannt worden.

Die zahlreichen aus *Rußland* vorliegenden Meldungen von Epidemien des „infektiösen Ikterus“ lassen mangels ausreichender ätiologischer Unterlagen die Klassifizierung als WEILSche Krankheit nicht ohne weiteres zu. Es muß hier auf den zusammenfassenden Bericht von TARASSOFF (1934), der mit dem Jahre 1883 beginnt und sämtliche im russischen Schrifttum niedergelegten Mitteilungen mit vielen Tausenden von Fällen enthält, verwiesen werden. Da einige Male Weilspirochäten gefunden worden sind, ist die Annahme begründet, daß die Epidemien spezifischer Ätiologie in den Ländern Rußlands keineswegs selten sind.

Auch in den *Vereinigten Staaten von Nordamerika* ist die Frage der ansteckenden Gelbsucht und des Anteils, der dabei der Spirochätose zukommt, noch ungeklärt. Es gibt dort — ähnlich wie in England — einen infektiösen Ikterus, dessen Ursache bisher unbekannt ist. Die Krankheit ist gutartiger als die WEILSche Krankheit und scheint sich durch Kontakt zu verbreiten. Vom Jahre 1886 bis 1920 waren 51 Epidemien zu verzeichnen. Im Staate New York wurden in der Zeit von 1921—1922 700 Fälle gemeldet. Nach Angabe der Fachpresse der Vereinigten Staaten und Kanadas wurden aber bis 1937 nur 13mal die Spirochäten nachgewiesen (TOWLER und WALKER, JEGHERS, MULHOLLAND, BEARDEN und BRAY). Die statistischen Untersuchungen von CUMMING (1934) und die von PACKCHANIAN (1937) sind wegen der Unsicherheit in der Abgrenzung des Begriffs der WEILSchen Krankheit nur mit Vorsicht zu verwerten.

Über das Vorkommen der WEILSchen Krankheit in *Südamerika* existieren nur sehr dürftige Angaben. Der erste in *Argentinien* beobachtete Fall ansteckender Gelbsucht — ohne Spirochätennachweis — ist 1925 in der Provinz Santa Fe festgestellt (CHIODI), zwei weitere 1934/35 in der an Chile grenzenden Provinz Mendoza (MIYARA, MARTINEZ, LEANES und FUNES); 1935 hat BARROS einen Fall mit einwandfrei nachgewiesenen Spirochäten mitgeteilt. Nach Angabe der gleichen Autoren soll die Krankheit in *Chile* ziemlich häufig sein. In Westindien (Guadeloupe) hatte man das Vorkommen der WEILSchen Krankheit zwar schon früher vermutet, doch ist der erste durch Spirochätennachweis gesicherte (sporadische) Fall erst im Jahre 1937 von JOLLY und DANGLEMONT veröffentlicht worden.

In *Asien* nimmt *Japan* in bezug auf die Verbreitung der WEILSchen Krankheit eine ähnliche Stellung ein, wie sie Holland in Europa innehat. Die Häufigkeit soll dort nach Jahren und Gegenden wechseln (TSURUMI). 1933 sind insgesamt 1636 Fälle bekannt geworden, in einer einzigen Provinz (Prov. Ibaraki) innerhalb von 6 Jahren 1237 Erkrankungen. *China* hat sich erst 1937 in die Reihe der Weil-Länder eingefügt. T'ANG gelang als erstem die sichere Diagnose der WEILSchen Krankheit bei 3 Patienten in Kanton.

Einer der Erkrankten war ein Beamter des Stadtgefängnisses, das seit einiger Zeit von einer offenbar auf Weil-Infektion beruhenden Endemie heimgesucht war. Nach 3—4 Monaten waren über 100 Gefangene gestorben. Die Verlegung der Insassen in ein anderes Gefängnis setzte den Erkrankungen ein Ende. Im gleichen Jahr ist auch die erste Meldung von dem Auftreten der Krankheit in *Indien* (ein Fall) erfolgt (DAS GUPTA und CHOPRA).

In *Indochina* ist die Krankheit bis 1931 nicht festgestellt worden. Die beiden ersten Fälle von Cochinchina sind in diesem Jahre von LAVAU, RAGIOT, SOUCHARD, FARINAUD und LIEOU, zwei weitere 1934 von RAGIOT und DELBOVE und ein fünfter 1935 von MASSIAS beschrieben worden. Auch in Tongking, dem nördlichen Teil der Kolonie, entdeckten VAUCEL und SOULIER (1937) endemische Herde, nachdem 2 Jahre früher drei sporadische Fälle von HASLÉ, TOULLEC und VAUCEL in Hanoi beobachtet worden waren.

Auf den *Philippinen* ist das Vorkommen der WEILSchen Krankheit 1932 durch die Untersuchungen von HIRANO und von LISZNER sichergestellt. Die Seltenheit der Erkrankung führt HIRANO auf die außergewöhnlich geringe Virulenz dieses „Manila“stammes zurück.

Über das Auftreten und die Verbreitung der WEILSchen Krankheit auf *Sumatra* in Form kurzfristigen Spirochätenfiebers haben die Forschungen von BAERMANN und ZUELZER (1928), BARMANN und SMITS (1928) sowie VAN DINGER (1934) Aufschluß gegeben. Die von BROWN (1928) auf den *Andamanen* durchgeführten serologischen Untersuchungen stellten die Identität des Erregers der dort gehäuft auftretenden Gelbsucht mit den Sumatrastämmen fest. TAYLOR und GOYLE (1931) schufen 1929 in Port Blair (Südandamanen) eine entsprechend ausgerüstete Zentralstelle, der alle verdächtigen Kranken so rasch wie möglich zugeführt wurden. In einem Zeitraum von nur 5 Monaten ließen sich unter 73 suspekten Fällen 64 als weilinifiziert erkennen. Schließlich sei BEZEMER genannt, der 1933 die ersten Fälle auf *Celebes* ermittelte.

Aus *Australien* sind Veröffentlichungen von DREW (1934) und von CUMPTON (1935) zu nennen, in denen eine Epidemie von 136 Fällen in Queensland und zwei weitere mit zusammen 170 Erkrankungen in der gleichen Landschaft angeführt worden sind.

Am spärlichsten sind die Nachrichten über die WEILSche Krankheit aus *Afrika*. KADANER und CORTI haben 1933 eine kleine Epidemie (16 Fälle) bei Europäern in Stanleyville (*Belgisch Kongo*) klären können; GRAF hat 1936 den ersten Fall WEILScher Krankheit in *Kamerun*, der einen dort ansässigen Europäer betraf, dem Schrifttum übergeben.

In *Alexandrien* ist nach einer Angabe von PANAYOTATOY (1936) die Zahl der Weilfälle, die im griechischen Hospital Aufnahme fanden, von 300 (1875—1901) auf 0 (1931—1935) gesunken (Verbesserung der Abwasserbeseitigung).

Überblickt man die Gesamtheit der vorliegenden Meldungen, dann schält sich als Ergebnis die Tatsache heraus, daß die WEILSche Krankheit bei so gut wie allen Völkern, soweit sie nicht arktische Zonen bewohnen, zu Hause ist. Wenn sie stets nur in kleinen umschriebenen Epidemien oder in Form sporadischer Fälle auftritt, so hat das offenbar seinen Grund in den Infektionsquellen und in der Übertragungsweise.

V. Die Infektionsquellen.

1. Die Ratten als Virusreservoir.

Eine Übertragung der WEILSchen Krankheit von Mensch zu Mensch ist niemals beobachtet worden. Diese fehlende Kontagiosität legte den Gedanken an eine außerhalb des Menschen liegende Infektionsquelle nahe. Präzise Beobachtungen und scharfsinnige Schlußfolgerungen führten HECKER und OTTO bereits im Jahre 1911 zu der Annahme, daß der Erreger ein sich außerhalb des Körpers entwickelnder, durch Zwischenträger (Insekten) verbreiteter Mikroorganismus sei. Diese Insektentheorie hat zwar gelegentlich unter den forcierten Bedingungen des Tierexperiments eine gewisse Stütze gefunden, ist aber durch die praktischen Erfahrungen soweit widerlegt worden, daß höchstens in seltenen Ausnahmefällen dieser Übertragungsmodus verwirklicht wird.

Die von BIJL und KORTHOFF (1930) gelegentlich eines Zwischenfalles im Laboratorium geäußerte Vermutung, daß Fliegen möglicherweise die Überträger des Infektionsstoffes gewesen seien, ist allzu konstruiert, um auch nur eine Spur der Wahrscheinlichkeit zu besitzen. Wenn von drei Meerschweinchen, die mit Organen pestverdächtiger Ratten bzw. mit tuberkuloseverdächtigem vom Schwein stammenden Material geimpft sind, zwei an einer Weil-Infektion zugrunde gehen, dann ist es trotz der Anwesenheit von „massenhaft kleinen Fliegen“ in den Weilställen und trotz des Übertrittes dieser Insekten in die Käfige der Versuchstiere viel naheliegender, an eine Verseuchung des Impfmaterials zu denken als die Möglichkeit einer Übertragung durch Fliegen ins Auge zu fassen.

UHLENHUTH und FROMME wurden bereits zu Beginn ihrer Forschungen zu der Vermutung gedrängt, daß ein Zusammenhang zwischen den sich im Stellungskrieg häufenden Weilfällen und der ungeheueren Rattenplage, unter der die Truppen zu leiden hatten, bestehen müsse. Das letzte Glied der Beweiskette konnte zwar damals nicht sofort geschlossen werden, doch wurde es sehr bald durch japanische Autoren herbeigeschafft. MIYAJIMA (1916) sowie IDO, HOKI, ITO und WANI (1917) gelang der Nachweis, daß in der Stadt und in den Kohlengruben von Kyushu 39,5% der dort gefangenen, anscheinend ganz gesunden Ratten mit virulenten Spirochäten der WEILSchen Krankheit infiziert waren. Seither ist aus fast allen Weltgegenden eine Bestätigung dieser Befunde erbracht worden.

Die folgende Darstellung wird die Literatur nur seit dem Jahre 1930 berücksichtigen; bezüglich des älteren Schrifttums sei auf die Monographie von UHLENHUTH und FROMME verwiesen. Die tabellarische Zusammenfassung am Schluß des Abschnittes verwertet demgegenüber sämtliche bisher bekannt gewordenen Ergebnisse.

Den ersten wegweisenden Mitteilungen UHLENHUTHS und seiner Mitarbeiter aus den Jahren 1917—1927 sind weitere Berichte aus dem Freiburger Institut gefolgt, die ebenfalls die Verseuchung der dortigen Ratten betreffen.

ZIMMERMANN (1930) fand unter 85 Tieren 40% durch den Tierversuch, 44% mit Hilfe der Agglutination-Lysis positiv. Als besonderes Ergebnis dieser Versuchsserie ist erwähnenswert, daß auch serologisch negative Ratten durch den Meerschweinchenversuch als infiziert ermittelt wurden und daß die positive Ausbeute bei der Dunkelfelduntersuchung hinter der der anderen Methoden zurückblieb. Auch KUNSTEIN (1932) erwiesen sich unter 19 Wanderratten im Dunkelfeld nur 26%, im Tierversuch dagegen 42% als infiziert. LOREY (1932) untersuchte die Nieren von 25 grauen Ratten im Dunkelfeld und erhielt in 32% ein positives Ergebnis. KISTER (1933) stellte (ohne Angabe der angewandten Methodik) unter 509 in Hamburg gefangenen Ratten 9,6% als Spirochätenträger fest und zwar vorzugsweise Tiere vom Schlachthof, von Müllabladepätzen (13%) und aus Abzugsgräben. Diese örtlichen Beziehungen sind allerdings keineswegs ungewöhnlich. Die von KISTER genannten Stellen bilden nun einmal einen besonders beliebten Aufenthalt der sich gegenseitig per os infizierenden Ratten, die hier leichter und in größerer Anzahl zu fangen sind als anderswo.

Bei den von WIRTH in den Jahren 1935 und 1936 ausgeführten Untersuchungen der Nieren von 166 Wiener Ratten, die in Abständen von etwa einem Monat in den Kanälen gefangen waren, wurden — ohne irgendwelche Regelmäßigkeit in den einzelnen Gruppen — in 20—55% Spirochäten nachgewiesen. Der Durchschnittssatz belief sich auf 35,3% (59 Tiere). Unter den 80 männlichen Ratten waren 31 (38,8%), unter den weiblichen 28 (32,6%) mit Spirochäten behaftet. Ein Überwiegen der stets gesund erscheinenden Spirochätenträger zu bestimmten Jahreszeiten war nicht festzustellen; auch führten die Bemühungen, weilranke oder ikterische Ratten zu fangen, ebensowenig zum Ziel wie die gleichgerichteten Versuche anderer Autoren.

MEIßNER und DEDIÉ (1937) haben anlässlich einiger in Silberfuchszuchten aufgetretenen Epizootien die Nieren von 10 Ratten (Betrieb A) histologisch untersucht und einen Befall von 3 = 30% feststellen können. Aus einem ähnlichen Anlaß untersuchte WEBER (1937) 56 wilde Ratten (München) und wies sechsmal Spirochäten nach, die morphologisch und nach ihrer Lokalisation mit den Spirochäten der Stuttgarter Hundeseuche übereinstimmten.

Die aus den skandinavischen Ländern vorliegenden Nachrichten stammen von OLIN (1934) und von M. ZUELZER (1936). Wie überall wurden auch in Schweden die Fahndungsaktionen auf spirochätentragende Ratten durch menschliche Weilfälle inauguriert. OLIN untersuchte im Herbst 1931 in Lindesberg, einer kleinen Stadt in der Mitte des Landes, 7 braune Ratten (*Mus decumanus*) und sah alle mit Organemulsionen von dreien dieser Ratten gespritzte Meerschweinchen an typischem Weil zugrundegehen. 26 gleichzeitig untersuchte aus Stockholm stammende, zum Teil allerdings nicht völlig ausgewachsene Ratten ergaben dagegen ein völlig negatives Resultat. Im Anschluß an eine 1934 in Stockholm festgestellte tödlich verlaufende Weilinfection nahm OLIN seine Ermittlungen von neuem auf und stellte nunmehr unter 103 Stockholmer Ratten 6 Tiere als Spirochätenträger fest.

M. ZUELZER konnte bei 93 Ratten aus verschiedenen Teilen Dänemarks 23mal Spirochäten nachweisen (Untersuchung des frischen alkalischen Harns

der lebenden Tiere im Dunkelfeld und Kontrolle der Befunde durch Verimpfung der Nierenemulsion). Von diesen Ratten waren 74 erwachsene Tiere und unter diesen 21 Spirochätenträger. 67 geschlechtsreifen Männchen standen 7 ausgewachsene Weibchen gegenüber. Dieses auffallende Zahlenverhältnis ist bereits von UHLENHUTH registriert und damit erklärt worden, daß die weiblichen Tiere, besonders wenn sie Junge haben, sehr argwöhnisch und vorsichtig und daher erheblich schwerer zu fangen sind als Männchen. Die Erfahrungen ZUELZERS haben das in vollem Umfang bestätigt.

Nachdem für *Belgien* erstmalig im Jahre 1917 von RENAUX das Vorkommen weilinifizierter Ratten festgestellt war, haben 1935 BESSEMANS und THIRY über die Untersuchung von 84 Kanalratten und 46 Hausratten aus den verschiedensten Gegenden des Landes berichtet. Während bei keiner der Hausratten der Spirochätennachweis gelang, konnten 27 aus Brüssel und Ostflandern stammende Kanalratten (32,2%) als Spirochätenträger ermittelt werden (Dunkelfelduntersuchung des Harns, zum Teil auch der Nierenemulsion, Kulturverfahren, Tierversuch, Agglutination und Lysis). In 3 von den 27 positiven Fällen blieben die geimpften Meerschweinchen völlig gesund, obwohl in der Nierenaufschwemmung sichere Spirochäten vorhanden waren. Die Autoren lassen es dahingestellt, ob es sich in diesen Fällen um avirulente Erreger oder um Spirochäten anderer Art gehandelt hat. Bei Anwendung serologischer Untersuchungsmethoden ergab die Lysis viel bessere und spezifischere Resultate als die Agglutination.

Aus den *Niederlanden* verdienen die Untersuchungen von BIJL und KORTHOFF (1930) sowie von HULSHOFF POL und ANEMAET (1931) Erwähnung. Die erstgenannten fanden von 89 Ratten in Utrecht 19, von 78 in Gouda 16 infiziert. Die Bemühungen von HULSHOFF POL und ANEMAET, eine in dem Städtchen Gouda aufgetretene Weilepidemie epidemiologisch zu klären, führten zu der Feststellung, daß von 196 Ratten 30 Leptospirenträger waren. Nach Ansicht von SCHÜFFNER (1934) sollen sogar 45% der erwachsenen Ratten in den Kloaken Hollands mit Spirochäten verseucht sein. VAN DER HOEDEN (1935) stellte bei 6 von 11 wilden Ratten (Utrecht) eine positive Serumreaktion fest.

Das neuere *französische* Schrifttum weist zwei Mitteilungen auf, die zahlenmäßige Angaben über die Verseuchung der wilden Ratten enthalten. DE LAVERGNE und STUMPF (1931) untersuchten anlässlich einer Weilerkrankung, die den KOCH einer Kaserne von Nancy befallen hatte, 100 in verschiedenen Teilen der Stadt gefangene Ratten (*M. norvegicus*) durch subcutane Injektion der fein emulgierten Nieren und Nebennieren in die Meerschweinchenpfote und erhielten 14mal ein positives Ergebnis. Dabei war die Verteilung der Spirochätenträger auf die Tiere aus den einzelnen Stadtbezirken sehr unterschiedlich. Unter 10 Ratten des Hospitals M. erwiesen sich 4 (40%), unter 24 einer Kloake im Zentrum 7 (29,1%), unter 28 der Kaserne I 3 (10,7%) als infiziert, unter 38 aus vier anderen Stellen keine einzige.

Die Ermittlungen von JANBON, ERBER, SOLIER und QUET (1937) schlossen sich an das Auftreten der WEILSchen Krankheit bei 23 Arbeitern eines Bergwerks an. Von 113 Ratten dieses Bergwerkes und von 12 aus dem Schlachthof der Stadt Alès wurden 2% als infiziert gefunden. Im Wasser und Schlamm sowie in den schwärzlich glasigen kolloidalen Ablagerungen im Bergwerk konnten durch Meerschweinchenimpfung keine Spirochäten entdeckt werden.

Aus *Italien* sind die Untersuchungsreihen von MARCHESI und SPINELLI (1933), MARCHESI (1935) sowie von BERZI (1935) anzuführen. Die zuerst genannten Forscher untersuchten 53 am unteren Lauf des Tiber in Rom gefangene Ratten und stellten in 2 Fällen Spirochäten vom Ikterogenestyp fest. MARCHESI konnte später unter 18 Ratten, die vom oberen Tiber und einem dicht oberhalb Roms einmündenden abwasserführenden Nebenflüsschen herrührten, 3 Spirochäten-träger herausfinden. Der Nachweis erfolgte jedesmal vermittels intraperitonealer Meerschweinchenimpfung, wobei fortgesetzte Passagen eine erhebliche Virulenzsteigerung bewirkten.

Von 25 in den Kanälen von Florenz gefangenen, anscheinend gesunden Ratten stellten sich BERZI 60% als mit Weilspirochäten behaftet heraus; die Stämme waren aber für Meerschweinchen nur schwach pathogen, nach der zweiten oder dritten Passage war selbst durch Injektion dichter Organemulsionen das typische Krankheitsbild nicht mehr zu erzeugen.

In der *spanischen* Literatur ist die Rattenspirochätose in Arbeiten von SANCHIS-BAYARRI, MONTILIU-VOLANT und SABINA (1934) sowie von BARROS (1935) behandelt. SANCHIS-BAYARRI und seine Mitarbeiter betrachten den unter 35 Ratten aus Valencia nur einmal gelungenen Spirochätennachweis als befremdendes Ergebnis, geben andererseits aber an, daß unter 6 Ratten, die in den Reisfeldern von Almuzafes gefangen waren, 2 Spirochäten-träger waren. Nach BARROS sollen die Ratten Barcelonas bis 85 v. H. infiziert sein.

In der Mitteilung von JORGE (1932) über die Lissaboner Trinkwasserepidemie des Jahres 1930 wird die Frage der Verseuchung der Ratten in Portugal nur nebensächlich behandelt. JORGE erwähnt aber, daß systematische Rattenuntersuchungen, die im Jahre 1922 wegen Pestverdacht angeordnet waren, ein relativ häufiges Vorkommen der Weilspirochäten ergeben hätten. Von 12 in Lissabon gefangenen Ratten sei eine infiziert gewesen.

In *Griechenland* ist das Interesse für die WEILSche Krankheit und damit für die Ratten als Infektionsquelle durch die Augustepidemie des Jahres 1931 auf der Insel Syra geweckt worden. KYRIAZIDIS und PETZETAKIS konnten bei den dortigen Ratten Spirochäten nachweisen. Die meisten mit Organemulsionen der Tiere geimpften Meerschweinchen gingen an der klassischen Spirochätose ein. Epidemiologische Erwägungen boten den Anlaß, die Untersuchungen auf die Ratten der Hafenstädte, die mit Syra lebhaften Schiffsverkehr haben und auf diejenigen der Stadt Athen (enge Verbindung mit dem Hafen von Piräus) auszudehnen. Bei 96 in den Athener Kanalisationsanlagen gefangenen Ratten wurden mittels Tuscheausstrich und mit Dunkel-feldbeleuchtung 3mal Spirochäten nachgewiesen. Die Weiterverimpfung von Organen dieser 3 Tiere erzeugte in einem Falle die typische Erkrankung beim Meerschweinchen; die Spirochäten in den Nieren der beiden anderen Tiere waren apathogen. Vergleichsweise ausgeführte Untersuchungen von LEPINE, CAMINOPETROS und PAGONIS (1932) ergaben bei 120 im Piräus und 13 in Athen gefangenen Ratten durchweg negative Resultate, während die Organe und der Harn von allen 6 untersuchten Ratten auf Syra Spirochäten enthielten.

Es stellte sich aber heraus, daß dieser Unterschied nur ein scheinbarer und durch die ungleichmäßige Verteilung der infizierten Ratten auf die verschiedenen Bezirke ein- und derselben Stadt bedingt war (vgl. die Ergebnisse von DE LAVERGNE und STUMPF).

In einer weiteren Mitteilung des gleichen Jahres macht CAMINOPETROS auf die nach Jahreszeiten und Stadtteilen wechselnde Durchseuchung aufmerksam und beziffert den Prozentsatz spirochätenträgernder Ratten auf Syra auf 24,3 (30 von 123), in Athen auf 27,3 (40 von 146). Unter 56 gefangenen Ratten der Themistoklesstraße waren 23 infiziert, unter 4 der rue Phidiou 3, unter 2 der Universitätsstraße eine, unter 40 aus einem entlegenen Stadtviertel aber nur 2. Dieselbe ungleichmäßige Verteilung ließ sich auch bei den Ratten am Piräus feststellen; 120 Tiere aus der Markthallengegend waren negativ, bei 2 Tieren (von 26) aus einem anderen Viertel wurden Spirochäten gefunden (Dunkelfelduntersuchung des Harns, Giemsapräparate der Nierenaufschwemmung, Meerschweinchenimpfung, Kultur).

Das Gesamtmaterial von CAMINOPETROS (2) umfaßte bis zum 22. April 1932 523 Ratten, von denen 320 aus Athen und 203 aus Syra stammten. Unter den ersteren waren 85 = 26,6%, unter den letzteren 51 = 25,1% positiv.

Es ist allerdings zweifelhaft, ob es sich bei den von CAMINOPETROS nachgewiesenen Spirochäten stets um solche des Ikterogenestyp gehandelt hat. Morphologische Studien brachten den Autor zu der Überzeugung, daß außer den typischen 6–10 μ langen Spirochäten, die bei 123 von 136 infizierten Tieren angetroffen wurden, gelegentlich auch 3–4mal längere Formen vorkommen (8 Fälle von 136); 5mal zeigte sich sogar ein von dem gewohnten gänzlich abweichendes Bild. Der mit Tierversuchen belegten Auffassung dieser Formen als „Entwicklungsstadien“ steht die unzulängliche Zahl der Versuche entgegen.

Als letztes europäisches Land, in dem das Spirochätenträgertum der Ratten studiert worden ist, sei *Rußland* genannt. BASILEWSKI hat seinen 1929 veröffentlichten Befunden 1933 neue hinzugefügt, die bei der Untersuchung von 91 Ratten in Kiew gewonnen worden sind. Bei Anwendung der Dunkelfeldmethode (Nierenemulsion) war das Ergebnis in 31,2% (20 Tiere von 64), bei der Verarbeitung der Nieren im Levaditischmitt in 29,6% der Fälle positiv.

Außerhalb Europas haben Autoren verschiedener Nationalität diese Resultate ergänzt. FORSYTH und GAHAR (1930) prüften 64 in Kairo gefangene Ratten der Gattung *M. alexandrinus* nach mehreren Verfahren auf das Vorhandensein von Spirochäten und konnten nur 2mal mit Hilfe des Dunkelfeldes einige wenige Exemplare nachweisen. PANAYOTATOY (1936) fand in Alexandrien bei der Untersuchung von 90 Ratten (*M. norvegicus*) 3mal in Ausstrichen von Niere, Nebenniere und Blase Spirochäten.

RIDLON (1931) hat von den mehreren Tausend Ratten, die monatlich im Bundeslaboratorium von San Franzisko eingeliefert werden, 50 untersucht (Dunkelfeld und Verimpfung der zerriebenen Nieren) und 17mal (34%) positive Befunde verzeichnet. MEYER, EDDIE und ANDERSON-STEWART (1937) haben ebenfalls in San Franzisko 420 Ratten verarbeitet und bei 33% Leptospiren in den Nieren angetroffen. Von 47 alten norwegischen Ratten waren nicht weniger als 42 = 89,4% Spirochätenträger.

PAWAN (1931) fand in Trinidad 26,6% der untersuchten Ratten durch den Tierversuch infiziert. Ältere und schwerere Tiere stellten dabei das Hauptkontingent. Zwei isolierte Stämme (von 32) waren für Meerschweinchen nicht pathogen. Mit der gleichen Methode hat CHIUDI nach den erfolglosen Bemühungen von URIARTE, SPADA und MORALES VILLAZON (von Chiodi ohne Literaturangabe zitiert) 1934 bei 2% der untersuchten Ratten in Buenos Aires Spirochäten nachweisen können.

In *Chile* (Santiago) sind entsprechende Studien von PAEZ (1935) ausgeführt worden. Die bei 253 Ratten angestellte Agglutinationsreaktion ließ 37% der Tiere als Spirochätenträger erkennen. Mit der Verimpfung von Nierenbrei auf die wunde Haut junger Meerschweinchen und direkter mikroskopischer Betrachtung konnte ein Befallensein von etwa 25% der Ratten nachgewiesen werden.

Den japanischen Forschern KITAOKA, INOUE und KUBO (1935) erwiesen sich unter 121 in Tokio 1931 gefangenen Ratten mit Weilspirochäten infiziert: 23,8% nach Verimpfung von Nierenemulsion auf Meerschweinchen und 27,2% mittels Dunkelfelduntersuchung von Urin und Nierenbrei; das Rieckenbergphänomen war in 32,1% positiv. Die Spirochäten fanden sich bei *Mus decumanus* in 42,2% (von 64), bei *Mus alexandrinus* in 21,4% (von 42), bei *Mus rattus* in 13,3% (von 15). Unter den Spirochätenträgern waren 96% serologisch positiv, während etwa 72% der seropositiven und etwa 15% der seronegativen Tiere infiziert waren. Unter 100 1934 gefangenen Ratten ergab die Dunkelfeldmethode 32mal positive Befunde (37,9% von *M. decumanus*, 12,5% von *M. alexandrinus*, 23% von *M. rattus*); bei 21% der nichtspirochätenhaltigen Tiere fiel die Agglutination mit einem echten Weilstamm positiv aus, bei 14,7% dieser Gruppe wurde das Rieckenbergphänomen positiv gefunden.

Die Arbeit von AOKI, KANEKO und MORIMOTO (1935) bezieht sich zwar auf den Erreger von „Hasamiyami“, darf aber nicht unerwähnt bleiben, weil ihr eine Fragestellung zugrunde liegt, die in gleicher Weise für den Durchseuchungsindex der Ratten mit Weilspirochäten wesentlich ist. Um zu ermitteln, welche Methode die genauesten Resultate gibt und wieweit die einzelnen Methoden übereinstimmen, haben die japanischen Autoren die verschiedenen Verfahren miteinander verglichen und bei 50 Ratten der Gattung *Apodemus speciosus* folgendes Bild erhalten: in 14 von diesen 50 Fällen waren im Dunkelfeld Spirochäten nachzuweisen, 12 positive Ergebnisse förderte die Ausstrichfärbung (MÜHLFORDT-RUGESche Methode), 10 die Schnittfärbung nach LEVADITI zutage. Ein im Dunkelfeld negativer Fall war nach LEVADITI positiv. Bei der Meerschweinchenimpfung erkrankten 16mal die Tiere unter den typischen Erscheinungen. Es schien also eine gewisse Überlegenheit des Tierversuchs im Vergleich zu den mikroskopischen Methoden vorhanden zu sein. Die weiteren Befunde lassen aber ein solches Urteil als übereilt erscheinen. Von 3 Meerschweinchen, die mit einem im Dunkelfeld als spirochätenfrei befundenen Material geimpft waren, starben 2 mit den charakteristischen Symptomen, andererseits reagierte ein mit spirochätenhaltiger Organaufschwemmung gespritztes Tier negativ. Die Schlußfolgerung aus diesen Ergebnissen kann demnach nur auf die Forderung hinauslaufen, beide Verfahren miteinander zu kombinieren. Daß aber auch dieses Postulat nur ein vorläufiges ist, lehren die mit der kulturellen Untersuchung und mit serologischen Reaktionen erzielten Ergebnisse. Das direkte Kulturverfahren hatte unerwartet günstige Erfolge. Es wurden 20mal positive Resultate erzielt, davon 16 mit denen der Meerschweinchenimpfung, 1 mit denen der Dunkelfeldmethode übereinstimmend. Mit Hilfe der Agglutination-Lysis erwiesen sich 18 Ratten (36%), durch die Rieckenbergreaktion 43 (86%) als infiziert. Von weiteren Einzelheiten ist bemerkenswert, daß 13mal Antikörper und Spirochäten gleichzeitig gefunden wurden, daß bei 7 Ratten nur Spirochäten und bei 5 nur Antikörper nachweisbar waren. „Wahrscheinlich ist die positive Serumreaktion spirochätenfreier Ratten auf eine abgelaufene Spirochäteninfektion zu beziehen, während positiver Kulturbefund mit negativer Serumreaktion der negativen Phase der Antikörperbildung oder dem Frühstadium der Infektion entspricht“. Die Ergebnisse des Rieckenbergphänomens werden von den Autoren außer Betracht gelassen, weil sie häufig einen unspezifischen Charakter besaßen.

Überträgt man diese Befunde auf die Infektion der Ratten mit Weilspirochäten, dann wird deutlich, daß es hier nicht um die Propagierung der einen oder der anderen Methode geht, sondern vielmehr um die Erkenntnis, daß nur eine sehr sorgfältige, mit Hilfe aller Verfahren durchgeführte Untersuchung den wirklichen Infektionsindex der Ratten zu ermitteln vermag.

Zu weiteren Studien dienten KANEKO, KOTORI und AOKI (1935) 1930 Feldratten, von denen 210 Tiere = 11% durch Dunkelfelduntersuchung als Spirochätenträger erkannt wurden.

Die von SCHÜFFNER und KUENEN (1923) stammende Angabe, daß Spirochätenträger-Ratten „schubweise“ Spirochäten ausscheiden, kann nach den Untersuchungen von M. ZUELZER (1936) als widerlegt gelten. ZUELZER hat auf die in der Reaktion des Harns gelegene, den holländischen Forschern entgangene Fehlerquelle aufmerksam gemacht und gezeigt, daß in saurem Harn, in dem die Spirochäten unbeweglich, häufig sogar aufgelöst oder sehr deformiert sind, der Nachweis nicht immer gelingt, so daß ein schubweises Ausscheiden vorgetäuscht wird. Bei der Untersuchung von alkalischem Harn konnte sich ZUELZER bei 2jähriger dauernder Beobachtung aber davon überzeugen, daß Tiere, die einmal ausscheiden, dies auch dauernd tun. Ein schubweises Auftreten von Spirochäten, etwa unterbrochen von spirochätenfreien Perioden, wurde niemals festgestellt. Es hing dagegen durchaus von der Reaktion des Harns ab, ob die Spirochäten auch stets nachweisbar waren.

„Bei zunehmenden Säuregraden des Urins, der vom Futter abhängt, werden die Spirochäten unbeweglich, schwach oder schwächer negativ geladen und dementsprechend nimmt ihre Virulenz ab. Urin, der saurer ist als p_H 6—5,9, erwies sich niemals als infektiös“.

SCHÜFFNER (1930) hat übrigens später festgestellt, daß die Ratten jahraus jahrein ($2\frac{1}{2}$ Jahre bei gefangenen Ratten verfolgt) „wahre Reinkulturen“ mit dem Urin ausscheiden.

Aus einer Zusammenstellung, die SCHÜFFNER 1925 veröffentlicht hat, geht hervor, daß die Häufigkeit der Spirochätenbefunde nach den Mitteilungen der Untersucher zwischen 2 und 85% schwankt. Die von dem Berichtersteller gegebenen Daten bewegen sich in etwa den gleichen Grenzen. Neben den Faktoren, die in der Erfahrung und Übung des Untersuchers begründet und demzufolge einer konkreten Analyse nicht zugänglich sind, fällt die jeweils angewandte Methodik in Verbindung mit der Zahl der untersuchten Tiere und der Zusammensetzung des Rattenmaterials nach Gattung und Alter entscheidend ins Gewicht. UHLENHUTH und ZUELZER haben schon 1919, SCHÜFFNER hat 1925 nachdrücklich betont, daß die isolierte Ausführung des Tierversuchs zu niedrige Werte ergibt. Die Ergebnisse von BASILEWSKY (1933), KITAOKA, INOUE und KUBO (1935), PAEZ (1937) und zahlreichen anderen Forschern sprechen in gleichem Sinne, während diejenigen des UHLENHUTH-Schülers KUNSTEIN (1932) anscheinend die Überlegenheit des Tierversuchs demonstrieren. Sie sind aber an nur 19 Wanderratten gewonnen und daher schon in quantitativer Beziehung mit einer Fehlerquelle belastet. Vor allem muß auch die unterschiedliche Virulenz und die zum Teil sogar fehlende Pathogenität der Rattenspirochäten für das Meerschweinchen in Betracht gezogen (BERZI, BESSEMANNS und THIRY, BASILEWSKY, KYRIAZIDIS und PETZETAKIS, ZUELZER u. a.) und die keineswegs einheitliche Ausführung des Tierversuchs berücksichtigt werden. UHLENHUTH und SEIFFERT haben 1928 festgestellt, daß Meerschweinchen sich durch Einreiben von virulentem Leberbrei in die unverletzte Bauchhaut sogar noch regelmäßiger infizieren lassen als durch intraperitoneale Injektion. In einer Mitteilung des Jahres 1936 empfiehlt UHLENHUTH, die intraperitoneale Einspritzung, evtl. an drei aufeinanderfolgenden Tagen, mit intracardialer oder intravenöser Injektion zu verbinden. DE LAVERGNE und STUMPF

(1931) injizieren in die Pfote, PAEZ (1935) streicht Nierenbrei auf die wunde Haut von jungen Meerschweinchen. Stets findet sich aber der Hinweis, daß nur *junge* Tiere verwandt werden dürfen. LANGWORTHY und MOORE (1927) haben darüber hinaus die (auch von UHLENHUTH anerkannte) Forderung begründet, daß das Peritonealexsudat *täglich* auf Spirochäten zu untersuchen und gegebenenfalls weiter zu verimpfen ist. Wenig zahlreiche Spirochäten und Stämme geringer Virulenz bewirkten nämlich auch beim jungen Meerschweinchen bisweilen nur eine leichte, vorübergehende Erkrankung oder beeinflussten den Gesundheitszustand der Tiere überhaupt nicht.

Ob das Meerschweinchen wirklich das Versuchstier der Wahl darstellt, erscheint nach den von CAMINOPETROS (1932) gemachten Erfahrungen immerhin zweifelhaft. Diesem Autor erwies sich der Spermophilus citillus wesentlich empfindlicher für die ikterohämorrhagische Spirochätose des Menschen und der Mäusearten als das Meerschweinchen. Die Tiere erwarben stets eine sehr akute, serienweise übertragbare Krankheit, und die Spirochäten ließen sich in allen Organen ohne Ausnahme leicht nachweisen.

Eine zweite Ursache für die Verschiedenheit der Untersuchungsergebnisse liegt in der Größe und dem Alter der Ratten begründet. Die Feststellungen von UHLENHUTH und ZUELZER (1919) sind von zahlreichen Autoren [SCHÜFFNER und KUENEN (1923), FISCHER (1924), ROBINSON (1924), SOESILO (1925), SCHÜFFNER (1925), PAWAN (1931), PAEZ (1935), KITAOKA, INOUE und KUBO (1935), ZUELZER (1936), WIRTH (1937)] wiederholt worden; die Abhängigkeit des Infektionsindex von Alter und Rumpflänge ist damit einwandfrei erwiesen. — Auch an dem durch die Rasse (Gattung) gegebenen Dispositionsfaktor hat sich seit der letzten Darstellung (UHLENHUTH) nichts geändert. Immer wieder ist bestätigt worden, daß die Wanderratte (*M. norvegicus* s. *decumanus*) in erster Linie als Spirochätenausseider in Frage kommt, erst in weitem Abstand folgt die Hausratte (*M. rattus*) und ihre Abarten (*M. alexandrinus*). Die nachfolgende Zusammenstellung (s. S. 26 ff.) gibt in zeitlicher Reihenfolge und nach Ländern geordnet alle bisher bekannt gewordenen Ergebnisse wieder.

Nach den angeführten Befunden (s. S. 193 ff.) unterliegt es keinem Zweifel, daß die Spirochäten der Weilschen Krankheit unter den wilden Ratten aller Weltteile eine sehr weitgehende, an Ubiquität grenzende Verbreitung besitzen. Als „internationale Spirochätenträger“ und „lebende Reinkulturen“ (UHLENHUTH) scheiden die Tiere den Infektionsstoff, den sie in den gewundenen Harnkanälchen beherbergen, mehr oder weniger reichlich, aber fortlaufend (ZUELZER) mit dem Harn aus und verbreiten ihn in der Außenwelt. Bei der Identität der Rattenstämme mit den Menschenstämmen, die sicherer als durch andere Reaktionen mit Hilfe des PFEIFFERSchen Versuchs nachgewiesen werden kann (KITAOKA)¹, ist es sehr auffallend, daß sich bisher nirgends bestimmte Beziehungen zwischen der Anzahl der Parasitenträger und der Frequenz menschlicher Infektionen haben feststellen lassen. Die epidemiologischen Tatsachen und Erfahrungen lehren mit der Sicherheit des Experimentes, daß die überwiegende Mehrzahl der echten Weilsfälle ursächlich auf eine direkte oder indirekte Berührungsmöglichkeit der Erkrankten mit spirochätentragenden Ratten zurückzuführen ist. Dieser Kausalzusammenhang wird auch dort, wo keine konkreten Zahlenangaben über die Verseuchung der Ratten gemacht worden sind, betont

¹ Die Neigung zur serologischen Typenbildung (SCHÜFFNER) ändert nichts an der praktischen und epidemiologischen Zusammengehörigkeit der Weilspirochäten der Ratten und des Menschen zu einer großen Gruppe (UHLENHUTH).

Tabelle 1. Befunde von Weilsprochäten bei wilden Ratten.

Land und Ort	Untersucher	Jahr	Zahl der unter- suchten Ratt.n	davon positiv in %	Methode
Deutschland:					
Straßburg	UHLENHUTH	1917/18	11	10	Dunkelfeld und Tierversuch
Berlin	UHLENHUTH und ZUELZER	1919	101	10	desgl.
Wien	TAKAKI	1925	8	37,5	desgl.
Freiburg	UHLENHUTH und GROSSMANN	1926	51	15,7	desgl.
Freiburg	UHLENHUTH und GROSSMANN	1927	54	10,0	desgl.
Freiburg	ZIMMERMANN	1930	85	{ 40,0 44,0	Tierversuch Serologisch
Freiburg	KUNSTEIN	1932	19	{ 26,0 42,0	Dunkelfeld Tierversuch
Freiburg	LOREY	1932	25	32,0	Dunkelfeld
Hamburg	KISTER	1933	509	9,4	
Wien	WIRTH	1937	166	35,5	Dunkelfeld
Hannover	MESSNER und DEDIÉ	1937	10	30,0	Histologisch (Nieren)
München	WEBER	1937	56	10,7	desgl.
Niederlande:					
Amsterdam	SCHÜFFNER	1923	207	28,0	Dunkelfeld und Tierversuch
Amsterdam	FISCHER	1924	182	21,0	desgl.
Amsterdam	SOESILO	1925	401	10,0	desgl.
Amsterdam	GOUDSMITH, HAMMER und WOLFF	1925	7	28,0	desgl.
Utrecht	BIJL und KORTHOF	1930	89	21,3	
Gouda	BIJL und KORTHOF	1930	78	20,3	
Gouda	HUESHOFF POL und ANEMAET	1931	196	15,3	Dunkelfeld und Tierversuch
Utrecht	VAN DER HOEDEN	1935	11	55,0	Agglutination
Belgien:					
Brüssel	BESSEMANS und THIERY	1933	84	32,2	Dunkelfeld und Tierversuch
Frankreich:					
Lyon	COURMONT und DURAND	1916	50	8	Tierversuch
Flandern	STOKES, RYLE und TYTLER	1917	15	40	Dunkelfeld
Riquebourg-Oise	MARTIN und PETTIT	1917	155	0,65	Dunkelfeld und Tierversuch
Lorient	MARTIN und PETTIT	1917	12	12,5	Dunkelfeld und Tierversuch
Reims	MARTIN und PETTIT	1917	15	6,7	desgl.
Marseille	MARTIN und PETTIT	1918	30	6,6	desgl.
Paris	STEFANOPOULO	1920	30	10,0	
Bordeaux	SIGALAS und PIROT	1922	33	6,0	Färbung und Tierversuch
Montpellier	CARRIEU und SOLLIER	1922	18	5,0	
Nancy	DE LAVERGNE und STUMPF	1931	100	14,0	Tierversuch
Alès	JANBON und Mitarbeiter	1937	125	2,0	Tierversuch

¹ Unter Mitbenutzung der Tabellen von UHLENHUTH und FROMME sowie von RUGE. Ergebnisse der Hygiene. XXII. 13

Land und Ort	Untersucher	Jahr	Zahl der unter- suchten Ratten	davon positiv in %	Methode
England:					
London	FOULERTON	1918	100	4,0	Dunkelfeld und Tierversuch
Bournemouth	COLES	1918	100	9,0	desgl.
Bournemouth	COLES	1926	17	35,0	desgl.
London	STEVENSON	1922	100	30,0	
Edinburg	BUCHANAN	1924	?	36,7	
London	BALFOUR	1925	154	22,6	
Oxford	MIDDLETON	1929	235	41,7	Dunkelfeld
Schweden:					
Lindesberg	OLIN	1931	7	43,0	Tierversuch
Lindesberg	OLIN	1931	26	0	desgl.
Stockholm	OLIN	1934	103	6,0	desgl.
Dänemark:					
Verschiedene Lan- desteile und Kopenhagen	ZUELZER	1936	93	25,0	Dunkelfeld (Harn lebender Ratten)
Italien:					
Genua	GROSSO	1917	43	2,3	
Faenza	GUETTI	1923	13	15,4	
Turin	CERUTTI und REITANI	1927	100	0	
Rom	MARCHESI und SPINELLI	1933	53	3,8	Tierversuch
Rom	MARCHESI	1935	18	16,6	desgl.
Florenz	BERZI	1935	25	60,0	desgl.
Spanien:					
Barcelona	DALMAR und BALTA	1919	15	85,0	
Valencia	SANCHIS-BAYARRI und Mitarbeiter	1935	41	7,3	Tierversuch
Portugal:					
Lissabon	JORGE (zit.)	1922	12	8,3	
Giechenland:					
Athen	PETZETAKIS und KYRIAZIDES	1932	96	3,0	Dunkelfeld und Ausstrich
Athen	LÉPINE, CAMINO- PETROS und PAGONIS	1932	13	0	Dunkelfeld und Tierversuch
Piräus	LÉPINE, CAMINO- PETROS und PAGONIS	1932	120	0	desgl.
Syra	LÉPINE, CAMINO- PETROS und PAGONIS	1932	6	100	desgl.
Athen	CAMINOPETROS	1932	146	27,3	Dunkelfeld, Giemsa, Tierversuch, Kultur
Syra	CAMINOPETROS	1932	123	43,3	desgl.
Athen	CAMINOPETROS	1932	320	26,6	desgl.
Syra	CAMINOPETROS	1932	203	25,1	desgl.
Polen:					
Warschau	ANIGSTEIN	1923	112	11,6	Tierversuch

Land und Ort	Untersucher	Jahr	Zahl der unter- suchten Ratten	davon pos. in %	Methode
Rußland:					
Moskau	SSINJUCHINA	1929	60	11,6	Wachstumsverfahren nach UHLENHUTH
Kiew	BASILEWSKY	1933	91	30,7	Dunkelfeld und Tierversuch
Vereinigte Staaten:					
Washington D. C. .	NEILL	1917	?	10,0	
Nashville	JOBLING und EGGSTEIN	1917	100	10,0	
New York	NOGUCHI	1917	41	21,9	Dunkelfeld und Tierversuch
Chicago	OTTERAAEN	1919	30	3,0	Schnitte und Ver- impfung
New York	WADSWORTH	1922	128	17,2	Dunkelfeld und Tierversuch
Baltimore	ROBINSON	1924	100	{ 7,0 4,0	Dunkelfeld Tierversuch
Baltimore	WALCH und WALCH- SORGDRAGER	1925	51	{ 27,5 5,9	Dunkelfeld Tierversuch
Albany N. Y.	LANGWORTHY und MOORE	1927	69	30,0	Tierversuch
	LANGWORTHY und MOORE	1927	55	63,6	Agglutination
Andere Orte	LANGWORTHY und MOORE	1927	{ 47 42	{ 0 0	Tierversuch Agglutination
San Franzisko . . .	RIDLON	1931	50	34,0	Dunkelfeld
San Franzisko . . .	MEYER, EDDIE und ANDERSON-STEWART	1937	420	33,0	Dunkelfeld
San Franzisko . . .	MEYER, EDDIE und ANDERSON-STEWART	1937	47 ¹	89,4	Dunkelfeld
Brasilien:					
Rio de Janeiro . . .	ARAGÃO	1917	6	16,7	
São Paulo	SMILLIE	1918	41	10,0	Tierversuch
Rio de Janeiro . . .	LINS	1923	19	15,3	Dunkelfeld und
Rio de Janeiro . . .	LINS	1923	11	36,3	Tierversuch
Argentinien:					
Buenos Aires	CHIODI	1934	160	0,8	Tierversuch
Ecuador:					
Guyaquil	NOGUCHI	1919	24	67,0	
Peru:					
Lima	RIBEYRO	1918	6 ² 8 ³	33,0 0	
Chile:					
Santiago	PAEZ	1935	253	37,0	Agglutination
Westindien:					
Trinidad	PAWAN	1931	?	26,6	Kultur
Niederländisch Indien:					
Weltevreden	SARDJITO und POSTMUS	1926	23 ⁴ 17 ⁵	17,4 0	Dunkelfeld und Tierversuch
Japan:					
Kyushu	IDO und Mitarbeiter	1916	86	39,5	Dunkelfeld
	IDO und Mitarbeiter	1917	{ 149 ⁴ 24 ⁶	40,2 8,0	Dunkelfeld und Tierversuch

¹ Alte norwegische Ratten. — ² Erwachsene Ratten. — ³ Junge Ratten. — ⁴ Mus dec. — ⁵ Mus ratt. — ⁶ Mus alexandr.

Land und Ort	Untersucher	Jahr	Zahl der unter- suchten Ratten	davon pos. in %	Methode
Japan:					
Kyoto	MATSUZAKI	1922	110	40,0	
Tokio	KITAOKA, INOUE und KUBO	1935	121	23,8 27,2 32,1	Tierversuch Dunkelfeld Rieckenberg- phänomen
Tokio	KITAOKA, INOUE und KUBO	1935	100 ¹	32,0	Dunkelfeld
Bez. Hasami . . .	AOKI, KANEKO und MORIMOTO	1935	50 ¹	40,0	Kultur
Bez. Hasami . . .	KANEKO, KOTORII und AOKI	1935	1930 ¹	11,0	Dunkelfeld
Siam:					
Bangkok	MENDELSON	1922	1483	0,54	Dunkelfeld
Afrika:					
Kongo	LEGER und CERTAIN	1918	122	0	
Algier	LHÉRITIER	1917	109 ²	2,9	Tierversuch
		1918	50 ²	6,0	desgl.
Tunis	NICOLLE und BLANC	1917	91 ²	2,0	desgl.
Tunis	NICOLLE und LEBAILLY	1918	34	17,2	desgl.
Tunis	BLANC	1919	107	11,2	desgl.
Kairo	FORSYTH und GAHAR	1930	64	3,1	Dunkelfeld
			64	0	Tierversuch, Fär- bung, Schnittpräp.
Alexandria	PANAYOTATOV	1936	90	3,3	Ausstrich
Australien:					
Townsville (Queensland)	FIELDING	1925/26	222	0	Dunkelfeld und Färbung

und auf die starke Verbreitung der Ratten in den betreffenden Orten und Gegenden hingewiesen (JITTA, JORGE, ROMJN, CUMPSTON u. a.).

Für diese Symbiose liefern von PETZETAKIS (1932) und von M. ZUELZER (1936) stammende Berichte besonders aufschlußreiche Beispiele. PETZETAKIS stellte im August 1931 den ersten Weilfall bei einem Koch der Insel Syra fest. Dieser Kranke hatte in einem Zimmer geschlafen, wo er Nacht für Nacht 3—5 Ratten fing. Seine Kleidung und Bettwäsche war stets mit Rattenkot beschmutzt gewesen, so daß er schließlich ausziehen mußte. Die Verimpfung von Organemulsionen der Ratten löste bei den meisten Meerschweinchen die klassische Spirochätose aus.

Nach Mitteilung von M. ZUELZER hatten sich in dem dänischen Orte Ottestrup in ein und demselben Hause — ein sehr ungewöhnliches Ereignis in der Geschichte der Weilschen Krankheit — 3 Weilfälle ereignet. Da Kontaktinfektionen von Mensch zu Mensch äußerst selten vorkommen, wurde nach einer gemeinsamen Infektionsquelle gefahndet und ermittelt, daß überall Rattenspuren zu finden und allein in der Speisekammer 17 Rattennester zu zählen waren. Eine größere Anzahl erwachsener Tiere war aus diesem Hause zwar nicht zu erhalten, aber unter 8 ganz kleinen, kaum dem Säuglingsalter entwachsenen Ratten waren 2 bereits Spirochätenträger und schieden 3 Monate hindurch kontinuierlich virulente Spirochäten aus.

¹ Es handelt sich nicht um die Sp. icterogenes, sondern um die ihr nahestehende Sp. autumnalis. ² Mus dec.

Trotzdem besteht ein eigentümliches Mißverhältnis zwischen dem hohen Verseuchungsgrad der Ratten und der verhältnismäßig geringen Zahl bekannt werdender menschlicher Weilinfectionen. Zahlreiche Autoren führen das darauf zurück, daß die Ärzte mit den klinischen Erscheinungen der WEILSchen Krankheit noch nicht genügend vertraut sind. Die erschreckend hohe Letalität in Dänemark — 1934 starben dort von 14 Erkrankten 4 — ist von M. ZUELZER dahin ausgewertet worden, daß nur die schwersten Fälle erkannt worden sind. Aber selbst wenn die wirkliche Erkrankungsziffer um das zehnfache höher läge, könnte von einer auch nur einigermaßen mit der Häufigkeit der Rattenspirochätose parallel verlaufenden Anzahl weilinifizierter Menschen noch keine Rede sein. Mit der Annahme unzulänglicher diagnostischer Fähigkeiten der zugezogenen Ärzte dürfte daher nur ein Teilfaktor für die Erklärung des aufgezeigten Mißverhältnisses erfaßt sein, der entscheidend nicht ins Gewicht fällt. Man muß vielmehr — außer Virulenzverhältnissen und Typendifferenzen — mit UHLENHUTH und FROMME (1930) annehmen, daß die Spirochäten in der Außenwelt schnell durch Antrocknung, Sonnenlicht und Fäulnis, besonders in saurem Milieu, zugrundegehen, wodurch die Gefahr wesentlich herabgesetzt wird. „Diese Verhältnisse sind ganz anders wie bei den Urinbacillenausscheidern beim Typhus des Menschen. Lügen die Verhältnisse so wie bei den ziemlich resistenten Typhusbacillen, so müßte die WEILSche Krankheit die *verbreitetste Seuche* sein.“ Hinzu kommt der besonders aus dem Weltkrieg und von den japanischen und schottischen Kohlengruben her bekannte Umstand, daß die WEILSche Krankheit sich nur unter extrem ungünstigen Umweltbedingungen auf einen größeren Personenkreis auszudehnen vermag. Aber selbst unter diesen Verhältnissen, die *toto coelo* von denen des normalen Daseins abweichen, erkrankt nur ein kleiner Prozentsatz der Exponierten. Dieses epidemiologische Verhalten zwingt zu dem Schluß, daß Zahl und Virulenz der eingedrungenen Erreger im Verein mit dem Dispositionsfaktor eine beherrschende Rolle spielen. Es muß damit gerechnet werden, daß nicht alle von Ratten ausgeschiedenen und für Meerschweinchen pathogenen Spirochäten in gleichem Maße auch für den Menschen pathogen sind. Möglicherweise ist das darauf zurückzuführen, daß die Rattenspirochäten durch Anpassung an die Ratte ihre pathogenen Eigenschaften für den Menschen in mehr oder weniger hohem Grad einbüßen und nur dann als Krankheitserreger wirksam werden, wenn durch Ermüdung, Überanstrengung oder sonstige resistenzvermindernde Einflüsse die Voraussetzungen für Haften und Vermehrung geschaffen sind. Derartige dispositionelle Momente, die schon HECKER und OTTO (1911) in Erwägung gezogen haben, treten im Frieden, wo die Berührungsmöglichkeit mit latent infizierten Ratten aufs äußerste eingeschränkt sind, weniger deutlich in Erscheinung. Im Kriege treffen aber all diese Bedingungen zusammen und schaffen durch ihre Massierung den Boden für das epidemische Auftreten der Krankheit.

Ein anderer Gesichtspunkt wird durch Untersuchungen geliefert, die REITER im Jahre 1925 ausgeführt hat. Die damals im Meerschweinchenexperiment gewonnenen Ergebnisse sind für die Epidemiologie der menschlichen Weilerkrankungen deshalb von höchstem Interesse, weil REITER im Tierversuch die typische stumme Infektion ohne jede äußerliche klinische Erscheinung hat erzeugen können.

Nach intraperitonealer Verimpfung von 0,5 ccm einer mehrere Generationen auf künstlichen Nährböden gezüchteter Weil-Kultur zeigten die Tiere (mit Ausnahme eines einzigen, das sich vorübergehend leicht gelblich verfärbte) keinerlei Krankheitserscheinungen, insbesondere keine Spur von Gelbfärbung. Die nach 4 bzw. 13 bis 14 Wochen ausgeführte Reinfektion mit Leberbreivirus beeinflusste den Gesundheitszustand der vorbehandelten Tiere in keiner Weise, während die Kontrollen nach 3 bis 4 bzw. 14 Tagen unter typischen Krankheitserscheinungen starben. Auch bei Verwendung von 2 ccm einer vorher 1 Stunde bei 56° gehaltener Weil-Kultur überstanden die Tiere eine stumme Infektion und zeigten sich bei einer Wiederinfektion nach 14 Wochen im Gegensatz zu den Kontrollen, die typisch starben, völlig unempfindlich. Das gleiche Ergebnis hatten Versuche, bei denen Spuren von Kulturmaterial durch intracutanen Stich verimpft wurden.

Diese künstlich durch eine stumme Infektion erzeugte Immunität kommt bei Pferden anscheinend auch spontan vor. Die von SARDEMAN (1930) vorgenommenen serologischen Untersuchungen von Pferdeseren ergaben mitunter eine Agglutination oder Lysis bis zu einem Titer von 1:2500. Aus dem Blute von Fohlen, die SARDEMAN intravenös mit Reinkulturen infiziert hatte, ließ sich der Stamm zurückgewinnen und ein Agglutinationstiter von mehr als 1:25000 nachweisen. Die Infektion per os verlief symptomlos, aber auch hier stieg der Titer des Blutserums bis 1:25000.

Daß diese im Tierexperiment gewonnenen Resultate epidemiologisch keineswegs gleichgültig sind, lehrt ein von TROISIER, BARIÉTY, ERBER und GABRIEL (1934) beschriebener Fall. Es handelte sich um einen Stammgast der Pariser Schwimmanstalten, bei dem anamnestisch und klinisch nicht die geringsten Anhaltspunkte für WEILsche Krankheit vorlagen, dessen Serum aber eine positive Reaktion mit Weilsprochäten gab.

Läßt sich so durch Zusammenfassung der im Erreger, im Makroorganismus und in den Umweltverhältnissen gelegenen Teilkomponenten die vorhin anscheinend unüberbrückbare Inkongruenz zwischen der Häufigkeit des Spirochätenträgers bei wilden Ratten und der Morbidität des Menschen auf ein erträgliches Maß zurückführen¹, bleibt doch die Frage nach der Herkunft der Spirochäten zunächst noch unbeantwortet. Ist die WEILsche Krankheit eine echte primäre Epizootie der Ratten (SCHÜFFNER) wie die Pest oder sind es kranke bzw. wieder genesene Menschen, die mit dem Urin die Spirochäten ausscheiden und dadurch die Infektionsgelegenheit für die Ratten erst liefern? Mit UHLENHUTH und FROMME (1930) ist diese letzte Erklärung als „ganz unwahrscheinlich und sehr gesucht und mehr theoretisch konstruiert“ abzulehnen; sie ist zudem mit den epidemiologischen Tatsachen und mit den Erfahrungen, die direkte Laboratoriumsinfektionen mit Rattenspirochäten und die Erkrankungen im Anschluß an Rattenbisse vermittelt haben, völlig unvereinbar. Die Herkunft der Spirochäten und der etwaige Zusammenhang mit den Spirochäten der Außenwelt bleiben aber für die Forschung ein Problem, dessen Lösung naturgemäß der epidemiologischen Erkenntnis zugute kommen muß. Die Besprechung der Infektion durch Wasser usw. wird später Gelegenheit zur Erörterung dieser Fragen geben. Zuvor ist es notwendig, den Beziehungen zwischen spirochätenträgenden Ratten und menschlichen Erkrankungsfällen weiter nachzugehen.

Bisher war nur von den wilden (grauen) Wanderratten als Virusreservoir die Rede. Daß auch die zahmen (weißen) Ratten als Dauerausscheider von

¹ Auf Verhältnisse, die gewisse Analogien bieten, stößt man bei der Banginfektion des Menschen. So unbestreitbar der hohe Verseuchungsgrad der Kühe und die Herkunft des Infektionsstoffes aus der Kuhmilch ist, so unbestreitbar ist auch das im Verhältnis dazu seltene Auftreten der Krankheit beim Menschen.

Weilspirochäten Beachtung verdienen, ist eine Erkenntnis neueren Datums. Diese für Laboratoriumsarbeiter wichtige Infektionsquelle ist 1930 von UHLENHUTH aufgezeigt worden. Gemeinsam mit ZIMMERMANN untersuchte er im ganzen 33 zahme weiße Ratten aus 4 verschiedenen Zuchten und fand 17 Tiere (52%) serologisch positiv (1:1000—5000); 7mal (21%) gelang auch im Meerschweinchenversuch der Spirochätennachweis. Von diesen 7 spirochäten-positiven Ratten verteilten sich 6 auf die serologisch positiven, und nur eine entfiel auf die serologisch negativen Tiere. Das Verhältnis entsprach also ungefähr dem bei wilden grauen Ratten gefundenen (ZIMMERMANN). Die Autoren haben auch die Frage, wie die Tiere zu Spirochätenträgern werden, zu klären vermocht. Auf entsprechende Anfragen erfuhren sie, daß an zwei Stellen (von vier) wilde mit zahmen Ratten zu Zuchtzwecken zusammengesetzt waren. Aus diesen Zuchten stammten 21 Tiere, von denen 16 serologisch positiv und 6 Spirochätenträger waren. Von den 12 Tieren, die aus Zuchten ohne wilde Ratten herrührten, war demgegenüber nur eins serologisch positiv und 2 waren Dauerausscheider. Die aus diesen Befunden abgeleitete Vermutung, daß die an sich wohl meist spirochätenfreien Zuchten weißer Ratten durch wilde Ratten auf natürlichem Wege infiziert werden können, hat durch ad hoc angestellte Versuche bestätigt werden können (UHLENHUTH und ZIMMERMANN).

Um festzustellen, ob eine Infektion unter den Ratten sich *spontan* ausbreitet, wurde an grauen und weißen Ratten je ein Kolonievversuch mit serologisch-positiven und -negativen Tieren, die vorher längere Zeit getrennt gewesen waren, durchgeführt. 13 wilde Ratten, von denen 7 serologisch-positiv und 6 negativ waren, wurden zusammengesetzt. Nach 4 und 6 Wochen wurde je eine negative Ratte positiv; die restlichen 4 negativen Tiere blieben innerhalb von $10\frac{1}{2}$ Wochen negativ. Bei der Verimpfung der Nieren auf Meerschweinchen stellten sich alle 9 serologisch-positiven Ratten als Spirochätenträger heraus. Der mit zahmen Ratten angesetzte Versuch nahm einen ganz ähnlichen Verlauf. 6 serologisch negative zahme Ratten wurden mit 3 positiven zusammengesetzt. Nach 5 Wochen waren 4 Tiere positiv und 5 negativ; nach 10 Wochen war derselbe Befund zu erheben.

Die beiden Versuche haben gezeigt, daß eine Infektion der Ratten auf natürlichem Wege tatsächlich stattfindet. Nicht minder wichtig ist aber die Erkenntnis, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen wilden (grauen) und zahmen (weißen) Ratten offenbar nicht vorhanden ist, daß also eine Infektionsgefahr für den Menschen auch von der zahmen Ratte ausgehen kann.

Bei dieser Sachlage ist die Aufklärung folgenden Falles durch die gleichen Forscher kaum noch überraschend. Ein Laborant des Freiburger Pathologischen Instituts erkrankte im April 1932, etwa 8 Tage nach dem Biß einer weißen Ratte in den Finger, plötzlich aus vollem Wohlbefinden unter Schüttelfrost und Temperaturanstieg bis 41° mit sehr starken Kopf-, Kreuz- und Gliederschmerzen (namentlich in den Waden). Hinzu traten Verwirrungszustände, einmal Nasenbluten, und gegen Ende der ersten Krankheitswoche bildete sich ein mäßiger Ikterus aus. Leber und Milz boten keinen krankhaften Befund. Am 4. Krankheitstag kam es zu einer völligen Anurie, die innerhalb von 2 Tagen in einen präurämischen Zustand mit Reststickstoffwerten bis 135 mg% überging. Man hatte zwar an WEILSche Krankheit gedacht, doch lautete die klinische Diagnose auf eine „Nephritis acuta unbekannter Ätiologie“; die Rekonvaleszenz zog sich sehr lange hin. Als UHLENHUTH und ZIMMERMANN durch einen Zufall $1\frac{1}{4}$ Jahr nach der Erkrankung Kenntnis von diesem Patienten erhielten, konnten sie den damaligen Verdacht auf WEILSche Krankheit durch serologische Untersuchung im Agglutinations-Lysis-Versuch unzweideutig sichern. Der Titer gegen einen typischen Weilstamm lag bei 1:10000, die Erkrankung konnte also noch nicht lange zurückliegen. Überdies ließ sich eine andere Infektionsquelle als der Rattenbiß ausschließen.

Drei weitere Fälle von Weilinfektion in Laboratorien, die auf *weiße Ratten* zurückzuführen waren, hat BLUMENBERG 1937 geschildert. Der 1. Fall betraf einen 63jährigen Diener am Breslauer Anatomischen Institut, der im Sommer 1936 plötzlich mit Schüttelfrost,

Fieber und heftigen Wadenschmerzen erkrankt war. Am 5. Krankheitstag hatte sich bei gleichzeitigem Rückgang des Fiebers eine Gelbsucht zunehmender Intensität eingestellt, zu der sich am 7. Tag Anurie und Singultus gesellte. Nach Verschlimmerung des Allgemeinbefindens trat 2 Tage später der Tod ein. Der Tierversuch mit Blut, das am 9. Krankheitstag dem bereits moribunden Patienten eine halbe Stunde ante exitum entnommen war, fiel erwartungsgemäß negativ aus. Auffallenderweise ergab auch die Komplementbindungsreaktion und die Agglutinationsprobe einen negativen Befund. Trotzdem ist, wie das Sektionsprotokoll zeigt, an dem Vorliegen einer WEILSchen Krankheit nicht zu zweifeln. Neben entsprechenden Veränderungen in Leber und Nieren fand sich die für den infektiösen Ikterus charakteristische Pachymeningitis haemorrhagica. Bei der histologischen Untersuchung der Nieren ließen sich in den gewundenen Harnkanälchen auf der Oberfläche der Epithelien in Nestern angeordnete typische Weilsprochäten nachweisen.

9 Tage später erkrankte der 26jährige Heizer, der die Vertretung seines Arbeitskameraden übernommen hatte, unter ähnlichen Erscheinungen. Der am 5. Krankheitstage mit Citratblut angesetzte Meerschweinchenversuch fiel positiv aus; ebenso gelang der Nachweis von Weilsprochäten im Blut durch die gleichzeitig angelegte Kultur. Auch die serologischen Reaktionen lieferten vom 8. Tage ab positive Ergebnisse.

Der 24jährige Bruder dieses Patienten, der als Institutsdiener am pathologisch-anatomischen Institut beschäftigt war, erkrankte ungefähr zur gleichen Zeit mit Schüttelfrost, hohem etwa 4 Tage anhaltenden Fieber und starken Kopf- und Wadenschmerzen. Der Kassenarzt stellte die Diagnose Grippe, behandelte entsprechend, und nach 14 Tagen fühlte sich der Patient leidlich gesund, klagte aber noch über ein ihm unerklärliches Schwächegefühl und über starke Wadenschmerzen. Die nunmehr vorgenommene Agglutination mit Weilsprochäten ergab einen Titer von 1:5120, die Komplementbindungsreaktion einen solchen von 1:6400.

Die Vermutung, daß zwischen diesen 3 Krankheitsfällen und den Ratten des anatomischen Instituts Zusammenhänge bestehen müßten, wurde zur Gewißheit, als die Untersuchungsbefunde von 4 Ratten verschiedenen Alters vorlagen. Die Züchtungsversuche aus Blut waren jedesmal, die aus Urin und aus Nierenemulsion je einmal erfolgreich. Die Identität der morphologisch typischen Spirochäten mit der *Sp. icterogenes* wurde durch den Meerschweinchenversuch unter Beweis gestellt. Weitere Tiere konnten nicht untersucht werden, weil unmittelbar nach Bekanntgabe der Befunde der gesamte Bestand durch Gift getötet wurde. Da die aus rund 80 Tieren bestehende Zucht ein buntscheckiges Bastardvolk darstellte, läßt sich die Epizootie unter den Ratten zwanglos auf die Einschleppung durch wilde Ratten zurückführen.

Eine ganz ähnliche Beobachtung hat KORTHOFF (1937) mitgeteilt. Auch hier handelte es sich um einen Tierpfleger (21jährig), der wegen Weilverdachts in die Leidener Medizinische Klinik aufgenommen war. Die Diagnose wurde durch Agglutination (1:40000 am 21. Krankheitstag) bestätigt. Da der Patient einen großen Bestand von zahmen Ratten zu versorgen gehabt hatte, wurde hier die Infektionsquelle vermutet. Durch entsprechende Untersuchungen konnte ermittelt werden, daß eine der 3 verschiedenen, räumlich getrennten Zuchten infiziert war (Agglutinationstiter bis 1:64000); aus den Nieren von 12 Ratten gelang die Kultur der Weilsprochäte, während die Verimpfung von Nierenemulsion auf Meerschweinchen negative Resultate zeitigte. Obwohl ein nachweisbarer Kontakt der zahmen Ratten mit wilden Artgenossen nicht stattgefunden hatte, hält es KORTHOFF für möglich, daß der Infektionsstoff durch wilde Ratten zu den Zuchttieren eingeschleppt war.

Im Anschluß an die Mitteilung von BLUMENBERG hat ROELKE über die Weilerkrankung eines Heidelberger Medizinalpraktikanten, der seit einem halben Jahr Stoffwechseluntersuchungen mit Urin von weißen Ratten ausgeführt hatte, berichtet. Der Patient hatte beim Pipettieren mehrfach Rattenharn in den Mund bekommen. Daß hier die Infektionsquelle lag, bestätigte die Untersuchung von 6 Ratten, mit denen der Erkrankte gearbeitet hatte. In 2 Fällen glückte der Nachweis beweglicher Leptospiren im Quetschsaft der Nieren, 4mal fiel die Komplementbindung positiv aus.

Einen weiteren Fall WEILScher Krankheit, der auf das Arbeiten mit zahmen Ratten zurückzuführen war, hat ROELKE 1934 in Kiel beobachtet. SCHLOSSBERGER sind 1937 vier tödlich endigende Infektionen bekannt geworden; sie hatten sich sämtlich in Laboratorien ereignet, in denen nicht über WEILSche Krankheit, sondern über Rattentumoren gearbeitet wurde. WELCKER (1938) hat über weitere 6 Fälle berichtet, die ausnahmslos auf zahme Laboratoriumsratten zurückzuführen waren.

Alle diese Beobachtungen zeigen die Größe der auch von zahmen Ratten ausgehenden Gefahr. Wie hoch diese Infektionsquelle seitens der Gesundheitsbehörde eingeschätzt wird, lehrt der Runderlaß des Reichs- und Preußischen Ministers des Innern vom 22. August 1936. (Näheres s. V, 5 Seltene Infektionsquellen).

Aus dem in den Ratten gelegenen Virusreservoir wird so die menschliche Seuche gewissermaßen dauernd gespeist. Die Weilerkrankungen des Menschen sind — wenigstens in ihrer überwiegenden Mehrzahl — nur die Ausläufer einer unter den Ratten stark verbreiteten Enzootie, die als solche nicht in Erscheinung tritt, sondern latent bleibt. Bestimmend für die Seuchenlage ist weniger die Häufigkeit des Reservoirs an sich, als vielmehr die Enge der Vergesellschaftung mit dem Menschen (MARTINI).

2. Die Rolle der Ratten bei den Infektionen durch Wasser, Schlamm und Nahrungsmittel.

Während dem unmittelbaren Kontakt mit Ratten recht häufig die Infektion folgt, führt spirochätenhaltiges Wasser nur verhältnismäßig selten zur Erkrankung. Der Grund dafür liegt anscheinend in der Menge des Infektionsstoffes, der durch Wasser derart verdünnt wird, daß die Infektion sehr vom Zufall abhängt. Dabei ist bereits die naheliegende Annahme als zutreffend unterstellt, daß Ratten vorhanden sind, die mit ihrem Harn Spirochäten ins Wasser entleeren. Diese — dem Bereich des Hypothetischen entrückte — Annahme fällt mit der Tatsache zusammen, daß Ratten sich mit besonderer Vorliebe an Gewässern, die mit organischem Material verunreinigt sind, aufhalten. Der Kreis schließt sich mit der Feststellung, daß derartige Gewässer durch eine geeignete Protozoen- und Protophytensymbiose bei einer P_H zwischen 7,3 und 8 den Spirochäten optimale Lebensbedingungen bieten (ZUELZER). Neben dem Grade der Verseuchung des Wassers muß die Virulenz der Spirochäten berücksichtigt werden, die möglicherweise durch die Bedingungen der Umwelt eine Einbuße erleidet (UHLENHUTH); hinzu treten dispositionelle Faktoren allgemeiner oder lokaler Art.

Es ist natürlich auffallend, daß die älteren Berichte über Badeepidemien jeden Hinweis auf eine Rattenplage vermissen lassen. Bei der Hildesheimer Militärepidemie des Jahres 1911 haben HECKER und OTTO zwar die Möglichkeit einer Infektion durch verunreinigtes Badewasser durchaus ins Auge gefaßt; in ihrer Mitteilung ist auch nebensächlich vermerkt, daß eine Verunreinigung des Flußwassers durch einen 150 m oberhalb der Badeanstalt einmündenden Graben, der die Abwässer einer 0,5 km entfernten *Hundeabdeckerei* der Innerste zuführte, stattfand. Der Gedanke, daß den zweifellos dort lebenden Ratten eine epidemiologische Bedeutung gebühre, ist den Autoren nicht gekommen. Wenn man heute in der Schilderung liest, daß die Badeanstalt in einer „von Sumpfpflanzen dicht bestandenen, feuchten Niederung“ lag und in unmittelbarer Nähe Weidenpflanzungen, „die zum Teil dschungelartig von kleinen Gräben durchzogen waren“, vorhanden waren, dann heißt das nichts anderes, als daß die örtlichen Verhältnisse geradezu ein Eldorado für die Ratten und auch für die Spirochäten dargestellt haben.

Während damals noch nichts über die Ätiologie der WEILSchen Krankheit bekannt war, fällt die von KÖRNER (1925) beschriebene Badeepidemie, die im Juli und August des Jahres 1924 unter den Zöglingen der Polizeischule in Burg herrschte, in eine Zeit, in der die verhängnisvolle Rolle der Ratten als Träger und Ausscheider virulenter Weilsprochäten schon zur Evidenz erwiesen war. KÖRNER hat gleichwohl die Möglichkeit, daß Ratten als Überträger in Frage

kämen, ausdrücklich abgelehnt. „Ratten und anderes Ungeziefer *innerhalb der Polizeischule* (im Original nicht gesperrt) kamen als Überträger auch nicht in Frage“. Es ist also anscheinend an Ratten *außerhalb* der Schule garnicht gedacht worden. KÖRNER beschreibt aber die Lage der Badeanstalt als in sumpfigem Gelände befindlich und meint, daß durch Aufwühlen des schlammigen Bodens durch die zahlreichen Nichtschwimmer eine besonders günstige Infektionsgelegenheit geboten gewesen sei. Wird noch hinzugefügt, daß beide Epidemien schlagartig zum Stillstand kamen, als das Baden in den betreffenden Anstalten unterblieb, dann klären sich die Beziehungen des Wassers zu den Erkrankungen durchaus zufriedenstellend. Sie sind genau so eindeutig und keine anderen, wie bei den später beschriebenen, epidemisch oder sporadisch aufgetretenen Fällen.

HULSHOFF POL und ANEMAET haben 1931 bei einer in der holländischen Stadt Gouda herrschenden Epidemie feststellen können, daß *alle* erkrankten Personen die Schwimmanstalt des Orts besucht hatten. Die weiteren Ermittlungen ergaben, daß die in unmittelbarer Nähe der Anstalt gefangenen Ratten Spirochäten-träger waren. Nachdem das Bad instand gesetzt, für das Fernbleiben der Ratten gesorgt und das Wasser gechlort war, trat kein Erkrankungsfall mehr auf.

Über eine Sommerepidemie größeren Umfangs (184 Erkrankte), die sich gleichfalls in den Niederlanden abspielte, hat JITTA (1932) sein Urteil dahin abgegeben, daß die Infektion wahrscheinlich beim Baden in Flüssen und Kanälen erfolgt sei. In den fraglichen Gebieten wurden massenhaft Ratten mit Weilspirochäten ermittelt. Von 47 zur gleichen Zeit in Dordrecht registrierten Fällen setzt ROMIJN 34 auf das Konto von zwei Schwimmanstalten; unter insgesamt 234 Weilerkrankungen der Jahre 1924—1932 waren mehr als die Hälfte (128) durch Baden und Schwimmen, etwa 13 % durch Arbeiten am Wasser bedingt. ROMIJN schildert die Wasserwege in und um Dordrecht als gute Zufluchtsorte für Ratten und berechnet, daß ein Krankheitsfall auf 7075 genommene Bäder entfällt.

Im Rahmen der im August 1932 in Düsseldorf beobachteten und von HOESCH beschriebenen kleinen Weilepidemie erkrankten ausschließlich Personen, die kurz vorher im Rhein oder seinen Nebenflüssen gebadet hatten. Alle Patienten gaben an, beim Springen und Tauchen schlammhaltiges Wasser verschluckt zu haben. Bemerkenswert ist die auffallend kurze Inkubationszeit bei einem Kranken, der beim Tauchen mit dem Kopf im Schlamm stecken geblieben war; er erkrankte schon am gleichen Tage.

Da in der Mitteilung von HOESCH vorwiegend klinische Gesichtspunkte behandelt worden sind, darf es nicht wundernehmen, daß ein direkter Hinweis auf die Ratten als primäre Infektionsquelle fehlt. Das gleiche gilt für die von KADANER und CORTI (1933) beschriebene 16 Fälle umfassende Epidemie in Stanleyville. 15 der Erkrankten hatten in einem Schwimmbad, der 16. häufig in einem Flusse der Umgebung gebadet.

Diese spärlichen Mitteilungen über das en- bzw. epidemische Auftreten der WEILSchen Krankheit werden durch verhältnismäßig zahlreiche Beobachtungen sporadischer Fälle mit der gleichen Infektionsquelle ergänzt. Fünf von UHLENHUTH und ZIMMERMANN in der Zeit von 1928 bis 1932 serologisch geklärte Erkrankungen betrafen jüngere Leute aus Frankfurt, die alle viel im Main gebadet hatten. Von 4 der Erkrankten war stets der gleiche von Ratten bevölkerte Badeplatz benutzt worden.

Bei 47 in den Jahren 1927—1932 in Hamburg bekannt gewordenen WEIL-fällen hatte, wie KISTER mitteilt, die Infektion fast ausschließlich in Freibädern stattgefunden und war durch die ständig sich vermehrenden Ratten vermittelt

worden. Bis zum Jahre 1935 hatte sich die Zahl der Hamburger Fälle auf 77 erhöht. Nach HEGLER war 56mal eine Infektion beim Baden wahrscheinlich, bei 8 eine Infektion im Siel sicher, bei 3 war ein Fall ins Wasser unmittelbar vorausgegangen.

Der Zusammenhang mit Ratten ist zwar in der von CHODZKO (1937) verfaßten Übersicht über Weilerkrankungen in Polen nicht ausdrücklich betont; die Angabe, daß 9 von 15 Erkrankten in der Weichsel gebadet hatten, läßt aber auch hier auf die gleiche Ansteckungsquelle schließen.

Kasuistisches Interesse besitzen die von CLEYNDERT (1927), BIJL und KORTHOFF (1930), COCHEZ und FICHET (1933), KRAUSE und WILKEN (1934), NEALE (1935), BARROS (1935), MARIE und GABRIEL (1935) beschriebenen Einzelfälle. Sie gleichen denen, die heute wohl in jedem Hygienischen Institut hin und wieder während der Sommermonate aufgedeckt werden, ohne daß eine Veröffentlichung für notwendig gehalten wird. Ihre Zahl wird einzig und allein bestimmt durch die diagnostischen Fähigkeiten des einsendenden Arztes. Wenn die Beobachtung LENDRUMS (1936) — schwere Weilerkrankung eines 17jährigen Knaben, der sich beim Baden durch einen Splitter verletzt hatte — besonders herausgestellt wird, so deswegen, weil ein ganz ähnlich gelagerter Fall jüngst bei uns mit den üblichen Methoden als echte Weilerkrankung erkannt worden ist.

Es handelte sich um einen 29jährigen Oberleutnant, der Mitte Juli 1938 bei einer militärischen Übung den Übergang seiner Truppe über die Oder zu leiten hatte. Beim Versuch, vom Ufer in ein Boot zu gelangen, rutschte der mit Badehose Bekleidete aus und fiel mit aller Wucht auf einen am Grunde des Flusses befindlichen Stein. Die Folge des Sturzes war eine vorwiegend stumpfe Weichteilverletzung in der rechten Leistengegend mit Schwellung, leichter Hämatombildung und oberflächlicher Hautabschürfung von Handtellergröße, in deren unterem Bereich eine kleine Wunde (1 cm lang) mit schmierigen und zerfetzten Hauträndern lag. Äußerste Schmerzhaftigkeit der betroffenen Gegend. Die sofort vorgenommene exakte Wundtoilette (Prof. BAUER) bestätigte die Vermutung, daß es sich um eine stark verschmutzte in die Tiefe gehende Wunde handelte („als wenn der Schmutz durch den stumpfen Aufschlag einmassiert worden ist“). Nach genauester Entfernung alles zerfetzten und verschmutzten Gewebes war die Wunde als „ideal sauber anzunehmen“ und verheilte gut. 14 Tage später trat ziemlich plötzlich ein hochtoxisches Krankheitsbild mit starker Nierenschädigung, Leberschädigung und geringem Ikterus auf, das klinisch und serologisch als WEILSche Krankheit identifiziert wurde. Spezifische Behandlung mit Weils serum, Ausgang in Heilung (Krankengeschichte von Prof. GUTZEIT).

Hierher gehören weiterhin die zahlreichen, mit dem Bericht von STIRL (1889) beginnenden Beschreibungen von Weilerkrankungen im Anschluß an einen Sturz — Unfälle oder Selbstmordversuche — in mehr oder weniger unreinigtes Wasser. Von ihnen sind die folgenden neueren Datums:

Der von LAVERGNE (1928) mitgeteilte Fall bezieht sich auf einen Mann, der beim Sturz in eine häufig von Ratten aufgesuchte Grube eine Kopfwunde davon getragen hatte; 16 Tage später kam die klassische Spirochätose zum Ausbruch. In den von KRAUSE und WILKEN (1934) erhobenen Anamnesen ist einmal die Rede von einem Bauern aus der Umgebung Freiburgs, der in eine Jauchegrube gefallen, ein anderes Mal von einem 73jährigen Gärtner, der in angetrunkenem Zustand in einen Wassergraben gestürzt war. Aus den Krankengeschichten HEGLERS (1933) mag die Weilerkrankung eines 48jährigen Spediteurs, der in berauschem Zustand in ein Hamburger Fleet fiel und am 30. Krankheitstage starb, Erwähnung finden. Unter den bereits erwähnten von ROMIJN (1932) zusammengestellten Fällen waren 44 = 14,5% durch Sturz ins Kanalwasser veranlaßt. SCHÜFFNERS (1930) Ermittlungen bei 47 Weilinfektionen ergaben 21mal in der Vorgeschichte einen Sturz in Grachten oder Kanäle. „Bei allen war die Berührung mit dem Wasser eine sehr intensive, es wurde viel Wasser geschluckt und aspiriert und dadurch eine breite Berührungsfläche mit den Schleimhäuten geschaffen“. Um

einen tieferen Einblick in die Zusammenhänge zu gewinnen, setzte sich SCHÜFFNER mit dem Amsterdamer Gesundheitsdienst in Verbindung und erhielt nun von jedem Unfall, bei dem die Gefahr des Ertrinkens bestanden hatte, Kenntnis. Auf diese Weise sind von April 1928 bis Juli 1929 135 Personen gemeldet worden. Nicht ein einziges Mal hatte sich eine Weilerkrankung eingestellt! SCHÜFFNER macht aus seinem Erstaunen über dies überraschende Resultat kein Hehl und folgert, daß schon ein *sehr großer Zufall* walten muß, wenn ein Wasserunfall zugleich Gelegenheit zur Infektion geben soll.

Als natürlichste und einfachste Erklärung kommt, wie auch UHLENHUTH und SCHÜFFNER meinen, nur die folgende in Betracht: Der Fall ins Wasser muß an einer Stelle erfolgt sein, wo zufällig kurz vorher eine Ratte ihren infektiösen Harn deponiert hat. Gleichzeitig muß Gelegenheit bestanden haben, die hochvirulenten Spirochäten aufzunehmen. Möglicherweise wird auch durch den Shock die Resistenz verringert (SCHÜFFNER).

Der *Beweis* für die Richtigkeit der gegebenen Erklärung wird durch den Ausfall entsprechender Tierversuche geliefert. APPELMAN (1934) brachte zur Isolierung der Spirochäten aus verdächtigem Wasser 200 g schwere Meerschweinchen, deren Bauchhaut enthaart und skarifiziert war, für eine Stunde in ein Gefäß mit dem zu untersuchenden, auf 30° angewärmten Wasser, das den Tieren bis an die Flanken reichte. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Tiere, ohne abgetrocknet zu werden, so lange in einen erwärmten Käfig gesetzt, bis sie ganz trocken waren. Bei Zufügung von 100000 Weilspirochäten zu 3 l Leitungswasser erkrankten 4 von 5 Meerschweinchen, bei Zusatz von 12000 Spirochäten eines. Aus diesem Zahlenverhältnis leitet APPELMAN den Schluß ab, daß die Isolierung der Spirochäten gelingt, wenn die Konzentration 1 Spirochäte auf 3 ccm Wasser beträgt.

Diese Versuche boten APPELMAN und VAN THIEL (1935) die Basis, um die Sp. icterogenes aus normalem Wasser zu gewinnen. Wasser aus einem Graben, in dessen Nähe sich viele Ratten aufhielten, wurde mehrere Male untersucht mit dem Erfolg, daß anfänglich alle drei gebadeten Meerschweinchen die WEILSche Krankheit bekamen. Für ein späteres negatives Resultat wird die Ursache darin vermutet, daß die Ratten durch Bauarbeiten am Ufer des Grabens vertrieben waren. Auch im Kanalwasser aus Leiden gelang der Spirochätennachweis. Da nur eines von zehn Meerschweinchen nach langer Inkubation (11 Tage) krank wurde, waren in dem Kanalwasser also nur wenig Spirochäten vorhanden. SCHÜFFNER (1934) verfügt über analoge Ergebnisse.

Die von UHLENHUTH, HEGLER und anderen Autoren gestellte Forderung, jedes fieberhafte Krankheitsbild, welches sich nach Baden in nicht einwandfreien Gewässern, nach einem Sturz in verschmutztes Wasser, nach Arbeiten in Entwässerungsanlagen, Sielen und Kanälen oder nach sonstigem längeren Kontakt mit verunreinigtem Wasser einstellt, als weilverdächtig anzusehen, ist Wort für Wort zu unterschreiben. Macht sie sich die Gesamtheit der Ärzte zu eigen und veranlaßt auch bei leichtem, insbesondere ikterusfreien Verlauf die notwendigen serologischen Untersuchungen, dann kann ein Emporschnellen der Erkrankungsziffern nicht mehr wundernehmen. Daß dieses Postulat aber noch weit von der Erfüllung entfernt ist, geht aus den Anamnesen von 27 Fällen, die HEGLER (1934) auf Grund eigener klinischer Beobachtungen zusammengestellt hat, überzeugend hervor. Nicht weniger als 19mal wußten die betreffenden Patienten von einem der oben erwähnten Vorkommnisse zu berichten, nur ein einziges Mal erfolgte die Einweisung ins Krankenhaus unter der Diagnose „Morbus Weil“.

Was die regionäre Verteilung der Krankheitsfälle angeht, so haben die holländischen Autoren immer wieder bestätigt gefunden, daß nicht alle Wässer gleich gefährlich sind. An Hand sorgfältiger statistischer Erhebungen gibt SCHÜFFNER folgende sehr bezeichnende Infektionsindices an: Von 332 Personen, die in eine Gracht gefallen und meist in ein Krankenhaus aufgenommen

waren, erkrankten 5 (1:66); von 634 anderen, die nach polizeilicher Mitteilung den gleichen Unfall erlitten hatten, wurden 8 (1:80) mit Erfolg infiziert. Beim Baden und Schwimmen fiel der Index in Dordrecht 1932 auf 1:6000, in Rotterdam auf 1:23000, in Amsterdam auf 1:62000, in anderen Gegenden Hollands wahrscheinlich auf mehr als 1:100000. Stets war die mehr oder weniger aufdringliche Anwesenheit von Ratten (in Verbindung mit dem Säuregrad und dem Salzgehalt des Wassers) bestimmend für die Größe der Gefahr. SCHÜFFNER sieht gerade diesen Umstand als absolut maßgebend an und lehnt deswegen jede Beteiligung der ubiquitären Wasserspirochäten (Sp. pseudoict.) auf das entschiedenste ab.

Anhangsweise sei vermerkt, daß nach den Erfahrungen von WIRTH (1937) auch bei der Stuttgarter Hundeseuche vielfach ein Zusammenhang mit dem Baden der Tiere in stehenden Gewässern nachzuweisen ist.

Neben diesen im Anschluß an freiwillige oder unfreiwillige Bäder erfolgten Infektionen verdienen diejenigen besondere Aufmerksamkeit, bei denen offenbar das *Trinkwasser* die Infektionsquelle gewesen ist.

Als erste klassische Trinkwasserepidemie WEILScher Krankheit ist die im August und September 1931 in Lissabon beobachtete anzusprechen. In einer eingehenden Schilderung weist JORGE besonders auf das explosionsartige Auftreten und das rasche Wiedererlöschen hin. Im ganzen sind 126 Erkrankungen bekannt geworden, doch rechnet JORGE mit einer in Wirklichkeit noch höheren Frequenz, da keine Anzeigepflicht bestand und leichtere Fälle wahrscheinlich der Diagnose entgingen.

Etwa in der Mitte des von der Epidemie befallenen Stadtteils befand sich ein öffentlicher Brunnen („Engelsquelle“), dessen Wasser als besonders wohlschmeckend, gesund und heilkräftig galt und deswegen von einem Großteil der Bevölkerung dem gechlorten Leitungswasser vorgezogen wurde. Die Untersuchung der Wasserzuführung ergab, daß eine Verbindung mit den von Ratten bevölkerten Schwemmkänen bestand. Da die Kranken weder gebadet hatten noch sonst mit verschmutztem Wasser in Berührung gekommen waren, konnte nur das Wasser des Brunnens als Infektionsquelle angesehen werden. Die Epidemie, der fünf sporadische Fälle vorausgegangen waren, erlosch mit der Schließung des Brunnens.

Auch die in Hermopolis, der Hauptstadt der griechischen Insel Syra, im Spätsommer 1931 aufgetretenen Krankheitsfälle, die zunächst als ikterische Form der Dengue imponiert hatten, haben sich durch entsprechende Nachforschungen und Untersuchungen (PETZETAKIS) als durch Trinkwasser vermittelte Weilinfektionen herausgestellt. Der Wasserbehälter eines in der Nähe des Hafens gelegenen Kaffeehauses war durch Ratten eines benachbarten, mit Unrat gefüllten unterirdischen Ganges infiziert worden. Die Reaktion des Wassers (p_H 7,4) hatte den Spirochäten günstige Lebensmöglichkeiten geboten. Alle Erkrankten, ausnahmslos Männer, hatten dort verkehrt; weibliche Personen, die das Café nicht zu besuchen pflegten, blieben von der Infektion verschont. Auch der Besitzer und die beiden Angestellten gehörten zu den 31 (nach COPANARIS 43) Erkrankten.

Daß auch das Wasser der vielfach noch in Griechenland vorhandenen unterirdischen Zisternen infektiös sein kann, lehren Tierversuche von CAMINOPETROS. In zwei solchen Zisternen gelang der Nachweis von für Meerschweinchen und Ziesel pathogenen Spirochäten vom Icterogenestyp. COPANARIS hat anläßlich einer Häufung von Weilerkrankungen in drei Dörfern der griechischen Insel Kephallonia im März 1932 die Infektionsquelle für die 29 Erkrankten in schlecht geschützten und Ratten leicht zugänglichen Zisternen, deren Wasser den Bewohnern zu Wirtschaftszwecken diente, ermitteln können.

GARANGHI (zit. nach UHLENHUTH) hat in Ungarn 17 Weilerkrankungen bei Schulkindern gesehen, die Wasser aus einem verschmutzten Behälter getrunken hatten. EHLER (1938) beschreibt eine Epidemie, die im Laufe des Sommers 1936 in einem Ort der Tschechoslowakei 29 Schulkinder und 2 Erwachsene (den Oberlehrer und einen bei ihm wohnende Ingenieur) befallen hatte. Die angestellten Ermittlungen ergaben, daß massenhaft Ratten im Ort vorhanden waren und daß eine Verbindung des Schulbrunnens durch ein Überlaufrohr mit einem durch häusliche Abwässer verunreinigten Bach bestand. An den Ufern des Baches fielen zahlreiche Schlupfwinkel von Ratten und Wühlmäusen auf.

Zu der bereits an anderer Stelle (S. 196) zitierten Beobachtung M. ZUELZERS ist ergänzend nachzutragen, daß die gemeinsame Wasserquelle für die Bewohner ein ungenügend abgedeckter Pumpbrunnen war, in dessen nächster Umgebung 13 Rattenlöcher gezählt wurden. Die direkte mikroskopische Untersuchung des Wassers ergab außer Beggiatoafäden und Thiospirillen reichlich typische mesaprobe Organismen (Indikator für organische Verunreinigungen). Die mit dem Wasser geimpften Meerschweinchen blieben gesund; auf fast allen beimpften Eiagarplatten erschienen Spirochäten vom Ikerogenes-Typ. Übertragungen dieses Kulturmaterials auf Meerschweinchen blieben anfangs negativ; erst nach Monaten gelang die Gewinnung von zwei „Meerschweinchenpassage-Pumpenstämmen“, deren serologische Prüfung (durch SCHÜFFNER) Agglutination und Lysis mit dem sog. klassischen Weilstamm bis 1:30000 und Mitagglutination der *Sp. canicola* bis 1:1000 ergab.

Diesen „reinen“ Wasserinfektionen reihen sich diejenigen an, die eine örtliche Gebundenheit an Sümpfe, Siele, feuchte Kohlengruben, Schützengräben, Unterstände u. dgl. erkennen lassen. Soweit es notwendig erscheint, werden die erforderlichen Hinweise bei der Besprechung der WEILSchen Krankheit als Berufskrankheit erfolgen; im übrigen muß auf das Kapitel III verwiesen werden.

An der maßgebenden Beteiligung der Ratten bei der durch Wasser vermittelten Weilinfektion ist nach dem Gesagten kaum noch zu zweifeln. Immerhin darf nicht übersehen werden, daß die Frage, ob auch ohne Zwischenschaltung der Ratten Weilspirochäten *primär* im Wasser vorhanden sein können, noch nicht beantwortet ist und nach wie vor der Klärung harret. Es bleibt jene Lücke zu schließen, die schon während des Krieges UHLENHUTH und FROMME veranlaßt hat, dem etwaigen primären Vorkommen der *Spirochaeta icterogenes* in verunreinigtem Wasser nachzugehen. Weder die Entdeckung der *Sp. pseudoict.* noch die Feststellung ihres fast ubiquitären Vorkommens haben die epidemiologischen Erkenntnisse wesentlich zu fördern vermocht. Die Annahme, daß diese „Wasser-Weil-Spirochäten“ gefährliche Krankheitserreger sind, steht mit den Erfahrungen des täglichen Lebens in unüberbrückbarem Widerspruch und kann — wenigstens für europäische Verhältnisse — als endgültig widerlegt gelten. Andererseits muß die Möglichkeit einer Umwandlung der saprophytischen Wasserspirochäte in einen pathogenen Parasiten, sei es im Wasser oder Schlamm selbst, sei es im Körper der Ratte, zugegeben werden. Damit ist allerdings noch nichts über die Wahrscheinlichkeit oder die Häufigkeit einer solchen Variation ausgesagt. Die wenigen gelungenen, mit raffinierter Technik durchgeführten, im allgemeinen aber nicht reproduzierbaren Umwandlungsversuche sprechen vielmehr dafür, daß nur äußerst selten die Voraussetzungen für eine derartige Modifikation zusammentreffen und verwirklicht werden. Die Untersuchungen M. ZUELZERS haben den Beweis dafür erbracht, daß die Grundbedingungen für das Leben der Wasser- und Weilspirochäten die gleichen sind. Saure Gewässer (P_H unter 6,8) schließen die Anwesenheit beider Arten aus. Es ist also nicht überraschend, daß in Gegenden, deren fließende Gewässer in der Hauptsache sauer sind, die WEILSche Krankheit kaum vorkommt. Die

Beobachtungen von SARDJITO und ZUELZER (1929) auf Westjava und die gleichsinnigen von TAYLOR und GOYLE (1931) in einzelnen Bezirken der Andamanen haben das zur Genüge belegt. Auch der Salzgehalt des Wassers spielt epidemiologisch eine beachtenswerte Rolle. Nirgends sind nach dem Baden in Seewasser je Infektionen beobachtet worden. Wenn in Dänemark bisher keine Badefälle, die in allen anderen Ländern das Hauptkontingent der Weilerkrankungen bilden, bekannt geworden sind, so liegt das an der Gewohnheit der Einheimischen, das überall leicht erreichbare Meer zum Baden aufzusuchen; in Süßwasser wird dort nur relativ selten gebadet (ZUELZER). Vielleicht hängt auch die Seltenheit der Weilerkrankung in Amsterdam und ganz Nordholland und ihr häufigeres Vorkommen in den südlichen Landesteilen einschließlich Rotterdam mit dem höheren bzw. niedrigeren Salzgehalt des Wassers zusammen (UHLENHUTH).

Demgegenüber ist in Sumatra (Ostküste) und im südlichen Abschnitt der großen Insel der Südandamanen mit dem Mittelpunkt Port Blair, wo die Bedingungen für das Gedeihen der Spirochäten besonders günstige sind, die abortive Form der WEILSchen Krankheit in Gestalt des kurzfristigen Spirochätenfiebers außerordentlich stark verbreitet. Es handelt sich um ausgesprochene Bade- bzw. Wasserepidemien, bei denen nicht die Ratten, sondern lediglich das primär spirochätenhaltige Wasser und der feuchte Boden die ausschlaggebende Rolle spielen sollen (SARDJITO und ZUELZER, BAERMANN, TAYLOR und GOYLE, DINGER u. a.). In der Beweiskette der Identität der Wasserspirochäten mit den Erregern der WEILSchen Krankheit fehlt aber das letzte Glied. Es können sehr wohl die Wasserspirochäten sein, die in großen Mengen in einen besonders empfänglichen Organismus eindringend, nunmehr als Krankheitserreger wirksam werden. Was für die ungewöhnlichen tropischen Verhältnisse gilt oder möglich ist, trifft aber keinesfalls für Europa zu. Hier sind und bleiben es nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen die von der Ratte stammenden Spirochäten, die als ätiologischer Faktor der Wasserinfektion aufgefaßt werden müssen. Auch M. ZUELZER (1936) hat sich auf Grund ihrer in Dänemark ausgeführten Untersuchungen zu dem Standpunkt durchgerungen, daß „die im Wasser fast ubiquitären Spirochäten vom Icterogenes-Typ in bezug auf Weilinfectionen im allgemeinen als harmlos und unschädlich zu bezeichnen sind“. Stärkere Ansammlungen von Wasserspirochäten in nährstoffreichen Gewässern will ZUELZER dagegen stets als verdächtig gewertet wissen. Der von ihr aus der Epidemiologie des Typhus herangezogene Vergleich dürfte den tatsächlichen Verhältnissen weitgehend gerecht werden. Eine Häufung von Colibacillen ist stets als beachtenswertes Warnungssignal aufzufassen; es spricht nichts dagegen, den entsprechenden Indikator quantitativ für das Vorhandensein pathogener und virulenter Spirochäten zu verwenden.

Eine absolut gültige Wahrheit wird es in diesen Fragen kaum geben. Die Arbeitshypothese von dem primären Vorkommen der Weilsprochäten im Wasser ist zwar durch die empirisch und experimentell gewonnenen Erkenntnisse entwertet worden; die örtlich-zeitlichen Bedingungen des epidemischen Auftretens der WEILSchen Krankheit und das enge Verwandtschaftsverhältnis zwischen Weil- und Wasserspirochäten legen aber den Gedanken nahe, die lokalistische Lehre PETTENKOPFERS auf die Epidemiologie der WEILSchen Krankheit anzuwenden. Schon der zaghafteste Versuch ist zum Scheitern verurteilt. An dem überaus häufigen Vorkommen der Weilsprochäten im Körper und im Harn der Ratten ist nicht der geringste Zweifel mehr möglich. Es wäre eine mehr als gezwungene und an den Haaren herbeigezogene Konstruktion, wollte man an chemische Prozesse in einem

verunreinigten (sickenhaften) Boden denken, in deren Verlauf sich ein mit der Bodenluft in die Atmosphäre übergehendes und vom Menschen eingeatmetes Gift bilde, das seinerseits zufällig aufgenommene Wasserochäten modifiziere.

Nahrungsmittel als Infektionsquelle. Wenn auch die Nahrungsmittel gegenüber dem Wasser als Infektionsquelle völlig in den Hintergrund treten, so ist doch der Zusammenhang mit den Ratten gerade hier mit aller nur wünschenswerten Klarheit aufgezeigt. Das Schrifttum enthält nur zwei Angaben, die mit genügender Sicherheit verwertbar sind. Die erste stammt von JANBON, ERBER, SOLLIER und QUET (1937) und bezieht sich auf die Weilerkrankungen von 23 Bergarbeitern, deren Essen von zahlreichen Ratten angenagt und verschmutzt war. Die zweite Mitteilung ist im gleichen Jahr von VOGT veröffentlicht worden. Hier war die WEILsche Krankheit acht Tage nach dem Genuß von Schinken aufgetreten, der im Keller aufbewahrt und von Ratten angefressen und verunreinigt war (29jähr. Lehrer).

3. Andere Nagetiere als Spirochätenträger.

Die Vermutung, daß auch andere Nager, insbesondere Mäuse, latent mit Weilschpirochäten infiziert sein könnten, ist bereits 1916 von japanischen Forschern (MIYAYIMA, IDO, HOKI, ITO und WANI) geäußert und auch alsbald bestätigt worden. Die Häufigkeit dieses Spirochätenträgertums steht freilich hinter derjenigen bei Ratten ganz entschieden zurück. Zudem sind die Untersuchungsreihen zu spärlich und zu klein, um epidemiologisch verwertbare Daten daraus abzuleiten. Während MIDDLETON (1929) 16 Hausmäuse und 2 Feldmäuse ergebnislos verarbeitete und es weder LOREY (1933) bei der Dunkelfelduntersuchung des Nierenbreies von 52 Haus- und Feldmäusen noch BESSEMANS und THIRY (1933) bei der Prüfung von 17 Hausmäusen gelang, auch nur ein einziges Mal Spirochäten aufzufinden, konnte WIRTH (1937) unter 45 Feldmäusen 6mal (13,3%) und unter 24 Hausmäusen 4mal (16,7%) positive Befunde verzeichnen. Gegenüber den Ratten besteht aber ein sehr bemerkenswerter Unterschied, der die Empfänglichkeit für die experimentelle Infektion betrifft. Mäuse können nicht nur durch Impfung zu Trägern und Dauerausscheidern gemacht werden (NICOLLE und LEBAILLY), sondern sind unter geeigneten Bedingungen auch in typischer Weise krank zu machen, d. h. es besteht entgegen der bisherigen Annahme bei ihnen keine natürliche Immunität gegenüber dem Infektionsstoff. In strengem Sinne ist sie allerdings auch bei Ratten, die, wenn auch nicht regelmäßig, durch sehr große Dosen unter typischen Erscheinungen zu töten sind, nicht vorhanden. In den einschlägigen Versuchen von PETZETAKIS (1933/34) erzeugten hohe Virusdosen (Aufschwemmungen innerer Organe infizierter Meerschweinchen) eine rasch zum Tode führende Septikämie, die keine Zeit zur Entwicklung eines Ikterus ließ; kleinere Dosen verursachten dagegen eine Spirochätose, die sich langsamer als beim Meerschweinchen mit Fieber und oft mit leichterem oder schwerem Ikterus entwickelte. THIRY und TIELLU (1933) sehen gleichfalls in der weißen Maus ein brauchbares Versuchstier für das Studium der WEILschen Krankheit, während von APPELMAN und VAN THIEL eine gewisse Einschränkung gemacht wird. Wollten die Forscher geringe Mengen eines avirulenten Weilstammes nachweisen, dann war die Maus ungeeignet; arbeiteten sie dagegen mit einem virulenten Stamm, dann ließen sich ganz kleine Mengen der *Sp. icterogenes* nachweisen. PACKCHANIAN (1937) hat die

Erfahrung gemacht, daß eine in Amerika heimische weißfüßige Mäuseart — deer-mouse — sehr empfänglich für die Spirochäten der WEILSchen Krankheit ist und ein nützliches diagnostisches Hilfsmittel darstellt.

Wenn hier Bedenken geäußert werden, diese Befunde zu verallgemeinern und für die praktische Untersuchungsmethodik zu übernehmen, so ist für diese kritische Einstellung zunächst der Umstand von Bedeutung, daß über die natürliche Durchseuchung der Mäusearten keine hinreichend genauen und zuverlässigen Unterlagen existieren. Die Möglichkeit, daß die Autoren einem Irrtum zum Opfer gefallen sind und — wenigstens zum Teil — nur ein Immunitätsphänomen beobachtet haben (Aktivierung bereits vorhandener Spirochäten durch eine Superinfektion), ist nicht von der Hand zu weisen. In diesem Sinne können vielleicht Befunde von DINGER und VERTSCHAFFELT (1930) verwertet werden, die bei der Nachprüfung der von BESSEMANS und THIRY stammenden Angaben, daß eine aus dem Genter Leitungswasser isolierte Spirochätenart hochpathogen für weiße Mäuse gewesen sei, erhoben worden sind. Trotz starker Dosen von Kulturmaterial dieser Spirochäten zeigten die geimpften Mäuse keine Erscheinungen der iktero-hämorrhagischen Spirochätose. Zur Erklärung dieses gegensätzlichen Versuchsausfalls wird angenommen, daß die Mäuse der belgischen Autoren bereits latent infiziert gewesen seien und die primär vorhandenen Keime unter dem Einfluß der experimentellen Infektion aggressive Eigenschaften angenommen hätten.

Ein einleuchtender Grund, das Meerschweinchen durch die weiße Maus als Versuchstier zu ersetzen, liegt nicht vor. Die hin und wieder bei Mäusen erhobenen positiven Spirochätenbefunde mahnen im Gegenteil zu größter Vorsicht.

Die von TROISIER und BOQUIEN (1930) gemachte Beobachtung einer Spontaninfektion beim Meerschweinchen ohne Vermittlung der Ratte geht nicht über den fraglichen Wert eines einmaligen Ereignisses hinaus. Die von den gleichen Autoren stammende Angabe, daß das Meerschweinchen eine gutartige abortive Spirochätose durchmachen und lange Zeit Keime beherbergen und ausscheiden könne, die in dem feuchten Nährboden des Käfigs wucherten und von hier aus auf andere Tiere übertragen würden, widerspricht allen Erfahrungen und ist mit größter Skepsis aufzunehmen. Dazu mahnt auch folgende Beobachtung: MASON (1937) sah unter einer frisch eingetroffenen Lieferung von Meerschweinchen ein Tier mit Gelbsucht, in dessen Leber und Nieren virulente Spirochäten vom Weiltyp nachgewiesen werden konnten. Die angestellten Ermittlungen ergaben, daß in dem Bestand des Händlers vor kurzem mehrere Meerschweinchen von Ratten getötet waren.

Es besteht keine Veranlassung, die Rolle der Mäuse als Infektionsquelle für den Menschen zu überschätzen. Im Vergleich zu der von Ratten ausgehenden Gefahr fällt sie gar nicht ins Gewicht. Die gesamte Weltliteratur enthält unseres Wissens nur eine einzige Mitteilung, die auf die Herkunft einer menschlichen Infektion von der Maus hindeutet. Es handelt sich um die von CATTANEO (1929) beschriebene Weilerkrankung eines 25jährigen Landwirts, der sich durch eine Wunde am Fuß mit dem Blut einer von ihm getöteten Maus infiziert hatte.

Den älteren Mitteilungen über die Empfänglichkeit von Murmeltieren und Hamstern ist eine von CAMINOPETROS (1932) veröffentlichte an die Seite zu stellen, in der auf die hohe Empfindlichkeit und die daraus resultierende gute Eignung des Ziesels (*Sperm. cit.*) für die experimentelle Infektion hingewiesen wird (vgl. S. 192).

4. Spirochätenträgertum und WEILSche Krankheit bei Hunden.

Die naheliegende Annahme, daß Katzen, die doch häufig mit Ratten und Mäusen in Berührung kommen, Spirochätenträger sein und für den Menschen, mit dem sie in Hausgemeinschaft leben, gefährlich werden können, hat durch künstliche Infektionsversuche kaum eine Stütze gefunden. Auch die Bemühungen, Spirochäten in den Organen der Tiere aufzufinden, sind nur außerordentlich selten erfolgreich gewesen. SCHMIDT (1936) hat die Nieren von 40 wegen verschiedener Krankheiten gestorbener oder getöteter Katzen histologisch (Levaditinfärbung) untersucht, ohne Spirochäten darstellen zu können.

WIRTH (1937) will bei einer Katze mit Ikterus gravis, die aber auch an einer Pseudotuberkulose der Leber und der Lungen gelitten hatte, einzelne, Leptospiren entsprechende Gebilde angetroffen und bei einem 3 Wochen alten, mit Reinkultur eines Rattenstammes infizierten Kätzchen nach 4 Wochen bei völliger Gesundheit Spirochäten im Harn und nach dem Tode in Nierenschnitten nachgewiesen haben.

Neben diese, bisher einzige positive Angabe des Schrifttums ist in jüngster Zeit eine neue Veröffentlichung von ESSEVELD und COLLIER (1938) (zit. nach WELCKER) getreten. MERTENS hatte 1937 aus dem Blut einer akut erkrankten und nach 3 Tagen gestorbenen Katze einen Spirochätenstamm gezüchtet, der sich im Tierversuch als dem klassischen Weiltyp zugehörig erwies. Daraufhin wurden weitere 226 Katzen und die Leichen spontan eingegangener Tiere untersucht. Die Sektionsbefunde waren nie typisch für WEILSche Krankheit, doch wurden aus den Nieren von 96 Katzen, und zwar nur aus erwachsenen, über 1,5 kg schweren Tieren, noch weitere 5 Stämme gezüchtet. Einer war ein klassischer Weilstamm, die übrigen gehörten dem sog. Bataviatyp an. Im Agglutinations-Lysis-Versuch wurde bei 42 von insgesamt 190 Katzenseren ein positiver Befund erhoben, und zwar wiederum fast ausschließlich bei Tieren über 1 kg.

Diese, zweifellos interessanten Ergebnisse sind für die deutschen Verhältnisse freilich in keiner Weise maßgebend. Praktisch kommt bei uns die Katze als Infektionsquelle für den Menschen kaum in Betracht.

Umso bemerkenswerter ist es, daß ein anderes Haustier, der Hund, dessen Zusammenleben mit dem Menschen eher enger ist, für Spirochäten des Weiltyps eine hohe Affinität zeigt. Bei Hunden jeden Alters kommen durch Spirochäten verursachte Krankheiten vor, die klinisch in recht verschiedenen Formen auftreten. WIRTH gibt etwa folgende Einteilung:

1. Das Krankheitsbild des infektiösen Ikterus entspricht der typischen WEILSchen Krankheit des Menschen. Es beginnt mit Fieber, das nach einigen Tagen wieder abfällt, und verläuft akut mit hochgradiger Mattigkeit, Erbrechen, verminderter Hautelastizität und schweren nephritischen Veränderungen. Etwa am 4. Tag stellt sich ein hochgradiger Ikterus mit allen seinen Folgen, mitunter Blutungen in der Haut und in den Schleimhäuten, ein. Wenige Tage später gehen die meisten Tiere zugrunde.

2. Häufiger als der gelbsüchtige Krankheitstyp ist der ohne Ikterus verlaufende, der unter verschiedenen Bezeichnungen (Hundepest, Hundetyphus, fièvre typhoïde, Gastroentérite hémorragique, black tongue, *Stuttgarter Hundeseuche*) vielfach beschrieben worden ist. Diese ikterusfreien Formen sind nach WIRTH dadurch ausgezeichnet, daß sie saisonmäßig, namentlich in den Monaten Oktober bis Januar in schweren Seuchengängen auftreten und eine bedeutend stärkere Beteiligung der männlichen Hunde als der weiblichen erkennen lassen. Die Verlaufsweise ist entweder akut oder chronisch. Die *akuten*, prognostisch ungünstigen Fälle sind durch eine kurze Fieberperiode, der ein zunehmendes Absinken der Temperatur bis unter den Norm folgt, charakterisiert. „Dabei tritt Erbrechen auf, verminderte Hautelastizität, übler Geruch aus dem Munde, Geschwüre in der Mundhöhle, auch gastroenteritische Erscheinungen verschiedener Art, blutige Stühle, Blutbrechen, Anurie oder Polyurie und Polydipsie“. WIRTH spricht weiter von schwersten Veränderungen im Harn und einer Steigerung des Harnstoffgehaltes des Blutes von 50 mg % bis auf 800 mg % und darüber (azotämische Urämie).

Die *chronische* Verlaufsart der Stuttgarter Hundeseuche bietet ein mehr oder weniger uncharakteristisches Krankheitsbild. „Die Tiere zeigen ein unbestimmtes Kränkeln, die Hautelastizität ist etwas vermindert, die Zunge vielleicht etwas dunkler von Farbe und trocken, das Durstgefühl und der Harnabsatz ist sehr stark vermehrt“. Die Harnveränderungen beschränken sich auf die Anwesenheit von Eiweiß und geringer Mengen patholo-

gischen Sediments. Nach einer Krankheitsdauer von einigen Wochen bis zu zwei Monaten tritt in der Mehrzahl der Fälle Genesung ein, doch kann die Spirochätenauscheidung noch monatelang andauern.

Außer diesen typischen Krankheitsbildern hat WIRTH vielfach solche gesehen, die in das angeführte Schema nicht hineinpassen. „Das Krankheitsbild des einzelnen Falles kann sehr vielgestaltig, oft uncharakteristisch sein. Ebenso ist der Charakter des Seuchenganges in klinischer Hinsicht in den verschiedenen Jahren sehr wechselvoll“. Vielleicht gibt es außerdem noch Fälle nicht leptospiralen Ursprungs, die klinisch nach Art der Stuttgarter Hundeseuche verlaufen (WIRTH, KING).

Für die Epidemiologie menschlicher Weilerkrankungen ist die Tatsache bedeutungsvoll, daß die Spirochätose beim Hund latent bleiben kann; die anscheinend völlig gesunden Tiere scheiden dann durch eine gewisse Zeit Spirochäten aus.

Diesen verschiedenen Krankheitsbildern entsprechen verschiedene Erreger (s. o.). Im allgemeinen wird, ohne daß eine strenge Gesetzmäßigkeit bestände, die ikterische Form durch die klassische Weilspirochäte hervorgerufen und befällt vor allem junge Tiere bis zu 3 Jahren; die gelbsuchtfreie, hauptsächlich als Nierenleiden mit Urämie verlaufende Form (St. H. S.) besitzt dagegen als ätiologischen Faktor die *Sp. canicola* und ist nicht an bestimmte Alterstufen gebunden (KLARENBEEK, SCHÜFFNER, WIRTH u. a.). Die Letalität ist nach den Erfahrungen SCHÜFFNERS in erster Linie abhängig vom Spirochätentyp; sie betrug (bis 1936) bei der Weilinfection 29%, bei der *Canicolainfection* 59%.

Für die experimentelle Forschung und die Diagnostik ist nach den von WIRTH gemachten Feststellungen am besten der junge Hund, der Saugwelpen, im Alter von einigen Tagen bis zu etwa 2 Monaten geeignet. Durch Nierenbrei von Hunden oder Ratten konnte WIRTH mit großer Regelmäßigkeit sowohl durch subcutane Injektion wie durch perorale Verabreichung bei den Welpen nach einer Inkubation von 7—18 Tagen das Krankheitsbild des *Icterus infectiosus* erzeugen. Nur ausnahmsweise wurde bei einem derartigen Infektionsversuch auch das Bild der chronischen, nach langer Zeit zum Tode führenden Leptospirose oder das Bild der anscheinend unschädlichen Leptospiurie beobachtet.

Bei jungen Meerschweinchen von etwa 100 g ließ sich sehr viel seltener eine tödliche Erkrankung auslösen. In der Regel blieben die Tiere anscheinend gesund oder sie kränkelten vorübergehend. Im Bauchpunktat war aber auch in diesen Fällen von 3.—4. Tage an regelmäßig der Spirochätennachweis möglich, im Blut nur gelegentlich.

Die systematischen Forschungen über die Ätiologie und Epidemiologie der WEILSchen Krankheit beim Hunde bzw. der Stuttgarter Hundeseuche setzen mit dem Jahre 1922 ein. LUCET hatte zwar schon 1910 im Darm eines der Erkrankung erlegenen Hundes zahlreiche gut bewegliche Spirochäten angetroffen und auch ihre Erregernatur in Erwägung gezogen, fand mit dieser Beobachtung aber keinen besonderen Widerhall. Zwölf Jahre später hat dann LUKĚŠ mit seinen Mitarbeitern in Brünn die bedeutsame Feststellung gemacht, daß in den Nieren (Lumina und Epithelien der Harnkanälchen) der an dieser Krankheit verendeten Hunde regelmäßig Spirochäten, vielfach in auffallend großer Menge, vorhanden waren. Die Bestätigung dieser Befunde hat nicht lange auf sich warten lassen. Zahlreiche Mitteilungen aus aller Welt sind seither erfolgt und haben zu der Erkenntnis geführt, daß die Krankheit über die ganze Erde verbreitet ist und in ihrer Häufigkeit die WEILSche Krankheit beim Menschen nicht unbedeutend übertrifft.

Über den epidemiologisch wichtigen Infektionsindex der Hunde haben zunächst Arbeiten holländischer Autoren, in denen auch die Frage der Typenverteilung behandelt worden ist, Aufschluß gegeben. KORTHOFF (1928) fand bei

13% sämtlicher Hunde (43) einen positiven Agglutinationstiter, besonders häufig bei den an Anämie, Nephritis und Ikterus leidenden, niemals bei ganz jungen Tieren.

Was die Typenverteilung angeht, so haben DHONT, KLARENBEK, SCHÜFFNER und VOET bei 50 im Jahre 1933 in der Klinik für kleine Haustiere in Utrecht festgestellten Fällen von Hundeleptospirose 17mal die klassische Weilspirochäte, 28mal die *Sp. canicola* angetroffen. In den fast stets akut verlaufenden Krankheitsfällen mit Ikterus fand sich ausnahmslos die klassische, in den Fällen mit Nierenerscheinungen dagegen in 90% die *Canicolaspirochäte*. In der ersten Gruppe betrug die Sterblichkeit 50%, in der zweiten 81%. VAN DER HOEDEN (1936) stellte mit dem Harn von 44 kranken Hunden die Agglutinationsreaktion an und will 28mal die Weilspirochäte, 16mal die *Canicola* identifiziert haben. Unter 17 von ESSEVELD (1937) geprüften Hundestämmen zeigten 6 den klassischen, 11 den *Canicolatyp*.

UHLENHUTH und ZIMMERMANN haben 1936 über die serologische Untersuchung von 90 Hundeseren, die zum größeren Teil aus Freiburg, zum kleineren aus Gießen, Berlin und Eystrup stammten, berichtet und in den einzelnen Gruppen positive Befunde zwischen 12 und 22% erhalten. Da die Seren ebenso wie die von KORTHOFF geprüften von Tieren herrührten, die wegen irgend einer Erkrankung in tierärztlicher Behandlung waren, halten es die Autoren für möglich, daß das Ergebnis kein ganz richtiges Bild von der Verbreitung der Spirochäteninfektion unter Hunden im allgemeinen gibt, meinen aber, daß die tatsächlichen Verhältnisse keine starken Abweichungen zeigen. Junge Hunde erwiesen sich nur selten (1 von 90) infiziert, dann stieg die Häufigkeit rasch an und erreichte zwischen dem 3. und 6. Jahr das Maximum. Nach dem 6. Jahr wurden die positiven Befunde wieder seltener, offenbar deswegen, weil die in jüngerem Alter infizierten Tiere entweder akut oder durch chronische Schädigungen der Infektion erliegen.

Auch die von REITANO und MOSELLI (1935) untersuchten 112 herrenlos umherstreifenden Hunde (Rom) stellen eine gewisse „Auslese“ dar; nur 4mal konnten spezifische Antikörper für Spirochäten mit Titerwerten von 200—1000 festgestellt werden.

Das Material von DAHR (1937) umfaßt 200 Hunde aus der amtlichen Kölner Tiertötungsstelle, deren Blut unmittelbar nach der Tötung durch Herzpunktion gewonnen war. Die mit Hilfe der Agglutination-Lysis-Probe und der Komplementbindungsreaktion gewonnenen Resultate bleiben mit 7 positiven Weil- und 9 positiven *Canicola*-Typen zwar hinter denen der Voruntersucher zurück, sind aber dadurch besonders wertvoll, daß die Zusammensetzung des Untersuchungsmaterials ziemlich gleichmäßig war. Es handelte sich teils um Hunde, die wegen chronischer Krankheit oder Leiden oder wegen hohen Alters getötet wurden, zum größeren Teil aber waren es Tiere, die aus wirtschaftlichen Gründen vom Besitzer aufgegeben waren.

Noch weit höher liegt der Hundersatz infizierter Tiere in den Ergebnissen von PETERSEN und JACOBSEN (1937). Alle Hunde des dänischen Ortes Gislev wurden in die Untersuchungen einbezogen. 18 von 53 zeigten einen Titer von 1:300 bis 1:3000. Von 25 Hunden mit negativer Serumreaktion waren 5 nach 2 Monaten positiv geworden. Zum Teil hatten die Tiere eine leichte Erkrankung durchgemacht, zum Teil aber keinerlei Erscheinungen erkennen lassen.

Auch die nach vorwiegend pathologisch-anatomischen Gesichtspunkten orientierte Arbeit von HUGUENIN und BOURGEOIS (1936) muß in diesem Zusammenhang genannt werden. Von den im Berner veterinär-pathologischen

Institut seziierten Hunden waren im Jahre 1933 2%, im Jahre 1934 5,4% mit den typischen Läsionen der Leptospirose behaftet.

Diesen Angaben gegenüber ist es auffallend, daß BARTL (1935) bei der Untersuchung der Nieren von 29 Wiener Hunden, die entweder gesund gewesen waren oder an anderen Krankheiten nichtleptospiralen Ursprungs gelitten hatten, in keinem Fall hat Spirochäten darstellen können. Als Erklärung muß daran gedacht werden, daß die Nieren möglicherweise nicht lange genug konserviert waren. Nach den Erfahrungen von HUGUENIN und BOURGEOIS gelingt nämlich die Silberimprägnation nur dann, wenn die Gewebstücke mehrere Monate in 10%igem Formalin gelegen haben. Wie dem auch sei, die Befunde BARTLS betreffen nur ein sehr kleines Material und sind nicht geeignet, die Annahme eines gewissen Prozentsatzes infizierter oder infiziert gewesener Hunde zu entkräften.

Schließlich seien die Angaben von KOUVENAAR und WOLFF (1930) erwähnt, die in Medan (Sumatra) bei 6 von 106 gesunden Hunden kulturell Spirochäten in den Nieren nachweisen konnten.

Die beim Hunde durch Spirochäten vom Weiltyp ausgelösten Krankheiten sind sowohl in en- bzw. epizootischer, wie (häufiger) in sporadischer Form beobachtet worden. Wie AELLIG 1931 bekannt gegeben hat, tritt seit Jahren in Bern die Gelbsucht bei Hunden sporadisch und enzootisch (in einem Zwinger) auf und verläuft nach einer Inkubationszeit von 7—31 Tagen in 90% der Fälle tödlich. Bemerkenswert ist, daß nur etwa 1% der im Zwinger gehaltenen Hunde erkrankte, daß aber laufend einzelne Tiere aus diesem Zwinger krank wurden. AELLIG rechnet infolgedessen mit der fortwährenden Anwesenheit eines für die meisten Tiere nicht genügend virulenten Kontagiums. Während v. DÜRING (1936) aus Berlin und WIRTH (1937) aus Wien über mehrere Seuchenzüge berichtet haben, beschäftigt sich die Mitteilung SEYDLERS (1937) mit dem gehäuften Auftreten der Stuttgarter Hundeseuche in Königsberg (28 Fälle im Oktober und November 1936).

In England (Kent) haben OKELL, DALLING und PUGH im Jahre 1925 schon die Seuche in den beiden, heute allgemein bekannten Verlaufsarten beobachten können; sie kostet, wie LAWRENCE und OKELL (1929) hervorheben, vielen Tierzüchtern bis zur Hälfte ihres Nachwuchses. Eine Enzootie unter aus England eingeführten Hunden hat KRISHNAMURTI 1932 in Madras gesehen. MEYER, EDDIE und ANDERSON-STEWART konnten bei einer 1936 unter den Hunden in San Franzisko sehr verbreiteten, oft tödlich ausgehenden Spirochätose einen ikterischen von einem hämorrhagischen Typ trennen. JUNGHER (1937) sah von 42 Jagdhunden eines Zwingers in Connecticut 41 der ansteckenden Gelbsucht erliegen. Nach REA (1929) ist die Krankheit übrigens schon seit 1850 unter dem Namen „Black tongue“ in Nordamerika bekannt.

Von sporadischen Fällen ist in den Berichten insbesondere holländischer Forscher (KORTHOFF, KLARENBECK, SCHÜFFNER u. a.) die Rede. Im deutschen Schrifttum finden sich entsprechende Angaben bei PALLASKE (1932), KANTOROWICZ (1935), UHLENHUTH und ZIMMERMANN (1936), WIRTH (1937), WEBER (1937) und bei TETZNER (1938).

Über die *natürliche Infektion* beim Hund ist nicht viel bekannt, und die epidemiologischen Zusammenhänge sind bis jetzt nur ungenügend geklärt. Diese Unsicherheit bezieht sich vor allem auf die fast ausschließlich dem Hunde eigentümliche Canicolainfektion. Da Spirochäten vom Canicolatyp weder bei Ratten noch sonst irgendwo in der Außenwelt nachgewiesen worden sind, ist es durchaus möglich, daß die Hunde die Infektion lediglich unter sich verbreiten (UHLENHUTH und ZIMMERMANN). In dem von AELLIG erwähnten Zwinger konnten nie Ratten beobachtet werden, doch waren graue Mäuse (*Mus musculus*) in größerer Anzahl zugegen.

Aus den Lebern und Nieren von 4 in diesem Zwinger gefangenen Mäusen stellte AELLIG einen Organbrei her und verimpfte eine Aufschwemmung davon auf 2 Meerschweinchen.

Beide Tiere erkrankten mit den Erscheinungen des Ikterus, eines überstand die Infektion, das andere verendete am 12. Tag. Der aus diesem Ergebnis gezogene Schluß, daß Mäuse die eigentliche Ursache der Seuche gewesen seien, ist nicht zwingend. Die Mäuse können sich, wie UHLENHUTH und ZIMMERMANN dazu bemerken, auch von den Hunden angesteckt haben; zudem ist kaum eine so hohe Hundevirulenz von Mäusespirochäten anzunehmen.

Für die Infektion mit dem klassischen Stamm kommt fraglos der Ratte eine ähnliche Bedeutung zu wie bei den menschlichen Weilerkrankungen. Schon eine im Jahre 1919 erschienene Mitteilung HARZERS weist auf die Ratte als Infektionsquelle hin. HARZER sah eine 4jährige Terrierhündin an Gelbsucht erkranken, nachdem sie 8 Tage vorher von einer Ratte in die Schnauze und eine Vorderpfote gebissen war. Auch die späteren Autoren erwähnen vielfach, daß auf den Grundstücken, von denen die erkrankten Hunden stammten, reichlich Ratten und Mäuse vorhanden gewesen seien. Bekanntlich ist der Hund aber nur relativ selten ein Rattenfänger; trotzdem bringt ihn die Gewohnheit, überall herumzuschnüffeln und alles mögliche aufzunehmen, sicherlich häufig genug in ausreichend engen Kontakt mit Rattenharn. Man muß deshalb wohl damit rechnen, daß der Infektionsstoff per os aufgenommen wird, wobei mit Rattenspirochäten verunreinigtes Wasser eine besondere Rolle spielen dürfte (WIRTH). Auch eine Infektion von Hund zu Hund kommt zweifellos vor. In einem von WIRTH mitgeteilten Fall wird sogar die Ansteckung des Hundes vom Menschen aus in Erwägung gezogen.

Die Feststellung der WEILSchen Krankheit bzw. der Canicolainfektion beim Hund hat naturgemäß dazu geführt, auch beim Menschen nach dieser Infektionsquelle zu fahnden. Die Zahl der bekannt gewordenen Fälle bewegt sich allerdings in so bescheidenen Grenzen, daß die vom Hunde ausgehende Infektionsgefahr aus sehr gering betrachtet werden kann.

KRUMBEIN und FRIELING haben als erste im Jahre 1916 über zwei einschlägige Fälle berichtet. Ein Leutnant hatte sich bei dem Versuch, seinem kranken Hunde das Maul auszuwischen, eine Rißverletzung an der Hand zugezogen und erkrankte etwa 3 Wochen später an Ikterus. Ein Oberarzt, der bei der Pflege des Tieres behilflich gewesen war, zeigte 24 Tage nach der letzten Berührung die typischen Krankheitszeichen.

LAWRENCE und OKELL haben 1929 die Weilerkrankung eines Hundewärters beobachtet, der gelbsüchtige junge Hunde gepflegt und mehrere Obduktionen verendeter Tiere vorgenommen hatte. Auch WIRTH erwähnt den Fall eines Studenten, der sich die WEILSche Krankheit bei der Sektion eines ikterischen Hundes zugezogen hatte.

Die Canicolainfektion des Menschen, von der bis zum Jahre 1936/37 6 bzw. 11 Fälle festgestellt waren (SCHÜFFNER, KOTTER und SCHULTZ), ist nach den bisherigen Erfahrungen als eine ziemlich ernste Erkrankung anzusehen, die einen schleppenden, chronischen Verlauf nimmt. Aus der jüngsten Vergangenheit sind folgende Fälle von Interesse:

PETERSEN und JACOBSEN (1937) schildern einen typischen Fall, bei dem am 30. Tage die Reaktion mit *Sp. canicola* 1:3000 positiv war. Der Kranke hatte vorher mit einem 8 Monate alten Rattenpinscher gespielt, der krank gewesen war. ROOS, WALCH-SORGDRAGER und SCHÜFFNER (1937) geben die Beschreibung einer Canicolainfektion, die unter dem Bilde einer Meningitis verlief und eine 26jährige Frau betraf. Zwei andere Personen hatten, nach der serologischen Reaktion zu urteilen, die Infektion unerkannt zu gleicher Zeit unter anderer Diagnose durchgemacht. Als Quelle der Ansteckung erwies sich ein junger Samojede, der zu einem Wurf gehörte, der mit Ausnahme eines der 5 Jungen mit *Sp. canicola* infiziert war. Die Infektion war weiter noch auf einen Terrier übergegangen, der mit der Samojedenfamilie in der kritischen Zeit in Berührung gewesen war. Der Weg der Ansteckung ließ sich von dem Hund auf die Hündin, von dieser zu den 4 Jungen und von hier aus zu den 3 Menschen und zu dem Terrier verfolgen.

MEYER, EDDIE und ANDERSON-STEWART (1937) erwähnen die Canicola-infektion eines Tierarztes, die während eines unter den Hunden San Franziskos herrschenden Seuchenganges akquiriert war.

Aus einer jüngst von WELCKER (1938) veröffentlichten Mitteilung seien folgende Feststellungen entnommen:

Im Dezember 1935 trat in Beeskow, einer Kleinstadt in der Nähe Berlins, eine Gelbsuchtepidemie auf, die sich bis in den Sommer 1936 hinzog. 27 Patienten, meist Kinder und Jugendliche, wurden ärztlich behandelt, eine Anzahl leicht Erkrankter kam nicht in Behandlung. Die Erkrankung begann meist grippeartig, mit hohem Fieber, Abgeschlagenheit, Kopf- und Leibschmerzen. Als erste erkrankte die 4jährige Tochter eines Metzgers, zugleich zwei ihrer Freundinnen. Im Januar und Februar 1936 erkrankten von 200 Reitern der Beeskower Garnison 33 mit schweren grippeähnlichen Erscheinungen, Ikterus, zum Teil auch Milz- und Leberschwellung. 10 Kranke wurden serologisch untersucht, bei 5 von ihnen fiel die Agglutination auf Weil 1:100 bis 1:200 positiv aus. Ratten befanden sich nicht in der Kaserne; die Untersuchung einer in der Umgebung gefangenen Ratte auf Weilspirochäten verlief negativ. Da Wasser- und Badeinfektionen auszuschließen waren, wurden die Hunde der Kaserne untersucht. Bei einem, der in der Kaserne frei herum lief, und bei 5 weiteren von insgesamt 20 Tieren fand sich eine positive Agglutination. Darunter war auch der Hund des die Kaserne mit Fleisch beliefernden Metzgers, dessen Tochter als erste erkrankt war. WELCKER spricht auf Grund dieser Zusammenhänge die Erkrankungen in der Kaserne als sichere Weil-Epidemie an und vermutet für die Fälle der Zivilbevölkerung das gleiche. Weitere 2 Fälle WELCKERS betreffen 2 Soldaten des Berliner Wachregimentes, die kurz vor der Erkrankung den an Stuttgarter Hundeseuche erkrankten Hund eines Hauptmanns gepflegt hatten.

Schließlich findet eine von KIKUTH-Elberfeld beobachtete Laboratoriumsinfektion Erwähnung, die mit einiger Wahrscheinlichkeit auf Hunde zurückzuführen war. Der Erkrankte hatte vorwiegend mit Hunden zu tun, jedoch ließ sich die Möglichkeit einer Infektion durch Ratten nicht völlig ausschließen.

Ein von TETZNER (1938) in Hamburg beobachteter Fall, bei dem meningitische Erscheinungen im Vordergrund des Krankheitsbildes standen, betraf eine 41jährige Frau, die sich bei der Pflege ihres an St. H. S. leidenden Hundes (12jähr. Spaniel) angesteckt hatte.

5. Die WEILSche Krankheit bei Füchsen.

Wenn die von kranken bzw. latent infizierten Hunden ausgehende Infektionsgefahr auch nicht als sehr hoch einzuschätzen ist, so verdient sie doch ernsthaftere Beachtung als die in den *Füchsen* gelegene Infektionsquelle.

Nachdem das Interesse von Tierärzten, Bakteriologen und Epidemiologen durch eine Beobachtung von UHLENHUTH und FROMME (Spontaninfektion eines Versuchsrotfuchses) geweckt war, ist eine Reihe von Mitteilungen über Leptospirose bei Füchsen erfolgt. DUNKIN (1926) sah bei einem Jungtier eine mit Ikterus, Durchfall und Apathie einhergehende Krankheit und konnte in Leber, Nieren und Lungen reichlich Spirochäten nachweisen, die eine starke Pathogenität für Meerschweinchen besaßen. BUCHANAN (1927) hat über einen Gelbsuchtsfall bei einem Altsilberfuchs berichtet. HEIDEGGER (1929) sah die Krankheit unter dem Bilde der St. H. S. verlaufen und konnte in den Nieren eines Silberfuchses Spirochäten sichtbar machen. Aus dem gleichen Jahr stammt die Angabe von UHLENHUTH und ZIMMERMANN über die Empfänglichkeit des Rotfuchses für die experimentelle Infektion. Über ein *epizootisches* Auftreten der Seuche in Silberfuchsfarmen haben erst die Beobachtungen der letzten Jahre unterrichtet.

CATCHPOLE (1934) hält die Leptospirose für die bedeutendste Silberfuchsepizootie in England und beschreibt ihren Verlauf in zwei Formen. Beim perakuten, meist ohne Gelbsucht verlaufenden Typ verweigern die Tiere ganz plötzlich das Futter und werden am nächsten Tag tot im Gehege gefunden. Bei der ikterischen Form sind die Füchse appetitlos, magern ab und zeigen neben Ikterus entweder Durchfall oder Verstopfung, bis nach

10—14 Tagen meistens der Tod eintritt. MACRAE (1934) konnte eine Anzahl toter Jungtiere aus drei englischen Silberfuchszuchten sezieren. Die unterschiedlichen Obduktionsbefunde entsprachen dem von den Eigentümern als wenig einheitlich geschilderten Verlauf. Meist führten die Erkrankungen, die nicht selten ohne Ikterus verlaufen waren, plötzlich binnen 3 Tagen zum Tode; in allen Fällen berichteten die Besitzer von Durchfällen, Abmagerung und Apathie der Tiere, vielfach wurde eine starke Bindehautentzündung beobachtet. Die Übertragung von Organemulsionen auf Meerschweinchen hatte positive Ergebnisse. Ein krankes Tier wurde nach mehrtägiger Beobachtung wieder gesund, schied aber mit Harn und Faeces noch Spirochäten aus.

RUBARTH (1937), der seine Erfahrungen in Schweden gesammelt hat, kennzeichnet die ansteckende Gelbsucht der skandinavischen Silberfuchse mit Teilnahmslosigkeit, Appetitlosigkeit, Erbrechen und Durchfall. Einige Male trat nur ein heftiger Krampfanfall auf, dem nach sehr kurzer Zeit der Tod folgte.

MIESSNER und DEDIÉ haben im Sommer 1937 in 7 Silberfuchszuchten Nord- und Süddeutschlands seuchenhaft auftretende Erkrankungen in perakuter (meningitischer) und akuter (ikterischer) Form gesehen und bei dieser Gelegenheit auch den Nachweis geführt, daß *latente* Infektionen vorkommen. Im Blut der Tiere waren Antikörper gegen Weilspirochäten vorhanden. Der Spirochätennachweis am lebenden Tier geschah durch Dunkel-felduntersuchung des frischen Harnzentrifugats, bei der Untersuchung der Kadaver führte nur die Silberimprägnation von Nieren- und Lungenschnitten zum Ziel (s. a. WEBER).

Zur Entscheidung der Frage, ob auch *Canicolarinfektionen* spontan bei Füchsen anzutreffen sind, reicht das vorliegende Material noch nicht aus. Zunächst hat es den Anschein, daß nur die klassische Weilspirochäte bei der ansteckenden Gelbsucht der Silberfuchse beteiligt ist. Dafür spricht auch der in allen Mitteilungen wiederkehrende Hinweis auf die Rattenplage in den Farmen. Die Infektion kann durch Rattenbiß zustandekommen oder dadurch vermittelt werden, daß die Ratten das Fuchsfutter verunreinigen bzw. von den Füchsen gefressen werden. Eine Übertragung von Fuchs zu Fuchs ist niemals beobachtet worden. Sie ist allerdings umso weniger auszuschließen, als die Erreger mit Kot und Urin ausgeschieden werden. Bei dem engen Zusammenleben der Füchse in räumlich beschränkten Gehegen bestehen genügend Möglichkeiten zur Ansteckung. MIESSNER und DEDIÉ weisen auf bestimmte Lebensgewohnheiten hin, die eine gegenseitige Infektion sogar wahrscheinlich machen. „Die Tiere benässen mitunter ihr Futter mit Urin, besonders wenn sie krank sind und nicht fressen können. Die futterneidischen Genossen fressen trotz dieser „Kennzeichnung“ das Futter ihrer kranken Wurfgeschwister auf und können sich auf diese Weise infizieren. Mitunter setzen die Füchse auch ihren Urin im Trinkwassergefäß ab. Beißereien sind an der Tagesordnung; besonders kranke Welpen haben unter den Angriffen aller gesunden Wurfgeschwister zu leiden“. Wie MIESSNER und DEDIÉ betonen, ist freilich die Infektiosität des spirochätenhaltigen Urins nicht besonders groß. Sie haben sich vergeblich bemüht, mit nativem Harn oder Zentrifugat, das nachweislich Spirochäten enthielt, Versuchstiere zu infizieren. Infolge der sauren Reaktion des Fuchsurins (P_H ca. 5,4) und seines Reichtums an Salzen scheinen die Spirochäten, die in unbeweglichem und deformierten Zustand ausgeschieden werden, rasch abzusterben.

Wenn auch menschliche Krankheitsfälle, die sich auf eine Ansteckung vom Fuchs hätten zurückführen lassen, bis jetzt nicht bekannt geworden sind, so empfiehlt es sich doch, den Haltern und Pflegern der Tiere entsprechende Vorsicht bei der Reinigung der Gehege und der Wartung der Tiere anzuraten.

6. Seltene Infektionsquellen.

Im Rahmen des willkürlich gewählten und nicht scharf präzisierbaren Begriffes der „seltene Infektionsquellen“ sollen zunächst die Laboratoriumsinfektionen als am leichtesten abzugrenzende Gruppe behandelt werden. Die ersten Fälle dieser Art stammen aus dem Feldlaboratorium UHLENHUTHS und sind von GOEBEL (1916) veröffentlicht worden. Der erste betrifft einen mit der Pflege der Weiltiere beschäftigten Diener, dem bei einer Injektion virulentes Blut ins Auge gespritzt war. Der zweite Patient, ebenfalls ein Laboratoriumsdiener, der kurz danach erkrankte, hatte sich wahrscheinlich durch die Rhagaden an seinen Händen infiziert. Eine dritte Erkrankung sahen UHLENHUTH und FROMME nach einer Verletzung durch eine blutbeschmutzte Kanüle trotz sofortiger Desinfektion der Stichwunde auftreten. Über ein ganz ähnliches Vorkommnis aus den Vereinigten Staaten haben LANGWORTHY und MOORE (1922) berichtet. Bei der Virulenzprüfung eines aus Rattenurin frisch isolierten Spirochätenstammes geriet die Kanüle der Spritze in den Finger einer Ärztin. Die sofortige Desinfektion der Stichwunde vermochte das Auftreten der WEILSchen Krankheit nach 7 Tagen nicht zu verhindern. 1934 haben UHLENHUTH und ZIMMERMANN den vierten Fall eigener Beobachtung, der eine technische Assistentin betraf, bekannt gegeben. Die Infektion war durch einige Spritzer einer Spirochätenkultur ins Gesicht erfolgt. Nach 7 Tagen setzte ein völlig atypisches Krankheitsbild ein, das nur durch den Tierversuch als spezifisch identifiziert wurde. MARTIN und PETTIT (1916) berichten von einem französischen Arzt, der sich bei der Verimpfung eines Spirochätenstammes auf Meerschweinchen infiziert hatte (Modus nicht angegeben) und 8 Tage später mit hohem Fieber erkrankte. Der polnische Forscher ADAMSKI (1926) hat diesen Fällen einen weiteren angereicht, der ihn persönlich betraf. Ihm spritzte ein Tropfen Spirochätenkultur aus einer zerbrochenen Kapillarpipette ins rechte Auge; nach Ablauf von 8 Tagen war die mit Frösteln, Kopfschmerz und Fieber beginnende Erkrankung manifest. Drei von SCHÜFFNER gemachte Beobachtungen sind bei WELCKER (1938) angeführt. Während zweimal der Zeitpunkt der Infektion, die bei Arbeiten mit Reinkulturen des indischen Stammes Rachmat bzw. der Sp. grippotyphosa erfolgt sein mußte, nicht genau festzustellen war, besitzt der dritte Fall die Beweiskraft des willkürlichen Experiments. Er betraf eine Assistentin, die ein Reagensglas mit einer virulenten Spirochätenkultur zerbrochen hatte und durch die Scherben an einem Finger verletzt war. Die kleine, stark blutende Wunde wurde sofort mit Jodtinktur und Carbolsäure desinfiziert. Erfolglos, denn 8 Tage später kam die WEILSche Krankheit zum Ausbruch. WELCKER beschreibt weiter einen Fall, der sich 1930 in der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes ereignet hat. Wieder war es eine, versehenlich mit der Kanüle gesetzte minimale Fingerverletzung, die Kulturspirochäten das Eindringen ermöglichte. Die nicht sehr schwer verlaufende Krankheit begann nach 6tägiger Inkubationszeit.

Ganz analog ist der Infektionsmodus bei den Laboratoriumsinfektionen mit dem Erreger des Siebentagefiebers gewesen. IDO, ITO und WANI (1920) haben eine derartige Infektion bei einem Waschmädchen ihres Laboratoriums gesehen, das sich mit einer infizierten Spritze am Finger verletzt hatte. BEGER (1921) war Zeuge des Auftretens einer Erkrankung an Siebentagefieber bei einem

seiner Mitarbeiter, dem die Glasspritze zerbrochen und ein Teil der Hebdomadiskultur ins Gesicht gespritzt war.

Der erste Todesfall, dem 1936 ein weiterer gefolgt ist (Dr. K., Oberassistent am Pathologischen Institut Kiel) hat sich im Februar 1917 ereignet. Dem am Georg-Speyerhaus tätigen Zoologen Dr. GONDER war beim Verreiben eines Leberstückes infektiöses Material ins Auge gespritzt. Die sofort in der Frankfurter Augenklinik durchgeführte Desinfektion war ergebnislos. Schon nach 2—3 Tagen stellte sich die WEELSche Krankheit ein, der der Patient erlag.

Die Laboratoriumsinfektionen, bei denen Ratten unmittelbar beteiligt gewesen sind, sind schon in früheren Ausführungen (S. 199 ff.) behandelt worden. Hier ist nur nachzutragen, daß der Runderlaß des Reichs- und Preußischen Ministers des Innern vom 22. 8. 1936 — IV c 1611/36/5575 — zur Verhütung derartiger vermeidbarer Infektionen anordnet, „daß in allen medizinischen und veterinärmedizinischen Instituten und Untersuchungsämtern bei derartigen Arbeiten und Versuchen Schutzbrillen und Gummihandschuhe zu tragen sind, und daß Heilserum gegen die WEELSche Krankheit vorrätig zu halten ist“. BLUMENBERG (1937) hat eine Erweiterung dieser Prophylaxe vorgeschlagen und will außer entsprechender Belehrung folgende Richtlinien verbindlich machen:

1. Die Berührung weißer Zuchtratten mit ihren freilebenden Artgenossen ist auf das peinlichste zu vermeiden.

2. In allen Instituten, in denen mit Ratten gearbeitet wird, ist die gesamte Belegschaft auf die bestehende Infektionsgefahr aufmerksam zu machen und zur strikten Anwendung von Gesichtsschutz und Gummihandschuhen anzuhalten.

3. Stallungen, in denen Ratten gehalten werden, sind als solche zu kennzeichnen; ihr Betreten durch Unbefugte ist zu verbieten.

4. Rattenkäfige dürfen unter keinen Umständen in Augenhöhe angebracht werden, weil auf diese Weise die konjunktivale Infektion durch verspritzten Urin außerordentlich erleichtert wird.

Wenn diesen Richtlinien noch das Postulat hinzugefügt wird, die WEELSche Krankheit und den Verdacht ihres Bestehens in die Reihe der meldepflichtigen übertragbaren Krankheiten aufzunehmen, dürfte alles zur Vermeidung von Laboratoriumsinfektionen und zur Klärung undurchsichtiger Krankheitsfälle außerhalb des Laboratoriums geschehen sein¹.

Daß nicht *nur* von Ratten, Reinkulturen, Hunden, Katzen und Füchsen die Infektion ausgehen kann, lehren einige Fälle, denen Seltenheitswert zukommt. So berichtet SANDER (1935) von einem Schlächter, der 8 Tage nach der Schlachtung eines Schweines von gelbem Aussehen, mit gelbem Fett und gelben inneren Organen von der WEELSchen Krankheit befallen wurde. SANDER glaubt an eine unmittelbare Kontaktinfektion, die durch Schaum aus der Schnauze, Blut oder Urin vermittelt sein könnte. Auch WIRTH (1937) hat Kenntnis von dem Schlächter eines Schweines, der eine Woche später unter weilverdächtigen Erscheinungen erkrankte.

¹ *Anm. bei der Korrektur.* Die am 1. 1. 1939 in Kraft getretene „Verordnung zur Bekämpfung übertragbarer Krankheiten“ vom 1. Dezember 1938 schreibt zwar für jede Erkrankung und jeden Sterbefall die *Anzeigespflicht* vor, läßt den *Verdacht* auf WEELSche Krankheit aber unberücksichtigt.

Ebenso ungewöhnlich ist die Infektionsquelle bei einem von BROWN und CLEVELAND (1932) mitgeteilten Fall. Ein Landwirt war 5 Tage vor seiner Erkrankung von einem Frettchen gebissen worden, das selbst gerade vorher von einer Ratte einen Biß ins Maul erhalten hatte.

Zum Schluß ist jener überaus seltenen Fällen zu gedenken, in denen die Infektion anscheinend von Mensch zu Mensch übertragen worden ist. Einige Beobachtungen der älteren Literatur sollen nicht unerwähnt bleiben. MANINE, CRISTAU und PLAZY sowie PETTIT haben 1917 über die bekannte Gelbsuchtepandemie in Lorient berichtet, bei der die starke Kontagiosität eines der Sp. icterogenes offenbar nahe verwandten Erregers als besonders auffallend vermerkt wurde. Innerhalb von 3 Monaten erkrankten 1 Arzt, 1 Laboratoriumsdienner und 3 Schwestern, alle nach ausgiebigem Kontakt mit Patienten. Hierher gehört auch ein von UHLENHUTH und FROMME (1919) mitgeteiltes Einzelereignis, das wahrscheinlich auf (indirekten) Kontakt mit Erkrankten zurückzuführen ist. Ein Militärarzt hatte in seinem Feldlazarett Weilranke zu versorgen gehabt und sich auch mit Urinuntersuchungen beschäftigt, ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden. Er zog sich die spezifische Infektion, für die als Quelle eigentlich nur der Krankenurin in Betracht kam, zu. FRUGONI und CAPELLANI (1917) haben erst — und wohl auch einmalig *Dauerausscheidertum bei Gesunden* festgestellt. Von 21 Personen, die viel und lange mit Weilkranken und deren Ausscheidungen in Verbindung gestanden hatten, erwiesen sich bei ad hoc angestellten Untersuchungen zwei als latent infiziert. Ein Arzt und eine Schwester schieden bei völligem Wohlbefinden typische Spirochäten (apathogen) in großen Mengen mit dem Urin aus.

Während hier und bei den anderen angeführten Fällen nur eine mehr oder weniger große Wahrscheinlichkeit für die vom Menschen herrührende Infektion anzugeben ist, fehlt jeder Unsicherheitsfaktor bei einem von SCHÜFFNER, KOTTER und SCHULTZ (1936) mitgeteilten Vorkommnis. Es betrifft eine Frau, die einige Zeit nach der Kohabitation mit einem Weilrekonvaleszenten in typischer Weise erkrankte.

VI. Die Eintrittspforten der Weilsprochäten.

Die Eintrittspforten der Weilsprochäten zeichnen sich durch eine überraschende Mannigfaltigkeit aus, ohne daß sie jedesmal mit absoluter Bestimmtheit anzugeben wären. Völlige Klarheit hinsichtlich des Infektionsweges besteht nur bei den im *Anschluß an Verletzungen* aufgetretenen Erkrankungen. Soweit solche Einzelfälle schon in anderem Zusammenhang angeführt worden sind, muß auf die früheren Ausführungen verwiesen werden (Verletzungen bei Sturz in verunreinigtes Wasser, Verletzungen durch Scherben von Kulturröhrchen und durch Kanülenstich im Laboratorium). Unter diesen Wundinfektionen sind als die unmittelbarsten diejenigen zu betrachten, die nach durch Ratten gesetzten *Bißwunden* Erkrankungen zur Folge gehabt haben. Entsprechende experimentelle Untersuchungen sind von HOKI, ITO und WANI schon im Jahre 1916 ausgeführt worden. Die japanischen Forscher ließen Meerschweinchen von wilden Ratten beißen und konnten sich auf diese Weise von der Infektiosität des Rattenspeichels, die später noch durch den Spirochätennachweis gesichert wurde, überzeugen. Daß die Infektion von den forcierten Bedingungen des Experiments unabhängig war, wurde von ihnen durch die Feststellung von zwei gleichartigen Fällen beim Menschen unter Beweis gestellt.

BURTON-FANNING und CLEVELAND haben im Jahre 1926 einen Bauern behandelt, der von einer Ratte im Gesicht gekratzt und gebissen worden war. 6 Tage später stellte sich eine schwere WEILSCHE Krankheit ein, der der Patient 17 Tage nach der Infektion erlag. Auch ein von SANCHIS-BAYARRI, MONTILIU-VOLANT und SABINA (1935) beschriebener Erkrankungsfall nach Rattenbiß endete tödlich. Drei durch Rattenbiß entstandene Weilinfektionen sind in dem Material von ALSTON und BROWN (1937), einer in dem von KRAUSE und WILKEN (1934) enthalten. Ein Fall beim Pferd, der durch die noch nachgewiesenen Spuren der weißelartigen Rattenzähne an den Wundrändern bemerkenswert ist, ist von CHAMBERS (1935) bekannt gegeben.

Da der Infektionsmodus stets dem beim Sodoku vorkommenden entsprochen hat, sei hier eingeschaltet, daß BUINIEWITSCH-KOWNO (1934) die Krankengeschichten von drei einschlägigen Fällen nach einem Biß von Ratten bzw. Eichhörnchen veröffentlicht hat. Die Erreger des Rattenbißfiebers gehen allerdings nicht in den Speichel der Tiere über; es wird daher angenommen, daß während des Bisses Blutungen aus dem Zahnfleisch zustandekommen. Die in die Wunde gelangten Erreger stammen also aus dem Blute der Ratten. Es ist nicht abwegig, gleichartige Beziehungen auch für die WEILSCHE Krankheit nach Rattenbissen anzunehmen, zumal der Spirochätennachweis im Speichel keineswegs immer gelingt.

Die übrigen im Schrifttum aufzufindenden Fälle sind reine Laboratoriumsinfektionen. Bekanntlich haben UHLENHUTHS Untersuchungen über die latente Weilinfektion weißer Ratten ihren Ausgang von der Weilerkrankung eines Laboratoriumsdieners genommen, der durch den Biß einer weißen Ratte infiziert worden war. Fünf Fälle mit gleicher Anamnese sind in der Arbeit von WELCKER (1938) zusammengestellt.

Kontinuitätstrennungen der Haut, die durch Ratten selbst bewirkt werden, sind aus verständlichen Gründen sehr viel seltener als Gelegenheitsverletzungen banalen Ursprungs. Experimentelle Ergebnisse und tatsächliche Beobachtungen lassen aber keinen Zweifel darüber, daß es keineswegs einer *groben* Läsion der Haut und des Unterhautbindegewebes bedarf, um den Spirochäten eine geeignete Eintrittspforte zu verschaffen. Minimale, häufig aus der Berufstätigkeit resultierende Defekte sind völlig ausreichend; ja, selbst durch die unverletzte Haut kann eine Infektion stattfinden. UHLENHUTH und FROMME gelang es, sowohl durch eine infizierte Scheerenschlagwunde bzw. durch den Einstich mit einer infizierten Nadel oder Kanüle, wie durch Einreibung von Leberbrei auf enthaarte Hautstellen Meerschweinchen krank zu machen. Auch die Japaner hatten mit und ohne Verletzung der Bauchhaut positive Ergebnisse. Von 30 Meerschweinchen mit Verletzung der Bauchhaut erkrankten nach Einreiben des Virus 26 = 80%, von 13 ohne Verletzung (rasiert) 10 = 77%. Die Schnelligkeit des Eindringens der Spirochäten wird durch die Ergebnislosigkeit der 5 Minuten p. i. vorgenommenen Hautdesinfektion veranschaulicht. Man könnte selbstverständlich in den bei der Prozedur des Rasierens oder Enthaarens möglicherweise entstehenden winzigen Läsionen die Eintrittspforte sehen. Daß sie *nicht* notwendig sind, um dem Infektionsstoff den Weg zu bahnen, lehrt ein bereits 1908 von MANTEUFEL ausgeführter Versuch. Die Infektion von Ratten mit der Recurrensspirochäte war nämlich durch Auftragen virushaltigen Blutes auf die *kurz geschorene* Haut möglich. Es handelt sich also lediglich um quantitative Unterschiede, und es ist im Prinzip gleichgültig, ob größere oder kleinere Wunden oder gar keine vorhanden sind. Diese Feststellung ist durchaus mit der Tatsache vereinbar, daß die *Wahrscheinlichkeit* der Infektion unter natürlichen Verhältnissen von dem Intensitätsgrade der Berührung mit dem infektiösen Stoff, d. h. von dem Vorhanden- oder Nicht-

vorhandensein von Wunden abhängt. Bei gegebener Infektionsgelegenheit kommt es weiter auf die *Menge* der Spirochäten an. Für beide Voraussetzungen ist die experimentelle Unterlage durch die Versuche APPELMANS und VAN THIELS (1935) erbracht worden. Waren in spirochätenhaltiges Wasser gesetzte Meerschweinchen nur ohne Seife rasiert und *leicht* am Bauch skarifiziert, dann ging die Infektion seltener an, als wenn ziemlich tiefe, etwa 8 cm lange Schnitte angelegt waren. Enthielt das geprüfte Wasser zahlreiche Spirochäten, gelang die Ansteckung eher als bei Vorhandensein nur spärlicher Exemplare (s. o.).

Beim Menschen bilden Fingerverletzungen, selbst minimalen Umfangs besonders häufig die Eingangspforte. In einem von GOEBEL (1916) beschriebenen Fall ermöglichten „rissige Finger“ das Haften und Eindringen der Erreger. Auch die Beobachtungen von BAERMANN und SMITS (1928), von LAIGNEL-LAVASTINE und BOQUIEN (1931), FAIRLEY (1934), HEGLER (1934), BEIGLBOCK (1937), FLECKSEDER (1937), ALSTON und BROWN (1937), LAINER (1937) betreffen zu einem erheblichen Teil Personen, die durch ihren Beruf häufig und leicht Finger- bzw. Handverletzungen ausgesetzt waren. Bei der von DREW (1934) geschilderten Weilepidemie in Queensland, die sich vor allem auf Zuckerrohrarbeiter erstreckte, mußten die Hände als Eingangspforte angesehen werden. Dafür sprach — abgesehen von den unbedeutenden Rißwunden — die auch von FLECKSEDER als charakteristisch vermerkte starke entzündliche Schwellung der Achsellymphdrüsen. In derselben Weise können die Spirochäten die durch Schrunden verletzte Haut der *Füße* passieren. Das trifft für die Weilschpirochäten ebenso zu wie für die Erreger des Schlammeibers. In Japan sind es die in Reisfeldern und feuchten Gruben barfußig arbeitenden Menschen, die der Infektion in besonderem Maße ausgesetzt sind. Auch in Sumatra ist die endemische Existenz des kurzfristigen Spirochätenfiebers an ganz bestimmte Arbeitsverrichtungen gebunden. Wo die Menschen in stehendem Wasser arbeiten müssen und oft stundenlang bis zu den Hüften mit dem schlammigen Wasser in Berührung sind, da sind die Infektionsbedingungen optimal (BAERMANN). Ebenso breiten sich die in Rußland vorkommenden Schlammeiberepidemien in erster Linie unter Personen aus, die mit nackten Füßen in sumpfiger, feuchter Prairiegegend arbeiten (TARASSOFF, BASCHEININ, ALBALADEJO). Bei dem deutschen Schlamm- und Erntefieber ist die Infektionspforte wahrscheinlich die gleiche.

Wenn die Haut — verletzt oder unverletzt — die Weilschpirochäten eindringen lassen kann, liegt es von vornherein nahe, auch an die Einwanderung der Erreger durch die sichtbaren *Schleimhäute* zu denken. Den experimentellen Beleg für diesen Infektionsmodus haben UHLENHUTH und FROMME schon 1916 erbracht, indem sie durch Einträufelung geringer Mengen spirochätenhaltigen Blutes in den Conjunctivalsack die WEILSche Krankheit bei Meerschweinchen erzeugten. Die oben erwähnten Ansteckungen im Laboratorium, die nach zufälliger Benetzung der Augenbindehaut mit dem Infektionsstoff zustandegeworden waren, gleichen dem Tierversuch bis in die kleinsten Einzelheiten.

Weniger eindeutig müssen die Angaben über die Eintrittspforte ausfallen, wenn die Krankheit einem Sturz ins Wasser gefolgt ist, oder wenn es sich um eine beim Baden erworbene Infektion handelt. Hier bestehen neben der Möglichkeit der cutanen auch die der konjunktivalen und der oralen Ansteckung. In Sumatra bleiben die badenden Eingeborenen oft sehr lange im

Wasser, sie entledigen sich des Leibtuches oder der Hose beim Baden nicht, sie trocknen sich nicht ab, sondern behalten das durchnäßte Kleidungsstück am Leib, bis es von selbst trocknet. Zur Haftung der Spirochäten ist so eine sehr günstige Gelegenheit geboten. BAERMANN und ZUELZER (1927), von denen die gegebene Beschreibung stammt, halten den Infektionsmodus bei Personen, die in Europa bekleidet ins Wasser fallen, für völlig gleichartig und lehnen die Annahme einer auf oralem Wege erfolgten Ansteckung wegen der hohen Säureempfindlichkeit der Spirochäten ab. Trotz der vielfach wiederkehrenden Angabe, daß die Badenden reichlich Wasser geschluckt hätten, ist es nicht wahrscheinlich, daß das Eindringen der Spirochäten von der Magen-Darmwand aus erfolgt. Im Tierexperiment hat die orale Infektion bis jetzt so gut wie vollständig versagt. Die wenigen Ausnahmefälle stellen einen so massiven und gewaltsamen Eingriff dar, daß Analogieschlüsse auf die natürliche Infektion des Menschen unterbleiben müssen. Magensaft mit genügendem Gehalt an freier Salzsäure vernichtet Reinkulturen von Weilspirochäten schon nach 5 Minuten (UHLENHUTH und FROMME, HEGLER u. a.). Eher kommt schon die Schleimhaut des Mundes und des Nasen-Rachenraumes in Betracht, bei Aspiration auch die der Luftröhre und der größeren Bronchien. Je breiter die Berührungsfläche mit den Schleimhäuten ist, desto größer ist die Eintrittsmöglichkeit der Keime (auch durch die Konjunktiven). Die nicht seltene Beobachtung, daß bei Weilkranken entzündliche Veränderungen der Halsorgane vorhanden waren, ist in dem angeführten Sinne zu verwerfen. Sichere Anhaltspunkte, welcher Infektionsmodus im Einzelfall verwirklicht wird, liegen nicht vor. Es muß daher vorläufig dahingestellt bleiben, ob HEGLER (1934) mit seiner Vermutung recht hat, daß „die Spirochäten unter natürlichen Verhältnissen, aus verschmutztem Wasser z. B., direkt durch die Haut in den Körper eindringen“ oder ob die von WIRTH (1937) erörterte Möglichkeit zutrifft, „daß die Infektion doch hauptsächlich per os bzw. von der Mundschleimhaut aus vor sich geht und der Mensch wohl nur selten auf diese Weise Leptospiren aufnimmt“. Eine Regel oder gar eine Gesetzmäßigkeit läßt sich zur Zeit noch nicht aufstellen.

Die Übertragung der WEILSchen Krankheit auf *respiratorischem Wege* von Mensch zu Mensch ist niemals festgestellt oder auch nur ernsthaft diskutiert worden. Wenn diese Möglichkeit hier kurz gestreift wird, so gründet sich das auf eine von MERKLEN, WAITZ und GROOTEN (1932/33) gemachte Beobachtung.

Die Autoren berichten von einem Weilkranken (serologisch gesicherter Fall), in dessen schleimigen und vorübergehend hämorrhagischen Auswurf sich mehrere Wochen lang reichlich Spirochäten — 1—10 pro Gesichtsfeld — fanden. Die Formen waren ähnlich, aber polymorpher als die im Harn nachgewiesenen. Die subcutane Verimpfung dieses Sputums auf Meerschweinchen hatte die Entstehung von Abscessen zur Folge, in denen nur die typischen Spirochäten, nicht mehr die polymorphen Formen vorhanden waren. Die ausgebliebene Weilerkrankung der Tiere glauben die Autoren mit der durch die Begleitbakterien verursachten sehr stark phagocytären Reaktion erklären zu können. Auch nach intraperitonealer Injektion kam es nicht zur spezifischen Infektion. Die serologische durch ERBER im Pasteurinstitut durchgeführte Untersuchung des Blutes von 5 Tieren blieb negativ. Trotzdem wird die Annahme, daß es sich um Weilspirochäten gehandelt habe, aufrecht erhalten und auf die evtl. Übertragung per inhalationem hingewiesen.

Wenn von einem Übergehen der Weilspirochäten von der schwangeren Frau auf den Foetus bisher nichts bekannt ist, mag das mit der Seltenheit der Erkrankung bei Frauen zusammenhängen. Als absolut unmöglich ist dieser im

Tierexperiment bewiesene (UHLENHUTH und FROMME u. a.) und vielfach bestätigte (PHILIPP, SAENZ u. a.) Infektionsmodus nicht hinzustellen.

VII. Die WEILSche Krankheit als Berufskrankheit.

Es empfiehlt sich, den Begriff der „Berufskrankheiten“ zunächst nur im Sinne des allgemeinen Sprachgebrauchs zu verwenden und unter Berufskrankheiten diejenigen Krankheiten zu verstehen, welche gewisse Berufsgruppen mit besonderer Häufigkeit befallen. Es unterliegt dann keinem Zweifel, daß zwischen Beruf und WEILScher Krankheit absolut klare Zusammenhänge bestehen. Diese häufig hervorgehobenen und auch aus den vorstehenden Ausführungen sich ergebenden Beziehungen machen es verständlich, daß ganz überwiegend männliche Personen von der Krankheit befallen werden. Das Handbuch der Berufskrankheiten von KOELSCH (1937) verzeichnet als besonders gefährdet: Bergleute, Kanalarbeiter, Seefischverarbeiter, Schlachthofbedienstete, Schiffslente und Laboranten. Diese Berufsgruppen sind es auch, die in der folgenden Übersicht das Hauptkontingent stellen.

Nachdem japanische Forscher bald nach der Entdeckung der *Sp. icterogenes* die WEILSche Krankheit in nassen Kohlengruben hatten auftreten sehen, stellte BUCHANAN im Jahre 1924 die epidemische Ausbreitung des infektiösen Ikterus unter der Belegschaft eines *Kohlenbergwerkes* in Schottland fest. Alle Erkrankten waren in einem bestimmten, sehr nassen Bezirk der überhaupt nassen Grube tätig gewesen. In dem zähen Schlamm, der das Schiefergebirge bedeckte, konnten durch Tierversuch Weilsprochäten nachgewiesen werden. Diesen ersten Mitteilungen sind seither andere gefolgt. Unter den von Juli 1933 bis Februar 1937 in England von ALSTON und BROWN gesammelten 142 Fällen entfielen 34 auf Personen, die in Kohlenminen tätig waren (24%). SWAN und MCKEON (1938) haben bis 1936 26 Fälle WEILScher Krankheit bei Bergleuten in Northumberland und Durham registriert und alsdann systematische serologische Untersuchungen bei 101 Bergleuten dieser Betriebe durchgeführt. In 2 Fällen fand sich eine Agglutination 1:300 für *Sp. icterogenes*; beide Personen gaben an, vor etwa 18 Monaten eine Gelbsucht durchgemacht zu haben.

Über die Gefährdung der *Kanal-* bzw. *Sielarbeiter* unterrichten insbesondere die aus Hamburg und aus England mitgeteilten Daten. Nach Angabe von KISTER (1933) hat unter 47 in der Zeit von 1927—1932 in Hamburg gemeldeten Weilfällen die Infektion 4mal Sielarbeiter betroffen. HEGLER (1934) fand unter 359 Hamburger Sielarbeitern, von denen 240 im Siel selbst, die anderen außerhalb beschäftigt waren, 15 positive Seren (Agglutination bzw. Komplementbindung). Von ihren Trägern hatten nachweislich zwei vor 2 bzw. 5 Jahren eine Weilerkrankung durchgemacht; vier weitere gaben an, früher einmal an einer fieberhaften Erkrankung mit Gelbsucht, teilweise auch mit Wadenschmerzen, gelitten zu haben. Von dem Rest war kein genauer Aufschluß zu erhalten.

FAIRLEY (1934) verfügt über 10 Fälle, die alle Arbeiter betrafen, die mit Reparaturen am Mauerwerk der Kloaken beschäftigt waren. Unter den Weilkranken ALSTONS (1935) befanden sich 3 Kanalarbeiter. 9 von 45 Kloakenarbeitern, die niemals an irgend einer Form des Ikterus gelitten hatten, besaßen in ihrem Serum reichliche Mengen von Agglutininen für die *Sp. icterogenes*

(ALSTON und BROWN). Die letzte Zusammenstellung der gleichen Forscher (1937) enthält 15 auf Sielräumer (und Badeinfektionen) entfallende Krankheitsfälle (10,6% des Gesamtmaterials). Die Ansteckung war stets in Kloaken bei dem Mauern von neuen Wänden zustande gekommen, wo die alten Ziegel aus dem Schlamm entfernt werden mußten. Einzelbeobachtungen über Weilerkrankungen bei Kanal- und Abwasserarbeitern sind von JORGE (1932) aus Lissabon, von BERGWALL (1933) aus Köln, KNACK (1933) aus Hamburg, WOLSTENKROFT (1935) und MAXWELL (1935) aus London, FLECKSEDER (1937) und BEIGLBÖCK (1937) aus Wien veröffentlicht worden. Über die Herkunft der Spirochäten ist ebensowenig wie bei den Erkrankungen in Kohlengruben der geringste Zweifel möglich. Überhaupt liegt bei den durch den Beruf vermittelten Infektionen, soweit sie nicht durch Hantieren mit Reinkulturen erworben werden, die primäre Infektionsquelle *stets* in der Ratte.

Unter den Angehörigen der *fischverarbeitenden Industrie* tritt, wie englische Beobachtungen erkennen lassen, der Charakter der WEILSchen Krankheit als Berufskrankheit besonders deutlich zutage. ALSTON und BROWN (1937) verfügen über 46 einschlägige Fälle, d. h. fast ein Drittel all ihrer Beobachtungen bezieht sich auf Fischerarbeiter. Allein auf Aberdeen treffen 45 Infektionen. Die mangelnde Sauberkeit in den Betrieben war der Anlaß, daß Ratten in Massen kommen und die Fischreste verunreinigen konnten. Aus Aberdeen stammt auch die Mitteilung von DAVIDSON, CAMPBELL, RAE und SMITH (1934), in der 19 Fälle WEILScher Krankheit besprochen werden. 13 der Patienten waren mit der Bearbeitung und Reinigung von Fischen beschäftigt gewesen. In Fortsetzung dieser Untersuchungen haben DAVIDSON und SMITH 1936 über 41 weitere Weillfälle, davon allein 40 bei Arbeitern aus Aberdeener Fischbetrieben, berichtet. Die Häufigkeit der Krankheit unter dieser Berufsgruppe war der Anlaß zu serologischen Untersuchungen, in die 210 Arbeiter einbezogen wurden. Bei 51 konnten spezifische Antikörper (Titer zwischen 1:30 und 1:1000) nachgewiesen werden, bei 406 Kontrollpersonen waren die Ergebnisse stets negativ. Anamnestisch ließ sich eine ikterische Erkrankung nur bei 15 Personen ermitteln, 18mal war keine der WEILSchen Krankheit ähnliche Infektion in der Vorgeschichte vorhanden, bei 18 weiteren Fällen nur eine „grippeähnliche“ Infektion. Auf Grund dieser Befunde nehmen die Autoren die Möglichkeit einer unterschwelligen Infektion an und treten für die Anerkennung der WEILSchen Krankheit als Berufskrankheit ein. Da in den Fischbetrieben auch Frauen beschäftigt werden, ist es verständlich, daß der Anteil der Frauen an der Erkrankung demjenigen der Männer gleichkam. Schließlich sei ein COCHEZ und FICHET (1933) beschriebener Fall erwähnt; er betrifft einen Mann, der in einem feuchten, von Ratten wimmelnden Keller einer Pariser Fischhalle gearbeitet hatte.

Im *Fleischereigewerbe* und bei *Köchen* sind Weillinfectionen weniger häufig, offenbar deshalb, weil heute im allgemeinen auf Schlachthöfen und in den Betrieben für eine energische Rattenbekämpfung Sorge getragen wird.

In der älteren Literatur sind Erkrankungen von Fleischern und Köchen des öfteren aufgeführt. UHLENHUTH und FROMME zitierten in ihrer Monographie (1930) folgende Berichte: Unter 13 von FIEDLER (1888) beobachteten Patienten waren 9 Schlächter oder Personen, die auf dem Dresdener Schlachthof beschäftigt waren. Unter 4 Fällen WEILS war ein Schlächter, unter denen NAUWERCKS (1888) einer; ebenso befanden sich unter den Fällen VIERORDTS (1889) und WASSILIEFFS (1889) 6 Schlächter. Nach dem Journal der Dresdener

Fleischerkrankenkasse vom Jahre 1886/87 waren in der Berichtszeit 7 Fleischergesellen, 3 Viehhändler, 3 Viehkommissäre an Ikterus erkrankt. Die Japaner berichten, daß von 55 Patienten 12 Köche waren.

Angaben neueren Datums, die sich auf die WEILSche Krankheit bei Fleischern und Angehörigen ähnlicher Berufe beziehen, sind mit je einem Fall von GARNIER, NICAUD und MAISLER (1931), COCHEZ und FICHET (1933), BÁRDOŠ (1936), WIRTH (1937) gemacht worden. Die Mitteilung SANDERS (1935) nimmt dadurch eine Sonderstellung ein, daß die Weilerkrankung des Schlächters von einem ikterischen Schwein stammte. Eine von GRÜTTNER (1933) veröffentlichte Beobachtung betrifft die akute Schlachthausinfektion eines *Salzers*, der infolge der häufigen Berührung mit der Salzlake an Fingerentzündungen litt. Die auf dem Boden liegenden, von Ratten angenagten Abfälle waren von ihm mit ungeschützten Händen beseitigt worden. Die ikterische Erkrankung eines Schlächters, der sich 10 Tage vorher mit einem Schlachtmesser in den rechten Oberschenkel gestochen hatte, konnte im Sommer 1938 im Hygienischen Institut Breslau als Weilerkrankung identifiziert werden. Von *Köchen*, die sich an ihrer von Ratten bevölkerten Arbeitsstätte angesteckt hatten, ist in den Mitteilungen von DE LAVERGNE und STUMPF (1931) und von PETZETAKIS (1931) die Rede.

Obwohl die Beziehungen zwischen Beruf und Erkrankung in den angeführten Fällen an Eindeutigkeit nichts zu wünschen übriglassen, handelt es sich *versicherungsrrechtlich nicht um Berufskrankheiten, sondern um Unfälle*. Als Unfall bezeichnet die Sozialversicherung ein plötzliches oder innerhalb eines engbegrenzten Zeitraumes aufgetretenes (also zeitlich bestimmbares) Ereignis, das eine Körperschädigung herbeigeführt hat. Das Geschehnis, welches den Unfall verursacht, muß mit dem Betrieb in ursächlichem Zusammenhang stehen. Nicht das akute Einsetzen der Krankheit macht diese zum Unfall, sondern erst das akute Geschehnis, auf welches sich die Erkrankung zurückführen läßt¹. Es ist bedauerlich, daß sich diese Begriffsbestimmung hin und wieder zum Nachteil des Kranken auswirkt. Ein Maurer, der in Kloaken Ausbesserungsarbeiten vornimmt und sich eine WEILSche Krankheit zuzieht, genießt formal keinen Versicherungsschutz, es sei denn, er kann den Zeitpunkt der Infektion mit einiger Sicherheit angeben. Dasselbe trifft für Kanalarbeiter und Sielräumer, für Schiffs- und Hafenarbeiter, deren Arbeitsplätze von Ratten bevölkert sind, zu. Ein jüngst von Dr. STEINWALLNER-Bonn² mitgeteilter Beschluß des Oberlandesgerichts Düsseldorf (6 W 23/37 v. 23. 3. 1937) läßt leider erkennen, daß der Begriff der Körperschädigung dem der Körperverletzung gleichgesetzt wird. „Der Tod durch eine Infektionskrankheit (hier WEILSche Krankheit) ist nur dann als durch Unfall eingetreten im Sinne der Unfallversicherung anzusehen, wenn der Erreger der Krankheit auf einem durch Unfallverletzung eröffneten Wege in den Körper eingedrungen ist.“ Die Stellungnahme des Reichsversicherungsamtes zu diesem Urteil ist zur Zeit noch nicht bekannt.

Die dritte Verordnung über Ausdehnung der Unfallversicherung auf Berufskrankheiten vom 16. 12. 1936 schließt zwar die Infektionskrankheiten ein (Ziffer 27), beschränkt den Versicherungsschutz aber auf Betriebe und Tätig-

¹ KOELSCH, Handbuch der Berufskrankheiten. S. 1109. 1937.

² STEINWALLNER-Bonn: Münch. med. Wschr. 1938 II, 1407.

keiten des Gesundheitsdienstes und der Wohlfahrtspflege. Die Angestellten der Schlachthäuser, der öffentlichen Abortanlagen, der Müll- und Fäkalienabfuhr und der Badeanstalten fallen nicht unter die Verordnung, die sich im wesentlichen auf Ärzte, Schwestern, technische Assistentinnen, Pfleger und Pflegerinnen, Fürsorgerinnen, Laboratoriumsangestellte und die weiter hierher gehörenden Hilfskräfte bezieht. Da Infektionskrankheiten auch für Fleischbeschauer (KOELSCH, S. 135) als meldepflichtige Berufskrankheiten gelten, die einen Rentenanspruch rechtfertigen, ist nicht einzusehen, warum nicht die der Weilinfection in besonders hohem Maße ausgesetzten Berufsgruppen einbezogen werden sollen. Gerade die Eindeutigkeit der Sachlage bei der WEILSchen Krankheit begründet diese Forderung. Zum mindesten müßte die Auslegung des Unfallbegriffs weniger engherzig erfolgen, als das in Düsseldorf geschehen ist. In dem oben angeführten Fall GRÜTTNERS, der tödlich endete, hat die Berufsgenossenschaft eine *Berufskrankheit* (GRÜTTNER) angenommen und kein Bedenken gehabt, die Auszahlung von Sterbegeld und Hinterbliebenenrente zu regeln.

Nach der jetzigen Rechtsprechung trifft der versicherungsmedizinische Begriff der Berufskrankheit bei der WEILSchen Krankheit eigentlich nur auf die Stall- und Laboratoriumsinfektionen zu. Trotzdem sträubten sich in drei von WELCKER beschriebenen Fällen — alles Rattenbisse im Laboratorium mit tödlichem Ausgang — die zuständigen Berufsgenossenschaften zunächst, die Erkrankungen als Berufskrankheit im Sinne des Gesetzes anzuerkennen. Erst nach einer sehr ausführlichen Begutachtung durch ärztliche Sachverständige wurde die Anerkennung als Berufskrankheit erreicht (WELCKER).

VIII. Morbidität und Letalität.

Die medizinische Statistik vermag bei einer nicht meldepflichtigen Infektionskrankheit¹, die verhältnismäßig selten ist und nur in Form eng begrenzter Epidemien sowie sporadisch in Einzelfällen auftritt, die Erkrankungshäufigkeit überhaupt nicht zu ermitteln. Bei der WEILSchen Krankheit fällt erschwerend ins Gewicht, daß ein gar nicht abschätzbarer Teil der wirklichen Erkrankungen wegen des uncharakteristischen Verlaufs nicht erkannt wird. Solange sich der Grundsatz nicht durchgesetzt hat, daß bei jeder verdächtigen Anamnese die Hilfsmittel der serologischen Diagnostik und des Tierversuchs ausgeschöpft werden, muß das Wissen von der Morbidität lückenhaft bleiben. Nicht viel fester ist der Boden, auf dem die Letalitätsstatistik steht. Bei jeder gehäuft auftretenden Infektionskrankheit ist die Letalität abhängig von dem jeweiligen Verlaufscharakter und demzufolge bei den einzelnen Epidemien zeitlichen und örtlichen Schwankungen unterworfen. Je kleiner der Kreis der Befallenen ist, desto geringer wird die Möglichkeit, Angaben über die Lebensbedrohung zu machen, die allgemeine Gültigkeit besitzen. Bei den sporadischen Einzelfällen der WEILSchen Krankheit erhöhen die unterschiedlichen Bedingungen der Infektion und die mannigfachen Eintrittspforten des Erregers den Unsicherheitsfaktor. Auch der Versuch, etwa sämtliche bekanntgewordenen Fälle von Wasser- oder Laboratoriums- oder Schlachthausinfektionen zusammenzufassen und aus ihrer Summe Rückschlüsse zu ziehen, ist, als den Elementar-

¹ Die Anzeigepflicht ist erst seit 1. 1. 1939 eingeführt.

regeln der Statistik widersprechend, ein untaugliches Mittel zur Ergründung der Letalität.

Diese einschränkenden Bemerkungen waren zur Klärung des Sachverhaltes notwendig; sie bieten andererseits keine Veranlassung, auf Erörterungen über Morbidität und Letalität überhaupt zu verzichten, zumal das Wissen um diese Zusammenhänge bestimmt wird durch die vorhandenen Erfahrungen.

Eine *Geschlechtsdisposition* ist bei der WEILSchen Krankheit nur insofern festzustellen, als die Voraussetzungen für die Infektion vielfach an bestimmte Arbeitsstellen und Arbeitsverrichtungen gebunden sind, die vorzugsweise von Männern ausgeführt werden. Unter 77 von HEGLER (1936) beobachteten Fällen waren nur 4 Frauen. 47 von ROMIJN (1932) in Dordrecht gesammelte Badefälle verteilten sich auf Männer und Frauen im Verhältnis 34:13, obwohl nur wenig mehr Männer als Frauen gebadet hatten. Wenn die von ROMIJN für diesen Unterschied in der Morbidität angenommene Erklärung, daß die Frauen ruhiger schwimmen und weniger tauchen, zutrifft, wäre es auch hier nur die mangelnde Infektionsgelegenheit, die eine stärkere Beteiligung der Männer herbeiführt. Auch der Bericht ESSEVELDs (1937) über 334 Fälle, bei denen die Hilfe des Amsterdamer Kolonialinstituts angerufen war, bezieht sich ganz überwiegend auf Männer; nur $\frac{1}{11}$ waren Frauen, $\frac{1}{37}$ Kinder.

Die *Altersdisposition* ist wie die Geschlechtsdisposition nur eine scheinbare und durch die fehlende Möglichkeit zur Aufnahme des Erregers bedingt. Der jüngste Kranke HEGLERs war 7, der älteste 54 Jahre. Am häufigsten war das 3. und 4. Lebensjahrzehnt betroffen. NOWOCHATNY (1929) gibt ebenfalls als bevorzugtes Alter das 4. Lebensjahrzehnt an.

Der *Verlauf* der Krankheit ist nach den Erfahrungen zahlreicher Autoren weitgehend vom Lebensalter abhängig. HEGLER sah die Infektion bei Kindern und Jugendlichen ziemlich leicht, jedenfalls leichter als bei Erwachsenen und besonders bei älteren Personen, ablaufen. Die Lebensbedrohung scheint also mit steigendem Alter zuzunehmen. Dafür spricht auch die Erfahrung KISTERS (1933), der bei 7 über 40 Jahre alten Kranken 4 Sterbefälle verzeichnen mußte. In Japan sind zeitweise bei Erkrankten über 60 Jahre 100% Todesfälle vorgekommen. NOWOCHATNY (1930), dessen Material allerdings ätiologisch nicht ganz einwandfrei ist, beschreibt einen ausgesprochen schweren, zumeist letalen Verlauf bei Frauen während der Schwangerschaft und post partum. Ebenso weiß CUMMING (1934) aus den Vereinigten Staaten von einer besonders hohen Gefährdung der Graviden zu berichten.

Die *Letalität* zeigt sowohl bei den Weilepidemien wie bei den sporadischen Fällen ganz enorme Schwankungen. Während die 47 Dordrechter Badefälle ROMIJNS nur eine Sterblichkeit von 2% aufwiesen, betrug die Letalität bei der von JITTA (1932) beschriebenen niederländischen Badeepidemie 8,5%; von 184 Erkrankten starben 16. In dem von WOLFERT (1936) bearbeiteten Material, das 205 Rotterdamer Weilfälle der Jahre 1925—1935 umfaßt, wird für 1932 eine Letalität von 8,1%, für 1934 von 14,6% errechnet. In demselben Zeitraum war die Zahl der ikterischen Fälle von 41% auf 76% gestiegen. Von 234 in den Jahren 1932/33 in SCHÜFFNERs Laboratorium diagnostizierten Erkrankungen endeten 27 = 11,5% tödlich. 1934 konnte SCHÜFFNER eine Summe von 452 Fällen übersehen, von denen 46 = 10,2% einen tödlichen Ausgang genommen hatten. Nach ESSEVELD (1937) sind bis Ende 1936 in Holland 756 Weil-

erkrankungen offiziell gemeldet worden, von denen 73 = 9,6% zum Tode führten. Bei $\frac{2}{3}$ von 334 Fällen ESSEVELDS verlief die Erkrankung mit Ikterus und war mit einer 18%igen Letalität belastet; die übrigen, ikterusfreien Kranken genasen alle.

Die beträchtlichen Differenzen sind zum Teil natürlich darauf zurückzuführen, daß epidemische und sporadische Fälle in derselben Zusammenstellung erscheinen; es bleibt aber selbst bei korrekter Trennung ein erheblicher Unterschied in der Letalität zu verzeichnen, für den eine Erklärung nicht gegeben werden kann. Wie abwegig die Annahme einer auch nur einigermaßen konstanten Letalitätsziffer, wie sie z. B. dem Typhus zukommt, ist, zeigen folgende Gegenüberstellungen: SCHOTT (1916), dessen Material HUEBENER und REITER für ihre bekannten Tierversuche mitverwandten, hatte eine Letalität von 13%; von 119 von HUEBENER (1918) beobachteten Weilpatienten starb einer. Bei der von KÖRNER (1925) geschilderten Badeepidemie (76 Fälle) kam kein Todesfall vor, bei der Lissaboner Wasserepidemie des Jahres 1931 starben von 126 Erkrankten 31 = 24,6%. Die im Oktober 1933 in der Gegend von Ingham in Queensland ausgebrochene Weilepidemie (136 Fälle) zeigte eine Letalität von 5,1% (DREW); bei 2 weiteren in dem gleichen Gebiet aufgetretenen Epidemien mit 40 bzw. 130 Erkrankungen (Zuckerrohrarbeiter) wurden von CUMPSTON (1935) 3 bzw. 4 Todesfälle verzeichnet. Die Letalität bei 400 Fällen in Sumatra betrug nur 1%, bei den innerhalb von 6 Jahren in der japanischen Provinz Ibaraki registrierten 1237 Weilfällen schwankte sie zwischen 16,9 und 29,9% (TSURUMI). Von den 1933 in ganz Japan beobachteten 1636 Fällen verliefen 76 = 4,6% letal. KYRIAZIDIS und PETZETAKIS (1932) hatten bei der Syraepidemie 3 Todesfälle unter 30 Erkrankten. Von 16 epidemischen Fällen, die KADANER und CORTI (1933) in Stanleyville (Belgisch Kongo) sahen, kam einer zum Exitus. Während ERBER (1934) die Sterblichkeit bei 286 in der Zeit von 1923—1932 in Frankreich bekannt gewordenen Weil-Erkrankungen auf 5—6% schätzt, beträgt die Sterbeziffer unter 47 in Hamburg gemeldeten Infektionen (1927—1932) 23,4% (KISTER). Das Jahr 1932 war allein mit 21 Fällen beteiligt, von denen 4 (19%) tödlich ausgingen. Bis 1935 war die Zahl der Hamburger Fälle auf 109 angewachsen (HEGLER); 25 Kranke (22,9%) waren gestorben. In Schweden (Olin) waren 1934 6 Fälle, darunter 3 tödliche, bekannt; 1936 (MALMGREN) waren es 22, davon 7 mit tödlichem Ausgang. ZUELZER (1936) bezeichnet den Prozentsatz der Todesfälle in Dänemark (4 von 14) als erschreckend hoch. Von 142 Fällen, die ALSTON und BROWN (1937) kannten, verliefen 12 tödlich. 5 von BROWN und CLEVELAND (1932) in Norfolk beobachtete Fälle gingen bis auf einen letal aus; von 3 Patienten, die von COCHEZ und FICHET 1933 in Paris behandelt wurden, kam keiner ums Leben.

Die zitierten Angaben vermitteln selbstverständlich kein Bild von der wirklichen Sterblichkeit. Sie lassen aber keinen Zweifel darüber, daß die WEILSche Krankheit für den einzelnen ein ernstes Ereignis, für die Volksgesundheit eine harte Belastung ist. Die bevölkerungspolitische Lage Deutschlands läßt es nicht zu, daß auch nur ein einziges Menschenleben unnötig preisgegeben wird. Wenn die Ärzteschaft genügend über das Wesen der WEILSchen Krankheit unterrichtet sein wird und die erfolgversprechende Frühbehandlung ihre Früchte trägt, wenn die *Meldepflicht auch für die Verdachtsfälle* eingeführt ist, dann wird nicht nur die Zahl der Todesfälle sinken, sondern auch der Boden für eine genauere Erkenntnis von Morbidität und Letalität geebnet werden.

Literatur.

- ABE, T.: Über den Erreger des Hasami-Fiebers (*Spirochaeta autumnalis*). Jap. J. of exper. Med. **12**, 255 (1934).
- AELLIG: Icterus gravis beim Hunde. Z. Infkh. Haustiere **39**, 169 (1931).
- ALBALADEJO, L.: Etiología, sintomatología y epidemiología de la fiebre acuática. Rev. San. Hig. Publ. **1935**, 335. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **121**, 76 (1936).
- ALSTON, J. N. and OTHERS: Leptospiral jaundice among sewer-workers. Lancet **1935 I**, 806.
- and H. C. BROWN: The prevalence of Weils disease in certain occupations. Brit. med. J. **1935 II**, 339.
- — The epidemiology of WEILS disease. Proc. roy. Soc. Med. **30**, 741 (1937).

- AOKI, Y., KANEKO, K. u. T. MORIMOTO: Weitere Studien über die „Hasamiyami“. II. Vergleichende Untersuchungen über die Methoden zum Nachweis des Erregers von „Hasamiyami“ (*Sp. autumnalis*) im Rattenkörper. *Z. Hyg.* **117**, 208 (1935).
- APPELMAN, J. M.: Het isoleeren van *Leptospira icterohaemorrhagiae* uit water. *Antonie van Leeuwenhoek*, **1**, 22, 1934.
- u. P. H. VAN THIEL: Das Isolieren von *L. icterohaemorrhagiae* aus Wasser. *Zbl. Bakter. I Orig.* **133**, 224 (1935).
- BARDOS, G.: Ein Fall von WEILScher Krankheit. *Bratislav. lék. Listy (slovak.)* **1936**, 35. Ref. *Zbl. Bakter. I Ref.* **122**, 281 (1936).
- BARROS, E.: Spirochaetosis icterohaemorrhagica. *Prensa med. argent.* **1935**, No 2, 9 u. 16. Ref. *Zbl. Bakter. I Ref.* **119**, 43 (1935).
- BARTL, P. J.: Untersuchungen an Leptospiren bei nicht an Stuttgarter Hundeseuche leidenden Hunden. *Diss. Wien* 1935.
- BASILEWSKY, B. G.: Über die Kiewer Wasserspirochäten vom Typus der *Sp. icterohaemorrhagiae*. *Zbl. Bakter. I Orig.* **116**, 173 (1930).
- Über die Bedeutung des Wassers und der Ratten in der Epidemiologie der ikterohämorrhagischen Spirochätose. *Zbl. Bakter. I Orig.* **129**, 502 (1933).
- BAU KIEN HUN: Untersuchungen über die Weilspirochäte. *Zbl. Bakter. I Orig.* **138**, 413 (1937).
- BEGER, H.: Beobachtungen bei einer Laboratoriumsinfektion mit „Siebentagefieber“. *Berl. klin. Wschr.* **1921** II, 1155.
- BEIGLBOCK, W.: Die Leptospirose des Menschen. *Wien. Ges. Mikrobiol. Sitz.* 19. Jan. **1937**. Ref. *Zbl. Bakter. I Ref.* **125**, 236 (1937).
- Über die Leptospiren des Menschen, insbesondere den Morbus Weil. *Wien. klin. Wschr.* **1937** I, 1088.
- BERGWALL, A.: Zur Klinik der WEILSchen Krankheit. *Dtsch. med. Wschr.* **1933** I, 361.
- BERZI, A.: Ricerca della spirocheta ittero-emorragica nei topi fogne di Firenze. *Policlinico, sez. prat.* **1935**, 1217.
- BESSEMANN, A. et U. THIRY: Sur l'infection murine par *Leptospira icterohaemorrhagiae* en Belgique. *Bull. Acad. Méd. belg.* **13**, 64 (1933).
- — et G. TIELLIU: Présence du leptospire ictero-hémorrhagique chez le rat en Belgique et réceptivité de la souris blanche pour ce spirochétidé. *Acta brevia neerl. Physiol.* **3**, 1 (1933).
- BEZEMER, F.: Die WEILSche Krankheit auf Celebes. *Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië* **73**, 1194 (1933). Ref. *Zbl. Hyg.* **31**, 296 (1934).
- BICKEL, G., M. DEMOLE et E. ARNOLD: La spirochétose ictero-hémorrhagique. Première apparition de la maladie en Suisse. *Rev. méd. Suisse rom.* **56**, 449 (1936).
- BIJL, J. P. u. G. KORTHOFF: Über das Vorkommen der WEILSchen Infektion in Holland während der Jahre 1924—1930. *Arch. f. Hyg.* **105**, 29 (1930).
- BLUMENBERG, W.: Über die WEILSche Krankheit als Laboratoriums- und Stallinfektion. *Zbl. Bakter. I Orig.* **140**, Beih. 100, (1937).
- BÖNNIG, F. A.: Ein Fall von WEILScher Krankheit, verursacht durch einen Unfall. *Münch. med. Wschr.* **1927** II, 1628.
- BROWN, E. K. and A. J. CLEVELAND: A case of spirochaetosis ictero-haemorrhagica. *Brit. med. J.* **1932** I, 283.
- BUINIEWITSCH, K.: Morbus morsus muris. *Klin. Wschr.* **1934** II, 1285.
- CAMINOPETROS, J.: Sur l'existence de foyers de spirochétose ictero-hémorrhagique murine à Athènes, à Syra et au Pirée. Identité des souches murines avec une souche humaine isolée à Athènes. *C. r. Sol. Biol. Paris* **109**, 1316 (1932).
- L'évolution du spirochète ictero-hémorrhagique dans l'organisme du rat. *C. r. Soc. Biol. Paris* **110**, 905 (1932).
- Sensibilité du spermophile *Citillus* à la spirochétose icterohémorrhagique. *C. r. Acad. Sci. Paris* **194**, 1991 (1932).
- CAPPELLINI et BERZI: Un foyer de spirochétose icterohémorrhagique à Florence. *Soc. int. Microbiol. ital.* **4**, 522 (1932). Ref. *Zbl. Bakter. I Ref.* **111**, 141 (1933).
- — Sopra alcuni casi di spirochetose itteroemorragica osservati a Firenze. *Giorn. Clin. med. (Parma)* **14**, 56 (1933).
- CARRIZOSA, R.: Beitrag zur Epidemiologie und Klinik der WEILSchen Krankheit (Ikterus infectiosus). *Diss. Hamburg* 1936.

- CATTANEO, L.: Contributo alla conoscenza della spirochetose ittero-emorragica in Provincia di Pavia. *Riforma med.* **1929 II**, 1513.
- CHAMBERS, F.: Leptospiral jaundice in an hunter? *Vet. Rec.* **15**, 897 (1935).
- CHIODI, E.: Spirochète ictero-hémorragique des rats de Buenos Aires. *C. r. Soc. Biol. Paris* **117**, 451 (1934).
- CHODZKO, W.: Spirochétose ictero-hémorragique en Pologne. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **29**, 307 (1937).
- CLEYNDERT, P. C.: Spirochaetosis icterohaemorrhagica. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1933 II**, 2641.
- COCHEZ, P. et FICHET: Nouvelles observations de spirochétose meningée anictérique. *Presse méd.* **1933**, 646.
- COLBECK, J. C.: Über das Vorkommen der Spirochaeta pseudoicterogenes (UHLENHUTH und ZUELZER) in Erdproben. *Z. Immun.forsch.* **87**, 213 (1936).
- COPANARIS, PH.: L'épidémie de Syra. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **24**, 755 (1932).
- Quelques données nouvelles sur les infections à spirochètes du groupe icterogène en Grèce. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **24**, 1427 (1932).
- Note complémentaire sur les infections à spirochètes du groupe icterogène en Grèce. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **25**, 1968 (1933).
- CUMMING, S.: La spirochétose icterohémorragique (maladie de Weil) et les icteres infectieuses aux Etats-Unis. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **26**, 1749 (1934).
- CUMPSTON, J. H. L.: Maladie de Weil à Ingham, North Queensland (Australie). *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **27**, 678 (1935).
- DAHR, P.: Über das Vorkommen von Antikörpern gegen Spirochaeta icterogenes und Sp. canicola bei Hunden. *Klin. Wschr.* **1937 II**, 1491.
- DAS GUPTA, B. M. and R. N. CHOPRA: The occurrence of WEILS disease in India. *Indian. med. Gaz.* **72**, 610 (1937). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **130**, 1938).
- DAVIDSON, L. S. P.: WEILS disease: A new occupational disease in fish workers. *Glasgow med. J.* **11**, 113 (1938). *Ref. Zbl. Hyg.* **42**, 354 (1938).
- R. M. CAMPBELL, H. J. RAE, J. SMITH: A study of 19 cases of Weil disease, occurring chiefly among fish workers. *Brit. med. J.* **1934 II**, 1137.
- and J. SMITH: WEILS disease in fish-workers: A clinical, chemical and bakteriological study of forty cases. *Quart. J. Med. N. s.* **5**, 263 (1936). *Ref. Zbl. Hyg.* **37**, 714 (1936).
- DHONT, C. M., A. KLARENBEK, W. A. P. SCHÜFFNER u. J. VOET: Die Leptospirosen beim Hunde und die Bedeutung der Leptospira canicola. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1934**, 5208 (deutsche Zusammenfassung).
- DINGER, J. E. et F. VERSCHAFFELT: Recherches expérimentales sur quelques souches de leptospires. *Ann. Inst. Pasteur* **45**, 396 (1930).
- Het beloop der leptospirosis bij de Indische cavia. *Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië* **1932**, 1440. *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **111**, 143 (1933).
- Ein Fall von WEILScher Krankheit in Batavia mit einigen Bemerkungen im Anschluß an den bei dieser Erkrankung isolierten L.stamm. *Geneesk. Tijdschr. Nederl. Indië* **73**, 402 (1933). *Ref. Zbl. Hyg.* **30**, 136 (1934).
- DREW, J. G.: An account of WEILS disease in Queensland. *Brit. med. J.* **1934 II**, 1142.
- DÜRING, W. v.: *Berl. mikrobiol. Ges., Sitzg.* 22. Febr. 1937, *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **125**, 334 (1937).
- EHLER, J.: Eine Endemie WEILScher Krankheit. *Med. Klin.* **1938 I**, 963.
- ERBER, B.: La spirochétose icterohémorragique en France de 1923 à 1932, d'après la statistique des épreuves d'agglutinations effectuées à l'Institut Pasteur. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **26**, 1757 (1934).
- ESSEVELD, H.: Statistische und experimentelle Beiträge zur WEIL-Frage in Niederland (holl.). *Diss. Amsterdam* 1937. *Ref. Zbl. Hyg.* **40**, 722 (1938).
- FAIRLEY, N. H.: WEILS disease among sewer-workers in London. *Brit. med. J.* **1934 II**, 10.
- FLECKSEDER, R.: *Wien. Ges. Mikrobiol. Sitzg.* 19. Jan. 1937. *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **125**, 240 (1937).
- Zum Vorkommen von WEILScher Krankheit in Wien. *Wien. Arch. inn. Med.* **31**, 139 (1937).
- FORLEO, A.: Su alcuni casi di febbre epidemica, di origine oscura verificatisi fra i lavoratori di palude nella provincia di Pistoia. *Ann. Igiene* **1934**, 534.

- FORSYTH, W. L. and M. A. GAHAR: *Leptospira* in the rat in Egypt. *J. trop. Med.* **33**, 191 (1930).
- GAEHTGENS, W.: Weitere Beobachtungen über die serologische Diagnose der WEILSchen Krankheit. *Med. Welt* **1934 I**, 825.
- GARNIER, M., P. NICAUD et A. MAISLER: Spirochétose meningée pure à rechute. *Presse méd.* **1931**, 702.
- GOTSCHLICH: *Handbuch der Hygienischen Untersuchungsmethoden*, Bd. I, S. 556. 1926.
- GRAF, H.: Über einen Fall von WEILScher Krankheit in Kamerun. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **40**, 456 (1936).
- GRUETTNER, F.: Zwei bemerkenswerte Unfälle im Fleischergewerbe. *Schlachthofw. u. Lebensmittelüberw.* **1933**, 813 (Beih. der Dtsch. tierärztl. Wschr.).
- HASLÉ, G., F. TOULLEC et M. VAUCEL: Spirochétose ictérogène au Tonking. *Bull. Soc. Path. exot. Paris* **28**, 551 (1935).
- HEGLER, C.: WEILSche Krankheit als Unfallfolge. *Dtsch. med. Wschr.* **1933 I**, 298.
— WEILSche Krankheit. *Neue deutsche Klinik*, Bd. 12, S. 2, 369 (1934).
— Über atypische Fälle von WEILScher Krankheit. *Dtsch. Z. Chir.* **248**, 190 (1936).
- HEUVEL, G. C. VAN DEN: Ziekte van Weil zonder icterus. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1929 II**, 4791.
- HIRANO, H.: Study on a Philippine strain of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *Philippine J. Sci.* **48**, 103 (1932). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **107**, 236 (1932).
- HOEDEN, J. VAN DER: Specifieke antistoffen in urine bij de ziekte van Weil. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **2**, 1943 (1935).
— Anticorps spécifiques de la Maladie de WEIL dans l'urine. *Ann. Inst. Pasteur* **56**, 206 (1936).
- HÖSCH, K.: Über eine kleine Weil-Endemie in Düsseldorf im Sommer 1932. *Zbl. inn. Med.* **1933**, 1073.
- HUGUENIN, B. u. E. BOURGEOIS: Über Leptospirosis beim Hund. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1936 I**, 483.
- HULSHOFF POL D. J. en J. P. ANEMAET: Ratten als besmettingsgevaar vor de ziekte van Weil. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1931**, 3290.
- JANBON, M., B. ERBER, N. SOLLIER et M. QUET: Une épidémie de spirochétose ictéro-hémorragique. *Bull. Acad. Méd. Paris*, III. s. **118**, 203 (1937).
- JITTA, N. M.: La maladie de Weil dans les Pays-Bas en 1932. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **25**, 307 (1933).
— La maladie de Weil en Hollande. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **26**, 688 (1934).
— Sur la maladie de Weil dans les Pays-Bas. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **27**, 681 (1935).
- JOLLY, A. et F. DANGLEMONT: Sur un cas de maladie de Weil à la Guadeloupe (spirochétose ictéro-hémorragique). *Bull. Soc. Path. exot. Paris* **30**, 557 (1937).
- JORGE, R.: Une épidémie, à Lisbonne, d'ictère hémorragique d'origine hydrique contracté per os; nosologie, bactériologie et épidémiologie. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **24**, 88 (1932).
- JUNGHERR, E.: Observations on canine spirochetosis in Connecticut. *J. amer. vet. med. Assoc.* **91**, 661 (1937).
- KADANER, N. et CORTI, E.: Etude d'une épidémie ayant sévi parmi des Européens de Stanleyville et due vraisemblablement à *L. icterohémorragiae*. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* **13**, 285 (1933). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **113**, 380 (1934).
- KANEKO, K.: Zur Frage der Veränderung der Pathogenität der *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. *Jap. J. of exper. Med.* **13**, 83 (1935). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **119**, 43 (1935).
— Über die Charakterveränderung der *Spirochäta autumnalis* bei ihrer Tierpassage. *Jap. J. of exper. Med.* **13**, 93, 1935. *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **119**, 43 (1935).
— Ob durch die Tierpassage eine Veränderung der Virulenz der *Spirochäta hebdomadis* stattfindet? *Jap. J. of exper. Med.* **13**, 103 (1935). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **119**, 44 (1935).
— S. KOTORII u. Y. AOKI: Weitere Studien über die „Hasamiyami“. I. Statistische Betrachtungen der im Distrikt Hasami gefangenen, spirochätentragenden Feldratten. *Z. Hyg.* **117**, 202 (1935).
- KANTOROWICZ, R.: Stuttgarter Hundeseuche (StHS.) = WEILSche Krankheit? oder verwandt? *Berl. tierärztl. Wschr.* **1935 I**, 372.

- KAUFMANN, O.: Vergleichende serologische Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen der *Spirochaeta icterogenes* und mit der *Spirochaeta canicola*. Med. Diss. Hamburg (1937).
- KIEN-HUN, B.: Untersuchungen über die Weilspirochäte. Zbl. Bakter. I. Orig. **138**, 413 (1937).
- KING, N. S.: Stuttgart disease and nephritis. Vet. Rec. **49**, 1195 (1937).
- KIRSCHNER, L.: Umwandlungsversuche an Wasserspirochäten in Java. Z. Hyg. **113**, 48 (1931).
- Waterspirochaeten en de ziekte van Weil. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië. **72**, 658 (1932). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 500 (1932/33).
- KISTER: Einiges über die WEILsche Krankheit. Z. Med.beamte **1933**, 46.
- Zur Biologie der WEILschen Spirochäte. Zbl. inn. Med. **1933**, 579.
- KITAOKA, M.: Über die Typenfrage der Rattenstämme von *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Japan. Zbl. Bakter. I Orig. **138**, 163 (1937).
- K. INOUE u. I. KUBO: *Leptospira icterohaemorrhagiae* unter den Hausratten in Tokyo und ihr Nachweis mittels des RICKENBERG'schen Phänomens und der Agglutination. Mitt. med. Ges. Tokyo **49**, 851 (1935) (deutsche Zusammenfassung).
- KLARENBECK, A.: Die akute Leptospirose beim Hunde im Zusammenhang mit den spontan bei Mensch und Tier vorkommenden und in der Natur freilebenden Wasserleptospiren. Tierärztl. Rdsch. **1930**, 65, 94.
- Fälle von akuter Leptospirose, die beim Hund im verflossenen Jahr beobachtet wurden. Tierärztl. Rdsch. **1931**, 845.
- De hond en de WEILsche ziekte. Tijdschr. Diergeneesk. **61**, 85 (1934).
- De leptospiroses bij de hond en de beteekenis van de *L. canicola*. Tijdschr. Diergeneesk. **62**, 310 (1935).
- Leptospirose bij den hond in 1934. Tijdschr. Diergeneesk. **62**, 1182 (1935).
- en J. VOET: De hond als besmettingsbron van de ziekte van Weil. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1933 I**, 398.
- — en A. J. M. HOOGLAND: Bijdrage tot de kennis der WEILsche ziekte. Tijdschr. Diergeneesk. **60**, 179 (1933).
- J. WINSSER: Ein Fall von spontaner WEILscher Krankheit bei Ferkeln. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1937 I**, 434.
- KNACK, A. V.: Zur Frage der WEILschen Erkrankung unter Berücksichtigung vermehrt auftretender Fälle bei Kanalarbeitern. Med. Welt **1933 I**, 117.
- KORTHOF, G.: Experimentelles Schlammfieber beim Menschen. Zbl. Bakter. I Orig. **125**, 429 (1932).
- Tamme ratten als bron voor besmetting met Weil *Leptospirae*. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **81 III**, 4571 (1937).
- KOTORI, S.: Zur Klinik der sog. „Hasamiyami“ (weilähnliche endemische Krankheit). Klin. Wschr. **1935 II**, 1147.
- KRAMER, P. H.: De ziekte van Weil te Rotterdam. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1932 III**, 4296.
- De ziekte van Weil zonder icterus. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1933 II**, 2653.
- KRAUSE, FR. u. W. WILKEN: Über das sporadische Auftreten der WEILschen Erkrankung. Klin. Wschr. **1934 I**, 132.
- KRISHNAMURTI, A. V.: A note on an outbreak of leptospiral jaundice among the Madras hounds. Indian J. vet. Sci. **2**, 160 (1932). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 502 (1932/33).
- KUNSTEIN, E.: Über die Verbreitung der Spirochäten vom Weiltyp in Freiburg i. Br. und Umgebung. Z. Immun.forsch. **75**, 173 (1932).
- KYRIAZIDIS, K. u. PETZETAKIS: Über eine Epidemie der WEILschen Krankheit in Syra und das Vorkommen von *Spirochaeta icterogenes* in den Ratten von Athen. Dtsch. med. Wschr. **1932 II**, 1722.
- LAIGNEL-LAVASTINE et BOQUIEN: Spirochétose meningée pure. Presse méd. **1931**, 741.
- LAINER, F.: Zum Vorkommen der WEILschen Krankheit in Wien. Med. Klin. **1937 I**, 53.
- LAVAU, RAGIOT, SOUCHARD, FARINAUD et LIEOU: Sur deux cas de fièvre ictero-hémorragique observés en Cochinchine. Bull. Soc. Path. exot. Paris **24**, 440 (1931). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **105**, 332 (1932).
- LAVERGNE, V. DE: Forme chirurgicale de la spirochétose ictero-hémorragique. Presse méd. **1928**, 1446.

- LAVERGNE, V. DE et ROBERT-LEVY: Spirochétose ictéro-hémorragique, durée de la période d'incubation. Presse méd. **1931**, 651.
- — et M. KAISER: Durée d'évolution de la spirochétose ictéro-hémorragique chez le cobaye. C. r. Soc. Biol. Paris **105**, 939 (1930).
- et R. STUMPF: Parasitisme de rats de Nancy par Spirochaeta ictéro-hémorragique. Notion du parasitisme par „clan“. C. r. Soc. Biol. Paris **108**, 69 (1931).
- LAWRENCE, C. J. MONTAGU and C. C. OKELL: The association of human and canine jaundice with an illustrative case. Lancet **1929 II**, 327.
- LENDRUM, J. D.: Leptospirochäetose, following bathing injury. Brit. med. J. **1936 II**, 423.
- LÉPINE, P., J. CAMINOPETROS et A. PAGONIS: Sur un foyer de spirochétose ictéro-hémorragique dans l'île de Syra. Infectiosité comparée des rats de Syra, du Pirée et d'Athènes. C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 613 (1932).
- LETULLE, R.: La spirochétose ictéro-hémorragique. Presse méd. **1936**, 1370.
- LISZNER, L.: Ein Fall WEILScher Krankheit auf den Philippinen. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **36**, 590 (1932).
- LORANDO, M. N. J.: Etude critique sur l'épidémie de l'île de Syra. Dengue et spirochétose. Bull. Soc. Path. exot. Paris **25**, 552 (1932). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 218 (1932/33).
- LOREY, H.: Das Vorkommen der Spirochäta icterogenes bei verschiedenen Tierarten. Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. **1932**.
- MACRAE, D. R.: An outbreak of leptospiral jaundice in silver-fox cubs. Vet. Rec. **14**, 1170 (1934). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **117**, 470 (1935).
- MALMGREN, B.: Über die WEILSche Krankheit und deren Vorkommen in Schweden. Nord. med. Tidskr. **1936**, 379. Ref. Zbl. Hyg. **37**, 713 (1936).
- MARCHESI, FR.: Diffusione della spirochete dell'ittero emorragico nei ratti di chiavica in diversi tratti del Tevere in Roma e dell'Aniene. Policlinico, sez. prat. **1935**, 842. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **119**, 43 (1935).
- The spirochaeta of infective haemorrhagic jaundice found in rats in Rome. J. trop. Med. **38**, 213 (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **121**, 77 (1936).
- MARIE, J. et GABRIEL: Méningite spirochétiq. épidémique. Presse méd. **1935**, 1713.
- MASON, N.: Leptospirochäetose occurring naturally in a guinea pig. Lancet **1937**, 564.
- MASSIAS, G.: Un nouveau cas mortal de spirochétose ictérogène en Cochinchine avec autopsie. Bull. Soc. Path. exot. Paris **28**, 791 (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **122**, 282 (1936).
- MAXWEL, J.: WEILS disease in an sewerworker. Lancet **1935 II**, 998.
- MERKLEN, P., R. WAITZ et M. O. GROOTEN: Présence de Spirochaeta icterohemorrhagiae dans l'expectoration d'un malade atteint de spirochétose ictéro-hémorragique. C. r. Soc. Biol. Paris **111**, 1012 (1932).
- et R. WAITZ: Spirochétose ictéro-hémorragique avec spirochétose dans les crachats et spirochéturie précoce intracellulaire. Presse méd. **1933 I**, 221.
- MEYER, K. F., B. EDDIE and B. ANDERSON-STEWART: Canine, murine and human leptospirosis in California. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **38**, 17 (1937).
- MIDDLETON, A. D.: Leptospira icterohemorrhagica in Oxford rats. J. of Hyg. **29**, 219 (1929).
- MIESSNER, H. u. K. DEDÉ: Leptospirosis bei Silberfüchsen. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1937 I**, 809.
- MIYARA, S., H. MARTINEZ LEANES y P. E. FUNES: Die beiden ersten in der Provinz Mendoza beobachteten Fälle von Spirochätosis icterhaemorrhagica. Reg. Argentina (Buenos Aires) **23** (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **120**, 162 (1936).
- MONTFORD, T. M.: Epidemic jaundice in North Leicestershire. Brit. med. J. **1934 I**, 330.
- MOTZFELD, K.: WEILSche Krankheit. Norsk. Mag. Laegevidensk. **96**, 1041 (1935). Ref. Zbl. Hyg. **136**, 295 (1936).
- MULHOLLAND, HENRY BEARDEN and W. E. BRAY: WEILS disease: Report of a case with autopsy findings. Internat. Clin. **4**, Ser. 47 (1937). Ref. Zbl. Hyg. **41**, 586 (1938).
- MURGATROYD, FR.: Chronic meningitis in WEILS disease. Brit. med. J. **1937 I**, 7.
- NEALE, A. V.: Leptospirochäetose infection from a stream. Lancet **1935 II**, 999.
- NICAUD, P.: La spirochétose méningée pure. Presse méd. **1932 I**, 793.
- NOWOCHATNY, J.: Epidémie des Icterus infectiosus im DMITROWSchen Bezirke des Moskauer Gouvernements (1920—1927). Gig. i. Epidem. **1929**, (russ.) Nr 1. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **98**, 518 (1930).
- OLIN: L'apparition de la maladie de Weil en Suède. Bull. mens. Off. internat. d'Hyg. Publ. **26**, 1765 (1934).

- PACKCKANIAN, A.: La spirochétose ictéro-hémorragique (maladie de Weil) aux Etats-Unis. Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ. **29**, 2350 (1937).
- PAEZ: Untersuchungen über die Ikerusspirochäte. Stämme aus Ratten und freilebende Stämme. Rev. Inst. bacter. Chile **5**, 25 (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **123**, 332 (1936).
- Untersuchungen über die Ikerusspirochäte. Diagnostik im Laboratorium. Stämme aus dem Menschen. Rev. Inst. bacter. Chile **5**, 13 (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **123**, 331 (1936).
- PALLASKE, G.: Zur Frage des Vorkommens eines infektiösen durch Spirochäten verursachten Icterus gravis bei Hunden in Deutschland. Z. Inf.krkh. Haustiere **43**, 25 (1932).
- PANAYOTATOY, A.: Infection spirochétosique chez le „rattus norvégicus“ à Alexandrie. Verh. 3. internat. Kongreß vergl. Path. **2**, 305 (1936). Ref. Zbl. Hyg. **39**, 304 (1937).
- PAWAN, J. L.: LEPTOSPIRA ictero-haemorrhagiae in rats in Trinidad. B. W. I. Ann. trop. Med. **25**, 31 (1931). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **107**, 236 (1932).
- PETERSEN, C. B. et E. JAKOBSEN: Un cas de spirochétose ictérohémorragique (Maladie de Weil) vraisemblablement transmis par un chien. C. r. Soc. Biol. Paris **125**, 797 (1937).
- Recherche sur la diffusion de la leptospirose des chiens dans un village danois. C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 799 (1937).
- PETZETAKIS, M.: L'épidémie de spirochétose ictéro-hémorragique de l'île de Syra. Séro-diagnostic et reproduction expérimentale. C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 646 (1932).
- A propos d'une épidémie de spirochétose ictérohémorragique à l'île de Syra. Origine hydrique de l'épidémie. Présence des spirochètes chez les rats d'égout, en Grèce. Bull. Soc. Path. exot. Paris **25**, 411 (1932). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **108**, 218 (1932/33).
- A propos de la nature de l'épidémie de Syra. Bull. Soc. Path. exot. Paris **25**, 1058 (1932). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **110**, 120 (1933).
- Une épidémie de spirochétose ictéro-hémorragique à Syra en août 1931, Presse méd. **1933 I**, 256.
- Sur la sensibilité du camagnol vis à vis de la spirochétose ictéro-hémorragique. Presse méd. **1933 I**, 447.
- Über die Empfindlichkeit der Feldmaus für die Icterogenes-spirochaeten. Zbl. Bakter. I Orig. **129**, 41 (1933).
- Über die Empfänglichkeit der Feldmaus für die Spirochäta icterogenes. Wien. klin. Wschr. **1934 II**, 1048.
- et K. KYRLAZIDES: Sur la présence de Spirochaeta icterohemorrhagiae chez les rats d'égout à Athènes. C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 1083 (1932).
- C. MELANIDIS et TZORTZAKIS: Sur la sensibilité du mouton, du chevreau et du porcelet au virus de la spirochétose ictérohémorragique. C. r. Soc. Biol. Paris **110**, 482 (1932).
- PRETO, G.: A proposito di in bambino portatore di leptospire dell' ittero emorragico. Poli-clinico, sez. prat. **1935**, 888. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **119**, 41 (1935).
- RAGIOT, CH. et P. DELBOVE: Spirochétose ictérogène en Cochinchine. Bull. Soc. Path. exot. Paris **27**, 347 (1934). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **116**, 492 (1934).
- REITANO, U. e G. MOSELLI: Infezione da spirochete dell'ittero emorragico nei cani randagi a Roma. Giorn. Batter. **15**, 454 (1935). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **121**, 76 (1936).
- REITER, H.: La maladie de Weil en Allemagne. Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ. **26**, 1747 (1934).
- Constatations nouvelles relatives à la maladie de Weil et à la gastroentérite hémorragique infectieuse des chiens (Stuttgarter Hundeseuche) Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ. **29**, 2343 (1937).
- RIDLON, J. R.: Studies in Leptospira icterohaemorrhagiae. Publ. Health rep. **1931**, 1. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **105**, 33 (1932).
- RIMPAU, W.: Zur Ätiologie des Erntefiebers im Donaugebiet von Niederbayern. Münch. med. Wschr. **1937 II**, 1361.
- H. SCHLOSSBERGER u. J. KATHE: Über Leptospiroten in Deutschland. Zbl. Bakter. I Orig. **141**, 318 (1938).
- ROMIJN, P.: De ziekte van Weil te Dordrecht. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1932 IV**, 5832.
- ROOS, C. J., B. WALCH-SORGDRAGER en W. A. P. SCHUEFFNER: Een epidemie van *L. canicola*-infectie bij menschen en honden. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1937 III**, 3324.

- RUBARTH, S.: Die WEILSche Krankheit beim Hund und beim Fuchs. Münch. tierärztl. Wschr. **1937 I**, 556, 569.
- Weils sjukdom hos hund och rävd. Skand. Vet.tidskr. **27**, 285 (1937). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **127**, 446 (1937).
- SAENZ, A.: Infection transplacentaire de cobaye par le spirochète ictéro-hémorragique. C. r. Acad. Sci. Paris **188**, 1455 (1929).
- SANARELLI, G.: Sulla patogenesi delle spirochetose itterogene. Verh. 3. internat. Kongreß vergl. Path. **1**, Abt. Med. **197** (1936). Ref. Zbl. Hyg. **39**, 304 (1937).
- SANCHIS-BAYARRI, V., C. MONTOLIU-VOLANT et J. SABINA: Sur l'existence de la spirochétose ictéro-hémorragique à Valence. C. r. Soc. Biol. Paris **117**, 1247 (1935).
- SANDER, F.: Zur Frage der Übertragung der WEILSchen Krankheit durch Schweine. Arch. f. Hyg. **113**, 279 (1935).
- SARDEMAN, F. H.: Orale infecties met *Leptospira icterohaemorrhagiae* bij paarden. Tijdschr. Diergeneesk. **57**, 996 (1930).
- SARDJITO: Untersuchungen über das biologische Verhalten verschiedener Stämme der *Spirochaeta icterogenes* (*Leptospira icterohaemorrhagiae*) und der *Spirochaeta pseudoicterogenes* (*Leptospira pseudoicterohaemorrhagiae*). Zbl. Bakter. I Orig. **122**, 497 (1931).
- Umwandlung von antigenen Eigenschaften und zugleich Avirulentwerden eines Rattenleptospirostammes durch Züchtung im Wasser. Zbl. Bakter. I Orig. **126**, 395 (1932).
- SCHLOSSBERGER, H.: Neue Feststellungen über WEILSche Krankheit und Stuttgarter Hundeseuche. Reichsgesdh.bl. **1937**, 521.
- Über WEILSche Krankheit und Stuttgarter Hundeseuche. Berl. mikrobiol. Ges. Sitz. **22. Febr. 1937**. Zbl. Bakter. I Ref. **125**, 332 (1937).
- Bemerkungen zu den vorstehenden Ausführung von Prof. Dr. W. SCHÜFFNER. Zbl. Bakter. I Orig. **142**, 223 (1938).
- J. GRILLO u. L. SCHEELE: Über das Vorkommen von Typen bei der Spirochäte der WEILSchen Krankheit. Klin. Wschr. **1935 II**, 1133.
- u. R. POHLMANN: Serologische Untersuchungen über die Stuttgarter Hundeseuche. Zbl. Bakter. I Orig. **136**, 182 (1936).
- SCHMIDT, H.: Untersuchungen von Katzenmieren auf Leptospirosen. Vet.-med. Diss. Wien **1936**. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **126**, 286 (1937).
- SCHÜFFNER, W.: Über das Vorkommen der WEILSchen Infektion in Holland während der Jahre 1924—1929. Arch. f. Hyg. **103**, 249, (1930).
- De besmeeting met en bestrijding van der ziekte van Weil. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1932**, 5548.
- Zur Arbeit von VAN THIEL: „Die Umwandlung von *Leptospira pseudoicterogenes*, Stamm Leiden“ in dem Zbl. Bakter. I Orig. **127**, 290 (1933). Zbl. Bakter. I Orig. **129**, 488 (1933).
- Recent work on Leptospirosis. Trans roy. Soc. trop. Med. Lond. **28**, 7 (1934). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **116**, 492 (1935).
- Zu dem Artikel „Über Leptospirosen in Deutschland“ von W. RIMPAU, H. SCHLOSSBERGER und J. KATHE. Zbl. Bakter. I Orig. **142**, 220 (1938).
- G. F. KOTTER u. D. SCHULTZ: Erfahrungen über menschliche Ansteckungen mit Hundeleptospirosen (*L. canicola*). Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië **75**, 534 (1935). Ref. Zbl. Hyg. **35**, 86 (1936).
- u. B. WALCH-SORGDRAGER: Meningitis bij ziekte van Weil. Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1936**, 3000.
- — Infection humaine par *Leptospira canicola*. Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ. **29**, 297 (1937).
- SCHWETZ, J. et KADANER: Sur une épidémie mystérieuse observée, en 1932 parmi des Européens de Stanleyville (Congo belge) et en relation avec un bassin de natation. Bull. Soc. Path. exot. Paris **27**, 354 (1934). Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **115**, 446 (1934).
- SEMZOVA, O. M.: Zur Frage der Epidemiologie des infektiösen Ikterus. II. Untersuchung der Gewässer Moskaus auf *Spir. icterogenes*. Zbl. Bakter. I Orig. **118**, 12 (1930).
- SEYDLER, B.: Beitrag zum Problem der Stuttgarter Hundeseuche. Tierärztl. Rdsch. **1937**, 302.
- SMITH, J.: Vaccination of guinea-pigs and human beings against leptospiral infections. J. of Hyg. **37**, 261 (1937).

- SMITH, J. and L. S. P. DAVIDSON: The incidence of WEILS disease in fish workers in Aberdeen. *J. of Hyg.* **36**, 458 (1936).
- STEFANOPOULO, G. J. et S. HOSYA: Sur les spirochétidés, agents de la „fièvre d'automne“ du Japon. (Sp. autumnalis types A et B). *C. r. Soc. Biol. Paris* **98**, 1317 (1928).
- SWAN, W. G. A. and J. A. MCKEON: Incidence of WEILS disease among coalminers in Northumberland and Durham. *Lancet.* **1938 I**, 201
- T'ANG, T. K.: The occurrence of WEILS disease in Canton. *China med. J.* **51**, 481 (1937). *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **127**, 443 (1937).
- TARASSOFF, S.: Zur Frage über atypische Formen akuter Infektionskrankheiten, die auf Leptospirose Verdacht erregen. *Z. Epidem. i Mikrobiol. (russ.)* **1933**, Nr. 9. *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **114**, 382 (1934).
- Histoire sommaires de l'ictère infectieux et les leptospiroses dans l'Union des Républiques soviétistes socialistes. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **26**, 690 (1934).
- Trois éclosons d'épidémie de fièvre aquatique du Leptospirosis grippo-typhosa aquatilis 1932—1933, en U. R. S. S. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **27**, 683 (1935).
- L'écllosion d'une épidémie d'ictère infectieux dans la région industrielle d'Ivanovo, en automne 1933. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **27**, 690 (1935).
- TAYLOR, J. and A. M. GOYLE: Leptospirosis in the Andamans. *Indian med. Res. Mem.* **1931**, Nr. 10. *Ref. Zbl. Bakter. I Ref.* **104**, 280 (1932).
- TETZNER, F.: Serologisch sicher gestellter Fall von WEILScher Krankheit — Typ *Leptospira canicola* — beim Menschen unter dem Bilde einer Meningitis. *Klin. Wschr.* **1938 I**, 508.
- THIEL, P. H. VAN: De „Umwandlung“ van *Leptospira pseudoicterogenes*, Stamm Leyden. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1932 II**, 2288.
- Die Umwandlung von *Leptospira pseudoicterogenes*, Stamm Leyden. *Zbl. Bakter. I Orig.* **127**, 290 (1933).
- Der Antagonismus zwischen *Leptospira icterohaemorrhagiae* und *Leptospira pseudoicterogenes*. *Leeuwenhoek*, **1**, 237 (1934).
- THIRY, U. et G. TIELLU: La spirochétose ictéro-hémorragique chez la souris blanche. *C. r. Soc. Biol. Paris* **112**, 221 (1933).
- TROISIER, J., BARIÉTY, ERBER et GABRIEL: Existe-t-il une spirochétose occulte d'origine hydrique? *Presse méd.* **1934**, 91.
- et Y. BOQUIEN: Spirochétose ictéro-hémorragique spontanée du cobaye. Contamination de cage par un porteur de germes. *C. r. Soc. Biol. Paris* **104**, 930 (1930).
- — Spirochétose ictéro-hémorragique spontanée du cobaye; contamination du cage par un porteur de germes. *Presse méd.* **1930**, 946.
- TSURUMI, M.: La maladie de Weil au Japon. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ.* **26**, 1763 (1934).
- UHLENHUTH, P.: Zur Epidemiologie der WEILSchen Krankheit mit besonderer Berücksichtigung der Wasserinfektionen. *Münch. med. Wschr.* **1930 II**, 2047, 2098.
- Zur Epidemiologie, Diagnose, Therapie und Prophylaxe der WEILSchen Krankheit. *Med. Welt* **1936 I**, 989.
- Zur Typenfrage der *Spirochaeta icterogenes* und *pseudoicterogenes*. *Festschr. BERNHARD NOCHT*, S. 636. Hamburg 1937.
- u. W. FROMME: WEILSche Krankheit (ansteckende Gelbsucht). *Lehrbuch der Militärhygiene*, S. 493. 1936.
- u. E. ZIMMERMANN: Zur Frage der Verbreitung der WEILSchen Krankheit in Deutschland. *Dtsch. med. Wschr.* **1933 I**, 800.
- — Die weiße (zahme) Ratte als Überträgerin der WEILSchen Krankheit (*Spirochaeta icterogenes*). *Dtsch. med. Wschr.* **1933 II**, 1393.
- — Über eine Laboratoriumsinfektion mit WEILScher Krankheit sowie über die Serumtherapie dieser Erkrankung. *Med. Klin.* **1934 I**, 464.
- — Zur Epidemiologie und Therapie der WEILSchen Krankheit. 16. Tagg dtsch. Ver. Mikrobiol., 26.—28. Mai 1935. *Zbl. Bakter. I Orig.* **135**, 1 (1935).
- — Hunde als Träger der Spirochäten vom WEIL-Typus. *Dtsch. med. Wschr.* **1936 I**, 891.
- VAGEDES, K. v.: Spirochäten in Trink- und Nutzwasser. *Kl. Mitt. Ver. Wasser- usw. Hyg., E. V.* **10**, 335 (1934).
- VANUCCI, F.: Sulla spirochetose ittero-emorragica in provincia di Parma. *Giorn. Clin. med.* **14**, 1354 (1933).

- VAUCEL, M.: Le séro-diagnostic de Martin et Pettit au Tonkin (Résultat de 800 séro-agglutinations). Bull. Soc. Path. exot. Paris **29**, 251 (1936).
- Sero-diagnostic des leptospires au Tonkin agglutinés et coagglutinés. Bull. Soc. Path. exot. Paris **30**, 176 (1937).
- et R. SOULIER: Sur l'existence d'un foyer de leptospirose à Tuyên-Quang (Tongking). Bull. Soc. Path. exot. Paris **30**, 408 (1937).
- VOGT, A.: Iridocyklitis und Neuroretinitis acuta duplex durch WEILSchen Ikterus. Z. Augenheilk. **89**, 252 (1937).
- WALCH-SORGDRAGER, B. u. W. SCHÜFFNER: Die Selbständigkeit der *L. canicola*. Zbl. Bakter. I Orig. **141**, 97 (1938).
- WANI: Über die Prophylaxe der Spirochaetosis icterohaemorrhagica Inada (WEILSchen Krankheit) durch Schutzimpfung. Z. Immun.forsch. **79**, 1 (1933).
- WEBER, W. E.: Kommen in Blut und Organen von Hunden mit Ikterus und solchen mit rasch verlaufender Stuttgarter Hundeseuche Spirohemaceen vor und haben sie eine ursächliche Bedeutung bei diesen Krankheiten? Inaug.-Diss. München 1937.
- WIRTH, D.: Weitere Beiträge zum Stuttgarter Hundeseuchenproblem. Tierärztl. Rdsch. **1935**, 609.
- Das Stuttgarter Hundeseuchenproblem. Wien. tierärztl. Mschr. **22**, 129, 161 (1935).
- Die Leptospirose (WEILSche Krankheit) bei Tieren. Wien. klin. Wschr. **1937 II**, 1115.
- Zur ursächlichen Bedeutung der Leptospiren bei der sog. Stuttgarter Hundeseuche. Tierärztl. Rdsch. **1937**, 547.
- Infektionsversuche mit Leptospiren. Wien. tierärztl. Mschr. **24**, 97 (1937).
- Leptospirose (WEILSche Krankheit) bei Tieren. Wiener Gesellschaft für Mikrobiologie. Sitz. 19. Jan. 1937. Ref. Zbl. Bakter. I Ref. **125**, 239 (1937).
- WOLFERT, H. G.: Die WEILSche Krankheit in Holland. Mschr. Kindergeneesk. **4**, 459 (1935).
- WOLSTENKROFT, J.: Weils disease in an english canalworker. Lancet **1935 I**, 86.
- YANG, K. and M. THEILER: The relationship of *Leptospira icterohaemorrhagiae* and the Akiyami type a strain of *Leptospira* as determined by cross immunization experiments in guinea pigs. Amer. J. trop. Med. **10**, 407 (1930), Ref. Zbl. Bakter. I. Ref. **101**, 329 (1931).
- ZIMMERMANN, E.: Verbreitung und Methodik des Nachweises der Spirochaeta icterogenes unter den wilden Ratten. Zbl. Bakter. I Orig. **119**, 74 (1930).
- Zur serologischen Differenzierung der Spirochäten vom Weiltyp. Z. Immun.forsch. **68**, 364 (1930).
- Weitere Beobachtungen über Einzelfälle von WEILScher Krankheit. Med. Kin. **1934 I**, 224.
- ZUELZER, M.: Beiträge zur Weilfrage. Arch. f. Hyg. **103**, 282 (1930).
- Biologie und Epidemiologie der WEILSchen Krankheit mit besonderer Berücksichtigung von Dänemark. Zbl. Bakter. I Orig. **136**, 194 (1936); **137**, 189 (1936).
- Beitrag zur Lebensgeschichte der Spirochäten in natürlichen Gewässern unter besonderer Berücksichtigung dänischer Verhältnisse. Zbl. Bakter. II Orig. **94**, 218 (1936).
- Zur Hydrobiologie der WEILSchen Spirochäten. Verh. 12. internat. Kongreß Zool. **3**, 1871 (1937).

V. Theoretische und praktische Grundlagen der Herstellung von konzentrierten Immunsera.

Von

D. VON KLOBUSITZKY-Pécs (Ungarn) und São Paulo (Brasilien)¹.

Mit 12 Abbildungen.

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	238
II. Natives oder konzentriertes Serum?	240
III. Die Serumeiweißkörper	244
1. Die Eiweißfraktionen des Serums	244
2. Chemie der Serumeiweißkörper	245
3. Physikalische Chemie der Serumeiweißkörper	247
IV. Verteilung der Antikörper im Serum	251
V. Vorbereitung der Sera für die Konzentration	254
VI. Konzentration von Immunsera mit ausschließlich an Pseudoglobulin gebundenen Antikörpern	256
1. Durch Fällung mittels Ammoniumsulfat	256
2. Durch Fällung mittels Ammoniumsulfat und Einstellung auf den isoelektrischen Punkt.	261
3. Durch Fällung mittels Natriumsulfat	262
4. Durch Fällung mittels Magnesiumsulfat	265
5. Verbesserte Fällungsmethoden.	266
6. Entfernung des Fällungsmittels	267
a) Durch Auspressen	267
b) Durch Ausfrieren	267
c) Durch Dia'yse	268
d) Durch Elektrodialyse	271
e) Durch Elektroultrafiltration	278
VII. Konzentration durch Elektrodekantierung.	281
VIII. Konzentration durch Ultrafiltration, Evaporieren oder Vakuumdestillation, Herstellung von Trockensera	282
IX. Konzentration von Immunsera mit nur teilweise an Pseudoglobulin oder gänzlich an andere Fraktionen gebundenen Antikörpern	286
1. Konzentration von Tetanusserum	287
2. Konzentration der Pneumo- und Meningococcusera	289
X. Konzentration durch Adsorption oder enzymatischen Abbau	293
XI. Weitere Behandlung und Entkeimen der Immunsera.	296
Anhang	301
Literatur	303

I. Einleitung.

Selten deckt sich theoretische Forschung mit praktischen Interessen so restlos und so vollkommen wie auf dem Gebiet der Reindarstellung von Anti-

¹ Z. Zt. am *Instituto Biologico* und am *Instituto Sôroterapico Pinheiros* in São Paulo, Brasilien.

körpern. Der Theoretiker möchte in die chemische Natur, Zusammensetzung, Struktur der Antikörper klar hineinblicken können, der praktische Arzt wiederum will seinem Patienten diese Antikörper in möglichst großen Mengen, aber gleichzeitig geringstem Volumen und womöglich ohne irgendwelche unangenehme Folgen oder gar Gefahren verabreichen. Das Ziel des Theoretikers liegt, trotzdem gangbare Wege schon gefunden worden sind, noch in weiter Ferne. Der Wunsch des Klinikers wurde indessen, wenigstens was die große Menge von Antikörpern in geringem Volumen anbelangt, sogar in zwei Formen erfüllt. Den Immunologen ist es gelungen, die Immunisierungsprozesse derart zu vervollkommen, daß es heute nicht mehr schwer ist, bei den serumspendenden Tieren ein Stadium der Hyperimmunisierung zu erreichen. Die Kolloid- und Physikochemiker wiederum haben Verfahren ausgearbeitet, die es zulassen, den Antikörpergehalt eines Serums auf das 4—5fache zu steigern. Die Entdeckung der Antikörper und ihrer praktischen Bedeutung für die Medizin ist bekanntlich EMIL v. BEHRINGS' nie verblappendes Verdienst. Trotzdem sie in einer Epoche gemacht wurde, in der die Kenntnisse über die Eiweißkörper noch recht mangelhaft und — wie die späteren Untersuchungen gezeigt haben — irrig waren, brachten es die praktischen Interessen mit sich, daß die Konzentration der Antikörper alsbald nach der Bestätigung ihrer Existenz versucht wurde.

Die Arbeiten der ersten Jahre (1893—1907), an welchen sich hauptsächlich BRIEGER und COHN, BRIEGER und EHRLICH, BRIEGER und BOER, FREUND und STERNBERG, DIEUDONNÉ, BELFANTI und CARBONE sowie PICK beteiligt haben, brachten nur insofern Nutzen für die Praxis, als sie die Eiweißnatur bzw. die Unzertrennbarkeit der Antikörper von den Serumproteinen bestätigten und dadurch auf die Möglichkeiten ihrer Anreicherung hinwiesen.

Das erste Konzentrationsverfahren, welches geeignet war, Sera in größeren Mengen zu reinigen, wurde von dem Amerikaner GIBSON im Jahre 1907 veröffentlicht. Das Prinzip dieser Methode bestand darin, daß die Gesamtglobuline durch Halbsättigung mittels $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ wiederholt gefällt und nachher mit gesättigter NaCl-Lösung extrahiert wurden. Damit wurde das noch heute viel gebrauchte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in die Technik der Heilserumkonzentration eingeführt. Das noch in unseren Tagen von vielen Instituten bevorzugte Na_2SO_4 -Fällen wurde fast gleichzeitig mit dem GIBSONSchen Verfahren von BRUNNER und PINKUS ausgearbeitet. Die Verwendung des Na_2SO_4 wurde auf seine speziellen Löslichkeitsverhältnisse basiert. Dieses Salz löst sich nämlich bei 37° gerade in einer Menge, die zur Fällung der Globuline erforderlich ist, bei niedriger Temperatur fällt der größte Teil krystallinisch aus, so daß man durch Abkühlung auf 6° einen Salzgehalt von nur 7% erreichen kann.

Die GIBSONSche Methode wurde in den darauffolgenden Jahren von BANZHAF wesentlich verbessert, hauptsächlich dadurch, daß er die Sera in 3 Fraktionen, und zwar Euglobulin-, Pseudoglobulin- und Albuminfraktion zerlegt hat. Die andere von ihm eingeführte Änderung, nämlich das Erwärmen der Sera- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gemische, welches noch heute in vielen Seruminstituten üblich ist, wurde von HOMER systematisch untersucht und — obgleich es keine Vorteile bietet — auch für die Fraktionierung mit Hilfe von Na_2SO_4 übertragen.

Bei allen diesen Verfahren geschah die Entfernung des Fällungsmittels durch Dialyse. Die weitere Entwicklung der Konzentrationstechnik ging parallel

mit dem Ausarbeiten elektroosmotischer Methoden mit dem der vervollkommeneten Dialysierverfahren, d. h. mit der Einführung der Elektrodialyse und Elektroultrafiltration. Bereits im Jahre 1919 wurde in Österreich von der *Elektro-Osmose A.G.* und RUPPEL unter Nr. 83398 ein Verfahren patentiert, nach welchem die Abscheidung des Euglobulins mit Hilfe der Elektroosmose durchgeführt wurde (s. PRAUSNITZ-REITSTÖTTER). Der Elektrodialyse und Elektroultrafiltration kommt bei der Reinigung und Konzentration solcher Antikörper, die ausschließlich an der Pseudoglobulinfraction haften, dadurch eine besondere Bedeutung zu, daß diese Verfahren eine rasche und restlose Entfernung der Elektrolyte ermöglichen. Da das Euglobulin in elektrolytfreiem Wasser unlöslich ist, wird dasselbe aus dem Dialysat vollkommen ausgeschieden. Die vollständige Entfernung des überflüssigen Euglobulins ist wiederum deshalb von Wichtigkeit, weil gerade diese Fraction — infolge ihrer Labilität — große Neigung zur Ausflockung besitzt, wodurch die Heilsera trübe und sehr viscos werden.

In der allerneuesten Zeit wurde auch das während der Elektrodialyse auftretende sog. Schichtungsphänomen bzw. die dadurch entstehende Konzentrationssteigerung der Kolloide in dem unteren Teil des Elektrodialysierapparates zur Anreicherung der Antikörper herangezogen. Diese Manipulation ist unter dem Namen Elektrodekantierung bekannt.

Den Gegenstand dieses Aufsatzes bilden in erster Linie diejenigen Methoden der Antikörperanreicherung, die praktischen, d. h. serotherapeutischen Zwecken dienen. Die Methoden der eigentlichen Reinigung bzw. Isolierung, also der Trennung der Antikörper von ihren Trägern, denen vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus eine überaus wichtige Rolle zukommt, welche aber für die Technik — wenigstens heute noch — so gut wie wertlos sind, werden nur in ihren großen Zügen erwähnt. Da alle diese Verfahren mit den chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der Serumproteine unzertrennbar verknüpft sind, müssen wir sie zunächst in einer Form besprechen, die der uns zur Verfügung gestellte Raum zuläßt.

II. Natives oder konzentriertes Serum?

Das konzentrierte Serum unterscheidet sich von dem nativen nicht bloß durch seinen höheren Eiweißgehalt, sondern auch durch die Qualität seines Eiweißkörpers. Das native Serum enthält 8—9% Eiweiß, die verschiedenen Fractionen angehören. Das konzentrierte Serum weist dagegen mindestens 12% (in Deutschland), sehr häufig aber 18—20% Proteingehalt auf, welcher — je nach der Qualität des Serums — entweder fast ausschließlich aus Pseudoglobulin oder aus Euglobulin besteht. Außerdem werden die Eiweißfractionen während der Konzentration verschiedenen Manipulationen, wie p_H -Änderung, Aussalzen, Erwärmen, Auspressen, Dialysieren unterworfen, so daß sie im biologischen Sinne nicht mehr als einwandfrei „nativ“ gelten können. Die Tatsache, daß die in den letzten Jahren ausgearbeitete und eingeführte Hyperimmunisierung native Sera mit solchen Antitoxintitern liefert, die früher nur durch Konzentration erreicht werden konnten, machte es außerdem begreiflich, daß die Anwendung von konzentrierten Sera nicht restloser Zustimmung begegnet. Die wichtigsten Punkte, die bei der Entscheidung dieser Frage eine Rolle spielen, sind: der anaphylaktische Shock, die Serumkrankheit, die

Resorptionsgeschwindigkeit und die Haltbarkeit der 2 Serumtypen. Zu diesen rein medizinischen Gesichtspunkten gesellen sich die finanziellen und ökonomischen Interessen der Laboratorien, welche naturgemäß auch die durch die Konzentration hervorgerufenen Verluste und Spesen in Betracht ziehen müssen.

Die medizinische Seite dieses Problems wurde seit den im Jahre 1913 veröffentlichten Arbeiten von EGIS und COLLEY sehr häufig erörtert und resultierte daraus schließlich — wenigstens in Europa, die Nordamerikaner sind anderer Meinung — die Auffassung, daß man danach trachten soll, Sera mit möglichst großem Antikörpertiter und relativ geringem Eiweißgehalt herzustellen. Das Serum soll also eigentlich nicht konzentriert, sondern eher gereinigt werden, d. h. es soll von den Eiweißfraktionen, an denen keine Antikörper haften, befreit werden, ohne die Konzentration jener Eiweißfraktion, welche mit den Antikörpern verbunden ist, zu erhöhen. Diesen Bestrebungen entsprechen diejenigen Sera, die man — besonders in Deutschland in den *Behringwerken* — aus dem Blut hyperimmunisierter Tiere durch die Trennung der Pseudoglobulinfraktion gewinnt und die höchstens 5% Eiweißgehalt aufweisen, also eiweißärmer sind als das native Serum.

Der glücklicherweise seltene anaphylaktische Shock mit tödlichem Ausgang kann sowohl nach Reinjektion von nativem als auch von konzentriertem Serum eintreten. Laut einer Zusammenstellung von PARK fällt ein Todesfall auf 20000 Serumreinjektionen, wenn dieselbe intravenös, und auf nur 50000, wenn sie intramuskulär verabreicht wurde. Aus einer Zusammenstellung von BRUCE, welche sich auf die Erfahrungen der englischen Sanitätsbehörden während des Weltkrieges stützt, geht hervor, daß richtiger anaphylaktischer Shock unter 2 Millionen prophylaktischen Tetanusimpfungen nur 2mal, bei 1458 therapeutischen 49mal beobachtet wurde. Unter den letzteren befanden sich 12 mit tödlichem Ausgang.

Früher war oft Gegenstand einer Diskussion, ob die Serumkrankheit von den artfremden Eiweißkörpern oder von sog. heterophilen Antigenen verursacht wird. Heutzutage ist diese Frage als erledigt zu betrachten, und zwar in dem Sinne, daß die Krankheit ausschließlich auf die artfremden Proteine zurückgeführt wird, wobei dem Umstand, ob das Serum Antikörper enthält oder nicht, keine Bedeutung zukommt (s. PAVELL und Mitarbeiter).

Die einzelnen Serumfraktionen wurden in bezug auf ihre Beteiligung an der Serumkrankheit in neuerer Zeit von MEYERS und von JONES und FLEISHER an Menschen durch Einspritzung verschiedener isolierter Proteine bzw. an Kaninchen durch Verwendung von Pferdeserum sehr gründlich untersucht. Der erstgenannte Autor hat von Fibrinogenlösung in 90% aller Fälle eine stark positive Reaktion gesehen. JONES und FLEISHER kommen wiederum zu dem interessanten Resultat, daß das Serumalbumin die einzige Fraktion ist, welche überhaupt keine Serumkrankheit verursacht. Die Einzelheiten dieser Versuche veranschaulicht sehr klar die folgende Zusammenstellung der Verfasser.

Besonders interessant ist in den Schlußfolgerungen der genannten Autoren die Annahme, daß nicht das Pseudoglobulin selbst die Serumkrankheit verursacht, sondern eine andere, bisher unbekannt Substanz, die bei der Fraktionierung größtenteils zusammen mit dem erwähnten Eiweißbestandteil ausfällt.

Tabelle 1. Zusammenhang zwischen Serumkrankheit und Serumeiweißfraktionen (nach JONES und FLEISHER).

Eiweißfraktion	Euglobulin			Pseudoglobulin				Albumin		
Pro Kilogramm Körpergewicht injizierte N-Menge in Milligramm	34—43	69—89	150	35	71—76	100	150	43—54	86—108	150
Anzahl der injizierten Tiere	19	20	30	24	39	58	25	18	14	20
Verursachte Serumkrankheit in Prozent	—	—	7	—	28	41	80	—	—	—

Ob die Ergebnisse dieser Tierversuche restlos auf Menschen übertragbar sind, ist sehr fraglich. Die Erfahrungen, die man in Nordamerika mit konzentrierten Euglobulinsera (hauptsächlich mit Pneumokokken- und Meningokokken-sera) gemacht hat, scheinen im Gegenteil dafür zu sprechen, daß der anaphylaktische Shock beim Menschen von der Euglobulinfraktion viel häufiger ausgelöst wird als vom Pseudoglobulin. Jedenfalls waren so viel und so schwere Shockfälle beobachtet worden, daß die Herstellung der konzentrierten Euglobulinsera in Europa aufgegeben wurde.

Da die Antikörper der am häufigsten angewandten Sera, d. h. der Diphtherie- und Tetanussera, größtenteils an das Pseudoglobulin gebunden sind, ist es durch die jetzigen industriell anwendbaren Verfahren nicht möglich, ein Serum herzustellen, welches keine Serumkrankheit verursacht. Von diesem Gesichtspunkt aus bedeuten also nicht einmal die gereinigten, eiweißarmen Sera einen Vorteil.

Über die Häufigkeit der Serumkrankheit nach nativem oder nach konzentriertem Serum berichtet uns neuerdings HUNT aus Nordamerika. Von 2859 Personen, die mit Diphtherieserum injiziert wurden, haben 804, also 28,1%, von 876 mit Scharlachserum injizierten haben 198, also 22,7% und von 55 mit Antimeningococcusserum injizierten haben 45, also 81,8% die Serumkrankheit bekommen. Es konnte kein Unterschied beobachtet werden hinsichtlich der Häufigkeit der Serumkrankheit nach nativem oder konzentriertem Serum. Den mit Diphtherieserum gemachten Erfahrungen sehr ähnlich sind die mit konzentriertem Pneumococcusserum gemachten Beobachtungen von SULTIFF und FINLAND, nach welchen dasselbe in 21 von 72 Fällen, also in 29% Serumkrankheit verursacht hat. Aus Deutschland liegen neuere statistische Daten von HILDEBRANDT vor. Dieser Verfasser hat sich besonders für die Häufigkeit der Serumkrankheit nach Verabreichung von gereinigten eiweißarmen und von nativen Diphtheriesera interessiert. Wie aus der nachstehenden Tabelle zu sehen ist, hat auch HILDEBRANDT keine nennenswerten Unterschiede gefunden.

Tabelle 2. Auftreten der Serumkrankheit und ihre Formen nach gereinigtem eiweißarmen und nach nativem Diphtherieserum. (Nach HILDEBRANDT.)

	Gesamt-fälle	Serum-krankheit %	Verlaufsform der Serumkrankheit					
			leicht		mittelschwer		schwer	
				%		%		%
Natives Serum	82	28	10	43,5	7	30,4	6	26,1
Eiweißarmes Serum . . .	82	20,7	10	58,9	4	23,5	3	17,6

Zu dem gleichen Ergebnis kommen auch GERLOUGH und SCHAER. Der erstere analysierte die Statistiken von HUNT und WEAVER, der letztgenannte hat über die prophylaktische Anwendung von Tetanusserum in 1000 Fällen berichtet. Eine allgemeine Serumkrankheit kam bei etwa 10% aller Injizierten vor, ohne entscheiden zu können, ob die Serumreaktion seltener bei gereinigtem oder bei nativem Serum vorkommt.

Wie es weiter unten gezeigt wird, ist dieses Streben nach eiweißarmen Sera durchaus begründet, und zwar wegen der günstigen Resorptionsverhältnisse.

Gegen die Verwendung von hochkonzentrierten Sera (die in Deutschland gültigen Vorschriften bestimmen als Höchsteiweißgehalt 12%, während die übrigen Länder 18—20% zulassen), die also 15% oder mehr Pseudoglobulin enthalten, sprechen die Versuchsergebnisse sämtlicher Verfasser, die sich mit der Resorptionsgeschwindigkeit solcher Sera befaßt haben. Es soll an dieser Stelle — um ausschließlich neuere Veröffentlichungen zu erwähnen — nur auf die Arbeiten von SZIRMAI, HETSCH und BIELING, GLENNY und Mitarbeitern, von DEMNITZ und SCHOLZ sowie von ROST hingewiesen werden, die alle übereinstimmend zeigen, daß die Resorptionsgeschwindigkeit mit dem Eiweißgehalt umgekehrt proportional ist.

Die Haltbarkeit der gereinigten oder konzentrierten Sera, wenn sie von dem labilen Euglobulin befreit werden können, ist ohne Zweifel besser als die des nativen Serums. Das letztere wird in kurzer Zeit trübe, und im Laufe von wenigen Monaten bilden sich darin mehr oder minder grobe Flocken und eine nicht

unbedeutende Menge von Bodensatz, die teilweise aus den weniger stabilen Eiweißfraktionen wie Fibringlobulin und Euglobulin, teilweise aus Lipoidsubstanzen bestehen. Das konzentrierte Serum, wenn es euglobulinfrei ist; bleibt dagegen jahrelang vollkommen klar, was nicht nur aus ästhetischen Gründen wichtig ist, sondern auch den Vorteil bietet, dasselbe nötigenfalls auch intravenös verabreichen zu können (was z. B. bei Diphtherie oder bei der Serumtherapie der Schlangenbisse unter Umständen lebensrettend sein kann).

In bezug auf die Konservierung des antitoxischen Wertes besteht — mindestens innerhalb der gesetzlich festgesetzten fünfjährigen Verwendbarkeit —

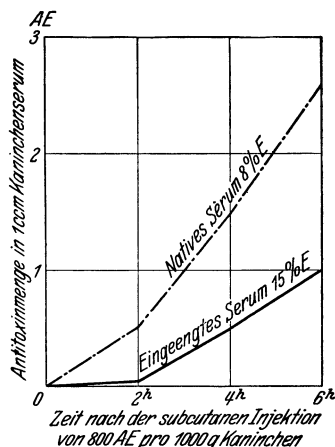


Abb. 1. Gefundene Antitoxinmenge im Blutserum innerhalb der ersten Stunden nach der Injektion von Diphtheriesera. (Nach A. DEMNITZ und W. SCHOLZ.)

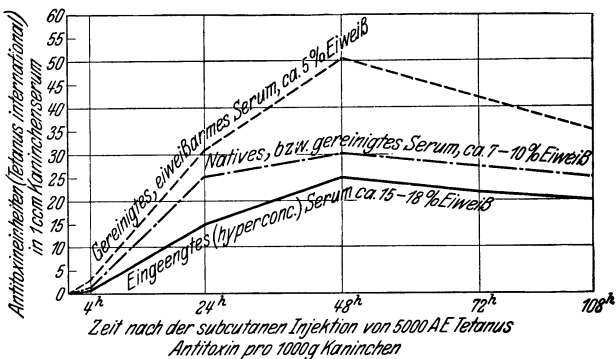


Abb. 2. Gefundene Antitoxinmenge im Blutserum nach der Injektion von Tetanussera. (Nach A. DEMNITZ und W. SCHOLZ.)

ganz sicher kein Unterschied zwischen den gereinigten, konzentrierten und nativen Sera.

Aus dem oben Gesagten ergibt sich also, daß die Konzentrierung bzw. das Eliminieren der antikörperfreien Eiweißfraktionen, wenn dabei darauf geachtet wird, daß der Eiweißgehalt nicht sehr hoch ist, manche Vorteile bietet, welche die Anwendung der dazu führenden Verfahren sogar dann wünschenswert machen, wenn die Erhöhung des Antikörpergehaltes nicht erstrebt wird.

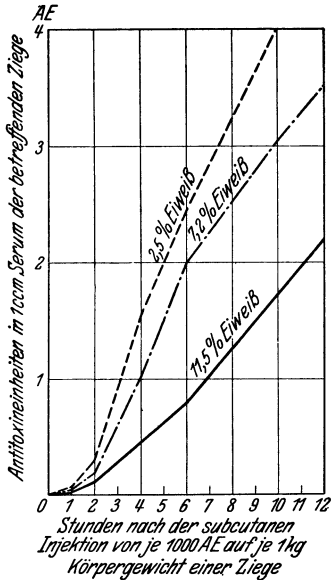


Abb. 3. Gefundene Antitoxinmenge nach der Injektion von Tetanusantitoxin in Form von Pseudoglobulinlösungen. (Nach A. DEMNITZ und W. SCHOLZ.)

III. Die Serumeiweißkörper.

1. Die Eiweißfraktionen des Serums.

Sieht man von den in Vergessenheit geratenen Beobachtungen LIEBIG's und ZIMMERMANN's ab, so muß der schwedische Arzt PANUM als der erste Forscher, der sich mit der Fraktionierung der Serumeiweißkörper befaßt hat, bezeichnet werden. Die Grundlagen unserer heutigen Kenntnisse und Auffassungen über die verschiedenen Eiweißfraktionen wurden einerseits von HAMMARSTEN, andererseits von HOFMEISTER durch die Einführung des Aussalzens mittels $MgSO_4$ bzw. $(NH_4)_2SO_4$ gegeben.

Nach der augenblicklich am meisten verbreiteten, keinesfalls als endgültig anzusehenden Ansicht befinden sich im Serum die folgenden Eiweißkörper: Fibringlobulin, Euglobulin, Pseudoglobulin I, Pseudoglobulin II und Serumalbumin. Die Trennung derselben läßt sich am bequemsten mit Hilfe von gesättigter, neutraler $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung durchführen, mit welcher das Fibringlobulin bei 30, das Euglobulin bei 30—36, das Pseudoglobulin I bei 37—43, das Pseudoglobulin II bei 44—50% und das Albumin sich erst bei vollkommener Sättigung ausscheiden. Die Fraktionierung mittels Natriumsulfates ist jüngerer Datums und wurde von HOWE eingeführt. Nach diesem Verfahren wird das Euglobulin durch 13,5—14,5, Pseudoglobulin I durch 16,4—17,4 und Pseudoglobulin II durch 21—22% Sättigung gefällt. Der Umstand, daß die Manipulation bei 37° durchgeführt werden muß, ist ohne Zweifel ein Nachteil, der jedoch durch andere Vorteile (gute Filtrierbarkeit, die evtl. notwendige Eiweißbestimmungen kann man nach KJEHLDAHL machen) ausgeglichen, sogar — in gewissen Fällen — überwogen wird.

In der neuen Zeit wurde öfters die Frage aufgerollt, inwiefern die Unterscheidung dieser Fraktionen berechtigt oder unbegründet ist, ob nicht alle diese Serumeiweißkörper nur verschiedene, mehr physikalische als chemische Modifikationen eines und desselben Proteins darstellen. ETTISCH und SACHSE sowie von KLOBUSITZKY (1) kamen gleichzeitig und voneinander unabhängig nach einer Prüfung der bisher veröffentlichten fremden und eigenen experimentellen Ergebnisse über sämtliche Eigenschaften dieser Fraktionen zu der Schlußfolgerung, daß mindestens das Euglobulin, Pseudoglobulin und Serumalbumin

als voneinander scharf abgegrenzte Körper zu betrachten sind. Dieser Ansicht hat sich in der Zwischenzeit die Mehrzahl der Forscher angeschlossen (s. KLINKE).

Während der letzten Jahre wurden einerseits von LUSTIG und seinen Mitarbeitern verschiedene Unterfraktionen der 3 Eiweißbestandteile des Serums beschrieben (Wasser-, NaCl-, Na₂CO₃- und NaOH-lösliche Eu- bzw. Pseudoglobuline, Albumin I, das mit 54—60%, Albumin II, das mit 66—76% und Albumin III, das mit 76—100% gesättigter (NH₄)₂SO₄-Lösung fällbar ist) und mit Hilfe von verschiedenen Methoden untersucht; andererseits ist es HEWITT (1, 2, 3) gelungen, das Albumin aus Pferdeserum in 2 Fraktionen zu zerlegen. Die erste Fraktion entspricht dem schon lange bekannten kristallisierbaren Anteil, ist kohlehydratfrei und enthält 1 Mol. Tryptophan pro 1 Mol. Albumin, dagegen ist die zweite, nicht kristallisierbare Fraktion kohlehydrathaltig, wofür er dieselbe Glykoprotein oder Seroglykosid benannt hat.

Inwiefern dieses weitere Fraktionieren in der Herstellung von Heilsera zu einer Bedeutung kommen wird, läßt sich heute nicht voraussagen, auf Grund der bisher gesammelten Erfahrungen scheint aber vollkommen ausreichend zu sein, bloß 3 Fraktionen, und zwar Euglobulin, Pseudoglobulin und Serumalbumin zu unterscheiden.

2. Chemie der Serumeiweißkörper.

Die Eiweißkörper des Serums sind S-haltige Proteine mit der folgenden elementaren Zusammensetzung:

Alle diese Stoffe stellen getrocknet und in möglichst reinem Zustand weiße, oder nur leicht gelbliche, geruch- und geschmacklose amorphe Pulver dar, die mit Ausnahme von Euglobulin in destilliertem

Tabelle 3. Zusammensetzung der wichtigsten Serumproteine in Prozent.

	C	H	N	O	S
Euglobulin . .	51,12	7,38	15,98	23,20	1,25
Pseudoglobulin	50,13	7,48	15,90	24,15	1,21
Serumalbumin.	53,08	7,1	15,93	21,86	1,9

Wasser gut löslich sind. Ihre Lösungen schäumen stark infolge der oberflächenspannungserniedrigenden Wirkung und wegen der relativ hohen Viscosität der Proteine.

Entsprechend ihrem hochpolymeren Naturstoffcharakter zeichnen sich alle diese Fraktionen dadurch aus, daß ihre aufgelösten Teilchen äußerst groß sind. Sie liefern infolgedessen keine echten, sondern kolloidale Lösungen. Die Größenordnung dieser Teilchen wurde von SVEDBERG und seinen Mitarbeitern durch Ultrazentrifugieren mit der größtmöglichen Genauigkeit bestimmt. Wieweit die so gefundenen Teilchengrößen mit den entsprechenden Molekulargewichten identisch sind, ist noch unentschieden, denn bis jetzt ist es niemandem gelungen, stichhaltige Beweise dafür zu erbringen, daß diese Teilchen monomolekulardispers sind.

In bezug auf das Serumalbumin hat SVEDBERG eine Teilchengröße (Molekulargewicht?) von 67100 gefunden. Hinsichtlich des Eu- und Pseudoglobulins kam er zu der Erkenntnis, daß sie polydispers sind, wodurch sämtliche auf die Sedimentationskonstante basierten Ermittlungen illusorisch werden.

Wie alle Eiweißkörper sind auch diejenigen des Serums größtenteils aus α -Aminosäuren aufgebaut, welche miteinander peptidartig verbunden sind.

Die Verteilung der einzelnen Aminosäuren gibt die folgende Zusammenstellung wieder:

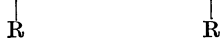
Tabelle 4.
Der prozentuale Aminosäuregehalt der wichtigsten Serumeiweißkörper.

Aminosäure	Pseudo-globulin	Serum-albumin
Glykokoll	3,5	0,0
Alanin	2,2	2,7
Valin	in Spuren	?
Leuzin	18,7	20,0
Phenylalanin	3,8	3,1
Tyrosin	2,5	2,1
Serin	0,0	0,6
Cystin	1,5	2,5
Prolin	2,8	1,0
Asparaginsäure	2,5	3,1
Glutaminsäure	8,5	7,7
Histidin	2,8	3,4
Arginin	3,95	4,9
Lysin	8,95	13,2

Die Tatsache, daß die Aminosäuren COOH und NH₂, d. h. Säure- und Basenradikale enthalten, bringt mit sich, daß die Eiweißkörper Ampholytcharakter aufweisen, worunter die Fähigkeit verstanden wird, sich ebensowohl mit Basen wie auch mit Säuren verbinden zu können.

Die Art und Weise, wie die Aminosäuren das Eiweißmolekül aufbauen und wie dieses selbst konstruiert sein dürfte, ist trotz der auf diesem Gebiet geleisteten Arbeiten noch immer nicht völlig aufgeklärt.

Die neueren Untersuchungen haben Beweise dafür gebracht, daß außer der klassischen Peptidbindung (—NH—CH—CO—NH—CH—) auch andere

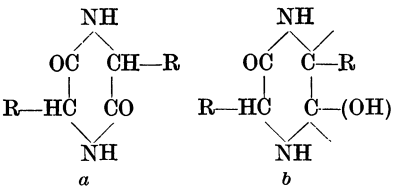


Verbindungsarten wie keto- oder enolförmige (*a, b*) an dem Aufbau des Eiweißmoleküls beteiligt sind. Einen großen Fortschritt bedeutet in der Erforschung der Eiweißstruktur die Einführung der röntgenspektrographischen Untersuchungen, die ihren Anfang durch eine Veröffentlichung von NISHIKAWA

und Ono genommen haben und hauptsächlich von englischen und nordamerikanischen Forschern weitergeführt wurden. Die bisher gewonnenen Ergebnisse haben sichere Beweise dafür gebracht, daß auch das Eiweißmolekül aus Ringsystemen, die aus cyclisierten Polypeptidketten zusammengeslossen

sind, aufgebaut wird, ebenso wie die kolloidalen Polysaccharide aus cyclisierten Monosaccharidketten. Diese cyclisierten Polypeptidketten nennen sich Cyclole und um die in einem bestimmten Cyclol enthaltenen Aminosäuren anzugeben, wird die Zahl derselben nach dem Namen Cyclol hinzugefügt, so daß z. B. die Bezeichnung Cyclol 42 sagen will, daß es sich um ein Polypeptidmolekül handelt, das aus 42 Aminosäuren besteht. Nach der Ansicht von ASTBURY und WRINCH (1, 2) bestehen die löslichen Eiweißkörper, zu welchen die Serumproteine gehören, aus kugeligen Molekülen, die höchstwahrscheinlich aus Ebenen polyhexagonal cyclisierter Polypeptidketten aufgebaut sind, wobei diese Ebenen übereinanderschichten oder die Seitenflächen Polyeder bilden (s. auch bei HALLE).

Die Serumeiweißkörper haben eine ganze Anzahl von gemeinsamen Farb- und Fällungsreaktionen, von denen uns an dieser Stelle in erster Linie die Fällbarkeit durch Neutralsalze oder durch die p_H-Änderung interessiert. Außer der schon erwähnten (NH₄)₂SO₄-Fällung kann man das Euglobulin (allerdings sehr unvollkommen) durch Verdünnen mit destilliertem Wasser und



gleichzeitiges Ansäuern mit Kohlensäure bzw. mit Essigsäure oder durch 14%ige Sättigung mit Na_2SO_4 , das Pseudoglobulin durch Sättigung mit MgSO_4 bei neutraler Reaktion oder durch 20%ige Sättigung mit Na_2SO_4 und das Serumalbumin durch Sättigung mit MgSO_4 , jedoch bei saurer Reaktion, ausfallen.

Im Laufe der Konzentration von Antikörpern ist es öfters notwendig, sich davon zu überzeugen, ob eine Lösung, Filtrat bzw. Dekantat eiweißfrei oder eiweißhaltig ist. Zu diesem Zweck bedient man sich stets irgendeiner irreversiblen Fällungsreaktion, daher ist es nicht überflüssig, die Empfindlichkeit der gebräuchlichsten Reagenzien zu kennen (s. Tabelle 5).

Tabelle 5. Empfindlichkeit der Eiweißreagenzien (nach ROSENHEIM).

Verdünnung des Serums	Gerbsäure 50%ige	Trichloressigsäure 5%ige		Sulfo- salicylsäure 20%ige	ESBACH- Reagens + 1 Tropfen 1%iger Eisessig	SPIEGLER- Reagens
	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0
	Kubikzentimeter Reagens pro Kubikzentimeter verdünntes Serum					
1 : 50	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1 : 100	+++	++	+++	+++	+++	+++
1 : 200	++	++	++	++	++	++
1 : 500	++	+	++	++	++	+
1 : 1000	+	+	+	+	+	+
1 : 2000	+	(O)	+	+	+	+
1 : 5000	+	—	+	+	+	?
1 : 10000	+	—	(O)	(O)	—	—
1 : 20000	(+)	—	—	—	—	—
1 : 50000	(+)	—	—	—	—	—
1 : 100000	—	—	—	—	—	—

Zeichenerklärung. +++ = ausgiebiger Niederschlag; ++ + = beobachtbare Flocken; +) (+) = mit Vergrößerungsglas sichtbare Flocken; (O) = geringe Opaleszenz.

3. Physikalische Chemie der Serumeiweißkörper.

Es kann selbstverständlich nicht die Aufgabe dieses Aufsatzes sein, eine zusammenhängende oder gar ausführliche Schilderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Serumproteine zu geben, doch wir halten es für notwendig, mindestens über diejenigen eine kurze Übersicht zusammenzufassen, die bei den verschiedenen Konzentrationsmethoden von Bedeutung sind. Zu diesen gehören: der Dispersitätsgrad, die Stabilität, die elektrische Ladung, der isoelektrische Punkt, die spezifische Leitfähigkeit, die Elektrophorese, die Viscosität, die Oberflächenspannung, die kritische Temperatur und die Adsorbierbarkeit.

Der Dispersitätsgrad der Serumfraktionen nimmt vom Euglobulin bis zum Albumin zu, ohne daß dabei scharfe Grenzen existieren. Es liegt vielmehr

in der Natur der kolloidalen Lösung, daß die Größe der dispergierten Teile sich fortwährend ändern, auch wenn auf die Lösung gar keine Einwirkung ausgeübt wird. Es ist ohne Zweifel, daß im nativen Serum solche Euglobulinpartikelchen vorhanden sind, die den Dispersitätsgrad der Durchschnitt-Pseudoglobulinpartikelchen aufweisen, andererseits Pseudoglobulinpartikelchen, deren Dispersitätsgrad einem Durchschnitts-Euglobulinpartikelchen entspricht. Dasselbe gilt auch für das Pseudoglobulin und Serumalbumin. Dieser Umstand erklärt die Tatsache, daß man durch Elektrodialyse einerseits und Aussalzen mittels $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ andererseits zu verschiedenen Mengen von Eu- und Pseudoglobulin kommt (ETTISCH, EWIG und SACHSE) und daß dieselben auch in den Untersuchungen mittels der Ultrazentrifuge ungleiche Eigenschaften aufweisen [v. MUTZENBACHER (1)]. Da die Stabilität eines Proteins — bei sonst gleichbleibenden Bedingungen — in erster Linie von seinem Dispersitätsgrad abhängt, ist eine der wichtigsten Aufgaben der Serumreinigung die Entfernung der grobdispersen Fraktionen, soweit sie keine Träger von Antikörpern sind.

Die Stabilität, worunter wir die Tendenz, in Lösung zu bleiben, verstehen, hängt außer dem Dispersitätsgrad von verschiedenen anderen Faktoren ab, von welchen die wichtigsten das p_{H} und die Temperatur des Mediums sind. Die destabilisierende Wirkung des p_{H} ist dabei, wie sie die nachstehende Zusammenstellung zeigt, abhängig von der Natur des Fällungsmittels.

Tabelle 6. Die Stabilitätszone des Serums und der Serumeiweißkörper.

	Salz	Stabilitätszone (p_{H})	Verfasser
Normales Pferdeserum.	22,2% Na_2SO_4	4,5—8,2	CSAPÓ-v. KLOBUSITZKY (1)
Serumalbumin	NaCl (gesättigt)	6,1—11,2	
Serumalbumin	NaCl (gesättigt)	4,6—11	v. KLOBUSITZKY (2)
Pseudoglobulin	NaCl (gesättigt)	5,0—11	
Serumalbumin	N/10 KCl	3,5—11,5	v. MUTZENBACHER (2)
Serumglobulin	N/10 KCl	3,5—11,5	

Vor kurzer Zeit ist eine Arbeit von JIRGENSONS erschienen, in der — unter anderen — über die Stabilitätsmaxima und -minima der Eiweißkörper in Anwesenheit von verschiedenen Salzen und Anelektrolyten berichtet wird. Über den Einfluß der Temperatur beim p_{H} des normalen Serums liegen Angaben aus neuerer Zeit von v. KLOBUSITZKY (3) vor. Nach ihm ist die Temperatur bei dem Eu- und Pseudoglobulin, bei der sich eine Opaleszenz zeigt, von der Eiweißkonzentration abhängig, und zwar liegt die Temperatur um so höher, je konzentrierter die Lösung ist. Die diesbezüglichen Ergebnisse lassen sich summarisch folgenderweise wiedergeben.

Tabelle 7. Opaleszenztemperatur des Serums und seiner Eiweißfraktionen (nach v. KLOBUSITZKY).

	Eiweiß- gehalt %	Tempe- ratur ° C	Eiweiß- gehalt %	Tempe- ratur ° C	Eiweiß- gehalt %	Tempe- ratur ° C
Euglobulin	1,86	72	0,93	66	0,465	61
Pseudoglobulin	1,86	72	0,93	65	0,465	65
Serumalbumin	1,86	76	0,93	77	0,465	77
Normales Pferdeserum . .	1,86	71	0,93	74	0,465	74

Als Ampholyte besitzen auch die Serumeiweißkörper gleichzeitig positive und negative Ladungen, deren Verhältnis von dem p_H abhängig ist. Das p_H , bei dem die Anzahl der entgegengesetzten Ladungen äquivalent ist, so daß ein ionisierter Anteil nur in Form von Zwitterionen existiert, nennen wir auf Vorschlag von MICHAELIS die isoelektrische Reaktion oder den isoelektrischen Punkt. Der isoelektrische Punkt des Pseudoglobulins liegt bei p_H 5,55 und der des Serumalbumins bei p_H 4,99 (ITO und PAULI). Der isoelektrische Punkt oder richtiger isoelektrische Ladungszustand ist die Stelle des Extrems vieler physikalisch-chemischer Eigenschaften der lyophilen Kolloide bzw. der Serumproteine. Da ist das Minimum der Löslichkeit, der Viscosität, der Oberflächenspannung, der Quellung, der Hydratation und des kolloid-osmotischen Druckes und das Maximum der Adsorbierbarkeit, der Alkohol-fällbarkeit sowie der Lichtzerstreuung.

Gleich den anderen Proteinen wandern auch die Serumeiweißkörper in einem durch Gleichstrom erzeugten elektrischen Feld unterhalb des isoelektrischen Punktes zur Kathode und oberhalb desselben zur Anode, sind also — von dem p_H abhängig — positiv oder negativ geladen. Die genauesten Messungen der Wanderungsgeschwindigkeit von Serumproteinen stammen von KÖNIG und PAULI, wonach dieselbe (mit den gleichen Mengen von HCl gebunden) von Pseudoglobulin $22 \cdot 10^{-5}$, von Serumalbumin $12 \cdot 10^{-5}$ cm/Volt/Sek. beträgt.

Ähnliche Bestimmungen haben OLITZKI an Agglutininen und TISELIUS an Antikörpern, welche aus Antipneumococcusserum (aus Pferde- und Kaninchenblut) isoliert waren, durchgeführt. In bezug auf die Agglutinine fand sich nichts Charakteristisches. Ihre Wanderungsrichtung wird von den Proteinträgern bestimmt. Dagegen konnte TISELIUS für die mit den Immunkörpern verbundene Fraktion spezifische Abweichungen gegenüber der gleichen Fraktion normalen Serums feststellen. Mehr oder minder zu den gleichen Ergebnissen kam auch LORAU-DESSUS, indem er fand, daß der isoelektrische Punkt des immunologischen Bestandteiles hämolysierender, agglutinierender und präzipitierender Antisera nicht mit dem des Pseudoglobulins zusammenfällt, um ihre Wanderungsgeschwindigkeit jenseits des isoelektrischen Punktes (p_H 6,2—6,3) geringer ist als die des Eiweißträgers.

Die vollkommen salzfreien Eiweißlösungen sind sehr schlechte Leiter und haben infolgedessen eine äußerst niedrige spezifische Leitfähigkeit (κ). Diese Eigenschaft ist darauf zurückzuführen, daß bei solchen Lösungen — wie wir es aus den Untersuchungen von PAULI und seinen Mitarbeitern wissen (1, 2) — die Überschußladungen, d. h. die positiv geladenen Wasserstoffionen (H^+ -n, oder Protone), im Sinne eines Verteilungsgleichgewichtes an die Eiweißteilchen gebunden sind, was zur Bildung von zwitterionischen Teilchen mit

Tabelle 8. Die spezifische Leitfähigkeit hochgereinigter Pseudoglobulin- und Serumalbuminlösungen (nach PAULI und v. KLOBUSITZKY).

	Konzentration %	$10^{-\kappa}$ r. O.
Serumalbumin . .	0,49	2,81
	1,72	3,42
	2,77	3,98
	3,33	4,41
Pseudoglobulin . .	0,95	0,67
	1,91	1,90
	2,77	3,26
	5,49	4,26

positiven und negativen Überschußladungen und von vollkommen neutralen Zwitterionen führt. Die vorherstehende Tabelle enthält die diesbezüglichen Daten des Pseudoglobulins und des Serumalbumins.

Die innere Reibung der Eiweißkörper — gleich wie ihre elektrochemischen Eigenschaften — bildete den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Aus diesen wissen wir, daß dieselbe durch verdünnte Alkalien erhöht und bei steigender Temperatur erniedrigt wird, ferner daß sie mit der Konzentration steigt und von den Neutralsalzen beeinflusst wird. Der Einfluß der Neutralsalze ist von dem Anion und Kation des betreffenden Salzes abhängig. Die Neutralsalze erniedrigen die Viscosität, und ihre Anionen und Kationen lassen sich ihrer Wirkung nach in einer Reihe ordnen, welche im wesentlichen der von HOFMEISTER aufgestellten entspricht. Bei gleichem p_H ist die Viscosität vom Pseudoglobulin größer als vom Serumalbumin. Die zahlenmäßigen Werte der relativen Viscosität $\left(\frac{\eta}{\eta_{H_2O}}\right)$ geben die folgenden Zusammenstellungen wieder (s. Tab. 9, 10).

Tabelle 9. Relative Viscosität elektrodialysierter Serumeiweißkörper bei 25, (nach v. KLOBUSITZKY und v. MAGYARY).

	Konzen- tration %	Relative Viscosität		Konzen- tration %	Relative Viscosität
Serumalbumin . .	2,00 1,00	1,114 1,059	Pseudoglobulin . .	2,00 1,00	1,891 1,091

Da die Viscosität mit der Hydratation eng verbunden ist, wird nicht ohne Interesse sein, zu wissen, daß in Lösung 1 g Euglobulin mit 5,81, 1 g Pseudoglobulin mit 3,78 und 1 g Serumalbumin mit 2,09 ccm Wasser verbunden ist [CHICK (1)].

Die Oberflächenspannung der Eiweißlösungen ist immer niedriger als die des Wassers, was darauf hinweist, daß sich die Eiweißpartikelchen — im Sinne der GIBBSschen Theorie — an der Oberfläche anreichern. Es ist also eine zeitliche Erscheinung, die mit sich bringt, daß die Oberflächenspannung erst nach einigen Stunden Stehenlassen konstante Werte zeigt.

LECOMTE DU NOUY (1) hat im Jahre 1928 die interessante Tatsache beschrieben, wonach die Viscosität des Serums zwischen 55—58° ein Minimum aufweist, und da dieses Temperaturintervall mit der Temperatur, bei der das Komplement zerstört wird, gerade übereinstimmt, bezeichnete er es als kritische Temperatur. In späteren Arbeiten (2—6) konnte er nachweisen, daß dieser Temperaturbereich auch in bezug auf andere physikalische und physikalisch-chemische Eigenschaften des Serums eine besondere Stelle einnimmt. Das Drehungsvermögen ist bis zu der kritischen Temperatur konstant, erst oberhalb derselben fängt es an, zu steigen, gleichfalls ist diese Temperatur ein Wendepunkt für die Lichtadsorption, Lichtdiffusion sowie für die Depolarisation, die Niederschlagbildung und die Löslichkeit des Euglobulins in NaCl-Lösung. Das elektrische Leitvermögen des Serums sowie seine Fähigkeit, Emulsionen zu bilden (SEELICH), nehmen nach Überschreiten dieses Temperaturbereiches ab.

Die Adsorbierbarkeit der Eiweißkörper hat als erster LOEB beobachtet. In bezug auf die Proteinfractionen des Serums liegen ausgedehnte Unter-

suchungen von SPIEGEL-ADOLF vor. Nach ihren Versuchen, in denen sie die Adsorbierbarkeit an Aluminiumhydroxyd und an Mastixsol geprüft hat, nimmt die Adsorbierbarkeit in der Reihenfolge Serumalbumin, Pseudoglobulin, Euglobulin und die Eluierbarkeit in der Reihenfolge: Euglobulin, Pseudoglobulin, Serumalbumin zu. Als geeignetes Mittel zur Elution erwies sich N/100 NaOH.

Tabelle 10. Relative Viscosität von Serum und dialysierten Serumeiweißfraktionen bei 25° (nach CHICK und LUBRZYNSKA sowie CHICK).

	Eiweißgehalt in % ¹	Relative Viscosität	Anmerkung
Pferdeserum	1,836	1,13	Normales Pferdeserum
	3,665	1,28	
	5,134	1,46	
	7,31	1,52	
	9,13	1,71	
	10,89	2,05	
	12,67	2,96	
	14,71	3,92	
	16,27	4,85	
18,10	6,38		
Euglobulin	3,27	1,71	In 0,5—2,2%igem NaCl
	6,60	3,49	
	9,84	8,17	
	10,81	10,86	
	12,95	21,69	
Pseudoglobulin (durch gewöhnliche Dialyse gereinigt)	3,61	1,40	Entspricht einem gereinigten eiweißarmen Serum
	5,95	1,85	
	8,32	2,59	Entspricht einem konzentrierten deutschen Serum
	10,04	3,43	
	11,82	4,70	
	14,06	8,05	Entspricht einem hochkonzentrierten Serum
	16,43	13,74	
	18,45	23,31	
	20,37	38,79	
	Serumalbumin (bei 25,4° gemessen und durch gewöhnliche Dialyse gereinigt)	2,59	1,13
5,19		1,32	
10,45		1,95	
14,54		9,02	
17,85		4,76	
19,24		5,95	
20,65		7,54	

IV. Die Verteilung der Antikörper im Serum.

Das Problem der Herstellung von konzentrierten oder gereinigten Sera ist — solange wir über keine praktisch verwertbare Methode der Trennung der Antikörper von den Eiweißfraktionen verfügen — mit der Verteilung der Antikörper zwischen den einzelnen Proteinfractionen des Serums unzertrennbar verbunden. Im allgemeinen gilt die Regel, daß die von den bakteriellen Exotoxinen und Virusarten erzeugten Antikörper an der Pseudoglobulinfraktion

¹ Die Konzentration des Serums bzw. der Eiweißlösungen wurde durch Verdünnung bzw. durch Einengen im Vakuum variiert.

(wenn man darunter den durch 34—50% ige gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung fällbaren Anteil verstehen will), die von den Bakterien erzeugten Antikörper (Agglutinine, Präzipitine, Opsonine) an der Euglobulinfraction haften bzw. mit dieser Fraction gefällt werden können. Nach ORNSTEIN (1) verschiebt sich die Antikörper-Pseudoglobulinbindung auch in demselben Serum mit dem Altern, und zwar in dem Sinne, daß das Maximum der Antitoxinkurve des Pseudoglobulins bei frischem Serum in dessen höheren Aussalzungsphasen liegt und dasselbe mit der Zeit in niedere Phasen, d. h. näher zum Euglobulin, herabrückt.

Einen Übergang zwischen den zwei Gruppen bildet das Tetanusantitoxin, welches in nicht unbeträchtlicher Menge mit dem Euglobulin ausfällt. Da die Verteilung dieses Antitoxins zwischen den zwei Eiweißfraktionen — wenigstens unseren Erfahrungen nach — sehr unregelmäßig ist, unter Umständen kann die Hälfte mit dem Euglobulin ausfallen, so ist es notwendig, das Konzentrieren des Tetanusantitoxins gesondert zu besprechen.

In bezug auf die Verteilung von präzipitierenden Antikörpern kann man mit Entschiedenheit nur so viel aussagen, daß die Albuminfraction frei von denselben ist. Ihre Bindung mit dem Eu- und Pseudoglobulin ist — wie sie z. B. in den Versuchen von OTTO und IWANOFF bestätigt werden konnte — so unregelmäßig, daß eine Übertragung auf keine von beiden Fraktionen möglich war.

Es wäre aber wohl vollkommen gefehlt, wenn man streng umschriebene Grenzen annähme und sich unter allen Umständen an diese halten würde. Der größte und wohl der häufigste Fehler, der bei der Konzentration eines Serums begangen wird, besteht eben darin, daß sich die Laboratorien fest an gewisse Fällungsgrenzen halten und die gleichen Sera (z. B. Diphtheriesera) immer mit einer und derselben Salzkonzentration fällen bzw. reinigen. Die Folgen dieses Vorgehens manifestieren sich entweder in großen Verlusten oder in Sera mit viel zu hohem Eiweißgehalt. Man kann nicht genug betonen, daß jedes Serum eine individuelle Behandlung verlangt und nur nach genauer Feststellung der Antikörperverteilung die Konzentration bzw. Reinigung mit Erfolg durchgeführt werden kann.

Man muß sich vor Beginn der Konzentration klar sein darüber, was für ein Titer erreicht werden muß und kann. Es ist selbstverständlich, daß man aus einem Serum, welches 200—300 Einheiten pro Kubikzentimeter enthält, kein Produkt mit 2000—3000 Einheiten machen kann bzw. machen darf. Stellt man aber fest, daß in dem betreffenden Serum innerhalb einer engen Fällungszone, sagen wir 40—45% ige Sättigung mit Ammoniumsulfat, 500 Einheiten pro Kubikzentimeter enthalten sind, so besteht kein Hindernis, mittels einer geeigneten Methode das Volumen dieser Fraction auf ein Viertel zu reduzieren. Umgekehrt können auch in einem sog. guten Ausgangsserum die Antikörper derart verteilt sein, daß dasselbe durch eine schlecht festgesetzte Salzkonzentration für die Fällung ein viel minderwertigeres Endprodukt liefert, als es unter den gegebenen wahren Verteilungsverhältnissen zu erreichen möglich sein sollte. Es kann auch vorkommen, daß sogar bei Diphtherieseren, deren Antikörper gewöhnlich für ausschließlich an das Pseudoglobulin gebunden aufgefaßt werden, die Verteilung der Immunkörper zwischen Eu- und Pseudoglobulin so gleichmäßig ist, daß man höchstens eine zweifache Konzentration

erreichen kann. In solchen konzentrierten Sera, welche also die doppelte Menge von Euglobulin als die nativen enthalten, bildet sich aber bald eine Trübung, welche allmählich in einen ausgesprochenen Niederschlag übergeht, wodurch das Serum sehr viel von seinem therapeutischen und kommerziellen Wert einbüßt.

Diese unregelmäßige Verteilung des Diphtherieantitoxins zeigen z. B. die folgenden Versuchsergebnisse von MÖRCH.

Tabelle 11. Fraktionierte Fällung eines Diphtherieserums durch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

	Sättigungsgrad in Prozent										
	0	23,1	25,4	28,0	30,7	33,8	37,2	40,9	45,0	49,5	54,5
Totalprotein in %	10,25	0,46	2,36	6,70	11,62	9,91	8,52	7,35	5,85	5,30	3,80
Albumin in %	3,15										
Globulin in %	7,10										
Einheiten/Kubikzentimeter	1210	>10	40	275	950	1200	2200	3500	2500	800	150
Einheiten pro Gramm Prot.			1700	4100	8200	12100	25800	47600	42700	15100	2600

Aus den obigen Versuchsergebnissen folgt als zweiter, ebenso sehr wichtiger Schluß, daß man Sera nicht wahllos mischen kann, da dadurch eine gegenseitige Wertverminderung verursacht werden kann. Man sollte Gemische nur aus Sera bereiten, in denen die Verteilung der Immunkörper innerhalb der gleichen Fällungsgrenzen und einem ungefähr gleichen Einheitsverhältnis ist.

In der Praxis werden nicht alle Sera gereinigt bzw. konzentriert. Von den für Menschen hergestellten Sera werden nur diejenigen für therapeutische Zwecke konzentriert, dagegen nicht diejenigen für Prophylaxie. Man kann sagen, daß industrielle Interessen nur für die Reinigung von Diphtherie-, Tetanus-, Schlangengift-, Pneumo- und

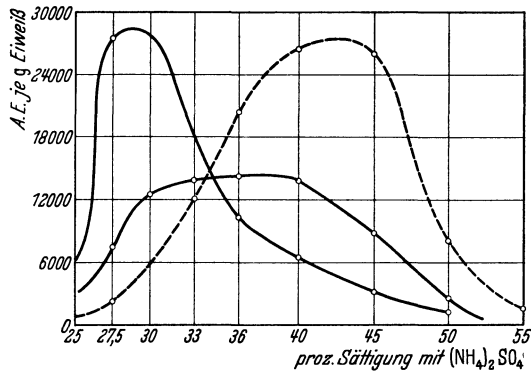


Abb. 4. Verteilung des Diphtherieantitoxins in den verschiedenen, durch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gewonnenen Fällungszonen des Pferdeserums. (Nach MÖRCH.)

Meningococcusera bestehen. Für den veterinär-medizinischen Gebrauch bestimmte Sera (gegen Erysipelas der Schweine, Schweinepest, Maul- und Klauenseuche) kommen ohne Ausnahme in nativem Zustand in den Handel.

An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß viele Forscher die Frage beschäftigte, ob die Zusammensetzung des Serums, speziell sein Gehalt an Eiweißkörpern, und die Verteilung der einzelnen Proteinfractionen durch die Immunisierung eine Änderung erleidet oder nicht. Weiter war Gegenstand eingehender Forschung, ob sich ein Zusammenhang zwischen den erwähnten Modifikationen und dem erreichten Immunitätsgrad feststellen läßt. Auf Grund der Ergebnisse neuerer Arbeiten (SCHMIDT, TULJTSCHINSKAJA, BERTHELSEN-MURDICK, MODERN-RUFF, LIU und Mitarbeiter usw.) kann man für erwiesen betrachten, daß zwar gewisse Verschiebungen sowohl in dem Gehalt an Eiweißkörpern und ihren einzelnen

Fraktionen als auch an den verschiedenen organischen und anorganischen Blutbestandteilen tatsächlich zustande kommen, dieselben werden aber eher von den wiederholten Aderlässen als von der Immunisierung verursacht und stehen zu dem Antikörpertiter des Blutes in keinerlei Beziehung.

Am Schluß dieses Kapitels sei noch darauf hingewiesen, daß die beschriebene Verteilung der Antikörper unter den einzelnen Eiweißfraktionen, so wie dieselbe hier dargestellt wurde, nur in bezug auf das Pferde- und Rinderblut gültig ist. Es ist nämlich schon lange bekannt, daß in der Verbindung Immunkörper-Proteinträger auch die Art des immunisierten Tieres eine Rolle spielt, welche dadurch zum Ausdruck kommt, daß die gleichen Immunkörper je nach Tierart an verschiedenen Trägern gebunden vorkommen können. So ist z. B. das Diphtherieantitoxin im Ziegenblut mit der Euglobulinfraktion gepaart, oder die Typhusagglutinine, welche gleich dem Diphtherieantitoxin beim Pferd an dem Pseudoglobulin haften, sind im Kaninchen-, Meerschweinchen- oder Ziegenblut mit dem Euglobulin verbunden.

V. Vorbereitung der Sera für die Konzentration.

Das unter sterilen Kautelen abgezapfte Blut des immunisierten Tieres wird für die weitere Manipulation entweder als Plasma oder als Serum verwendet¹. Handelt es sich um die Konzentration von solchen Antikörpern, welche ausschließlich an das Pseudoglobulin gebunden sind, so ist es ziemlich gleichgültig, ob man aus dem Blut Plasma oder Serum gewinnt, da die labilen Fraktionen im Laufe der Reinigung ohnehin ausgefällt werden müssen. Will man aber solche Antikörper konzentrieren, die — wenn auch nur teilweise — an dem Euglobulin haften, so ist es praktischer, die Blutflüssigkeit in Form von Serum weiter zu verarbeiten, da man auf diese Weise die Trennung oder das Mitfällen des Fibrinogens vermeidet.

Die beste Methode zur Gewinnung des Serums ist, das Blut mit sterilisierten und rauhen Glas- oder Porzellanperlen zu schütteln, auf welchen sich dann die Fibrinfasern aufwickeln. Das Blut einfach der Gerinnung zu überlassen, ist nicht ökonomisch, selbst die Verwendung solcher Gefäße, die mit einem durchlöcherten Zinkklotz oder mit einer aus nichtrostendem Stahl angefertigten, gleichfalls durchlöcherten Platte versehen sind, kann größere Serumverluste — infolge unvollkommenen Auspressens des Blutkuchens — nicht verhindern.

Das Defibrinieren läßt sich am bequemsten in starkwandigen, 3—4 l fassenden Kolben vornehmen. Nach Ausscheiden des Fibrinogens filtriert man das Blut durch doppelt zusammengefaltete Gaze in hohe, zylindrische Gefäße, in welchen es dem Sedimentierungsprozeß überlassen wird. Es versteht sich von selbst, daß die Gefäße steril verschlossen werden müssen. Nachdem sich die korpuskulären Elemente abgesetzt haben, wird das klare, gelbe Serum abgossen oder — mit einem sterilen Heber — abgesaugt und die zurückbleibende Masse abzentrifugiert. Für diesen Zweck kann man sich jeder beliebigen Zentrifuge bedienen, die Gefäße von 1 l Inhalt hat und 3—4000 Touren pro Minute macht. Das so erhaltene Serum wird zu dem abgossenen bzw. abgeheberten Teil gegeben und im Kühlraum aufbewahrt. Zwecks Konser-

¹ Ist das Serum nicht keimfrei, so nimmt sein Gehalt an Antikörpern rapid und beträchtlich ab.

vierung fügt man entweder 0,4% Phenol oder 0,3% Trikresol hinzu (die in Deutschland gültigen Vorschriften verlangen 0,5% Phenol). Beide Substanzen verursachen eine Flockenbildung, die sich dadurch verhindern läßt, daß man sie verdünnt verwendet. Von Phenol nimmt man zweckmäßig eine 8%ige (in Deutschland 10%ige), von Trikresol eine 6%ige Lösung, wobei selbstverständlich der Antitoxintiter um 5% abgeschwächt wird.

Da der Antikörpergehalt in den ersten Wochen bzw. Monaten meistens abnimmt, ist es ratsam, die Sera erst nach dreimonatiger Ablagerung weiter zu verarbeiten.

Das Plasma bereitet man entweder durch Hinzufügen von Natriumoxalat (0,3%) oder von Natriumcitrat, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (1,7%). Es ist zu empfehlen, sowohl das Natriumoxalat als auch das -citrat in wässriger Lösung in das Gefäß, in dem das Blut aufgefangen wird, zu geben. Aus dem Oxalat stellt man eine 3%ige, aus dem Citrat eine 17%ige Stammlösung her und fügt davon 100 ccm pro Liter Blut in das Gefäß. Was die Form des Gefäßes anbelangt, so wählt man für Plasma am besten zylindrische Formen, in welchen sich die Sedimentierung der korpuskulären Elemente sehr rasch vollzieht. Besonders gut haben sich große, eprouvettenförmige Glaszylinder mit 2—2,5 l Inhalt bewährt, die man in entsprechendem Holzgestell bequem transportieren kann. Bleibt das Blut bis zur vollzogenen Trennung der roten Blutkörper an Ort und Stelle, so kann man auch 2 l fassende Meßzylinder gut verwenden.

Im weiteren werden sowohl die Erythrocytenmasse als auch das Plasma ebenso behandelt und aufbewahrt wie das Serum.

Das bisher Besagte bezieht sich nur auf das Pferdeblut, welches sich durch eine große Senkungsgeschwindigkeit und resistente Erythrocyten auszeichnet, wodurch das Gewinnen von klarem, ungefärbtem Serum oder Plasma eine Selbstverständlichkeit wird. Will man jedoch aus Rinder-, Schweine- oder Hammelblut die Antikörper reinigen, so muß man, da diese Blutarten schlecht sedimentieren und leicht zur Hämolyse neigen, anders verfahren. Ein Defibrinieren kommt bei diesen Blutarten — eben wegen der starken Hämolyse — nicht in Frage, so daß dieselben stets in Form von Plasma konzentriert werden müssen. Nach der allgemein üblichen Methode wird das calciumfreie Blut zentrifugiert, wozu man früher entweder große Zentrifugen mit 4—6 l Kapazität oder Alphaseparatoren mit großer Umdrehungszahl verwendete. Heute besitzen wir in den kontinuierlich arbeitenden hoctourigen Zentrifugen, wie z. B. die Sharples-Zentrifugen sind (zu beziehen von der „*The Sharples Speciality Co.*, 23rd and Westmoreland Streets, Philadelphia, PA, U.S.A.) Hilfsmittel, die es ermöglichen, 80—100 l Blut in wenigen Stunden zu separieren. Da aber der Preis einer solchen Zentrifuge entsprechend hoch ist, trachtet man möglichst danach, die Anschaffung derselben umgehen zu können. VON KLOBUSITZKY (4), gestützt auf seine, teilweise gemeinsam mit CSAPÓ (2) durchgeführten Untersuchungen über die Wirkung der Neutralsalze auf die Blutgerinnung und Erythrocytensenkung, bereitet das Rinderplasma folgenderweise: in das zur Aufnahme des Blutes bestimmte Zylindergefäß, wird — außer der notwendigen Menge von Natriumoxalat oder -citrat — so viel Natriumsulfat in Substanz eingewogen, daß seine Konzentration im Blut 0,3 Norm. entspreche. Das Salz beschleunigt die Senkung der Blutkörperchen in solchem Maße, daß man in 12 Stunden das Plasma abhebern kann, so daß man bloß

die abgesetzten Blutkörperchen zu zentrifugieren braucht, anstatt die ganze Blutmenge. Die so gewonnenen Plasmen sind im allgemeinen sogar weniger hämolysiert als die, welche durch Zentrifugieren des Gesamtblutes gewonnen werden.

Die Sera werden auf die Dauer der Ablagerung entweder in geschützten Glasgefäßen oder in gut emaillierten Eisenblechbehältern oder auch in Gefäßen, die aus rostfreiem Stahl angefertigt sind, aufbewahrt. Die Verwendung von ungeschützten Glasbehältern empfiehlt sich nicht wegen der Bruchgefahr.

VI. Konzentration von Immunsera mit ausschließlich an Pseudoglobulin gebundenen Antikörpern.

Das Konzentrieren bzw. Reinigen solcher Sera, in denen die Antikörper ausschließlich an die Pseudoglobulinfraktion gebunden sind, ist die dankbarste und weitaus die am häufigsten zu lösende Aufgabe der Serumlaboratorien. Dankbar: weil der Verlust von Antikörpern sehr gering ist und solche Sera jahrelang klar bleiben. Am häufigsten: weil die dieser Gruppe angehörenden Diphtherie- und Schlangensera besonders gern mit sehr hohem Antikörpergehalt verwendet werden.

1. Durch Fällung mittels Ammoniumsulfat.

Die zur Fraktionierung verwendete gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung wird aus reinem Handelspräparat (Ammonium sulfuricum cryst. purissimum) hergestellt. Man sollte nie aus Sparsamkeitsgründen gewöhnliche Handelsprodukte nehmen, da dieselben stets mit verschiedenen Schwermetallsalzen, unter Umständen sogar mit Arseniaten verunreinigt sind. Ist man aber aus irgendeinem Grunde gezwungen, doch solches Salz zu verwenden, so muß es mindestens einmal aus destilliertem Wasser umkrystallisiert und wenigstens auf Chloride, Phosphate, Rhodanate, Arseniate und Schwermetalle geprüft werden. Zu diesen Untersuchungen bereitet man sich aus dem umkrystallisierten und getrockneten Salz eine 5%ige Lösung.

Zur Prüfung auf Chloride benützt man die HNO_3 -, AgNO_3 -Probe. Die Nitrate werden mit Hilfe der Indigoprobe gesucht, in dem man zu 10 ccm Stammlösung 1 Tropfen einer 1%igen Indigolösung und 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzufügt. Sind keine Nitrate vorhanden, so bleibt die blaue Farbe trotz heftigem Umschütteln unverändert. Zur Prüfung auf Phosphate werden 10 ccm der Stammlösung mit 20 ccm 25%iger Salpetersäure und 12,5 ccm Ammoniummolybdatlösung [20 g $\text{Mo}_7\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in 50 ccm Wasser und 20 ccm Ammoniak] versetzt. Man kann die Abwesenheit von Phosphaten annehmen, wenn sich in dem Gemisch nach zweistündigem Stehen bei 40° kein gelber Niederschlag gebildet hat. Die Rhodanate werden nachgewiesen, indem man zu 20 ccm der Stammlösung 2 ccm konzentrierte Salzsäure und 1 Tropfen Eisenchloridlösung (FeCl_3) hinzufügt. Entsteht rote Färbung, so ist das Salz mit irgendeinem Rhodanat [meistens ist es $\text{NH}_4(\text{SCN})$] verunreinigt. Auf Arseniate wird mit Magnesiamischung geprüft. Zu diesem Zweck versetzt man 20 ccm einer 25%igen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung mit 3 ccm Magnesiamischung ¹

¹ Die Magnesiamischung (Magnesiamixtur) wird folgenderweise hergestellt: 110 g krySTALLISIERTES Magnesiumchlorid und 140 g Ammoniumchlorid werden in 1300 ccm Wasser gelöst und mit 700 g 10%igem Ammoniak versetzt. Nach gründlichem Umschütteln wird einige Zeit stehen gelassen und nachher nötigenfalls filtriert.

und 10 ccm Ammoniak. Man kann die Arseniate ausschließen, wenn sich innerhalb 15 Stunden kein Niederschlag bildet. Die Prüfung auf Schwermetalle wird mittels Schwefelammonium durchgeführt.

Die gesättigte Lösung wird in der Weise hergestellt, daß man in einem großen, mit Rührwerk ausgestatteten Behälter ein Teil festes Salz mit zwei Teilen destilliertem Wasser vermennt und unter gelindem Erwärmen (nicht über 50°, sonst wird die Lösung sauer!) auflöst. Der Behälter soll entweder aus emailliertem Eisenblech oder aus nichtrostendem Stahl, der Rührer selbst aus nichtrostendem Stahl gearbeitet sein. Nach Erreichung der Sättigung soll noch Substanz am Boden sein. Die Konzentration der Lösung wird am einfachsten durch Feststellung des spezifischen Gewichtes ermittelt. Dies muß im Falle der vollkommenen Sättigung bei 20° 1,245 betragen. Ein Filtrieren der Ammoniumsulfatlösung ist meistens überflüssig, weil die Serumfraktionen sowieso filtriert werden müssen.

Da sich die Löslichkeit des Ammoniumsulfates mit der Temperatur leicht verändert, muß man in die Behälter, in welchen die Lösung aufbewahrt wird, etwas festes Salz hineingeben.

Tabelle 12. Löslichkeit des Ammoniumsulfates im Wasser bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur ° C	In 100 ccm Lösung vorhandene Menge g	Temperatur ° C	In 100 ccm Lösung vorhandene Menge g
10	42,2	22,5	43,2
12,5	42,4	25	43,4
15	42,6	27,5	43,6
17,5	42,8	30	43,8
20	43,0		

Es ist notwendig, sich davon zu überzeugen, daß die Lösung wirklich neutral ist. Es genügt selbstverständlich, durch irgendein colorimetrisches Verfahren das p_H mit einer Genauigkeit von 0,2 Einheiten festzustellen, und falls es unter 7,0 ist, durch Hinzufügen der zur Erreichung der Neutralität notwendigen Menge von Ammoniak die freie Säure zu eliminieren.

Die Reinigung des Serums wird durch zweimaliges Fällern erreicht. Beim erstenmal wird das Euglobulin entfernt, um durch die zweite Fällung aus dem Filtrat das gewünschte Pseudoglobulin zu bekommen. Vor der ersten Fällung wird das Serum zwecks besserer Filtrierbarkeit mit der Hälfte seines Volumens destilliertem Wasser verdünnt. Nach der Verdünnung überzeugt man sich davon, daß die Reaktion zwischen p_H 7,0—8,5 ist, was meistens der Fall sein wird. Sollte aber das p_H höher liegen, so drückt man es durch Hinzufügen der entsprechenden Menge von N/1 HCl zurück.

Das Einstellen der Reaktion macht man folgenderweise: man pipettiert in 2 Jenaer Eprouvetten von 16×160 mm, die mit eingeschliffenen Glasstöpseln verschließbar sind, je 10 ccm von dem verdünnten Serum. Der Inhalt des einen Proberöhrchens dient zum Einstellen des p_H , der des anderen wird als Lichtfilter in dem Komparator verwendet. Nach Hinzufügen des geeigneten Indicators läßt man aus einer auf 0,01 ccm eingeteilten Bürette oder Pipette so viel N/10-HCl (die man durch Verdünnung der zur Einstellung bestimmten N/1-Lösung herstellt) hinzutropfen, bis die gewünschte Farbenschattierung erreicht wird. Nachher rechnet man die pro Liter des Serums notwendige N/1 HCl-Menge durch einfaches Multiplizieren aus.

Die erste Fällung wird durch 30—32%ige Sättigung durchgeführt. Theoretisch sollte man die Euglobuline durch 36%ige Sättigung fällen, jedoch zeigt

uns die Praxis, daß durch diese Salzkonzentration selbst bei Diphtherie- und Schlangensera Verluste an Antikörpern entstehen.

Die Berechnung der nötigen Salzmenge ist durch folgende Formel gegeben:

$$x = \frac{30 V}{70} \text{ bzw. } \frac{32 V}{68}, \text{ wo } x \text{ das Volumen der gesättigten } (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-Lösung und } V \text{ das Volumen des verdünnten Serums oder Plasma bedeuten.}$$

Das zu fällende Serum wird in entsprechend große, höchstens aber 50—60 l fassende Behälter gegeben und während des Hinzufügens des Fällungsmittels langsam durchgemischt. Um ein zu starkes Schäumen zu verhindern, setzt man auf den Trichter einen Gummischlauch, der bis zum Boden des Behälters reicht, und läßt das $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ so hineinfließen.

Tabelle 13. Verlust an Antikörpern durch die erste Fällung. (Nach eigenen, während mehrerer Jahren im Instituto Butantan gesammelten Erfahrungen.)

Sättigung in Prozent	Diphtheriesera, Verlust in Prozent	Schlangensera, Verlust in Prozent
36	12—20	10—14
32	6—10	0—7
30	0—5	—

Nachdem die Fällung beendet ist, muß das Serum-Salzmischung 18—24 Stdn. stehen und wird erst nach dieser Zeit filtriert, da sonst das Filtrat trüb wird.

Zum Filtrieren benützt man Faltenfilter von 45—50 cm Durchmesser.

Zwecks Raum- und Behälterersparnis kann man zum Filtrieren Holzgestelle machen lassen, in denen die Röhre mehrerer Trichter in ein gemeinsames dickes Glasrohr zusammenfließen, so daß die Filtrate in einem einzigen Behälter gesammelt werden können.

Ist die Filtration beendet, so wäscht man die Filtrerrückstände mit 30 bzw. 32% gesättigter Ammoniumsulfatlösung aus, wodurch das in dem Niederschlag enthaltene Pseudoglobulin samt Antikörper auch in das Filtrat übergeht. Aus diesem werden sie durch Hinzufügen von so viel gleichfalls gesättigter Ammoniumsulfatlösung, als zur Erreichung der Halbsättigung nötig ist, gefällt. Den so erhaltenen Niederschlag vereinigt man mit dem nach der zweiten Fällung erhaltenen.

Die zweite Fällung kann nun sofort durchgeführt werden. Nach unseren Erfahrungen ist es ratsam, die Antikörper durch die zur Fällung des Pseudoglobulins II theoretisch erforderliche 50%ige Sättigung zu präzipitieren, da bei einer niederen Sättigung bei vielen Sëra ein Teil der Antikörper noch in Lösung bleibt¹.

Die für diese Fällung nötige $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Menge ist durch die Formel: $x = \frac{20 \cdot V}{50}$ bzw. $\frac{18 \cdot V}{50}$ gegeben, wo x und V die gleichen Bedeutungen haben wie in der vorigen Formel.

Beide Fällungen sollen an Hand eines Herstellungsprozesses veranschaulicht werden, in dem das Euglobulin mit 32% Sättigung gefällt wurde und die einzelnen Fraktionen auf ihren Gehalt an Antikörpern geprüft waren.

Diphtherieserum. p_H 7,7. Volumen: 4925 ccm, Titer: 500 Einheiten pro Kubikzentimeter.

¹ Handelt es sich um Diphtheriesera und wurde die Verteilung der Antikörper in der auf S. 253 beschriebenen Weise festgestellt, so werden die Sättigungsgrenzen selbstverständlich auf Grund der Ergebnisse der Vorversuche gewählt.

I. Fällung. 4925 ccm Serum + 2500 ccm H₂O = 7425 ccm. Menge der gesättigten (NH₄)₂SO₄-Lösung: $\frac{32 \cdot 7425}{68} = 3495$ ccm. Filtrat: D/F₁, Niederschlag: D/N₁.

Der Niederschlag wird mit 2000 ccm 32%iger, gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen (Volumen des Waschwassers: 2180 ccm!); zu diesem werden — um 50%ige Sättigung zu erreichen — 170 g festes (NH₄)₂SO₄ hinzugefügt. Der dadurch entstandene Niederschlag wird filtriert. Die Menge des Filtrates ist 2000 ccm. Filtrat: D/F₂, Niederschlag: D/N₂.

II. Fällung. Menge des (NH₄)₂SO₄: $\frac{18 \cdot 7425}{50} = 2670$ ccm. Das Volumen des Filtrates ist 10700 ccm. — Filtrat: D/F₃ = 10700, Niederschlag: D/N₃.

Weiter wurde der Euglobulinniederschlag [D/N₁] mit 850 ccm in 32% gesättigtem (NH₄)₂SO₄ gelöstem Pseudoglobulin (welches aus normalem Pferdeserum hergestellt war) geschüttelt, nachher filtriert. Volumen des Filtrates: 620 ccm. Filtrat: D/F₄, Niederschlag: D/N₄.

Das erhaltene Filtrat [D/F₄] wurde mit 223 ccm gesättigter (NH₄)₂SO₄-Lösung, $\frac{620 \cdot 18}{50} = 223$, gefällt und filtriert. Volum des Filtrates: 690 ccm. Filtrat: D/F₅, Niederschlag: D/N₅.

Zur Bestimmung der Antikörperverteilung wurden aus jedem Filtrat 50 ccm in Pergamentsäcken dialysiert und die Dialysate dosiert. Die Ergebnisse waren wie folgt:

D/F ₂ (Volumen 155 ccm)	2	Einheiten pro Kubikzentimeter
D/F ₃ („ 124 ccm)	2	„ „ „
D/F ₅ („ 145 ccm)	2	„ „ „
D/N ₂ („ 260 ccm)	500	„ „ „
D/N ₅ („ 280 ccm)	350	„ „ „
D/N ₄ („ 450 ccm)	200	„ „ „
Euglobulinverlust . . .	90000	Einheiten
	98000	„
	188000	Einheiten

Serumalbuminverlust. . . —

Das Serum hat insgesamt 2462500 Einheiten enthalten, der Verlust beträgt also rund 7,7%.

Mit dem Filtrieren des Pseudoglobulinniederschlages muß ebensolange gewartet werden, wie mit dem des Euglobulins gewartet wird. Als Filterpapier muß man aber dieses Mal eine Qualität nehmen, welche beim Entfernen des Niederschlages keine Fasern abgibt. Ich persönlich habe sehr gute Erfahrungen mit dem englischen WHATMAN-Papier gemacht, welches allerdings um vieles teurer ist als die anderen Filterpapiere, was jedoch dadurch wieder aufgewogen wird, daß es mehrmals gewaschen und wieder benützt werden kann.

Die oben beschriebene Methode habe ich während meiner siebenjährigen Tätigkeit als Abteilungsvorstand am Instituto Butantan an Diphtherie-, Gasbrand- und Schlangengiftimmunsera sehr häufig angewandt und gefunden, daß dieselbe bedeutend geringere Verluste ergibt als die in Nordamerika offizielle und auch in den südamerikanischen Serumlaboratorien mit Vorliebe benützte BANZHAFsche Methode (s. WADSWORTH). Der Grund dafür ist wahrscheinlich in dem Umstand zu finden, daß BANZHAF die Fällung in erwärmtem Serum durchführen läßt und die Fällungskraft der Neutralsalze von der Temperatur und bei höherer Temperatur auch vom p_H sehr stark abhängig ist. Bei diesem Verfahren kommen also mehr solche Faktoren in Betracht, die Einfluß auf die Fällungskraft des Ammoniumsulfates ausüben, als bei dem von mir verwendeten.

Das Fraktionieren an dem erwähntem Serum wird wie folgt durchgeführt:

Man stellt das p_H des 1:0,5 verdünnten Serums genau auf 8,0 ein. Nachher fügt man so viel gesättigte Ammoniumsulfatlösung hinzu, daß der Sättigungsgrad

30% beträgt. (Nach der Originalvorschrift müßte man den Sättigungsgrad durch Vorversuche feststellen, indem man kleine Proben des Serums mit Ammoniumsulfat bis auf 29, 30, 31, 32, 33% sättigt, und wählt diejenige geringste Konzentration, bei der das Filtrat das erste Mal klar ist. Da diese Proben bei Zimmertemperatur durchgeführt werden, ist ihr Wert für die Fällung in dem erwärmten Serum sehr illusorisch.) Jetzt stellt man die Gefäße in ein entsprechend großes Wasserbad und erwärmt dasselbe möglichst rasch auf 45°, erhöht dann die Temperatur langsam auf 50° und läßt das Serum 2 Stunden bei dieser Temperatur stehen. Nach Ablauf dieser Zeit wird das Wasserbad auf 59° erwärmt und diese Temperatur 1¼ Stunden aufrecht erhalten. Die vorletzte Stufe ist 59—60°, bei welcher Temperatur das Serum 15 Minuten bleibt. An der letzten Stufe, die genau 60° sein muß, läßt man das Serum bloß 5 Minuten. Ist dieses „fraktionierte Erwärmen“ beendet, nimmt man das Serum heraus, kühlt es rasch auf Zimmertemperatur ab und filtriert sofort¹. Der Euglobulinniederschlag wird mit 32% gesättigter (NH₄)₂SO₄-Lösung ausgewaschen (auf einen 3 l fassenden Trichter nimmt man 1 l Salzlösung). Die zweite Fällung wird mittels 48% Sättigung durchgeführt und das Präzipitat nach 2stdg. Stehen abfiltriert.

Die praktische Anwendung dieses Verfahrens soll an den folgenden, aus dem Archiv des Instituto Pinheiros entnommenen Beispielen erläutert werden.

Tabelle 14. Verlauf der Konzentration bei Diphtheriesera (nach der BANZHAFSchen Methode).

Vor der Konzentration		Technik der Konzentration			Nach der Konzentration		Verlust in %
Volumen ccm	Titer pro ccm	I. Fällung % (NH ₄) ₂ SO ₄	II. Fällung % (NH ₄) ₂ SO ₄	Gewicht des zweiten Niederschlages nach dem Auspressen g	Volumen ccm	Titer pro ccm	
24 000	>140 <160	31	48	2400	4300	>570 <625	27—30
38 000	>200 <250	31	48	3120	5900	>830 <1000	36—38
21 000	>400 <500	31	48	1900	3500	>1800 <2000	25—33
5 000	>100 <120	31	48	498	1050	>300 <400	30—37
5 000	>100 <120	31	50	518	1160	>300 <400	22—30
5 000	>100 <120	31	52	543	1150	>300 <400	23—31

In vielen Laboratorien wird die BANZHAFSche Methode in einer der Abänderungen von HOMER (1, 2) ausgeführt. Die Einzelheiten dieser Verfahren sind wie folgt:

Nach der ersten Modifikation wird das Serum mit 1/3—1/5 seines Volumens mittels destilliertem Wasser verdünnt und mit so viel festem Natriumchlorid versetzt, daß dieses eine Konzentration von 2% erreicht. Nachher wird entweder 8 Stunden bei 57—58° oder — was noch bessere Resultate geben soll — 15 Stunden bei 56—57° gehalten. Die Fällung wird durch 30%ige Sättigung mit Ammoniumsulfat, welches in Form von kaltgesättigter Lösung hinzugefügt werden muß, durchgeführt. Nach der Fällung wird die Temperatur möglichst rapid auf 61° gesteigert, das Serum einige Minuten an derselben gehalten. Ist das Erwärmen beendet, so läßt man das Serum bei Zimmertemperatur auf 40—45°

¹ Meinen Erfahrungen nach soll die Filtration auch in diesem Fall erst nach einigen Stunden vorgenommen werden, sonst wird das Filtrat sehr häufig trüb.

abkühlen und filtriert es nachher. Der Niederschlag wird mit 33%igem gesättigtem Ammoniumsulfat ausgewaschen. Das Aufarbeiten des Waschwassers sowie die zweite Fällung geschehen nach der Vorschrift von BANZHAF.

Laut der späteren Abänderung wird das Blut in Form von Citratplasma aufgearbeitet. Man gibt in die Blutrezipienten so viel einer 10%igen sterilisierten Natriumcitratlösung, daß das Blut nachher 0,4% dieses Salzes enthält. Um das Ausscheiden der korpuskulären Elemente möglichst ohne Hämolyse zu erreichen, bewahrt man das Blut 3 Tage im Kühlraum bei 4—5° auf. Nachdem das Plasma abgehebert und sein p_H mittels Ammoniak auf 8,0 eingestellt wurde, wird so viel NaCl hinzugefügt, daß sein Gehalt an diesem 2% beträgt. Das Erwärmen geschieht in einem auf 62—64° erwärmten Wasserbad unter ständigem Rühren. Sobald die Temperatur des Plasma auf 57,5° gestiegen ist, reguliert man die Wasserzufuhr des Wasserbades so ein, daß seine Temperatur zwischen 57 und 58° bleibt. Nach 4stündigem Erwärmen fügt man gleichfalls unter Rühren so viel kaltgesättigte Ammoniumsulfatlösung zu dem Plasma, als einer 30%igen Sättigung entspricht. Man nimmt jetzt das Plasma aus dem Wasserbad, läßt es bei Zimmertemperatur abkühlen und filtriert es. Der Niederschlag (Euglobulin) wird mit einem der ursprünglichen Plasmamenge entsprechenden Volumen 30%igen gesättigten Ammoniumsulfats ausgewaschen und das Waschwasser mit dem ersten Filtrat vereinigt. Dieser Prozeß wird wiederholt und auch das zweite Waschwasser zum ersten Filtrat gegeben. Zu dem Gemisch: [erstes Filtrat + erstes und zweites Waschwasser] fügt man jetzt so viel gesättigte $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung hinzu, als einer 46%igen Sättigung entspricht, und filtriert den Niederschlag (Pseudoglobulin + Antikörper). Die weiteren Manipulationen (Auspressen, Dialyse usw.) sind dieselben wie beim Original BANZHAF'schen Verfahren.

Um den — nach HOMER — sehr wechselnden Verlust an Antikörpern zu beseitigen, empfiehlt die Autorin den Euglobulinniederschlag mittels konzentrierter NaCl-Lösung zu extrahieren und das Extrakt — nachdem der Rückstand abfiltriert wurde — durch Hinzufügen von so viel Eisessig, als einer Essigsäurekonzentration von 0,3% entspricht, wieder umzufällen. Der Niederschlag wird — wie üblich — dialysiert. Nach den Erfahrungen von SORDELLI ist der Verlust an Antikörpern höchstens 10%.

2. Durch Fällung mittels Ammoniumsulfat und Einstellung auf den isoelektrischen Punkt.

Die Nachteile der gewöhnlichen Ammoniumsulfatfällung sind viel zu augenscheinlich, um daran ausführliche Kritik üben zu müssen. Verschiedene Abänderungen wurden vorgeschlagen, um dieselben zu eliminieren oder wenigstens herabzusetzen. Von diesen scheinen sich in der Praxis am besten diejenigen bewährt zu haben, welche — auf Grund der Initiative von CHICK — die Salzfällung mit der Einstellung der Reaktion auf den isoelektrischen Punkt des Pseudoglobulins vereinigen.

Das ursprüngliche Verfahren von CHICK (2), welches darin bestand, daß man aus dem Serum das Eu- und Pseudoglobulin durch eine einzige Fällung mittels halbgesättigtem Ammoniumsulfat gemeinsam entfernte, den Niederschlag mit gesättigter NaCl-Lösung auswusch, schließlich das Pseudoglobulin

durch Ansäuern mittels Essigsäure wieder ausfällte, wurde zunächst von MURDICK, später von GERLOUGH und WHITE vervollkommnet.

Nach MURDICK wird das Plasma, dessen p_H vorher durch Hinzufügen von $(NH_4)OH$ auf 8,0 gebracht wurde, mit destilliertem Wasser in der Proportion 1:6 verdünnt und nachher mit Ammoniumsulfat bis auf 48% gesättigt. Jetzt wird es langsam auf 60° erwärmt und 4 Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Der Niederschlag wird — wie oben — mit gesättigter NaCl-Lösung ausgezogen. Das zweite Fällen des Pseudoglobulins geschieht durch das Einstellen der Reaktion auf p_H 5,4—5,8. Die Ergebnisse dieses Verfahrens gehen aus der nachfolgenden Tabelle hervor.

Tabelle 15. Verlauf der Konzentration mit der MURDIKschen Methode (nach MURDICK).

	Vor der Konzentration			Nach der Konzentration					
	Volumen ccm	mg N pro ccm	Einheiten pro ccm	Volumen ccm	mg N pro ccm	Einheiten pro ccm	Entfernte Eiweißmenge in % des Gesamtproteins	Zunahme des Antitoxintiters in %	Verlust an Antitoxin in %
Diphtheriesera	8 600	26,3	29,0	5300	29,2	36,6	31,5	26,2	13,2
	9 330	24,9	34,5	5800	27,9	43,0	30,3	24,6	13,2
	9 200	26,5	32,0	6619	26,5	42,3	28,6	31,8	5,2
	11 400	24,1	24,9	7300	27,0	30,7	28,2	23,7	11,4
	7 800	21,9	36,0	4784	25,6	42,9	28,3	19,1	14,6
Tetanusserum	8 200	24,4	32,7	5791	—	40,4	28,5	23,5	11,7

Die Methode von GERLOUGH und WHITE unterscheidet sich von der vorher beschriebenen darin, daß diese Verfasser den antikörperhaltigen Niederschlag dialysieren, daraufhin bis zur Erreichung einer spezifischen Leitfähigkeit von $8,5 \cdot 10^{-5}$ r. O. elektrolytisch, nachher die Lösung so weit verdünnen, bis ihr Gehalt an Proteinen ungefähr 3% beträgt, schließlich das p_H auf 5,4—5,8 einstellen. Diese Lösung wird nachts über im Eisschrank aufbewahrt, wo der Rest an Euglobulin, Fetten und phosphorhaltigen Lipoiden ausscheidet. Die obere klare Flüssigkeit wird abgehebert und durch 50%ige Sättigung mittels Ammoniumsulfat nochmals gefällt und der Niederschlag — wie üblich — weiterbehandelt. Die von den Autoren veröffentlichten Ergebnisse hinsichtlich der Konzentration von Diphtherie- und Tetanussera sind sehr günstig. Die Methode ist jedoch zu langwierig, so daß sie in den industriellen Laboratorien keine Verbreitung fand.

3. Durch Fällung mittels Natriumsulfat.

Vom Natriumsulfat haben wir schon erwähnt, daß es sich durch seine von der Temperatur abhängigen, eigentümlichen Löslichkeitsverhältnisse auszeichnet. Das ist die Erklärung dafür, warum sowohl die Fällung als auch die Filtration bei 37° vorgenommen werden müssen. Filtriert man nämlich bei einer anderen Temperatur, so krystallisiert sehr viel Salz aus, was wiederum zur Folge hat, daß ein Teil der gefällten Eiweißkörper wieder in Lösung geht.

Die heute noch in manchen Seruminstituten verwendete Konzentrationsmethode mit Hilfe dieses Salzes wurde von HOMER (3) ausgearbeitet. Diese Autorin führte genaue und ausgedehnte Vergleichsversuche über die Fällungskraft des Ammonium- und Natriumsulfates an Diphtheriesera durch, deren

Ergebnisse gezeigt haben, daß sich das Natriumsulfat auch für die Konzentration von großen Mengen eignet und dasselbe sowohl bei dem ungewärmten als auch bei dem erwärmten Serum angewendet werden kann. Das von ihr angegebene Verfahren wird in dem ungewärmten Serum in der folgenden Weise durchgeführt.

Das Serum wird mit der der Hälfte seines Volumens entsprechenden Menge destillierten Wassers verdünnt, seine Reaktion auf p_H 7,4—8,3 eingestellt und Kresol bis zu einer Konzentration von 0,3% hinzugefügt. Zum Eliminieren des Euglobulins trägt man in das verdünnte Serum so viel wasserfreies Natriumsulfat hinein, daß eine Salzkonzentration von 11,5% erreicht wird. Es ist ratsam, sich durch Vorversuche zu überzeugen, bei welcher Konzentration ein wasserklares Filtrat zu erhalten ist. Nach einigen Stunden Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und mit gesättigter Kochsalzlösung ausgezogen. Washwasser und Filtrat werden vereinigt. Zur Fällung der Antikörper ergänzt man den Gehalt an Natriumsulfat in dem Filtrat auf 18,5%. Das Salz muß bei einer Temperatur von 38—40° unter ständigem Rühren und portionenweise in das Filtrat eingetragen werden. Dieser zweite, immunkörperhaltige Niederschlag wird, gleichfalls erst nach einigen Stunden stehen lassen, filtriert (selbstverständlich bei 38—40°). Die weitere Behandlung des Niederschlages geschieht in der üblichen Weise.

Will man das Serum während der Fällung erwärmen, so genügt zum Entfernen des Euglobulins 8 und zur zweiten Fällung 15,5% Na_2SO_4 -Konzentration. Man muß die Serum-Salzgemische nach jeder Fällung 4—5 Stunden bei 58° halten. Die weiteren Einzelheiten folgen aus dem bisher Gesagten ohne weiteres.

Die Änderung des Antitoxingehaltes in dem ersten Filtrat unter den eben beschriebenen Bedingungen ist aus Abb. 5 ersichtlich.

Eine weitere, allerdings für technische Zwecke viel zu komplizierte Methode gibt MACCONKEY (1, 2) folgendermaßen an:

Das Serum (oder Plasma) wird im Wasserbad auf 33—37° erwärmt, dann mit so viel wasserfreiem Natriumsalz versetzt, bis sein spez. Gewicht auf 1,175 steigt, was einer

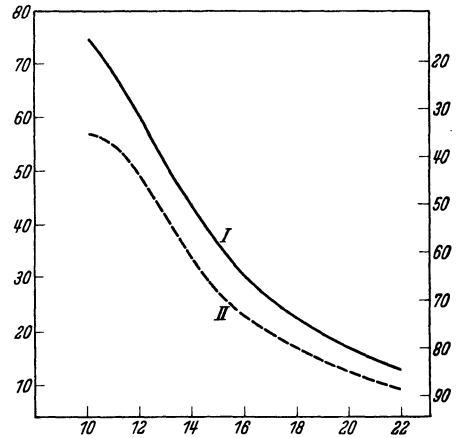


Abb. 5. Fällung eines Diphtherieserums durch Na_2SO_4 . Abszisse: Na_2SO_4 -Gehalt in Prozent. Ordinate: (links) in Lösung gebliebener Globulinanteil in Prozent, (rechts) ausgefallener Globulinanteil in Prozent. Kurve I: Nicht gewärmtes Serum. Kurve II: 5 Stunden auf 57,5° gewärmtes Serum. (Nach HOMER.)

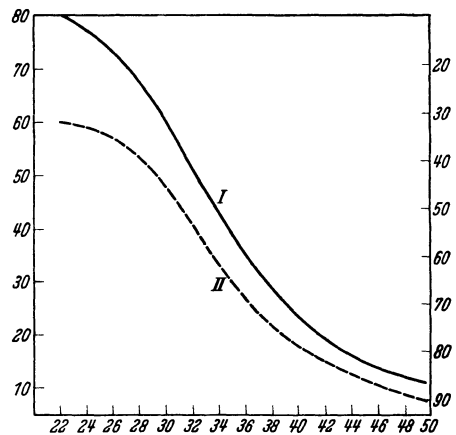


Abb. 6. Fällung eines Diphtherieserums durch $(NH_4)_2SO_4$. Abszisse: Sättigungsgrad des $(NH_4)_2SO_4$ in Prozent. Die sonstigen Daten haben die gleiche Bedeutung wie bei Abb. 5. (Nach HOMER.)

ungefähren Salzkonzentration von 18,5% entspricht. Der Niederschlag, welcher die Gesamtglobuline samt Antikörpern enthält, wird durch ein dichtes Tuch bei der Fällungstemperatur filtriert, danach — gleichfalls im Wasserbad — in Wasser aufgelöst und mit dem Lösungsmittel auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Die Fällung mittels Natriumsulfat wird unter den gleichen Bedingungen wiederholt, desgleichen das Filtrieren. Der nach der zweiten Fällung erhaltene Niederschlag wird in kaltem Wasser gelöst und auf das Doppelte des Anfangsvolumens aufgefüllt. Nach vollständiger Lösung sättigt man es mit Kochsalz. Das spez. Gewicht muß bei Erreichen der Sättigung 1,200—1,205 betragen. Der nach Hinzufügen des NaCl entstandene Niederschlag wird eine Zeitlang stehen gelassen und nachher durch ein dichtes Tuch filtriert. Man löst das Präzipitat in so viel Wasser auf, daß das Volumen dem des Serums entspricht. Man wiederholt sowohl die Sättigung durch Kochsalz als auch das Filtrieren. Der so gewonnene Filtrerrückstand besteht aus Euglobulin, daher wird er weggegeben. Aus dem Filtrat fällt man das Antikörper-Pseudoglobulin-gemisch durch Hinzufügen von so viel Eisessig, daß die Säurekonzentration 0,3% beträgt. Der Niederschlag wird wiederum durch ein dichtes Tuch filtriert, nachher bei langsam gesteigertem Druck ausgepreßt und schließlich dialysiert.

Der Autor dieser Methode gibt dem Natriumsulfat den Vorteil über das Ammoniumsulfat, seine diesbezügliche Begründung faßt er in den folgenden Punkten zusammen:

1. Das Natriumsulfat ist ungiftig, 1 ccm einer 7%igen Lösung wird — im Falle intraperitonealer Verabreichung — von der Maus gut vertragen.

2. Es ist kein guter Nährboden für Mikroorganismen, daher kann das damit gefällte Präzipitat ohne Zusatz irgend eines Konservierungsmittels dialysiert werden.

3. Infolge seiner Ungiftigkeit kann man die Dialyse früher abbrechen als bei Ammoniumsulfat;

4. Bei gleicher Proteinkonzentration sind die Natriumsulfatsera weniger viscos.

5. Es ist billiger.

6. Das Natriumsulfat greift die Metalle nicht so an wie das Ammoniumsulfat, was — wenn man mit großen Mengen arbeitet — die Vermeidung von Glasgefäßen ermöglicht.

MACCONKEY beweist die Brauchbarkeit seines Verfahrens durch die folgenden Ergebnisse:

Diphtherieserum. Volumen des Ausgangsserums: 550 l. Titer: 250 Einheiten pro Kubikzentimeter. Insgesamt enthalten: 137500000.

Volumen des Endproduktes: 96,5 l. Titer: 1400 Einheiten pro Kubikzentimeter. Insgesamt enthalten: 135100000 Einheiten. Verlust: 1,7%.

Tetanuserum. Volumen des Ausgangsserums: 110 l. Titer: 200 Einheiten pro Kubikzentimeter. Insgesamt enthalten: 22000000 Einheiten.

Volumen des Endproduktes: 23,3 l. Titer: 1000 Einheiten pro Kubikzentimeter. Insgesamt enthalten: 23300000 Einheiten. Verlust: 0,0%.

Eine andere Art, das Natriumsulfat als Fällungsmittel anzuwenden, besteht darin, daß man im verdünnten Serum (1:0,5) pro Liter 220 g wasserfreies Salz unter ständigem Rühren auflöst, das Gemisch nachtsüber bei 37° aufbewahrt, den Niederschlag am nächsten Tag bei der gleichen Temperatur abfiltriert, auspreßt und schließlich den Rest des Salzes durch Dialyse entfernt. Die Dialyse muß in diesem Fall so lange fortgesetzt werden, bis das Euglobulin anfängt, auszufallen. Wir haben dieses Verfahren, da das Serum während der Dialyse ziemlich viel Wasser aufnimmt, hauptsächlich in solchen Fällen angewendet, wo es sich um bloße Reinigung handelte und auf eine Erhöhung des Titers

kein besonderer Wert gelegt wurde. Im folgenden wird die Reinigung eines Klapperschlangenserums wiedergegeben.

Klapperschlangenserum. p_H : 8,0. Volumen: 4660 ccm. Titer pro Kubikzentimeter: 0,85 mg.

4660 ccm Serum + 2340 ccm H_2O = 7000 ccm. Menge des Na_2SO_4 : 1540 g. — Filtrat: C/F_1 , Niederschlag: C/N_1 .

Von dem Filtrat werden 50 ccm dialysiert. Nach Entfernung des Salzes wurde sein Titer festgestellt. Der Niederschlag (C_1/N_1) wurde gleichfalls dialysiert und dosiert. Das Volumen war 5600 ccm. Die Titerbestimmungen ergaben, daß praktisch gar kein Verlust entstanden ist, indem sie die folgenden Resultate lieferten

$C/F_1 = 0,0015$ mg/ccm, $C/N_1 = 0,75$ mg/ccm (theoretischer Wert: 0,75 mg).

4. Durch Fällung mittels Magnesiumsulfat.

In wenigen Seruminstituten wird die Konzentration mit Hilfe von Magnesiumsulfatfällung vorgenommen, wobei man sich stets an die Originalvorschrift von HAMMARSTEN hält. Die Unterschiede in der Technik der einzelnen Institute bestehen lediglich im Grad der Verdünnung des Serums.

Zur Fällung wird reines, krystallisiertes Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \cdot 7 H_2O$) verwendet. Besteht aus irgendeinem Grunde Verdacht in bezug auf die Reinheit des Produktes, so muß es auf Chlor, Phosphat, Eisen, Arseniat und Arsen geprüft werden. Die Anwesenheit von Chlor wird mit der bei dem Ammoniumsulfat beschriebenen Probe festgestellt (s. S. 256). Zum Nachweis des Eisens löst man 1 g Salz in 20 ccm Wasser und fügt 1 ccm konzentrierte Salzsäure und etwas Kaliumrhodanidlösung hinzu. Wird das Gemisch rot bzw. rötlich, so ist das Salz mit Eisen verunreinigt. Auf Phosphate und Arseniate prüft man mit Ammoniak. Zur Durchführung der Probe versetzt man eine 12—15%ige Lösung mit der Hälfte ihres Volumens einer Ammoniaklösung und läßt das Reaktionsgemisch bei Zimmertemperatur stehen. Es darf in 15 Stunden keine Trübung entstehen. Zur Prüfung auf Arsen bereitet man eine Mischung aus 3 ccm konzentrierter Salzsäure und 1 ccm einer 5%igen Zinnchlorürlösung ($SnCl_2$), versetzt sie mit etwas gelöstem Magnesiumsulfat und erwärmt das Gemisch vorsichtig. Die Anwesenheit von Arsen wird durch braune oder schwarze Verfärbung angezeigt.

Die Trennung der Globuline wird in der Weise durchgeführt, daß man das Serum (da es sich um eine einzige Fällung handelt, soll man kein Plasma nehmen) mindestens mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und auf 30° erwärmt. Man trägt bei dieser Temperatur portionenweise — unter ständigem Umrühren — so viel festes Salz hinein, bis es vollkommen gesättigt ist. Man läßt das Serum-Salzgemisch nachtsüber stehen und filtriert es durch irgendein faserfreies Papier. Nachdem der Niederschlag ausgepreßt wurde, wird die Masse dialysiert. Da durch dieses Verfahren auch das Euglobulin mitgefällt wird, muß man mit der Dialyse so lange fortfahren, bis dasselbe ausfällt.

Tabelle 16.
Löslichkeit von $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ in 100 ccm Wasser bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur °	Gelöste Salzmenge g	Temperatur °	Gelöste Salzmenge g
10	23,6	25	26,8
20	26,2	30	29,0
		40	31,3

Die Löslichkeit des Magnesiumsulfates ist aus der vorstehenden Zusammenstellung ersichtlich.

Wir haben keine persönlichen Erfahrungen mit diesem Fällungsmittel. Ein einziges Mal haben wir damit ein Klapperschlangensimmenserum konzentriert, wobei allein durch die Fällung ein Verlust von 17,8% entstanden ist (das ursprüngliche Serum hat 42,0, der Euglobulin-Pseudoglobulinniederschlag 34,5 mg Klapperschlangengift neutralisiert). Wie uns Herr ZOUTENDYK aus dem *The South African Inst. for Medical Research* (Johannesburg) mitteilte, verwenden sie dieses Verfahren zur Herstellung von Schlangengiftimmunsera mit befriedigendem Resultat.

5. Verbesserte Fällungsmethoden.

Ein jeder, der sich längere Zeit hindurch mit der technischen Herstellung von konzentrierten Immunsera befaßt hat, fühlt die Unvollkommenheit der oben beschriebenen Methoden. Abgesehen davon nämlich, daß das Aussalzen ein mehr oder minder empirisches Verfahren ist, gewinnt man nämlich durch diese Wege sehr häufig Sera, die opalescieren, sehr viscos sind und sich infolgedessen schlecht filtrieren lassen oder sehr dunkel gefärbt sind und deshalb nicht gut aussehen.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, diesen Übeln abzuweichen, man muß aber leider feststellen, daß keines der bisher angegebenen Verfahren für die Praxis von so großem Wert ist, daß es sich lohnen würde, es anzuwenden. Entweder sind sie zu kostspielig oder zu zeitraubend oder werden die Sera dadurch verdünnt, was wiederum das Konzentrationsverfahren illusorisch macht.

So haben z. B. HARDY und GARDNIER vor vielen Jahren vorgeschlagen, die Estersubstanzen und Pigmente des Serums durch Ausfällung mit Alkohol oder Aceton bei -8° zu entfernen. Das Serum wird mit den erwähnten Mitteln gefällt, der Niederschlag mit kaltem Äther ausgewaschen und nachher bei 37° getrocknet. Man erhält ein weißes und im Wasser gut lösliches Pulver, das den ursprünglichen Antitoxintiter aufweist und welches man durch Aussalzen fraktioniert. Es ist überflüssig, darauf hinzuweisen, was diese Vorbereitung an Spesen, Arbeit und Zeit bedeutet, wenn man 50—100 l Serum zu verarbeiten hat.

Das gleiche gilt für das fraktionierte Ausfällen mittels Aceton, ein von PIETTRE und VILA (1, 2) ausgearbeitetes Verfahren.

Ähnlich steht die Sache mit dem sog. Extraktionsverfahren, deren Prinzip darin besteht, daß man die Antikörper gemeinsam mit den Proteinen durch Salze ausfällt und sie nachher entweder durch Ändern des p_H oder mittels einer Salzlösung von „geeigneter“ Konzentration (z. B. mittels halbgesättigter Natriumchloridlösung, FROUIN) bei höherer Temperatur extrahiert.

Wenn man auch diesen Methoden auf dem Gebiet des Studiums von Antikörperverteilung und -reinigung einen gewissen Wert nicht absprechen kann, so sind sie doch alle für praktische Zwecke unbrauchbar. Als industrielles Verfahren kommt heute wie früher nur das Aussalzen mit Ammoniumsulfat, Magnesiumsulfat oder mit Natriumsulfat in Frage, und die Verbesserungen, welche mit der Zeit eingeführt wurden, beziehen sich lediglich auf die Entfernung der Fällungsmittel.

6. Entfernung des Fällungsmittels.

a) Durch Auspressen.

Nach Beendigung des Filtrierens läßt man den antikörperhaltigen Niederschlag ungefähr 1 Tag an der Luft austrocknen und schabt ihn dann mit großen Hornspateln ab. Handelt es sich um einen ammonium- bzw. magnesiumsulfathaltigen Niederschlag oder um einen Na_2SO_4 -haltigen und will man dieses Salz aus irgendeinem Grund nicht ausfrieren lassen, so ist es ratsam — hauptsächlich um einer überflüssigen Verdünnung während der Dialyse vorzubeugen — den Niederschlag in eine geeignete Presse zu geben und die darin reichlich vorhandene konzentrierte Salzlösung auszupressen.

Der Niederschlag muß für das Auspressen entsprechend vorbereitet werden, indem man die vom Filterpapier abgeschabte Masse in dicker Schicht auf faserfreies Filterpapier aufträgt (man kann die für das Filtrieren verwendeten Papiere nehmen, indem man auf 1 Filterpapier den Inhalt von 2—3 Trichtern vereinigt) und das Papier von allen Seiten zusammenschlägt. Das Zerreißen des Papiers unter dem Druck wird dadurch verhindert, daß man es in grobes, doch dichtgewebtes Leinentuch einschlägt.

Als Presse benützt man entweder einfache, aus Holz gemachte Handpressen von der Form einer Buchpresse oder Öl- bzw. hydraulische Pressen, womöglich solche, die von oben nach unten drücken. Die Handpressen haben zwei Nachteile, 1. kann man mit ihnen nur einen relativ geringen Druck, also eine sehr unvollkommene Entfernung des Salzlösung erreichen, und 2. ist ihre Kapazität ziemlich gering, so daß sie sich für größere Institute nicht eignen. Die Öl- und hydraulischen Pressen verlangen — da sie sehr hohe Drucke auszuüben vermögen — eine sorgsame Beurteilung des auszupressenden Serums. War das Serum schon ursprünglich sehr viscos — was bekanntlich besonders bei hochwertigen Diphtheriesera oft vorkommt — oder enthält es auch Euglobulin, wie das bei Tetanusserum der Fall ist, so verliert es unter hohem Druck sehr viel von seiner Löslichkeit, wodurch beträchtliche Verluste an Antitoxin entstehen.

In die Presse müssen die einzelnen „Verpackungen“ voneinander getrennt kommen, man gibt deshalb zwischen zwei Verpackungen eine 2—2½ cm dicke, aus hartem Holz gearbeitete Platte. Ist die Presse gefüllt, so setzt man den Druck langsam auf die Masse und erhöht ihn von Zeit zu Zeit, bis der gewünschte, vorteilhafte Druck erreicht ist. Man läßt die Substanz 24 Stunden unter diesem Druck. Ist das Auspressen richtig gewesen, so muß die Masse an ihrer Oberfläche feucht sein und bröselige Konsistenz haben.

b) Durch Ausfrieren.

Hat man zur der Fraktionierung Na_2SO_4 genommen, so kann man den Reinigungsprozeß außerordentlich beschleunigen, indem man das Salz einfach durch Abkühlen auskristallisiert. Der Prozeß hat zwei Vorteile, weil er das Auspressen und die — unter Umständen — zeitraubende Dialyse überflüssig macht. Sein Nachteil besteht darin, daß in dem Serum etwas Natriumsulfat zurückbleibt.

Das Ausfrieren wird in der Praxis wie folgt durchgeführt: Man gibt den natriumsulfathaltigen, noch feuchten Niederschlag in Behälter, die unten

mit einem Hahn versehen sind, und stellt sie in einen Kühlraum, dessen Temperatur 5—6° ist. Um das Auskrystallisieren anzuregen, gibt man einige Na_2SO_4 -Krystalle in die Masse. In dem Maß, wie die Krystallisation vor sich geht, löst sich das Globulin in dem vorhandenen Wasser auf und tropft durch den Hahn in ein anderes Gefäß.

Ist das Auskrystallisieren des Salzes beendet, so wird die Globulinlösung entweder mit destilliertem Wasser verdünnt und damit die Konzentration als abgeschlossen betrachtet, oder sie wird zwecks Entfernung des darin noch zurückgebliebenen Salzes (etwa 6%) der Dialyse unterworfen.

c) Durch Dialyse.

Unter Dialyse versteht man bekanntlich die Trennung der Krystalloide von den Kolloiden durch Waschen in einer Anordnung, in welcher die Kolloide von dem Waschwasser durch eine für die ersteren undurchlässige Membran getrennt sind. Das Wesentliche bei der Dialyse ist einerseits die kolloidundurchlässige Membran, andererseits eine genügend große Wassermenge. Als Membran kommen für die Serumdialyse Schweinsblase, Ochsenblase, Pergamentpapier, Cellophan oder Cuprophan in Betracht. Ein Vergleich der verschiedenen Membranen hinsichtlich ihrer dialytischen Eigenschaften ist nach unseren heutigen Kenntnissen nicht angebracht. Es sind nämlich mehrere Faktoren, welche die Dialysiergeschwindigkeit, d. h. die Permeabilität für Krystalloide einer Membran bestimmen (Herstellungsweise, sonstige Beschaffenheit, Vorbehandlung, Temperatur, bei der die Dialyse stattfindet, die Natur des zu entfernenden Stoffes usw.), so daß die Durchlässigkeit einer und derselben Membran unter ungleichen Bedingungen sehr verschieden sein kann.

Vom theoretischen Gesichtspunkt aus betrachtet, ist die Dialyse eigentlich nichts anderes als eine Diffusion in einer Gallerte, nur ist dieselbe durch eine dünne Haut repräsentiert. Das Konzentrationsgleichgewicht auf beiden Seiten der Dialysiermembran ergibt sich — für den Fall, daß das Außenwasser nicht gewechselt wird — bei einer bestimmten Temperatur nach DONNAN aus dem folgenden Zusammenhang: $x^2 = y(y+z)$, wo x und y die Konzentration der Ionen, die von der Membran durchgelassen werden, im Außen- und Innenraum und z die Konzentration der Kolloidteilchen bedeuten. Will man also die Dialyse beschleunigen, so muß man in erster Linie für die Entfernung der hinausdiffundierten Ionen Sorge tragen.

In der neueren Zeit hat sich besonders BRINTZINGER (1, 2) mit der Kinetik der Dialyse befaßt. Er hat nicht nur die frühere Auffassung von BETHE und TOROPOFF (1, 2) sowie von HEYMANN und von MANEGOLD, nach welcher der Dialyseverlauf eine Exponentialfunktion der Zeit ist, bestätigt, sondern stellte auch in bezug auf den Einfluß der Temperatur und der Oberfläche der Membrane mathematische Zusammenhänge auf. Nach BRINTZINGER kann man die Dialysiergeschwindigkeit bei konstanter Temperatur, und wenn die ausdialysierten Stoffe aus der Außenflüssigkeit ständig entfernt werden, durch die folgende Gleichung ausdrücken:

$$\lambda_{ct} = \frac{d(c_0 - c_t)}{dt},$$

in der c_0 die Konzentration zu Beginn der Dialyse,

c_t die Konzentration nach der Zeit t

und λ eine von den Versuchsbedingungen abhängige, für jede Dialyse

charakteristische und der spezifischen Oberfläche der Membran direkt proportionale Konstante, den sog. „Dialysekoeffizienten“ bedeuten.

Zwischen λ und der Temperatur besteht nach diesem Autor ein linearer Zusammenhang, der sich durch die Formel:

$$\lambda_{T'} = \lambda_T [1 + \alpha (T' - T)].$$

ausdrücken läßt.

In der Gleichung bedeutet α einen für jeden Stoff typischen Temperaturkoeffizienten.

Gesetzmäßigkeiten über den Einfluß verschiedener Membrane sowie nicht diffusionsfähiger Substanzen (z. B. Proteine) konnte auch BRINTZINGER nicht finden.

Von unserem speziellen Standpunkt aus betrachtet, wird von der Dialysiermembran verlangt: absolute Undurchlässigkeit für die Antitoxine, genügende Resistenz, da es sich um Inhalte von mehreren Kilo Gewicht handelt, leichte Bildsamkeit, evtl. auch Sterilisierbarkeit, schließlich muß auch der Preis entsprechend sein. Als solche Membrane sind das Pergamentpapier und das Cellophan bzw. das Cuprophan zu betrachten, von welchen das Cellophan weniger resistent ist und das Cuprophan erst vor relativ kurzer Zeit auf den Markt gebracht wurde. Am meisten wird deshalb eine gute Qualität Pergament benützt.

Aus der Theorie der Dialyse geht hervor, daß die Geschwindigkeit, mit der die zu entfernenden Ionen hinausdiffundieren — bei sonst gleichen Bedingungen — hauptsächlich von der Membranoberfläche, dem Konzentrationsgefälle und von der Temperatur abhängt. Die Vergrößerung der Membranoberfläche ist in der Praxis über einen gewissen Grad nur in Form von Schläuchen möglich, da durch die Benützung von anderen Formen mit sehr großer Oberfläche, wie sie z. B. bei dem PAULISCHEN Faltendialysator gegeben ist, die Eiweißkörper viel zu viel Wasser aufnehmen, wodurch eine unerwünschte Verdünnung des Serums entsteht. Deshalb wählt man gewöhnlich die einfache Sackform. Man kann den Sack oben mit einem durchbohrten Stöpsel, durch welchen ein Glasrohr geht, verschließen. Diese Einrichtung bietet den Vorteil, daß das eingewanderte Wasser das Serum in das Glasrohr hinauftreibt und diese Flüssigkeitssäule einen gewissen Gegendruck ausübt und dadurch der weiteren Flüssigkeitsaufnahme bzw. Verdünnung entgegenarbeitet.

Praktisch wird die Dialyse meistens durchgeführt, indem man die zerbröckelte Masse abwägt und davon 750—850 g in einen 5—6 l fassenden Pergamentsack gibt, den Sack bis zu $\frac{1}{3}$ seiner Höhe in einen Behälter von 10—12 l Inhalt hineinhängt und durch eine geeignete Vorrichtung für einen dauernden Wasserdurchlauf sorgt. Gewöhnlich geht der Niederschlag schon in 24 Stunden in Lösung. Geht die Dialyse ihrem Ende entgegen, so wird sie — mindestens 2 Tage hindurch — mit destilliertem Wasser, welches man zweimal täglich wechselt, fortgesetzt.

Eine andere Dialyseanordnung, welche sich auf das sog. „Gegenstromprinzip“ basiert, besteht darin, daß man statt Säcke lange Schläuche aus Pergament- oder Cellophan verwendet. (Fertige Schläuche aus Pergament werden von der Firma *Schleicher & Schüll* geliefert.) Die Schläuche liegen im Wasser, und in dem darin befindlichen Serum wird eine Strömung erzeugt. Das Dialysewasser wird auch gleichzeitig in Bewegung gehalten, und zwar ist die Stromrichtung desselben der des Serums entgegengesetzt. Solche Anordnungen

beschleunigen in hohem Maße die Dialysiergeschwindigkeit, und zwar nicht nur infolge der Gegenströmung, sondern auch infolge der sehr großen Berührungsfläche, welche durch die schlauchförmig gehaltene Dialysiermembran geschaffen wird. Die Gegenströmung verhindert außerdem die Verdünnung des Serums.

Der Verlauf der Dialyse wird entweder durch Leitfähigkeitsbestimmung (s. S. 275) oder durch Nachweis des Sulfates in der Eiweißlösung überwacht. Wird die Leitfähigkeit kontrolliert, so geht man aufs destillierte Wasser über, sobald dieselbe einen Wert von ungefähr $9-10 \cdot 10^{-4}$ r. O. erreicht hat. Beschränkt man sich auf den Sulfatnachweis, so genügt die folgende Probe: Nachdem der Inhalt des Sackes gut durchgemischt ist, entnimmt man ihm 2 ccm Serum, verdünnt es mit destilliertem Wasser auf 10 ccm, entfernt die Eiweißkörper durch Hitzedenaturierung (etwas Kochsalz hinzufügen vor dem Erwärmen, sonst wird das Filtrat trüb!) und filtriert. Nach dem Auswaschen des Niederschlages ergänzt man das Volumen des Filtrates auf 10 ccm, versetzt es in einem Zentrifugierröhrchen mit 2—3 ccm einer 5%igen Bariumchloridlösung und zentrifugiert den Niederschlag ab. Von der Schichtdicke des BaSO_4 läßt sich, wenn man die Fällung in Ammoniumsulfatlösungen von verschiedenen Konzentrationen (0,1 . . . 3—4%) durchgeführt und die Schichtdicke an dem Zentrifugiergläschen markiert hat, mit genügender Genauigkeit der Gehalt an Sulfat in dem Dialysat feststellen bzw. schätzen. Selbstverständlich müssen die Umdrehungszahl der Zentrifuge und die Dauer des Zentrifugierens immer gleich bleiben.

Aus den zahlreichen Untersuchungen, in denen die Menge des hinausdialysierten Salzes während des ganzen Vorganges systematisch untersucht wurde, wissen wir, daß weitaus der größte Teil des Fällungsmittels sehr schnell durch die Membran geht, weiter, daß gerade die Entfernung der letzten Reste der Salze ein besonders schwieriger und äußerst langsam vor sich gehender Prozeß ist. Vollkommen aschefreies Eiweiß läßt sich bekanntlich nicht einmal mit Hilfe der Elektrodialyse gewinnen.

Man kann die Dialyse für beendet betrachten, wenn die Leitfähigkeit um den Wert von $3-4 \cdot 10^{-4}$ r. O. herum ist oder wenn der Gehalt an Ammoniumsulfat unter 0,1% gesunken ist.

Dialysiert man bei Zimmertemperatur, so ist es notwendig, gleich nachdem die Masse in Lösung gegangen ist, ein Konservierungsmittel zu dem Serum zu geben. Ein sehr gutes Mittel ist für diesen Zweck Thymol, da es sich schwer löst (bei Zimmertemperatur enthält die gesättigte wässrige Lösung ungefähr 1 g pro l), so daß seine Entfernung nach der Dialyse überflüssig ist. Man gibt ganz einfach gepulvertes Thymol im Überschuß in den Dialysiersack und sorgt nur dafür, daß ungelöste Substanz vorhanden ist. Chloroform zu verwenden, ist nicht ratsam, da die aufsteigenden Dämpfe das Serum vollkommen durchdringen und nachher nur sehr schwer wieder zu entfernen sind. Toluol kann man verwenden, da es an der Oberfläche des Serums bleibt, jedoch ist es bedeutend teurer als Thymol.

Will man die Benützung des Konservierungsmittels vermeiden, so muß die Dialyse im Kühlraum vorgenommen werden, was wiederum mit einer Verlängerung der Dialysezeit verbunden ist.

Bei Zimmertemperatur bekommt man gewöhnlich in 8—10 Tagen genügend salzfreie Dialysate.

Legt man großen Wert auf eine sehr rasche Dialyse, so muß dieselbe bei höherer Temperatur durchgeführt werden. In diesem Falle ist jedoch die Gefahr einer bakteriellen Kontaminierung und eines dadurch bedingten Abbaues erhöht, was das Einhalten aseptischer Kautelen notwendig macht. Man muß also die Säcke, das Wasser, die Behälter und die Leitungsröhre sterilisieren und während der ganzen Dialyse auf die Keimfreiheit achten. Die ganze Dialyse wird dann in einem Raum, dessen Temperatur auf 40° reguliert ist, oder in einem Wasserbad von der gleichen Temperatur durchgeführt. Dieses sog. „heiße Dialysierverfahren“ liefert ungefähr in 4—5 Tagen fertiges Serum.

Diese Art von Dialyse läßt sich sehr gut mit dem früher erwähnten „Gegenstromprinzip“ kombinieren, wodurch eine weitere Beschleunigung der Elektrolytenausscheidung zu erreichen ist.

Die Unbequemlichkeit der „heißen Dialyse“ hat mehrere Verfasser dazu veranlaßt, Dialysierapparate zu entwerfen, die durch verschiedene Konstruktionseigenschaften eine größere Dialysieroberfläche und bessere Durchspülung des Außenraumes ermöglichen. So werden von den *Jenaer Glaswerken*, von den *Annawerken* (Oeslau b. Koburg) sog. „Schnelldialysatoren“ hergestellt, die jedoch für größere Serumlaboratorien — wegen ihrem relativ geringen Inhalt (der Jenaer Apparat faßt 1, der von den Annawerken höchstens 5 l) — keinen Vorteil bieten. Ich habe persönliche Erfahrungen nur mit dem Schnelldialysator der Annawerke, bei dem ich keine größere Dialysiergeschwindigkeit, als die Dialyse in einfachen Säcken aufweist, feststellen konnte (das letzte Stadium des Verlaufes der Dialyse wurde durch Leitfähigkeitsmessungen kontrolliert).

Man kann die Dialyse in Säcken bloß durch einfaches Rühren etwas beschleunigen.

Ist die Dialyse beendet und folgt keine Elektrodialyse oder Elektroultrafiltration, so wird zum Serum so viel festes NaCl hinzugefügt, daß sein Gehalt 0,9% beträgt. Das p_H stellt man mit Hilfe von festem Natriumcarbonat auf 7,4 ein. Die diesbezüglichen Manipulationen werden später ausführlich beschrieben (s. S. 296).

d) Durch Elektrodialyse.

Unter Elektrodialyse versteht man jene Art von Dialyse, in der die zu entfernenden Ionen der Wirkung eines elektrischen Potentialgefälles ausgesetzt sind. In ihrer Wirkung besteht die Elektrodialyse aus Dialyse, Elektrolyse und Elektrophorese. Das Resultat all dieser Vorgänge ist einerseits eine bedeutend beschleunigte Dialyse, andererseits eine so weitgehende Entfernung der ionogenen Bestandteile aus dem Kolloid, wie sie durch die gewöhnliche Dialyse nicht zu erreichen ist. Ob der Elektroendosmose, worunter im allgemeinen das Eindringen des Lösungsmittels durch eine trennende Membran hindurch in eine, sich jenseits der Membran befindende Lösung unter dem Einfluß eines elektrischen Potentialunterschiedes zu verstehen ist, bei der Elektrodialyse eine nennenswerte Bedeutung zukommt, ist sehr fraglich. Die Untersuchungen von HEYMANN sprechen jedenfalls für ihre untergeordnete Rolle.

Wie weit die Elektrodialyse der gewöhnlichen Dialyse überlegen ist, geht aus denjenigen Versuchen HEYMANNs hervor, in denen er zeigen konnte, daß die Entfernung der Elektrolyte aus einem Serum durch Dialyse 42 Stunden

und durch Elektrodialyse bloß 15 Minuten dauerte. Trotz diesem Vorteil und trotz dem Umstand, daß ein elektrisches, in seinem Wesen der Elektrodialyse entsprechendes Verfahren zur Reinigung des Zuckersaftes schon im Jahre 1889 von MAIGROT und SABATES patentiert wurde, begann die wissenschaftliche Bearbeitung der Technik der Elektrodialyse relativ spät, und ihre technische Anwendung in den Serumlaboratorien geht kaum 20 Jahre zurück. Wie bereits erwähnt (s. S. 240), wurde die erste Serumreinigungsmethode mittels Elektrodialyse im Jahre 1919 in Österreich patentiert. Seitdem wurden mehrere elektrodialytische Verfahren in allen Kulturstaaten unter Patentschutz angemeldet. In der Mehrzahl der Fälle wird ein sog. Dreizellenapparat verwendet, also ein Typ, der später PAULI als Modell zu seinem überaus handlichen Elektrodialysiergefäß gedient hat.

Das Prinzip dieser Dreizellenapparate besteht darin, daß die zu dialysierende Substanz bzw. Lösung in ein von beiden Seiten offenes Gefäß gegeben wird, welches durch geeignete Membranen von den an beiden Seiten dieser sog. Mittelzelle angebrachten Seitengefäßen getrennt ist. Die Seitengefäße oder Seitenzellen dienen zur Aufnahme der Elektroden und des Wassers. Als Elektroden kommen entweder Graphit, Kohle oder Platin in Frage, die man sowohl mit dem negativen als auch mit dem positiven Pol der Stromquelle verbinden kann. Da die Elektrode möglichst die gleiche Oberfläche haben soll wie die Membran und Graphit- oder Kohlelektroden immer etwas von ihren Substanzen abgeben, wodurch das Serum gefärbt wird, verwendet man sparsamkeitshalber für die Elektrodialyse der Antikörper (und besonders bei den großen Apparaten) die Kombination von Platin und Silber bzw. von Platin und Messing.

Neben der richtigen Auswahl des Elektrodenmaterials ist für einen guten und ökonomischen Verlauf der Elektrodialyse die Verwendung einer richtigen Membrankombination von ausschlaggebender Bedeutung. Die grundlegenden Untersuchungen von BETHE und TOROPOFF (1, 2) über die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in Elektrolytlösungen, welche sich zwischen zwei Diaphragmen befinden und an die ein elektrisches Potentialgefälle angelegt ist, haben zu der Erkenntnis geführt, daß die Verwendung von zwei Pergamentmembranen nur eine Elektrodialyse mit geringer Stromdichte ($0,2\text{--}0,8\text{ mA/cm}^2$) zuläßt, weil im Falle von stärkerem Strom zwischen den zwei Membranen eine starke Ansäuerung stattfindet. Die gleichen Verfasser sowie später RUPPEL haben erkannt, daß die Ursachen dieser Säurebildung mit der Ladung der Membran zusammenhängt. Besitzt diese nämlich, wie es bei Pergament der Fall ist, negative Ladung, so stößt der Durchtritt der Anionen auf einen größeren Widerstand als der der Kationen, wodurch in dem zwischen den Membranen liegenden Raum ein Überschuß an Säureradikalen, *ceteris paribus* eine Ansäuerung entsteht. Nun sind aber die Eiweißkörper gegen Säuren besonders empfindlich, so daß eine Säuerung ihr irreversibles Ausflocken zur Folge hat, was — in unserem konkreten Fall — wiederum mit einem Verlust an Antikörpern verbunden ist. RUPPEL hat deshalb vorgeschlagen als Anode eine positiv und als Kathode eine negativ geladene Membran zu verwenden. Als positiv geladene Membran hat er chromierte Gelatine, als negativ geladene Pergament benützt.

Außer den Membranen, deren Herstellungsverfahren unter Patentschutz steht (wie z. B. mit Chinon oder polymerisiertem Formaldehyd fixierte Gelatine

oder Ledermembranen), sind als positiv geladene Diaphragmen bekannt: mit Hämoglobin, Serumalbumin oder Ovalbumin imprägniertes Kollodium oder mit Ovalbuminkolloidum durchtränkte natürliche Seide.

Die Herstellung der Chromgelatinemembranen — mit welchen wir keine persönlichen Erfahrungen besitzen — geschieht auf folgende Weise: Ein dünner, reiner Wollstoff oder Seide wird je nach Dichte der zu erzeugenden Membran mit einer von den nachstehenden Lösungen bestrichen. Lösung I enthält 10 g Gelatine, 3 g Ammoniumpyrochromat $[(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7]$ und 5 g Glycerin auf 100 ccm Wasser, Lösung II 18 g Gelatine, 5,4 g Ammoniumpyrochromat und 9 g Glycerin auf 100 ccm Wasser.

Kollodium-Eiweißmembranen erhält man, indem man in Alkohol-Äthergemisch gelöstes Kollodium auf eine Glasplatte ausgießt, 30—40 Minuten trocknen läßt, nachher $\frac{1}{2}$ —1 Stunde unter destilliertem Wasser aufbewahrt und dann 20—40 Stunden in eine 2%ige salzfreie Eiweißlösung (Hämoglobin, BRADFIELD; Serumalbumin, ETTISCH und Mitarbeiter; Ovalbumin) legt. Nachdem der Eiweißüberschuß von der Membran durch Abwaschen entfernt ist, ist dieselbe gebrauchsfertig. In Laboratoriumversuchen, d. h. in kleinen Apparaten, haben sich solche Membranen sehr gut bewährt. Für industrielle Zwecke eignen sie sich — wegen ihrer Zerreißbarkeit — jedoch nicht. Man kann die Festigkeit der Kolloidmembran dadurch wesentlich erhöhen, daß man mit dem Kollodium ein „Gerüst“ (z. B. Seide, Wolle, Leinen) durchtränkt.

Obgleich zwischen der Elektrodialyse von kleinen Eiweißmengen für wissenschaftliche Untersuchungen und der von großen Quantitäten für industrielle Zwecke keine grundsätzlichen Unterschiede bestehen, sind nicht alle diejenigen Apparate und Vorschriften, welche sich für Laboratoriumszwecke, d. h. für das Arbeiten mit kleinen Mengen, bewährt haben bzw. angegeben sind, ohne weiteres für die Elektrodialyse von Heilserum in großen Mengen anwendbar. Aus dem Grund soll diese Reinigungsmethode, so wie wir sie Jahre hindurch im Instituto Butantan angewandt haben und zur Zeit im Instituto Pinheiros anwenden, im folgenden ausführlich beschrieben werden.

Als Apparate benutzen wir gegenwärtig die großen PAULISCHEN Dreizellen-elektrodialysatoren mit 20, 10 oder 5 l Mittelzelleninhalt von der Firma *Fritz Köhler* in Leipzig. Diese Apparate sind sehr handlich, das Abmontieren, Reinigen und Zusammenstellen ist sehr einfach und bequem. Im Instituto Butantan wurde ein ähnlicher, jedoch bei der Firma *Vidraría Sarpi & Falcão* hier angefertigter Elektrodialysator von 5 l Nutzinhalt, welcher mit einer Platinnetz- und einer durchlöchernten Silberplattenelektrode versehen war, verwendet. Die Handhabung dieses Apparates war etwas schwierig, und infolge der schmalen Flanschflächen konnte man dazu keine positive Membran nehmen. Die KÖHLERschen Apparate besitzen als Anode eine Platin-, als Kathode eine Messingnetzelektrode.

Da das ständige Rühren des Mittelzelleninhaltes die Entfernung der Elektrolyte wesentlich beschleunigt, außerdem einem Erwärmen in der Nähe der Elektroden entgegenwirkt, sind die Apparate bei uns mit Rührwerk ausgestattet. Es ist weiter sehr wichtig, die Stromstärke kontrollieren zu können, was durch ein mit den entsprechenden Meßinstrumenten versehenes Schaltbrett leicht erreicht wird. Man kennt die Elektrodenoberflächen, so daß die Feststellung der zulässigen Stromstärke, die nicht überstiegen werden soll, kein Problem ist. Mit

der von uns gegenwärtig benützten, aus vier Apparaten bestehenden Anordnung kann man gleichzeitig 60 l Serum elektrodialytisch reinigen.

Als Membran verwenden wir entweder beiderseits Pergament, und zwar immer zwei Membranen bei jeder Elektrode, damit der Gefahr eines Durchreißen vorgebeugt wird, oder eine Kollodium-Ovalbuminmembran auf der Seite der Anode und Pergament auf der der Kathode. Die Bereitung der ersteren geschieht derart, daß man zunächst eine 4%ige Äther-Alkohol-Kollodiumlösung mit feingemahlenem Eialbumin (entweder das MERCKsche Präparat oder im Laboratorium durch Fällung mittels Ammoniumsulfats, darauffolgende Dialyse und Alkoholfällung bereitet) in einer Reibschale zu einer Suspension verrührt. Als „Gerüst“ benütze ich Rohseide, von der eine dem Dialysierapparat entsprechende Form ausgeschnitten und — um eine Schrumpfung zu verhindern — in einen Rahmen (Stickrahmen) eingespannt wird. Die auf diese Weise glatte Membran wird in die Eiweiß-Kollodiumsuspension getaucht. Ist die Membran mit der Kollodiumlösung vollkommen getränkt, so wird sie in Wasser gehärtet und so lange gewaschen, bis man keinen Äthergeruch mehr spürt. Jetzt nimmt man sie aus dem Rahmen und — falls sie nicht sofort gebraucht wird — bewahrt man sie in Wasser, zu welchem zwecks Konservierung etwas Chloroform oder Toluol gegeben wird, auf.

Bevor man die Membran in den Apparat einspannt, schmiert man etwas reine Vaseline (Vaselinum amer. alb.) auf die geschliffenen Flanschen sowohl der Mittel- als auch der Seitenzellen. Ist der Apparat zusammengestellt, so ist es — besonders für Anfänger — ratsam, sich davon zu überzeugen, daß bei den Membranen kein Wasser durchsickert. Ist das der Fall, so schraubt man die Zellen fester zusammen.

Das Füllen des Apparates erfordert etwas Vorsicht, da es sonst leicht passieren kann, daß die große Flüssigkeitsmenge die Membran durchreißt. Es empfiehlt sich daher, langsam und — mit Hilfe eines Assistenten — alle drei Zellen möglichst gleichzeitig zu füllen. Das Flüssigkeitsniveau soll in allen Zellen gleich hoch sein.

Benützt man positiv und negativ geladene Membranen, so ist das Stadium der Vordialyse nicht besonders wichtig. Gewöhnlich kann man sich mit einer viertägigen Vordialyse (am letzten Tag gegen destilliertes Wasser) begnügen. Will man zwischen zwei Pergamentmembranen elektrodialysieren, so muß der Salzgehalt des Serums aus den schon gesagten Gründen genau kontrolliert werden. In meiner Abteilung wird der Reinheitsgrad durch die Feststellung der spezifischen Leitfähigkeit des Serums ermittelt. Die Tatsache, daß die Eiweißkörper sehr schlechte Leiter sind (s. S. 249), macht die Anwendung dieser Methode sehr praktisch. Findet man nämlich ein höheres Leitvermögen (von der Größenanordnung $10 \cdot 10^{-5}$ r. O.) so ist dasselbe von den noch vorhandenen anorganischen Ionen verursacht.

Da eine spezifische Leitfähigkeit unterhalb der Größenordnung von $1-2 \cdot 10^{-5}$ r. O. mit der gewöhnlichen, von KOHLRAUSCH angegebenen Methode nicht mehr mit Genauigkeit zu messen ist, soll man sich einer Verstärkungsanordnung bedienen. Die entsprechenden Hand- und Lehrbücher sowie Praktika geben verschiedene Systeme für die Bestimmung des Leitvermögens von schlechten Leitern zweiter Ordnung an, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann.

An dieser Stelle möchten wir nur das Schaltungsschema derjenigen, von ARRUDA, v. KLOBUSITZKY und KÖNIG ausgearbeiteten Anordnung wiedergeben, die wir benutzen. Bei dieser Anordnung wird statt durch ein Induktorium erzeugten Stroms durch Röhren transformierter Akkumulatorenstrom verwendet und das Tonminimum des Telephons durch ein Verstärkersystem genügend scharf (bei einer spezifischer Leitfähigkeit von $1 \cdot 10^{-7}$ r. O. 5—6 mm Intervall an der nach dem Prinzip von KOHLRAUSCH gearbeiteten Walzenmeßbrücke) und gut heraushörbar gemacht (s. Abb. 7).

Gleichfalls sehr empfindliche Anordnungen, die auf ähnlichem Prinzip beruhen und relativ billig sind, hat vor kurzer Zeit GRALLERT beschrieben.

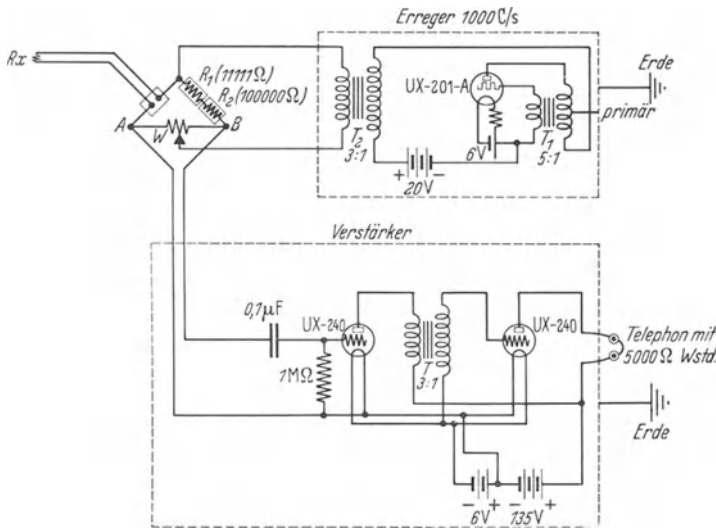


Abb. 7. Schaltungsschema einer Anordnung zur Messung der Leitfähigkeit von schlechtleitenden Flüssigkeiten nach dem Prinzip des Schwingrohrtongenerators und Röhrenverstärkers. Die mit unterbrochenen Linien markierten Vierecke bedeuten je ein mit der Erde verbundenes Metallgehäuse. (Nach ARRUDA, v. KLOBUSITZKY und KÖNIG.)

Was die Ausführung der Leitfähigkeitsmessung anbelangt, sei auf die entsprechenden Kapitel der zahlreich vorhandenen guten Praktika hingewiesen.

Ist durch die Bestimmung des Leitvermögens festgestellt worden, daß das Serum genügend vordialysiert ist, so kann man mit der Elektrodialyse beginnen. Man betrachtet als ausreichende Vordialyse bei der Benützung von zwei Pergamentmembranen, wenn die spezifische Leitfähigkeit auf eine Größenordnung von 10^{-4} r. O. (etwa $2-3 \cdot 10^{-4}$) gesunken ist, bei der von einer positiven und einer negativen Membran, wenn jene eine Größenordnung von 10^{-3} erreicht hat.

Das Wasserwechseln (es darf selbstverständlich nur destilliertes Wasser benutzt werden) geschieht entweder durch Ablassen und frisches Einfüllen des Gesamthaltendes in den Seitenzellen oder durch einen ständigen, wenn auch schwachen Zufluß aus einem großen (pro Apparat mindestens 50 l fassenden) Behälter. Wir verfahren gewöhnlich so, besonders wenn das Serum noch viel Elektrolyte enthält, daß wir 1—1½ Stunden nach dem Beginn das Wasser ganz erneuern, und erst jetzt schalten wir die Zuflußanordnung ein. Ob wirklich Strom durchgeht, zeigt das Ampèremeter an. Hat man kein Meßinstrument,

so nimmt man einfach eine Probelampe und berührt mit ihren zwei Drähten die Klemmen des Elektrodialysierapparates, falls Strom durchgeht, muß die Lampe aufglühen.

Als Strom sollte man, wenn möglich, solchen von mindestens 250 V Spannung verwenden, den man durch einen geeigneten Transformator aus dem städtischen Netz gewinnt. Sparsamkeitshalber kann man sich auch mit einem Strom von 110 V Spannung, der mittels eines Gleichrichters mit geringen Spesen erzeugt werden kann, begnügen.

Während der Elektrodialyse sollen Stromstärke und Niederschlagbildung ständig kontrolliert werden. Als maximal zulässige Stromstärke gelten bei der Verwendung von positiv und negativ geladenen Membranen 50, bei der von zwei Pergamentmembranen 0,8 mA pro Quadratcentimeter der Elektrodenoberfläche. Verläuft die Elektrodialyse richtig, so wird das Serum bald trüb, und mit der Zeit erscheinen feine Flocken darin. Ist eine Ansäuerung im Gange, so scheidet sich an den Membranen, hauptsächlich an der anodischen Diaphragma eine gallertige Masse aus. Der feinflockige Niederschlag besteht aus echtem, d. h. wasserunlöslichem Euglobulin, und dieser Vorgang beeinflußt den Antikörpergehalt praktisch nicht, dagegen ist der in den Membranen ausgeschiedene Niederschlag seiner Hauptmasse nach Pseudoglobulin, welches auch Antikörper mitreißt.

Das Ende der Elektrodialyse wird durch das Konstantbleiben der Stromstärke angezeigt. Hat man sie erreicht, so nimmt man eine Probe heraus, bestimmt darin die Leitfähigkeit, die jetzt von der Größenordnung 10^{-5} r. O. sein wird.

Da sich der Euglobulinniederschlag gewöhnlich schlecht filtrieren läßt, ist es besser, das Wasser aus den Seitenzellen abzulassen (damit keine Verdünnung eintreten kann) und den Apparat nachtsüber zusammengestellt an Ort und Stelle zu lassen. Am nächsten Tag befindet sich der Niederschlag am Boden, und man hebt das klare Serum ab. Sollte das nicht quantitativ gelingen, so muß die letzte Portion abfiltriert werden.

Um den ganzen Vorgang richtig vor Augen zu führen, gebe ich nachstehend einige meiner Versuchsprotokolle auszugsweise wieder.

a) Bothrops-Antiserum.

Beginn der Elektrodialyse. Volumen: 3960 ccm. Spezifische Leitfähigkeit: $7,4 \cdot 10^{-4}$. Titer: 1,2 mg/ccm. Membran: Beiderseits Pergament. Strom: 60 V 0,2 mA/cm². Rührwerk in Tätigkeit.

Ende der Elektrodialyse: Nach 52 Stunden. — Volumen: 3550 ccm. Spezifische Leitfähigkeit: $3,25 \cdot 10^{-5}$ r. O. Titer: 1,3 mg/ccm. Strom: 130 V, 0,01 mA/cm².

Der Niederschlag wird in 250 ccm physiologischer NaCl-Lösung gelöst. Titer des Euglobulins: 0,3, 0,4 mg/ccm. Titer des Serums: 1,3 mg/ccm. — Verlust: 1,6%.

b) Diphtherieserum.

Beginn der Elektrodialyse. Volumen 6540 ccm. Spezifische Leitfähigkeit: $5,1 \cdot 10^{-3}$ r. O. Titer: 1050 Einheiten/Kubikcentimeter. Membran: Anodisch — Kollodium-Eieralbumin, kathodisch — Pergament. Strom: 60 V, 10 mA/cm².

Ende der Elektrodialyse: Nach 14 Stunden. — Volumen: 6220 ccm. Spezifische Leitfähigkeit: $4,60 \cdot 10^{-5}$ r. O. — Strom: 110 V, 0,012 mA/cm².

Der Niederschlag wird in 200 ccm physiologischer NaCl-Lösung gelöst. Titer des Euglobulins: 200—250 Einheiten/Kubikcentimeter, insgesamt 45000 Einheiten. Titer des Serums: 1100—1150 Einheiten/Kubikcentimeter, insgesamt 6842000 Einheiten. — Verlust: Ungefähr 0,35%.

Nach einem anderen Prinzip, mit dem ich jedoch keine eigenen Erfahrungen besitze, wird das Serum entweder ausschließlich durch Elektrodialyse fraktioniert, oder man trennt das Euglobulin vom Pseudoglobulin durch Aussalzen mittels Ammoniumsulfat, und nur das Separieren des Pseudoglobulins vom Albumin wird auf elektrolytischem Weg durchgeführt.

Zu diesem Zweck bedient man sich eines Vierzellenapparates. Diese Elektrodialysatoren unterscheiden sich von den allgemein verbreiteten Dreikammertypen dadurch, daß sie zwei, voneinander durch ein Diaphragma getrennte Mittelzellen haben, wodurch ein anodischer und ein kathodischer Mittelraum gebildet werden. Als Diaphragma wählt man solche Membranen, welche so weit dicht sind, daß die Eiweißkörper — beim gewöhnlichen Druck — dieselben nicht passieren. Als solche kommen in Frage z. B. *Schleicher-Schüllsches* Filterpapier Nr. 602, Jenaer Glasfilter G 5, *Haldenwangerscher* Porzellanfilter D, *ZSIGMONDYSche* Membranfilter mit einer mittleren Porenweite von $1,5 \mu$ usw. Das Schema des Apparates zeigt Abb. 8.

Der Arbeitsgang bei ausschließlicher Elektrodialyse vollzieht sich folgenderweise:

Das Serum wird in einem Dreizellenapparat so lange elektrodialysiert, bis das Euglobulin ausfällt. Der Niederschlag wird am besten durch Abzentrifugieren von den übrigen Eiweißkörpern getrennt. Dieser Serumanteil, welcher praktisch elektrolytfrei ist und aus Antikörpern, Pseudoglobulin und Serumalbumin besteht, wird jetzt in den kathodischen Mittelraum eines Vierzellenapparates gegeben, schwach alkalisch gemacht und der Wirkung des Stromes ausgesetzt. Das Albumin geht in die anodische Mittelzelle hinüber, aus der es von Zeit zu Zeit entfernt wird. Ist das Gesamtalbumin hinübergewandert, wovon man sich durch irgendeine Eiweißprobe überzeugt (das Wasser in der anodischen Mittelzelle darf keine positive Eiweißreaktion geben), so bleiben in der kathodischen Mittelzelle nur noch das Pseudoglobulin und die Antikörper zurück.

Die Spannung und Stromstärke variieren nach dem Elektrolytgehalt des Serums, so daß man am Anfang des Prozesses einen Strom von verhältnismäßig geringer Spannung und hoher Stromstärke, am Ende der Reinigung dagegen einen solchen von hoher Spannung und sehr geringer Stromstärke erhält. Nach dem schon erwähnten österreichischen Patent (Nr. 83398) soll zu Beginn des Vorganges die Spannung ungefähr 20 V, die Stromstärke 1,5 A betragen (die Oberfläche der Elektroden ist nicht angegeben). Man kann den Prozeß für beendet betrachten, wenn die Spannung 500 V erreicht hat und die Stromstärke auf 0,1—0,2 A gesunken ist.

Wird das Euglobulin durch Ammoniumsulfat gefällt, so muß das pseudoglobulin- und albuminhaltige Filtrat vordialysiert werden.

Der Verlust an Antikörpern beträgt nach ORNSTEIN (2) durchschnittlich 20% und befindet sich in dem Euglobulinniederschlag, aus dem er — wiederum durch Elektrodialyse — freigemacht und aufs Pseudoglobulin übertragen werden kann.

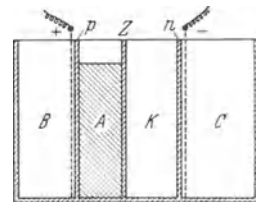


Abb. 8. Schema eines Vierzellen-Elektrodialysators.
Z Zwischendiaphragma,
B Anodenraum, A anodischer Mittelraum (mit Serum gefüllt),
K kathodischer Mittelraum,
C Kathodenraum, p positive, n negative Dialysiermembran.
(Nach REITSTÖTTER-
PRAUSNITZ.)

Das Wiedergewinnen der am Euglobulin haftenden Antikörper beruht auf der empirischen Tatsache, daß dieselben auf das Pseudoglobulin übergehen, wenn man das Euglobulin in dieser Fraktion auflöst und wieder ausfällt. Die Fällung des Euglobulins wird vorzugsweise durch Elektrodialyse durchgeführt.

Nach der Beschreibung des oben erwähnten Patentes verwendet man zur Aufnahme der mit dem Euglobulin ausgefallenen Antikörper am zweckmäßigsten eine 5%ige Pseudoglobulinlösung. Um die Löslichkeit des Euglobulins zu erhöhen, fügt man dem Pseudoglobulin so viel Kochsalz bei, bis es davon 0,4% bis 0,5% enthält. In diese Lösung trägt man den Euglobulinniederschlag in feuchtem Zustand ein, und zwar so viel, daß das Gemisch die zwei Globulinarten in gleicher Menge enthält. Nach 1-tägigem Stehen bei niedrigerer Temperatur wird das Gemisch in einem Dreizellenapparat bis zur vollkommenen Ausscheidung des Euglobulins dialysiert. Dadurch, daß das Euglobulin quantitativ ausfällt, ändert sich der Eiweißgehalt der Pseudoglobulinlösung nicht, nur ihr Antitoxintiter wird durch den Vorgang erhöht.

Auf gleiche Weise kann man die Antikörper aus einer bestimmten Blutart auf die Proteine einer anderen Blutart übertragen, z. B. aus Pferdeserum auf menschliches Pseudoglobulin (entweder aus Blut oder aus Ascitesflüssigkeit hergestellt).

c) Durch Elektroultrafiltration.

Elektroultrafiltration ist ein Reinigungs- und Konzentrationsverfahren für Kolloide, bei dem die Elektrodialyse mit Druckunterschied, also mit Ultrafiltration kombiniert ist.

Der Ausdruck Elektroultrafiltration sowie Form und Prinzip der heute allgemein verbreiteten Apparate stammen von BECHHOLD und ROSENBERG, obgleich Arbeitsweisen, in denen die Elektroosmose bzw. die Elektrodialyse durch Druckdifferenzen beschleunigt werden sollten, schon viel früher bekannt bzw. patentiert waren. So wurde z. B. in Deutschland im Jahre 1902 auf Ersuchen der Firma *Möller und Pfeifer* einer Vorrichtung zum Entwässern feuchter Stoffe durch gleichzeitige Anwendung von Elektroosmose und Pressung der Patentschutz erteilt (D.R.P. Nr. 154114). Auch unter den Patentanmeldungen des Grafen BOTHO-SCHWERIN befinden sich mehrere, die als Elektroultrafiltrationsmethoden aufgefaßt werden können.

Die BECHHOLDSche Anordnung wird hauptsächlich in zwei Ausführungen verwendet. Für kleine Mengen benützt man die Kombination einer Schale mit Kölbchen, beide aus Porzellan angefertigt. In die, am Boden unglasierte Porzellanschale, deren Seitenwand durch ein Spezialverfahren eine dünne Platinschicht aufgebrannt ist, taucht das gleichfalls mit unglasiertem Boden versehene Kölbchen hinein. Als Membran schreibt BECHHOLD sowohl für Anoden- (Schale) als auch für die Kathodenseite (Kölbchen) 7% Eisessig-Kollodiumlösung vor, obgleich — worauf später hingewiesen wird — eine Membrankombination vorteilhafter wäre.

Die Ultrafiltration wird bei dieser Anordnung durch Saugen in zwei Richtungen mittels einer Vakuumpumpe erreicht. Aus dem Kathodenraum wird nun durch ein gebogenes Glasrohr gesaugt, aus dem Anodenraum durch eine KITASATO-Flsche (Saugflasche), in der ein zu der Schale angepaßter Porzellantrichter vakuumdicht befestigt ist.

Für größere Flüssigkeitsmengen hat BECHHOLD besondere Filterkörper, sog. Elektro-Nierenfilter konstruiert, die — wie alle BECHHOLD-KÖNIGSchen Ultrafilter- und Elektroultrafiltergeräte — von der *Staatlichen Porzellanmanufaktur* (Berlin) zu beziehen sind.

Der Arbeitsgang mit den „Nieren-Elektroultrafiltern“ gestaltet sich folgenderweise: Die zu reinigende Flüssigkeit, z. B. verdünntes Serum, wird in einen entsprechend großen, glasierten Porzellanbehälter mit angebranntem Platinkontakt gegeben, die einzelnen „Nieren-Ultrafilter“, die auch mit Platinkontakt versehen und mit der oben erwähnten Kollodiummembran überzogen sind, werden in passenden, auf ein Stativ montierten Klemmen derart befestigt, daß sie tief in die Flüssigkeit hineintauchen. In jeden „Nieren-Ultrafilter“ kommt ein gebogenes Glasrohr, welches mit der Vakuumanlage verbunden ist. Man schaltet die Anode zum Außenbehälter und die Kathode zu den „Nieren-Ultrafiltern“. Für ständiges Rühren im Anodenraum muß gesorgt werden.

Im Gegensatz zum BECHHOLDSchen Prinzip, bei dem die Ultrafiltration durch negativen Druck erreicht wird, arbeitet das Verfahren von REITSTÖTTER und LASCH mit positivem Druck.

Der in der Abb. 9 abgebildete Apparat besteht aus einem Gefäß (*G*), welches durch zwei Diaphragmen (*D*₁, *D*₂) in der Art eines Dreizellenelektrodialysators eingeteilt ist. Hinter den Diaphragmen befinden sich die Elektroden, und zwar in dem Kathodenraum (*KR*) ein Messing- (*K*), in dem Anodenraum (*AR*) ein Platindrahtnetz (*A*). Oberhalb des Mittelraumes (*MR*) ist der Rezipient (*R*) befestigt, der ungefähr das fünffache Volumen des Mittelraumes haben muß. Rezipient und Mittelraum sind miteinander durch ein Rohrsystem verbunden. Das eine Rohr (*FL*) dient zur Leitung der Flüssigkeit, das andere (*NL*) zur selbsttätigen Regelung des Luftausgleiches. Die Lage der Röhre ist aus der Abbildung klar ersichtlich. Das Niveaurrohr hat einen Hahn (*H*), der während der Betriebsdauer geöffnet bleiben muß. Die Mittelzelle sowie der Rezipient werden mit der kolloidalen Lösung, die beiden Seitenräume mit destilliertem Wasser gefüllt. Als anodische Membran verwendeten diese Autoren Chromgelatine, als kathodische nach DE HAËN präpariertes Membransilber.

Auf das Prinzip der BECHHOLDSchen Anordnung basiert sich der im Jahre 1932 konstruierte Apparat von v. KLOBUSITZKY (5), der speziell für Serumkonzentration gedacht ist. Den zusammengestellten Apparat gibt die Abb. 10 wieder, die Einzelheiten seien im folgenden kurz erwähnt:

Der 5—6 l fassende, am Boden unglasierte Porzellanrezipient dient zur Aufnahme des Serums. Dieses Gefäß ist innen mit einem entsprechend gefalteten Pergamentsack verkleidet¹, der durch einen, aus Glasstäben gearbeiteten Korb an der Wand des Rezipienten festgehalten wird. Die als Kathode dienende Silberplattenelektrode (Silberdrahtnetz konnte man hier nicht bekommen) ist mittels eines Hartgummiringes an der Außenwand des Bodens befestigt. Das Ultrafiltergefäß ist gleichfalls aus Porzellan gearbeitet und hat einen unglasierten Boden, der von außen mit einer Äther-Alkohol-Kollodiumschicht

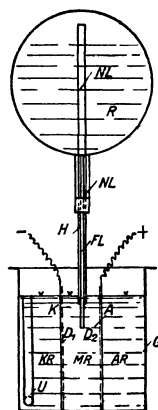


Abb. 9.
Elektroultrafilter.
(Nach REITSTÖTTER-
LASCH.)

¹ Die Photographie gibt den ersten Typ wieder, bei welchem der Pergamentsack an der Außenseite des Rezipienten angebracht war. Diese Anordnung hat den Nachteil, daß der Boden des Serumbehälters relativ viel Serum aufsoß, wodurch vermeidliche Verluste entstanden.

überzogen werden muß. Der Hals dieses Gefäßes wird mit einem doppelt durchbohrten Gummistöpsel luftdicht verschlossen. Die eine Bohrung dient zur Durchführung der Anode, welche aus einem gefederten Platindrahtnetz besteht. Durch die Federung läßt sich die Elektrode bis dicht zum Boden drücken. Die zweite Bohrung dient zur Aufnahme des Saugrohres, welches wiederum mit der Vakuumpumpe verbunden ist. Die ganze Apparatur hängt in einem 15—18 l fassenden, mit destilliertem Wasser gefüllten Gefäß. Es werden sowohl das Serum als auch das Außenwasser gerührt.

Bei der Elektroultrafiltration sind die Beobachtung und Kontrolle der Stromstärke sowie der häufige Wasserwechsel und die Vermeidung eines Erwärmens —

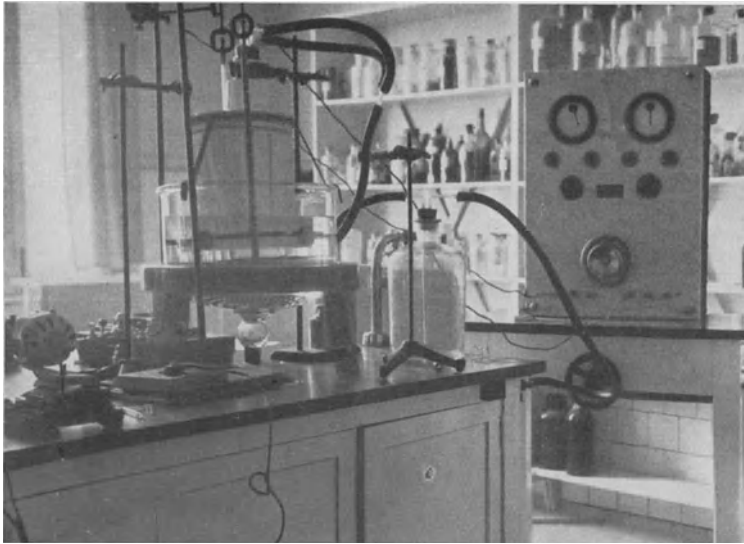


Abb. 10. Elektroultrafilter mit 5 l Inhalt nach v. KLOBUSITZKY.

eben weil diese Methode eine erhöhte Wasserentziehungskraft ausüben vermag — noch wichtiger als bei der einfachen Elektrodialyse.

Ich habe öfters die Gelegenheit gehabt, verschiedene Sera (Diphtherie-, Tetanus- und Schlangengiftimmunsera) durch Elektroultrafiltration zu konzentrieren, wobei ich mich stets des oben erwähnten Apparates bediente. Durch diese Arbeiten konnte ich feststellen, daß sich die — durch einmalige Fällung gewonnenen — Tetanussera für dieses Verfahren weniger eignen als für die Elektrodialyse, weil sie während der Elektroultrafiltration viel leichter eine teilweise Denaturierung erleiden als im Verlaufe der einfachen Elektrodialyse. Die Empfindlichkeit eines Serums dem elektrischen Strom gegenüber ist sozusagen linear von seinem Gehalt an Euglobulin abhängig. Bei der Elektroultrafiltration vollzieht sich die Entfernung der Elektrolyte, infolgedessen auch die Ausscheidung des Euglobulins viel zu rasch und — wenn nicht genügend Vorsicht beobachtet wird — so geht ein Teil desselben in denaturierten Zustand über. Von dem Denaturierungsprozeß wird aber auch ein Teil des Pseudoglobulins erfaßt, und die ausgefallene Portion reißt wiederum einen Teil der Antikörper mit sich. Der auf diese Weise entstandene Verlust ist sehr unregel-

mäßig, unter Umständen kann er sehr beträchtlich sein. Wir notierten einen Versuch, welcher fast 80% Verlust ergab.

In bezug auf Diphtherie- und Schlangensera konnte ich im Vergleich zu der einfachen Elektrodialyse keinen Unterschied finden. Die Arbeitsweise ist aus den oben angeführten Gründen etwas schwieriger, auch muß die Anodenzelle öfters gewechselt werden. Die Oberfläche der Anodenmembran ist nämlich relativ klein, ein Umstand welcher die baldige Verstopfung der Kollodiumschicht und ein dadurch bedingtes Aufhören der Ultrafiltration mit sich bringt.

Die von mir befolgte Arbeitsweise läßt sich am besten durch die Beschreibung eines Versuches wiedergeben.

Diphtherieserum. $p_H = 8,3$. Volumen: 9860 ccm. Titer pro Kubikzentimeter = 300 Einheiten.

Fällung: 9860 ccm Serum + 4930 ccm H_2O + 14790 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung. — *Dialyse:* 8 Tage hindurch. — Volumen bei Abbruch der Dialyse: 6500 ccm.

Elektroultrafiltration: 36 Stunden. — Volumen: 2720 ccm. Spezifische Leitfähigkeit: $2,76 \cdot 10^{-4}$ r.O. Titer: 1000—1050 Einheiten/Kubikzentimeter (theoretischer Wert: 1090 Einheiten/Kubikzentimeter). — Verlust an Antikörpern (1000 Einheiten/Kubikzentimeter berechnet): 8,1%.

Vor dem Abschluß dieses Teiles soll nochmals betont werden, daß derart günstige Resultate nur dann zu erreichen sind, wenn das Serum genügend vordialysiert war und die anodische Membran bzw. das Anodengefäß häufig gewechselt wurde. Da besonders die letzte Bedingung in großen Laboratorien nicht so einfach zu erfüllen ist, habe ich diese Methode nur dann angewandt, wenn es sich um Sera mit sehr niederen Titern handelte.

VII. Die Konzentration durch Elektrodekantierung.

PAULI und seine Mitarbeiter (s. BLANK-VALKÓ) haben seit dem Jahre 1923 öfters darüber berichtet, daß während der Elektrodialyse verschiedener Kolloide (Serum- und Eieralbumin, Pseudoglobulin, Hämoglobin, Stärke usw.) in dem Dreizellenapparat bei horizontaler Stromrichtung die in der Mittelzelle befindliche Lösung sich in zwei übereinanderliegende Flüssigkeiten trennt. Die beiden Schichten grenzen mit einer scharfen Trennungsfäche aneinander. Diese Erscheinung, die wir heute als PAULISCHES Schichtungsphänomen bezeichnen, tritt nur dann auf, wenn die kolloide Lösung noch Elektrolyte enthält und unter Strom steht. Die im PAULISCHEN Institut gesammelten Beobachtungen zeigten, daß die obere Schicht sehr kolloidarm, unter Umständen sogar kolloidfrei ist, dagegen in der unteren Schicht der Gehalt an der nichtdialysablen Substanz entsprechend steigt. Diese Erscheinung ist die Folge eines elektrischen Kolloidtransportes, die auch ohne Membran stattfindet. Die Kolloidionen werden gemäß ihrer Ladung in die Nähe der Elektroden von den beiden oder von der einen weggeführt, und die entstehende kolloidarme bzw. kolloidfreie Flüssigkeit (also das Lösungsmittel) steigt infolge ihres niederen spezifischen Gewichtes

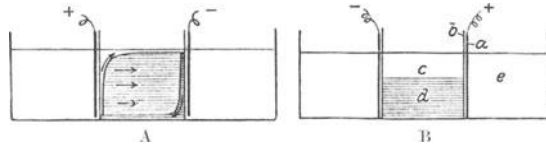


Abb. 11. A Schema des Zustandekommens des PAULISCHEN Schichtungsphänomens in einem Dreikammerapparat. (Die an den Membranen auf- bzw. absteigenden Flüssigkeitsschichten sind in der Wirklichkeit unendlich dünn.) B Die zwei Schichten nach erfolgter Schichtung (schematisch). a Elektrode, b Membran, c obere (kolloidfreie) Schicht, d untere (kolloidreiche) Schicht, e Außenflüssigkeit. (Nach BLANK-VALKÓ.)

(also das Lösungsmittel) steigt infolge ihres niederen spezifischen Gewichtes

kontinuierlich an die Oberfläche (Abb. 11). Das Schichtungsphänomen wird also von den Gesetzen der Elektrophorese und Hydrostatik beherrscht.

Für unseren Fall ist diese Erscheinung insofern wichtig, als sie für die Konzentration der Antikörper ausgenützt werden kann, indem man die obere, eiweiß- und antikörperfreie Schicht abhebert, für Salzzusatz und Stromdurchgang sorgt und den Prozeß öfters wiederholt. Diese Art des Einengens nennt sich Elektrodekantierung.

In der Praxis elektrodekantiert man auf die Weise, daß man das Rührwerk, sobald ein genügender Elektrolytabtransport errichtet ist (bei einer spezifischen Leitfähigkeit von ungefähr $2 \cdot 10^{-4}$ r. O.), ausschaltet und 2—3 Stunden später die obere, wasserklare Flüssigkeit abhebert. Um eine nochmalige Dekantierung zu ermöglichen, fügt man dem Inhalt der Mittelzelle pro Liter einen Tropfen einer gesättigten Kaliumsulfatlösung hinzu, rührt das Serum gut durch und läßt den Strom weiter wirken. Auf diese Weise lassen sich 4—5malige Dekantierungen vornehmen, und man kann 20—30% des fast antikörperfreien Lösungsmittels entfernen. Meinen Erfahrungen nach übersteigt der Verlust an Antikörpern bei vorsichtig durchgeführter Manipulation niemals 10%.

Der praktische Wert der Ausnützung des Schichtungsphänomens soll an einigen Beispielen vor Augen geführt werden.

Diphtheriesera.

Vor der Elektrodekantierung.

Volumen: 5000 ccm. Titer: $> 1000 < 1100$ Einheiten/Kubikzentimeter.

Nach der Elektrodekantierung.

Volumen: 3500 ccm. Titer des Dekantates: $> 30 < 50$ Einheiten/Kubikzentimeter.

Verlust: 1,1%.

Vor der Elektrodekantierung.

Volumen: 3850 ccm. Titer: $> 850 < 900$ Einheiten/Kubikzentimeter.

Nach der Elektrodekantierung.

Volumen: 2910 ccm. Titer des Dekantates: $> 30 < 50$ Einheiten/Kubikzentimeter.

Verlust: 1,1%.

Bothrops-Antiserum.

Vor der Elektrodekantierung.

Volumen: 3060 ccm. Titer: 1,4 mg/ccm.

Nach der Elektrodekantierung.

Volumen: 2000 ccm. Titer des Dekantates: 0,08 mg/ccm.

Verlust: 2,0%.

Crotalus-Antiserum.

Vor der Elektrodekantierung.

Volumen: 2350 ccm. Titer: 0,75 mg/ccm.

Nach der Elektrodekantierung.

Volumen: 1460 ccm. Titer des Dekantates: 0,08 mg/ccm.

Verlust: 4,0%.

VIII. Konzentration durch Ultrafiltration, Evaporation oder Vakuumdestillation. Herstellung von Trockensera.

Die Elektrodialyse und Elektrodekantation sind Methoden, die gegenwärtig nur in wenig Seruminstiuten für die Herstellung von konzentrierten Immunsera herangezogen werden. Die Mehrzahl begnügt sich mit der gewöhnlichen Dialyse, welche nicht ohne unangenehme Nachteile ist, die sich besonders dann fühlbar machen, wenn die Masse viel wasserunlösliches Protein enthält. In diesem Falle muß man die Dialyse entweder frühzeitig abbrechen und bekommt als

Endprodukt ein trübes Serum, welches zur Niederschlagsbildung neigt und sich schlecht filtrieren läßt, oder es erreicht das Serum infolge übermäßiger Verdünnung den gewünschten Antitoxintiter nicht. In allen diesen Fällen läßt sich der Titer des Serums durch Einengen aufbessern. Selbstverständlich kann man keine von den hier behandelten Methoden — ebensowenig wie die Elektrodekantierung — als Reinigung betrachten, da sie in gleichem Maße den Eiweiß- und den Antikörpergehalt erhöhen. Zu diesem Zweck bedient man sich eines der folgenden Verfahren: Ultrafiltration, Evaporation oder Vakuumdestillation.

Das Wesen der Ultrafiltration besteht darin, daß man die kolloidale Lösung durch eine solche Membran filtriert, die für das Kolloid, welches man einengen will, undurchlässig ist. Bei gewöhnlichem Druck ist die Filtergeschwindigkeit durch solche engporige Membranen praktisch gleich Null, und aus diesem Grunde ist es notwendig, auf beiden Seiten des Filters einen Druckunterschied herzustellen. Dies kann geschehen entweder dadurch, daß man unterhalb der Membran Vakuum, oder in der Weise, daß man oberhalb derselben Druck ausübt. Die Arbeitsweise mit Vakuum ist viel bequemer und billiger, weil sie keine teure Apparatur erfordert und daher viel verbreiteter als die Ultrafiltration mittels Druck ist.

Zur Durchführung der Vakuumultrafiltration sind besondere, am Boden unglasierte Porzellangefäße und gutglasierte Porzellantrichter notwendig. Die besten sind die BECHHOLD-KÖNIGSchen Geräte, welche — gleich den Elektroultrafiltergeräten — von der *Staatl. Porzellanmanufaktur* hergestellt werden. Die üblichen Typen sind jedoch für industrielle Zwecke zu klein, die Fabrik liefert deshalb auf Bestellung jede gewünschte Größe. An meiner früheren Abteilung im Instituto Butantan wurden solche Schalen von 1,5 l Inhalt verwendet. Die Ultrafiltermembran stellt man — auf Grund der im BECHHOLDschen Institut gewonnenen Ergebnisse — aus einer 2,5%igen kaliumcarbonathaltigen 10%igen Eisessig-Kollodiumlösung her. Die Herstellung derselben sowie der Membran geschieht folgenderweise:

200 g Kollodiumwolle werden in einer breithalsigen Flasche mit Eisessig (*Acidum aceticum glaciale, purissimum*) auf 2 l aufgegossen. Nachdem sich die Kollodiumwolle vollkommen gelöst hat, was in 8—12 Tagen erfolgt, fügt man unter Rühren 50 g wasserfreies Kaliumcarbonat hinzu. Ist das Carbonat in Lösung gegangen und hat die Gasentwicklung aufgehört, so ist die Kollodiumlösung gebrauchsfertig¹. Die Imprägnierung des Gerätes geschieht ausschließlich auf nassem Wege. Die Trockenimprägnation liefert Membranen mit sehr verschiedener Siebwirkung, daher ist sie für technische Zwecke ungeeignet. Nachdem die Apparatur zusammengestellt ist, wird die Schale mit destilliertem Wasser gefüllt und an der Pumpe leer gesaugt. Hierauf wird sie unter dauerndem Saugen mit der Kollodiumlösung bis zum Rande gefüllt. 30 Sekunden nach Ende der Füllung zieht man den Gummischlauch von der Saugflasche herunter, wodurch rascher Luftzutritt erfolgt. Man gießt den Inhalt der Schale unter dauerndem Drehen derselben in die Vorratsflasche zurück, bis sich die Tropfen nur mehr langsam ablösen. Jetzt wird die Membran durch rasches Eintauchen der Schale in warmes Wasser koaguliert (gehärtet), nachher so lange gewaschen,

¹ Fertige Lösungen sind von der Firma *Schering-Kahlbaum* (Berlin) erhältlich.

evtl. unter Zusatz einer Spur von Ammoniak, bis sich das Waschwasser Lackmuspapier gegenüber neutral verhält.

Zur Entfernung der Membran und der in die Poren eingedrungenen organischen Substanzreste trocknet man die Schale in einem Trockenschrank, zieht die Membran ab und glüht die Schale in einem Muffelofen bei 600—700° 2 Stunden. Steht kein solcher Ofen zur Verfügung, so kann man die Reinigung auch durch Auswaschen mit heißer Chromschwefelsäure vornehmen.

Außer der oben beschriebenen Eisessig-Kollodiummembran existiert eine ganze Reihe von Membranen, die sich für das Einengen von Immunsera eignen. Um nur die wichtigsten zu nennen: es gibt Membranen die als Basis Äther-Alkohol-Kollodium, Cellulose, Nitrocellulose usw. haben. Die Herstellung und Justierung derselben erfordern spezielle Übung und Erfahrung. Über die neuere Entwicklung der diesbezüglichen Technik hat vor einigen Jahren GRABAR eine ausgezeichnete Zusammenfassung mit ausführlichen Literaturhinweisen veröffentlicht.

Ist aus der Membran die Essigsäure vollkommen entfernt worden, so ist sie gebrauchsfertig. Sollte die Schale nicht sofort benützt werden, so bewahrt man sie in destilliertem Wasser, zu dem etwas Chloroform oder Toluol zugesetzt wurde, am besten im Eisschrank auf. Es ist sehr wichtig, die Membran vor dem Austrocknen zu schützen, sonst wird sie durchlässig.

Die Ultrafiltration beginnt man mit der Prüfung der Membran. Man befestigt den Trichter mittels eines Gummistöpsels in einer entsprechend großen Saugflasche, schmiert die Stelle, an der die Schale aufliegen wird, mit etwas Vaseline ein, setzt den zum Abdichten dienenden und gleichfalls mit Vaseline beschmierten Gummiring darauf, gibt die gefüllte Schale auf den Ring, sorgt für ständiges Rühren und schaltet den Vakuum ein. Die ersten 10—15 cm der durchgegangenen Flüssigkeit prüft man mit Hilfe einer empfindlichen Probe (20% Sulfosalicylsäure oder 50% Tannin) auf Eiweiß, und nur wenn dieselbe negativ ausfällt, fährt man mit der Filtration fort.

So einfach und zweckmäßig die Ultrafiltration im Prinzip ist, so wenig eignet sie sich für das Einengen größerer Mengen von Immunserum. Die Ursache ihrer Unbrauchbarkeit sind: 1. rasches Verstopfen der Membran und 2. relativ großer Verlust an Antikörpern infolge Adsorption an der Membran und Eindringen in dieselbe. Meinen Erfahrungen nach braucht man 8—10 Tage, um 5 l Serum mit einem Eiweißgehalt von 12—14% auf 3½—4 l einzuengen, und verliert dabei 15—20% an Antikörpern. Will man den Prozeß durch mehrmaliges Auswechseln der Schale beschleunigen, so wird der Verlust noch größer, unter Umständen kann er 30% ausmachen.

Viel einfacher und ohne Verlust lassen sich die Immunsera durch einfaches Verdampfen einengen. Zu diesem Zweck bedient man sich irgendeines Verdampfungsapparates, welcher bei niedrigerer Temperatur arbeitet und genügend großen Rauminhalt besitzt, um die flachen Serumbehälter (möglichst große Oberfläche!) in genügender Anzahl aufzunehmen. Ohne Apparate behilft man sich mit einem Wasserbad und elektrischem Windfächer. Man gibt das Serum in große, flache Schalen, z. B. Entwicklerschalen, und stellt dieselben in das Wasserbad. Oberhalb des Serums läßt man den Windfächer funktionieren und sorgt dafür, daß die Temperatur nicht über 40° steigt. Auf diese Weise kann man sogar Trockenserum gewinnen, ohne praktisch nachweisbaren

Antikörperverlust. Um einer Versetzung vorzubeugen fügt man dem Serum die Hälfte des Konservierungsmittels bei und ergänzt sie nach beendetem Einengen auf die gesetzlich vorgeschriebene Konzentration.

In diesem Zusammenhang sei kurz auch auf das Problem der Herstellung von Trockensera hingewiesen. Es ist ja eine altbekannte Tatsache, daß die Immunsera, in flüssigem Zustand aufbewahrt, mit der Zeit an biologischer Wirksamkeit verlieren. Ein Umstand, der besonders dann, wenn es sich um Standardsera handelt, sehr unangenehm ist. Andererseits ist in warmen Ländern der Transport und die Konservierung von Sera, hauptsächlich von sehr empfindlichen biologischen Heilmitteln, wie z.B. Pockenimpfstoff, eine ziemlich schwierige Angelegenheit, welche die Sanitätsbehörden ständig beschäftigt.

Aus diesem Grunde wurde schon vor längerer Zeit versucht, die immunologischen Eigenschaften solcher Produkte dadurch zu konservieren, daß sie in trockenen Zustand übergeführt wurden. Die üblichen Methoden waren das Trocknen in Hochvakuum bei möglichst niedriger Temperatur und das Gefrieren. Die Erfahrung hat aber gezeigt, daß obwohl diese Arten von Konservierung für den Gebrauch in den Tropen befriedigende Resultate liefern, keine von beiden für wissenschaftliche Zwecke geeignet ist, weil sich ein, wenn auch geringgradiger, Titerrückgang nicht vermeiden läßt. So wurde — unter anderen — die Fällung durch Aceton vorgeschlagen. MERILL und FLEISHER verfahren dabei so, daß sie 1 Vol. Serum mit 10 Vol. Aceton versetzen, den Niederschlag abfiltrieren, denselben erst einmal mit dem Fällungsmittel und dann dreimal mit wasserfreiem Äther auswaschen und schließlich 1 Stunde bei 37° trocknen. Inwieweit das so gewonnene Trockenserum seinen Titer wirklich unverändert erhält, ist nicht genug bekannt, um die Methode empfehlen zu können.

Für das Trocknen von Pneumo- und Meningococcusimmunsera geben FALK, VALENTINE und Mitarbeiter das nachstehende Verfahren an:

Das zu trocknende Serum wird in flachen Glasschalen in zwei, miteinander in Serien verbundenen Vakuumexsiccatoren verteilt. An jeden Exsiccator ist eine mit Eis gekühlte Flasche geschaltet, welche zum Kondensieren der Wasserdämpfe dient. Der Druck in den Rezipienten wird mit Hilfe einer geeigneten Pumpe auf 10 mm Hg herabgesetzt. Gleichzeitig werden die Exsiccatoren mittels eines Spiralrohrsystems, welches von heißem Wasser durchströmt wird, auf 50—60° erwärmt. In 6 Stunden kann man auf diese Weise 200 ccm Serum eintrocknen. Die Aktivität des so getrockneten Serums änderte sich in 3 Jahren nicht im geringsten. Zur Auflösung der Substanz verfahren genannte Verfasser so, daß sie dieselbe in Wasser suspendieren, nachtsüber bei 5° stehen lassen und am nächsten Tag die Suspension bei Zimmertemperatur nochmals gut (mindestens 15 Minuten) durchschütteln. Am Schluß wird die Suspension zentrifugiert und dekantiert.

In der neueren Zeit haben sich ELSER und seine Mitarbeiter eingehend mit diesem Problem beschäftigt. Diese Verfasser sind für das Gefrieren, jedoch betonen sie, daß die Art des Gefrierens und des gleichzeitigen Eintrocknens ausschlaggebend sind. Von den durch sie ausgearbeiteten zwei Methoden soll an dieser Stelle nur diejenige wiedergegeben werden, welche sich für größere Mengen eignet.

Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß das Serum oder sonstige biologische Material (wie Komplemente, Toxine, Bakterien, Hefe usw.) vor dem

Trocknen in gefrorenen Zustand gebracht und während des Trocknens in demselben erhalten wird.

Zum Trocknen wird eine aus dicken Stahlplatten gearbeitete, vakuumdicht verschließbare viereckige Kammer verwendet. Die Kammer ist gut isoliert und zwecks Kühlung mit einem Rohrsystem versehen, welches von dem Kühlgas eines elektrischen Kühlapparates (z. B. „Frigidaire“) durchströmt wird. Das Gasvolumen ist regulierbar. Die obere Wand der Kammer ist mit entsprechenden Öffnungen für die Materialzufuhr, 2 Thermometer, Vakuumanschluß, Leitungsrohr zu den Adsorptionsgefäßen usw. versehen. Bevor das Serum hineingegeben wird, kühlt man die Kammer auf $-0,25-1^{\circ}$ ab. Das Serum muß beim Füllen auf eine Temperatur von beinahe 0° abgekühlt werden. Die Größe der Kammer wird so gewählt, daß die Serummenge, welche einfach auf den Boden gegossen wird, die Schichthöhe von ungefähr 1 cm nicht übersteigt. Ist der Apparat gefüllt, so wird das Vakuum eingeschaltet, was notgedrungenenerweise eine Temperaturerhöhung, welche ungefähr 1° in der Minute ausmacht, mit sich bringt. Bei $6-8^{\circ}$ siedet das Serum. Mit Hilfe des Kühlgases wird das Serum in gefrorenen Zustand gebracht. Ist das eingetreten, so entfernt man von $\frac{2}{3}$ der unteren Wand den Thermoisolator, wodurch die Kammer und indirekt auch das Serum mit der Zimmertemperatur in Berührung kommen. Die Kühlung muß so reguliert werden, daß die Kammertemperatur — während mehrerer Stunden — um -20° herum bleibt, d. h. das Vakuum muß einige Tausendstel mm Hg erreichen. Nach Beendigung des Trocknens wird die Masse vom Boden abgekratzt.

Man kann den Vorgang durch Erhitzen der Kammer (mittels eingebauter Heizkörper) beschleunigen. Die Heizung darf aber erst nach Gefrieren des Serums eingeschaltet werden, und man muß darauf achten, daß die Temperatur unterhalb von -2° bleibt. In dieser Weise kann man 2 l Serum in 20 Stunden eintrocknen. Es versteht sich von selbst, daß auf die Keimfreiheit sorgsam zu achten ist.

Die schonendste Art des Eindampfens ist — ohne Zweifel — die Vakuumdestillation, welche sich aber in diesem Falle durch die starke Schaumbildung der Sera etwas schwierig gestaltet. Sehr praktisch, nur etwas kostspielig ist der Destillationsapparat für schäumende Flüssigkeiten von JANTZEN und SCHMALFUSS [erhältlich bei *Paul und Kark* (Hamburg) oder bei *Greiner und Friedrichs* (Stützerbach, Thüringen)]. Derselbe besteht aus einer Vakuumdestilliervorrichtung und zwischen Kolben und Kühler eingeschaltetem elektrisch betriebenen Schaumschläger aus Hartgummi. Dieser zerschlägt den Schaum und verhindert dadurch seinen Überlauf. Die Kolben fassen 5 l und können automatisch nachgefüllt werden. Bei gutem Vakuum destilliert dieser Apparat 1 l pro Stunde bei einer Temperatur unterhalb von 35° , so daß man in 24 Stunden große Volumreduktionen erreichen kann. Der Verlust an Antikörpern ist praktisch Null. Der Umstand, daß das Einengen durch dieses Verfahren sehr rasch beendet ist, macht die Verwendung eines Konservierungsmittels überflüssig.

IX. Konzentration von Immunsera mit nur teilweise an Pseudoglobulin oder gänzlich an andere Fraktionen gebundenen Antikörpern.

Die Herstellung von solchen konzentrierten Sera, in denen die Antikörper entweder teilweise oder gänzlich an die Euglobulinfraktion gebunden sind,

bedeutet an und für sich eine technisch viel einfachere Aufgabe als die Konzentration von Pseudoglobulinlösungen. Jedoch bereitet die weitere Reinigung, besonders das Entkeimen des Endproduktes — wegen der hohen Viscosität des Euglobulins — viel Schwierigkeiten. Solche Sera sind außerdem nie klar, enthalten mehr oder weniger Bodensatz, oder feinere bis gröbere Flocken schwimmen darin, was — abgesehen von dem unangenehmen Eindruck, den solches Serum auf den Patienten macht — eine intravenöse Verabreichung unmöglich macht. Wie im Kapitel VI erwähnt wurde, besteht die Möglichkeit solche Antikörper mittels Elektrodialyse auf das Pseudoglobulin zu übertragen. In der Praxis der großen Laboratorien wird jedoch wegen der Umständlichkeit der Durchführung kein Gebrauch davon gemacht. In Europa ist es auch nicht üblich, solche Sera zu konzentrieren, welche die Antikörper ausschließlich an das Euglobulin gebunden enthalten, während in Nordamerika die konzentrierten Pneumo- und Meningokokkenserum eine ziemliche Verbreitung gefunden haben.

1. Konzentration von Tetanusserum.

Über die Verteilung des Tetanusantitoxins herrscht die allgemeine Ansicht, daß es gleich dem Diphtherieantitoxin „ausschließlich“ an das Pseudoglobulin gebunden vorkommt.

Das reine Euglobulin, d. h. die wasserunlösliche Proteinfraction, enthält tatsächlich keine Tetanusantikörper in nennenswerter Proportion, aber die Eiweißkörper, welche bei der Dialyse in Lösung bleiben und durch 30—34%ige Sättigung mit Ammoniumsulfat fällbar sind, können unter Umständen sehr beträchtliche Mengen enthalten. Ein allerdings sehr geringer Teil des Antitoxins bleibt sogar bei der Albuminfraction, wenigstens konnten wir öfters beobachten, daß das nach 50%iger Sättigung gewonnene Filtrat pro Kubikzentimeter mehr als 5 Einheiten neutralisiert hat. Wenn dagegen die Globuline durch 52%ige Sättigung entfernt wurden, blieb das Neutralisationsvermögen des Albuminfiltrates unter 1 Einheit pro Kubikzentimeter.

Wenn die Konzentration nach dem Prinzip der Diphtherieserumherstellung bei *Zimmertemperatur* gemacht wird, beträgt der durchschnittliche Verlust an Antikörpern 25—30%, wovon 17—23% gleich nach der ersten Fällung entstehen. Wird jedoch die Entfernung des Euglobulins in dem *erwärmten* Serum durchgeführt, so können unter Umständen Verluste bis zu 60—70% entstehen. Der grundlegende Unterschied zwischen Diphtherie- und Tetanusserum besteht in erster Linie darin, daß die Proportion der an die Euglobulinfraction gebundenen Antikörper große Schwankungen aufweist. Aus den diesbezüglichen Literaturangaben scheint hervorzugehen, daß in Europa und Nordamerika die Euglobulinverluste geringer sind, als ich auf Grund meiner 8jährigen, in Brasilien gesammelten Erfahrungen oben angegeben habe. Ob dabei die Tatsache, daß in den hiesigen Seruminstituten sehr häufig Maultiere und Esel für die Immunisierung verwendet werden, oder die verschiedene Ernährungsweise der Immuntiere eine Rolle spielt, müssen wir wegen Mangel an Vergleichsmöglichkeiten dahingestellt sein lassen.

In der nachstehenden Zusammenstellung sind die von mir beobachteten Verluste nach der ersten Fällung angeführt.

Man kann diese Verluste eliminieren, wenn man die Gesamtglobuline durch eine einzige Fällung entfernt und den Niederschlag so lange dialysiert, bis der wasserunlösliche Anteil ausfällt, oder wenn man die Fällungsgrenze für jeden Fall separat feststellt, was bei diesem Serum viel Zeitverlust bedeutet und ein großes Tiermaterial beansprucht.

Tabelle. 17.

Fällungsmethode	Verlust an Antikörpern in % (abgerundet)
34%ige gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bei Zimmertemperatur	16
34 „ „ „ „ „	12
30 „ „ „ „ „	18
31 „ „ „ „ „	25
31 „ „ „ „ „	28
31 „ „ „ „ „	16
31 „ „ „ „ „	17
31 „ „ „ „ 57°	28
31 „ „ „ „ 57°	54
31 „ „ „ „ 57°	38
31 „ „ „ „ 57°	75
12 „ Na_2SO_4 bei Zimmertemperatur	18
11,5%ige Na_2SO_4 „ „	21

Wir haben sehr gute Erfolge, d. h. sehr geringe (weniger als 8%) Verluste von der Anwendung der Elektrodialyse gesehen. Die Konzentration wurde wie folgt durchgeführt:

Das Serum wird auf die Hälfte seines Volumens mit destilliertem Wasser verdünnt, mit so viel gesättigter Ammoniumsulfatlösung bei Zimmertemperatur versetzt, daß seine Konzentration einer 52%igen Sättigung entspricht, über Nacht stehen gelassen und filtriert. Der Niederschlag wird mit halbgesättigter $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung ausgewaschen, um die Albumine zu entfernen. Nach vorsichtigem Auspressen wird dialysiert, schließlich — nach der bekannten Methode — in einem Dreizellenapparat elektrodialysiert, evtl. auch elektrodekantiert. Der Niederschlag, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, enthält nur minimale Mengen von Antikörpern.

Steht kein Elektrodialysator zur Verfügung, so muß die Dialyse so lange fortgesetzt werden, bis sich das Euglobulin ausscheidet, was gewöhnlich nach 10—12 Tagen einzutreten pflegt. In diesem Falle bekommt man aber ein mehr oder minder verdünntes Produkt, welches selten mehr als die doppelte Anreicherung Antikörper aufweist, oft sogar weniger. Kann man sich damit nicht begnügen, so muß das Serum mit Hilfe einer der früher angegebenen Methoden eingeengt werden.

Als Beispiel soll der Verlauf der Konzentration von 2 Portionen des gleichen Mischserums angeführt werden, wobei die eine Portion durch einmalige, die andere durch zweimalige Fällung konzentriert wurden.

Titer: 450 Einheiten/Kubikzentimeter. **Konzentration durch einmalige Fällung.** p_H des Serums: 7,46. — Volumen: 12000 ccm.

Fällung durch 52%ige Sättigung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. 12000 ccm Serum + 6000 ccm H_2O + 19500 ccm gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung.

Volumen nach Beendigung der Dialyse: 8600 ccm. — Volumen nach dem Einengen: 5200 ccm. — *Titer:* 1000—1050 Einheiten/Kubikzentimeter. — Verlust (1000 Einheiten gerechnet): 3,8%.

Konzentration nach BANZHAF. Volumen: 26200 ccm.

I. Fällung durch 31%iges gesättigtes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. 26200 ccm Serum + 13100 ccm H_2O + 17656 ccm gesättigter $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung. — Volumen des Filtrates: 56700 ccm.

II. Fällung durch 48%iges gesättigtes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bei 57° : 56700 ccm Filtrat + 18536 ccm gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung. — Volumen nach Beendigung der Dialyse: 5200 ccm.

Titer: 500—600 Einheiten/Kubikzentimeter. — Verlust (550 Einheiten gerechnet): 75,7%.

Was die Elektrodialyse (Elektroultrafiltration) des Tetanusserums anbelangt, so muß betont werden, daß dieselbe sehr gut durchführbar ist, nur muß eine Temperaturerhöhung sorgsam vermieden und die Stromstärke niedriger gehalten werden, als bei den Diphtherie- und Schlangensera gesagt wurde. Läßt man nämlich das Serum in der Mittelzelle warm werden oder durch einen zu starken Strom dialysieren, so scheidet sich das Euglobulin in Form eines sehr voluminösen Niederschlages aus, oder es bildet auf der kathodischen Membrane binnen kurzer Zeit eine gelatineartige Ausscheidung, und am Schlusse der Elektrodialyse stellen sich große Verluste heraus. Wir haben des öfteren feststellen können, daß, wenn die Elektrodialyse im Kühlraum und bei einer anfänglichen Stromstärke von $0,1 \text{ mA/cm}^2$ (beiderseits Pergamentmembran) durchgeführt wird, der Verlust an Antikörpern niemals 5% übersteigt. Bei Zimmertemperatur muß für ständiges Rühren gesorgt werden.

Durch Elektroultrafiltration habe ich auch Tetanussera gereinigt. Über meine diesbezüglichen Erfahrungen habe ich schon an anderer Stelle (s. S. 280) berichtet.

Einmal versuchten wir, ein besonders minderwertiges Serum durch Elektrodialyse zu konzentrieren, und obwohl kein Verlust an Antitoxin zu verzeichnen war, mußte der Versuch unterbrochen werden, bevor eine entsprechende Anreicherung erreicht wurde, da das Produkt viel zu viel Eiweiß enthielt. Der Verlauf dieses Versuches läßt sich wie folgt wiedergeben:

Volumen: 5000 ccm. Titer: 100 Einheiten pro Kubikzentimeter.

Fällung durch 52%iges gesättigtes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. 5000 ccm Serum + 2500 ccm H_2O + 7800 ccm gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung.

Nach 12tägiger Dialyse. Volumen: 4050 ccm. Titer: $> 100 < 130$ Einheiten.

Nach 48 Stunden Elektrodialyse und viermalige Dekantation. Volumen: 2200 ccm. Titer des Serums: ≈ 250 Einheiten pro Kubikzentimeter. Titer des Dekantates: 2 Einheiten pro Kubikzentimeter. — Verlust: 0,0%.

2. Konzentration der Pneumo- und Meningococcusera.

Die sich in den Pneumo- und Meningococcusimmunsera befindenden Antikörper bilden — was ihre Verteilung zwischen den einzelnen Eiweißfraktionen anbelangt — sozusagen ein Spiegelbild zu der der Tetanusantikörper. Wenn man vom Tetanusantitoxin sagen kann, daß es vorwiegend mit dem Pseudoglobulin und nur in geringerem Prozentsatz mit dem Euglobulin verbunden ist, so müssen die Meningo- und Pneumokokkenantikörper als solche charakterisiert werden, welche größtenteils am Euglobulin und nur zu einem geringen Prozentsatz am Pseudoglobulin haften.

Die Natur der Wertbestimmung der hier zu behandelnden Sera bringt es mit sich, daß so geringe Verluste wie bei den anderen, bisher besprochenen Sera überhaupt nicht festgestellt werden können. Vielleicht erklärt sich dadurch die Tatsache, daß so viele Vorschriften für die Konzentration gerade dieser Antikörper existieren und scheinbar alle zu gleich guten Ergebnissen führen.

Mit Rücksicht darauf, daß jedes der angegebenen Herstellungsverfahren ebenso anwendbar für das eine wie für das andere Serum ist, wollen wir in diesem Abschnitt — zwecks Vermeidung von Wiederholungen und raumersparnis halber — einfach über Serum sprechen.

Die erste brauchbare Methode, die gleichzeitig dafür den Beweis erbrachte, daß diese Antikörper an der wasserunlöslichen Eiweißfraktion haften, stammt von FELTON (1, 2). Seine ursprüngliche Anreicherungstechnik wurde im Laufe der Zeit — teils von ihm, teils von anderen [BROWN (1), AGUAYO (1, 2) usw.] — verbessert und technisch anwendbar gemacht. Andere wie MURDICK und COHEN (1) haben andere Wege (fraktionierte Lösung in verdünntem Kochsalz, Fällung bei Kälte) eingeschlagen, die alle, wie gesagt, laut Angaben ihrer Schöpfer zu guten Ausbeuten führen. In Europa werden diese Sera gewöhnlich in nativem Zustand verwendet. Dasselbe gilt auch für die südamerikanischen Länder, dagegen ist in Nordamerika die Verabreichung der konzentrierten Form trotz mehrerer besorgniserregender Unglücksfälle ziemlich verbreitet.

Die wichtigsten Herstellungsprozesse sollen in nachfolgendem wiedergegeben werden.

1. *Methode von BANZHAF-KLEIN.* Zu dem Serum wird 0,4% Trikresol oder 0,5% Phenol hinzugefügt. Nach Abkühlung wird es mit drei Teilen gleichfalls abgekühltem Wasser verdünnt, es bildet sich ein Niederschlag, welcher durch Ansäuern (p_H 5,0—5,1 mit γ -Dinitrophenol einstellen!) fast vollkommen in Lösung geht. Man läßt es 4 Stunden bei 5—10° stehen und filtriert es nachher durch Papierbrei. Man stellt die Reaktion des Filtrates auf p_H 6,8 ein (Indicator p-Nitrophenol) und fügt noch 0,1% Phenol oder Trikresol hinzu. Man gibt es nachtsüber wieder in den Kühlraum, woraus sich ein fibrinähnlicher Niederschlag bildet. Man filtriert denselben durch Papiermasse ab und entnimmt einen Teil für die Bestimmung der zur Fällung der Antikörper notwendigen Wasserportion (gewöhnlich genügt dazu das gleiche Volumen). Nachdem die in den Vorversuchen festgestellte Wassermenge hinzugefügt wurde, läßt man über Nacht im Kühlraum stehen. Der entstandene Bodensatz wird abzentrifugiert und in 1% NaCl-Lösung, welche 0,8% Phenol enthält, gelöst. Darauf verdünnt man mit 0,4% Phenol enthaltender 0,5%iger NaCl-Lösung so lange, bis das Volumen einem Zehntel des ursprünglichen Serumvolumens entspricht. Man läßt nochmals 24 Stunden im Kühlraum stehen, filtriert wieder durch Papiermasse und fügt schließlich so viel festes NaCl hinzu, daß der Gehalt an demselben 1,5% beträgt.

Eine andere, gleichfalls von diesem Verfasser angegebene Variation unterscheidet sich von der oben beschriebenen darin, daß das Serum mit Trikresol (0,4%) zunächst 3 Tage gegen fließendes Wasser dialysiert wird. Nachher fügt man so viel Trikresol und Kochsalz hinzu, daß die Konzentration dieser Substanzen 0,2% bzw. $n/20$ wird. Nach Abkühlen auf 5° wird die Reaktion auf p_H 5,0—5,1 eingestellt. Die weitere Behandlung bleibt so, wie sie oben ausführlich beschrieben wurde.

2. *Methode von FELTON* (3, 4). Das Serum wird mit dem gleichen Volumen destilliertem Wasser verdünnt, nachher — bei 37—40° und portionenweise — mit so viel wasserfreiem Na_2SO_4 versetzt, bis der Sättigungsgrad 20% erreicht. Der Niederschlag wird nach 1—2-stündigem Stehen gleichfalls bei 37° filtriert. Nach dem Auspressen dialysiert man die Masse so lange gegen fließendes Wasser,

bis sich ein ausgiebiger Bodensatz bildet. Das p_H des Dialysates wird mit $n/5$ Essigsäure auf 4,6—4,8 eingestellt, wodurch es zu einer weiteren Niederschlagsbildung kommt. Sollte die obere Flüssigkeit nicht ganz klar sein, so fügt man so viel Natriumnitrat hinzu, daß seine Konzentration $n/20$ — $n/40$ beträgt. Nach 1-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird der Bodensatz entweder zentrifugiert oder im Kühlraum abfiltriert. Während dieser Zeit und bei diesem niedrigen p_H wird das wasserunlösliche Euglobulin denaturiert, wodurch der größere Teil der gebundenen Antikörper frei wird. Es ist sehr wichtig, die Reaktion auf das optimale p_H einzustellen, weshalb dasselbe jeweils durch Vorversuche festgestellt werden muß. Zu diesem Zweck fügt man zu je 10 ccm des Dialysates steigende Mengen aus einer $n/20$ Essigsäure (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 usw. ccm) zu und beobachtet, in welcher Tube die obere Flüssigkeit bei der geringsten Säurekonzentration klar ist. Das p_H dieser Tube entspricht der optimalen Reaktion. Nachdem die Zerstörung (Denaturierung) des Euglobulins durchgeführt wurde, hebt man die klare Flüssigkeit, welche nun aus Antikörper-Proteinverbindung und inaktivem Pseudoglobulin besteht, ab. Die Reaktion dieser Flüssigkeit wird mit $n/20$ NaOH auf p_H 6,6—6,8 eingestellt und ihr Volumen mit abgekühltem destilliertem Wasser auf das 5fache verdünnt. Nachher läßt man es nachts über am kühlen Ort stehen. Am nächsten Tag entfernt man die obere Flüssigkeit. Der Niederschlag wird entweder zentrifugiert oder abfiltriert, schließlich in 3% NaCl gelöst und mit 0,2% Trikresol konserviert. Da dieses Serum seine immunbiologischen Eigenschaften am besten bei p_H 6,4—6,8 behält, so muß seine Reaktion nachgeprüft und nötigenfalls auf diesen p_H -Bereich eingestellt werden.

Die Brauchbarkeit dieses Verfahrens läßt sich auf Grund des nachstehenden Verlaufes einer Konzentration beurteilen.

Tabelle 18. Stickstoffverteilung in den verschiedenen Fraktionen von Pneumococcus-Serum (nach FELTON).

	Volumen ccm	N mg pro g	Wirksam in Verdünnung	Gehalt an Einheiten	mg N pro Ein- heiten
Ausgangsserum . .	10000	11,34	1 : 1000	2000000	0,0567
Säureniederschlag	440	7,67	1 : 4000	352000	0,0096
Endprodukt . . .	1000	12,66	1 : 10000	2000000	0,0063

Die FELTONSche Fraktionierung wurde von BROWN (2) nachgeprüft. Dieser Verfasser hat Beweise dafür erbracht, daß die Fällungsgrenzen der Pneumo- und Staphylokokkenantikörper in den verschiedenen Sera gut feststellbar sind. Innerhalb dieser Grenzen sind Fraktionen zu erhalten, welche sich in bezug auf ihren Gehalt an Antikörpern und Eiweiß voneinander unterscheiden. Die Verteilung der Antikörper in einem Serum ändert sich entsprechend dem Zeitpunkt der Blutentnahme während der Immunisierung.

3. Methode von MURDICK und COHEN (2). Das unverdünnte Serum wird dialysiert, die Globuline nach dem bereits beschriebenen „isoelektrischen“ Verfahren gefällt. Der Globulinniederschlag wird in einer 1%igen Kochsalzlösung gelöst und die Reaktion auf p_H 7,6 eingestellt. Die Lösung soll ungefähr 3% Eiweiß enthalten, nötigenfalls wird sie mit NaCl verdünnt. Nachher versetzt man dieselbe mit so viel Chlorzink ($ZnCl_2$), daß auf 100 mg Stickstoff

1 ccm n/100 Chlorzink kommt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird das Präzipitat zentrifugiert, in 0,8%ige Kochsalzlösung suspendiert, weiter durch Hinzufügen genügender Menge von n/10 Salzsäure gelöst, schließlich durch Alkalisieren mittels n/10 NaOH wieder gefällt. Dieser Niederschlag enthält keine nennenswerten Mengen von Antikörper und wird daher verworfen. Die obere klare Flüssigkeit wird dialysiert und, wenn sich schon Niederschlagbildung zeigt, dieselbe durch die „isoelektrische“ Fällung verstärkt. Das so erhaltene Endprodukt wird in 0,7% Kochsalz, dem 0,6% Kresol beigegeben ist, gelöst und mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers verdünnt. Man läßt das Gemisch bei 5° stehen, worauf sich ein Niederschlag bildet. Sollte dies nicht der Fall sein, so muß es einer niedrigen Temperatur ausgesetzt werden. Der Niederschlag wird zentrifugiert, nachher mit 0,35%igem Kochsalz ausgewaschen und das Waschwasser zu der Flüssigkeit gegeben. Durch diese „fraktionierte Löslichkeit“ läßt sich eine 12-fache Konzentrierung ohne die Nachteile eines sehr hohen Eiweißgehaltes erreichen.

4. *Methode von KIRKBRIDGE, HENDRY und MURDICK.* Dies ist die offizielle Methode des New Yorker staatlichen Sanitätsdepartments. Man gibt zu dem Serum Kresol bis zu einer Konzentration von 0,3% und dialysiert es 5 Tage bei 5° in Cellophansäcken. Nachher verdünnt man es mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers und stellt die Reaktion mittels n/1 Salzsäure bis auf die der optimalen Fällung ein (zwischen p_H 5,0—5,6). Das genaue Reaktionsoptimum muß fallweise durch Vorversuche ermittelt werden. Der gebildete Niederschlag wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in 0,85%igem NaCl gelöst. Aus dieser Lösung werden die Immunkörper durch Ansäuern gefällt. Die Feststellung der dazu notwendigen optimalen Reaktion geschieht mit Hilfe der WADSWORTH-BROWNSCHEN spezifischen Cellulose-Kohlenhydratprobe durch Serienversuche. Die Tube mit dem höchsten p_H -Wert und der geringsten Trübung zeigt uns, wo die Grenze der Antikörper liegt. Jetzt kann die Fällung in der ganzen Menge vorgenommen werden, worauf der Niederschlag zentrifugiert wird. Die klare Flüssigkeit wird mit 1 $\frac{1}{2}$ Vol. destillierten Wassers verdünnt, ihre Reaktion mittels n/1 NaOH auf das p_H der maximalen Fällung eingestellt (dasselbe liegt bei jedem Serum anders und schwankt gewöhnlich zwischen 6,0 und 6,8). Man läßt den Niederschlag im Kühlraum absetzen und entfernt die obere Flüssigkeit durch Dekantieren. Schließlich wird der Bodensatz in 0,8% Kochsalz gelöst und der Lösung 0,3% Kresol hinzugefügt. Das Endprodukt soll nicht über 12% Eiweiß enthalten.

Tabelle 19. Konzentrationsverlauf und Ausbeute von Pneumococcusera (nach KIRKBRIDGE, HENDRY und MURDICK).

Volumen des ursprünglichen Serums	Volumen des konzentrierten Serums	Titer des ursprünglichen Serums in Einheiten pro ccm	Titer des konzentrierten Serums in Einheiten pro ccm	Konzentriert x mal	Ausbeute %
19200	2400	500	2500	5	62
20200	2400	500	2500	5	60
22000	3500	500	2500	7	111
21400	3500	500	2500	5	82
20700	3000	500	2500	7	72
19100	2500	500	2500	5	65
18300	2250	500	4000—6000	8—12	98—147
7300	1300	1500	8000	5	95

Die mit dieser Methode erreichten Resultate sind aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich.

In ihren Grundlagen ähnlich sind diejenigen Methoden, welche zur Konzentrierung von Antistreptokokkenserum führten. Da aber dieses Serum ebenso wie das Gonokokkenimmenserum für den Verbrauch nur in nativem Zustand hergestellt wird, gehen wir auf diese Verfahren näher nicht ein.

X. Konzentration durch Adsorption und enzymatischen Abbau.

Niemand kann leugnen, daß keine von den bisher behandelten Methoden der Antikörperkonzentration bzw. — Reinigung — als ideale anzusehen ist. Sämtliche haben den Nachteil, daß sie die Antikörper nur in Verbindung mit Eu- bzw. Pseudoglobulin gewinnen lassen, während das eigentliche Ziel der Konzentration gerade die Loslösung der Vertreter der immunologischen Eigenschaften von den immunologisch-therapeutisch unwirksamen Trägern ist. Um dies zu versuchen, mußten nun andere Wege eingeschlagen werden. Soweit man heute die Aussichten für die Zukunft beurteilen kann, sind die Methoden der Adsorption und des enzymatischen Abbaues diejenigen, von denen am ehesten anzunehmen ist, daß sie einst die gegenwärtigen üblichen Verfahren aus den technischen Laboratorien verdrängen werden. Die Tatsache, daß die schon vor dem Weltkrieg patentierte SAMESsche Adsorptionsmethode, welche angeblich auch für die Konzentrierung von großen Mengen geeignet war, heute nicht mehr angewendet wird, kann nicht als Argument gegen das oben Gesagte gelten. In den letzten Jahren ist es nämlich mehreren Forschern gelungen, nicht nur Diphtherie- und Tetanusantitoxine, sondern auch verschiedene Virusarten, Anatoxine, Toxine, Agglutinine usw. durch verschiedentlich modifizierte Adsorptionsverfahren sehr weitgehend zu reinigen. Der Grund, warum diese günstigen Resultate der Versuchslaboratorien keine technische Anwendung gefunden haben, liegt wohl in zwei Umständen. 1. Sowohl die Adsorption als auch die Elution gehen nur gut in stark verdünnten Sera, eine Bedingung, welche — im Falle von großen Mengen — sehr kostspielige Einrichtung wie große Zentrifugen, Vakuumdestillationsapparate usw. verlangt. 2. Vorläufig konnte kein Verfahren von allgemeiner Gültigkeit gefunden werden. Im Gegenteil, die optimalen Versuchsbedingungen müssen für jedes Serum separat durch Vorversuche festgestellt werden, und auch unter solchen Bedingungen ist die Ausbeute nicht immer vorauszusehen.

Nach den ersten, von ARONSON im Jahre 1893 unternommenen Versuchen, Diphtherieantitoxin durch Adsorption zu gewinnen, wurde in den darauffolgenden 2 Jahrzehnten in dieser Richtung recht wenig getan. Die großen Erfolge, welche WILLSTÄTTER und seine Schüler auf dem Gebiet der Reinigung und Isolierung von Enzymen mittels Adsorption und darauffolgender Elution aufgewiesen haben, ließen es selbstverständlich erscheinen, ähnliche Darstellungsmethoden auch für die Trennung von immunbiologischen Substanzen heranzuziehen.

Die Technik der Adsorption und Elution ist der von WILLSTÄTTER und seiner Schule ausgearbeiteten sehr ähnlich. Man verwendet als Adsorbens hauptsächlich „ γ -Aluminiumhydroxyd“ oder Kaolin, und zur Elution wird meistens eine verdünnte alkalische Natriumphosphat-Lösung ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) oder Ammoniak genommen. Zahlreiche Forscher, wie E. W. SOMMER, H. SOMMER,

MEYER, LINDERSTRÖM-LANG, SCHMIDT, haben mit dem erwähnten „ γ -Aluminiumhydroxyd“ gute Ergebnisse aufweisen können.

Nach seinem Prinzip ist ganz anders die Methodik, welche von GLENNY und seinen Mitarbeitern zur Reinigung des Diphtherietoxoids mit Erfolg angewandt wurde. Nach diesem Verfahren wird in der Lösung selbst ein Niederschlag durch Hinzufügen von Alaun oder Aluminiumsulfat erzeugt. Dieser Niederschlag gilt gleichzeitig als Adsorbens. Das Eluieren wird in dem Fall mittels Natriumphosphat oder Kalium-Natriumtartrat durchgeführt. Nach TASMAN und BUDMAN liefern mit Diphtherietoxin- und -anatoxin, sowohl die WILLSTÄTTERSche als auch diese Methode, gute Resultate, man kann keine von beiden der anderen überlegen betrachten. Die genannten Autoren haben zur Reinigung des erwähnten Toxins das folgende Verfahren ausgearbeitet:

Zu je 1 l Diphtherietoxin oder -anatoxin fügt man 20 g chemisch reinen Alaun bzw. 13,2 g Aluminiumsulfat $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}]$ hinzu und schüttelt den gebildeten Niederschlag innerhalb von 3 Stunden öfters kräftig durch. Nachher wird das Adsorbat abzentrifugiert und mit 300 ccm destilliertem Wasser gewaschen. Die Elution macht man mit 200 ccm 10%iger Natriumphosphatlösung in der Weise, daß der Niederschlag mit derselben 48 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und während dieser Zeit öfters durchgeschüttelt wird. Der Adsorbens wird nun abzentrifugiert und das Na_2HPO_4 durch Abkühlen zur Krystallisation gebracht. In bezug auf die Antigenwerte wurde eine dreifache Erhöhung bei einer Ausbeute von ungefähr 66% erzielt.

In einer späteren Veröffentlichung haben TASMAN und WAASBERGEN die von SCHMIDT zur Diphtherietoxin- und Anatoxingewinnung angegebene Technik auch nachgeprüft. Die SCHMIDTSche Methode besteht bekanntlich darin, daß man als Adsorbens eine nach einer Spezialvorschrift präparierte Aluminiumhydroxydsuspension verwendet. (Inzwischen haben HANSEN und SCHMIDT die zur Herstellung von Aluminiumhydroxyd angegebene Originalmethode des letzteren abgeändert.) Aus den Vergleichsuntersuchungen geht hervor, daß die SCHMIDTSche Adsorption zwar qualitativ bessere Produkte liefert als die Fällung mit Aluminiumsulfat, jedoch sind die Verluste viel größer. Die durchschnittliche Ausbeute der erstgenannten Methode war in bezug auf Toxin 44, auf Anatoxin 62%, dagegen die des Fällungsverfahrens 76 bzw. 83%.

EISLER und SPIEGEL-ADOLF haben durch den folgenden Weg bei typhusagglutinierendem Pferdeserum, hämatotoxischen Sera von Pferd, Kaninchen und Ziege, schließlich bei Diphtherieserum (Pferd) den Eiweißgehalt ungefähr auf den sechsten Teil des ursprünglichen Wertes herabsetzen können, wobei z. B. in bezug auf die Diphtherieantitoxine die Hälfte des Anfangstiters eluiert wurde.

1 ccm Serum wird mit 7 ccm destilliertem Wasser verdünnt und nachher mit 1 ccm n/l AlCl_3 und der gleichen Menge n/l NaOH versetzt. Der entstandene Niederschlag wird zentrifugiert und die abgegossene klare Flüssigkeit durch das gleiche Volumen n/100 Natriumhydroxyd ersetzt. Nachdem das Präzipitat in der Lauge suspendiert wird, schüttelt man die Suspension 2 Stunden in einer entsprechenden Maschine. Der nichtgelöste Teil des Niederschlages wird durch erneutes Zentrifugieren entfernt. Die obere, leicht opaleszierende Flüssigkeit enthält in der Regel 80% der Immunkörper. Eine weitere Anreicherung wurde dadurch erreicht, daß dieses Eluat mit der Hälfte der zur ersten Adsorption

verwendeten Menge von Aluminiumchlorid nochmals gefällt und wieder eluiert wurde. In dieser Weise konnte man den Eiweißgehalt auf $\frac{1}{6}$ seiner ursprünglichen Konzentration herunterdrücken.

In den darauffolgenden Jahren haben sich KLIGLER und OLITZKI sowie FRANKEL sehr eingehend mit der Reindarstellung von Diphtherie- und Tetanus-toxin bzw. -antitoxin sowie von Bakteriophagen beschäftigt. Sie haben im Laufe dieser Arbeiten mehrere Adsorptions- und Elutionsverfahren ausgearbeitet. Die besten Resultate wurden mittels folgender Technik erzielt:

Vor der eigentlichen Adsorption werden die optimalen Bedingungen derselben festgestellt. Zu diesem Zweck gibt man in eine Reihe von Zentrifugenröhrchen 10 ccm des mit physiologischem Natriumchlorid 1:10 verdünnten Serums. Zu diesem Serum fügt man — unter ständigem Rühren — verschiedene Mengen (1—5 g pro Rohr) von Kaolin hinzu. Nun werden die gut verschlossenen Tuben in einen Schüttelapparat gegeben und bei 37° längere Zeit geschüttelt. In bestimmten Zeitabschnitten, z. B. nach 1, 2, 5, 10 usw. Stunden, zentrifugiert man die Proben ab, in der oberen Flüssigkeit werden Protein- und Toxin- (Antitoxin-) Gehalt bestimmt, und man fährt mit dem Schütteln so lange fort, bis sich eine Probe frei von immunologischen Eigenschaften zeigt. Nachdem in dieser Weise die allergeringste Kaolinmenge und die aller kürzeste Zeit, die zur vollständigen Adsorption notwendig sind, bestimmt wurden, geht man dazu über, die Adsorption in dem Serum durchzuführen. Die Elution wird mittels einer Kochsalzlösung, der 2% Glykokoll zugefügt ist, durchgeführt. Die Konzentration des Salzes muß gleich der Kaolinmenge in Vorversuchen fallweise bestimmt, die übrigen Bedingungen immer gleich gehalten werden. Man eluiert bei 37° mit einer Flüssigkeitsmenge, welche dem Volumen des ursprünglichen, verdünnten Serums entspricht. In der Regel ist das Eluat eiweißfrei, wenigstens das SPIEGLER-Reagens, welches 2 mg-% Protein noch anzeigt, liefert meistens negatives Resultat. Sollte das nicht der Fall sein, so kann man die Proteinreste durch Wiederholung der Adsorption und Elution eliminieren. Aus dem Eluat entfernt man die Krystalloide durch Dialyse, und die Antikörper werden durch Vakuumdestillation (bei 3—4 mm Hg und Zimmertemperatur) getrocknet.

Von KLOBUSITZKY (6) hat diese Methode für die Anreicherung von Tetanusantitoxin insofern abgeändert, indem er die Adsorption bei p_H 3,8—4,0 und die Elution bei p_H 9,3—9,4 durchführte. Die Ausbeute in bezug auf Adsorption war ungefähr immer gleich (80%), die der Elution war jedoch sehr verschieden, im besten Fall 56%. Die optimalste Anreicherung war, auf Stickstoff berechnet, 114fach.

Kaolin wurde auch von PIRIE für die Adsorption von ROUS-Sarcomvirus mit gutem Erfolg verwendet. Die Wirksamkeit der Eluate wurde aber durch 24 Stunden Stehen im Brutschrank zerstört.

Eine Reihe von Adsorbentien wurde von EBELING an Pseudoruhrbakteriophagen untersucht, wobei besonders die zeitlichen Bedingungen beobachtet wurden. Er hat in bezug auf die Adsorptionskraft die nachstehende Reihenfolge aufgestellt: Aluminiumhydroxyd > chemisch aktive Kohle > Tierkohle > Kaolin > verschiedene Kieselsäuren > Bolus alba. Zum Eluieren hat sich am besten das Ammoniumphosphat bewährt.

Über Resultate, welche den obigen Ergebnissen widersprechen, berichtet ROSENHEIM, der die Adsorption durch Kaolin und Aluminiumhydroxyd der Typhusagglutinine studierte. Er fand nämlich, daß sowohl die Adsorption als auch die Elution von Eiweißkörpern und Agglutininen miteinander parallel gehen. Werden viel Eiweißkörper adsorbiert, so werden auch viel Agglutinine festgehalten, *vice versa*, ist das Eluat reich an Agglutininen, so ist sein Gehalt an Protein hoch. Demnach würde es also nicht möglich sein, durch dieses Prinzip eine Agglutininanreicherung ohne gleichzeitige Zunahme des Eiweißgehaltes zu erzielen.

Ohne auf die Gegensätze, welche zwischen den Ergebnissen ROSENHEIMS und denen von anderen Autoren, hauptsächlich von FRANKEL und OLITZKI, bestehen, näher eingehen zu wollen, möchten wir nur darauf hinweisen, daß solche entgegengesetzte Versuchsergebnisse in erster Linie für die Unvollkommenheit der heutigen Adsorptionsmethoden sprechen. In einem Fall gelingt die Trennung der Immunkörper von den Trägern, im andern nicht. Dieser Umstand und die damit verbundene Unsicherheit müssen vor allem eliminiert werden, und erst nachher kann man dazu übergehen, die Serumkonzentration auf das Prinzip der Adsorption und Elution in die Praxis einzuführen.

Der Gedanke, eine Antitoxinanreicherung dadurch zu erreichen, daß man die Proteinträger durch eiweißspaltende Enzyme so weit abbaut, bis dieselben entweder nicht mehr aussalzbar sind oder die Ultrafilter passieren, wurzelt in den teils recht alten Beobachtungen, nach welchen Immunsera trotz Fäulnis ihre Wirksamkeit beibehalten haben. Im Anfang unseres Jahrhunderts wurde sogar ein Patent angemeldet, in dem Pankreasauszug als geeignetes Abbaufement für diese Art von Immunkörper-Konzentration angegeben war. Die Angaben des Antragstellers konnten aber nicht bestätigt werden.

In der neueren Zeit sind sehr wenig Veröffentlichungen über dieses Thema erschienen. Man hält im allgemeinen an den älteren Beobachtungen WINTERBERGS, PFEFFERS und anderer fest. Nach den genannten Autoren werden die Antitoxine während der Proteolyse zerstört, ohne daß dabei die Art des Fermentes irgendwelche Unterschiede ausmachen würde. Dagegen sind Agglutinine gegen Pepsin-, Trypsin- oder Papayotinverdauung resistent, während die Präzipitine von Trypsin nicht, dafür aber von Pepsin unwirksam gemacht werden. Die Bakteriolyse sind zwar pepsinempfindlich, doch bewirkt das Ferment nur allmählich ihre Zerstörung.

Wir hätten dieses Thema überhaupt nicht berührt, wenn wir nicht durch eine persönliche Mitteilung¹ erfahren hätten, daß von den *Lederle-Laboratorien* (Pearl-River, N. Y., U.S.A.) ein Antrag wegen Patenterteilung für Konzentration von Immunsera durch enzymatischen Abbau der Eiweißkörper gestellt wurde. Diese Tatsache ist ohne Zweifel ein Beweis dafür, daß die Möglichkeit einer technischen Auswertung dieses Prinzips doch besteht. Ihren wahren praktischen Wert wird uns die Zukunft zeigen.

XI. Weitere Behandlung und Entkeimen der Immunsera.

Während in bezug auf die Bestimmung des immunbiologischen Wertes (Toxineinheit, Antitoxineinheit, Dosierungstechnik usw.) der verschiedenen

¹ Privatmitteilung des Herrn Dr. A. EICHORN, Direktor der „Animal Disease Stat. of the Nat. Agric. Res. Center“, früher Abteilungsleiter an dem genannten Laboratorium.

Sera internationale Vorschriften und Abkommen bestehen, welche von allen Laboratorien befolgt werden, existieren hinsichtlich der Reaktion, Art der Konservierung, des Eiweißgehaltes, Methode des Entkeimens entweder nur staatliche oder gar keine Bestimmungen, so daß in vielen Ländern die Serum-institute vollkommen freie Hand haben und nach eigenen Vorschriften arbeiten. Aus dem Grunde sollen die nachstehenden Methoden und Verfahren bloß zur Orientierung betrachtet und ihnen darüber hinaus keine Wichtigkeit beigemessen werden.

Die salzfrei dialysierten Sera werden während der Dialyse sauer, wodurch sie nicht nur zur Flockenbildung neigen, sondern auch ihre Einspritzung schmerzhaft sein würde. Der erste Schritt in der Fertigstellung muß demnach in einer Neutralisation bestehen. Die Reaktion wird gewöhnlich auf die des Blutes, d. h. auf p_H 7,4 eingestellt, und im allgemeinen verwendet man dafür Natriumcarbonat. Um einer unnötigen Verdünnung aus dem Wege zu gehen, nimmt man festes wasserfreies Na_2CO_3 , und die notwendige Menge wird durch kolorimetrische Methode in einem Vorversuch bestimmt. Zu diesem Zweck ist sehr empfehlenswert die folgende Methode:

Es wird aus dem zur Neutralisation bestimmten Natriumcarbonat eine genau bekannte Lösung bereitet, deren Konzentration ungefähr 2% betragen soll. Diese Lösung ist, in gut verschlossener Flasche aufgehoben, sehr lange Zeit haltbar. Man bestimmt an Hand dieser Lösung die Menge Natriumcarbonates, welche notwendig ist, um das p_H von 10 ccm des fraglichen Serums auf 7,4 zu bringen, rechnet daraus die für das ganze Serum notwendige Menge aus, verreibt dieselbe in einer Reibschale mit 80—100 ccm des Serums, bis sich das Salz vollkommen gelöst hat, und mischt es mit dem übrigen Serum gut durch.

Die gleichfalls infolge der Dialyse verlorene Isotonie des Serums wird durch Hinzufügen von Kochsalz hergestellt. Man verwendet dazu reinstes Salz (Natrium chloratum puriss. cryst. p. Analyse), von welchem dem Serum so viel hinzugefügt wird, bis seine Endkonzentration 0,85% entspricht.

Mit Ausnahme Frankreichs, wo die Sera in nativem Zustand verwendet werden und daher die Einhaltung steriler Kautelen sehr leicht durchführbar ist, verlangen alle Länderbestimmungen, daß dem Serum irgendein Konservierungsmittel zugesetzt werden soll. Die deutschen Sanitätsbehörden schreiben vor, daß — Streptokokken-, Pneumokokken- und Grippeserum ausgenommen — alle Immunsera 0,5% Phenol oder 0,4% Trikresol enthalten müssen. Das Laboratorium des New Yorker Staatl. Sanitätsdienstes verwendet für alle Sera 0,3% Kresol. In den bedeutendsten südamerikanischen Instituten werden Phenol oder Chinosol (Kalium-o-Oxychinolinsulfonat) in einer Konzentration von 0,4% bzw. 0,5 pro Mille verwendet. Das Konservierungsmittel gibt man in Form von konzentrierten (10—20%) Lösungen zu dem Serum. In Substanz (z. B. geschmolzenes Phenol) verursachen dieselben nämlich einen Niederschlag, den man durch Filtration eliminieren muß. Man vermeidet aber gern die Filtration, weil dieselbe jedesmal einen Verlust an Volumen bedeutet.

In den letzten Jahren wurden von der chemischen Industrie verschiedene Konservierungsmittel, wie Nipagin, Nipasol (p-Oxybenzoesäureester), Solbrol A, Solbrol M, Solbrol P, Merthiolat in fester Form auf den Markt gebracht. Sämtliche sind schwerlösliche, organische Säuren bzw. Säureabkömmlinge, die man in noch geringerer Konzentration verwendet als die Carbolsäure oder

ihre Derivate. Das Natriumderivat des Nipasol, das Nipasolnatrium ist jedoch in Wasser gut löslich, und in einer Konzentration von 0,5% ist dasselbe — wie SABALITSCHKA und BÖHM es festgestellt haben — ein viel besseres Konservierungsmittel für die Sera als die Carbolsäure. Die bactericide Wirkung des Nipasolnatriums ist zwar kaum stärker als die des Phenols, was seine entwicklungshemmende Wirkung anbelangt, ist es dem Phenol aber weit überlegen. Ein weiterer Vorteil dieses neuen Konservierungsmittels ist — nach den erwähnten Autoren — seine völlige Ungiftigkeit. Von Merthiolat genügt nach den Untersuchungen POWELLS und JAMIESONS eine Konzentration von nur 0,1—0,2 pro Mille. Auch die verschiedenen Solbrolpräparate werden — von ihrer Qualität abhängig — höchstens in dem Verhältnis 5:10000 gebraucht. Bis jetzt wurde keines dieser von offiziellen Stellen als Konservierungsmittel für Sera zugelassen.

Der Konservativismus, mit dem an der Verwendung von Phenol und Phenolabkömmlingen festgehalten wird, ist keinesfalls begründet, im Gegenteil, es wäre wirklich an der Zeit, um andere Konservierungsmittel zu verwenden bzw. vorzuschreiben, da die Anzahl von phenolempfindlichen Personen nicht unbedeutend ist. Ein sehr triftiges Argument in diesem Sinn wird durch die allgemeine Hypersensibilität der Säuglinge gegeben. Nach SCHLOSSBERGER und HEICHEN ist die intramuskuläre oder intravenöse Injektion von carbolhaltigen Sera für die Säuglinge immer mit unvorausehbaren Komplikationen, sogar Gefahren verbunden, so daß größte Vorsicht am Platz ist.

In manchen Ländern bestehen Vorschriften hinsichtlich des Eiweißgehaltes. In Deutschland ist der Höchstgehalt auf 12% festgesetzt worden. Das staatliche Seruminstitut in Kopenhagen stellt — was Eiweißgehalt anbelangt — zwei verschiedene Typen von Diphtherieserum her. Der eine, dessen Eiweißgehalt unter 10% bleiben muß, soll intramuskulär oder subcutan injiziert werden, der andere mit einem Höchsteiweißgehalt von 15% ist ausschließlich für die intravenöse Verabreichungsform bestimmt. Die New Yorker Sanitätsbehörde erlaubt einen Eiweißgehalt bis zu 19%. In den südamerikanischen Staaten bestehen — wenigstens unseres Wissens nach — überhaupt keine diesbezüglichen Beschränkungen. Einem allzu hohen Eiweißgehalt schiebt jedoch die Filtrierbarkeit einen Riegel vor, so daß derselbe über 20% hinaus schwerlich zu steigern ist.

Soll der Eiweißgehalt des Serums herabgesetzt werden, so verdünnt man es mit physiologischer Kochsalzlösung, der man Konservierungsmittel in gleicher Proportion wie dem Serum hinzugefügt hat.

Die vorletzte Etappe der Serumherstellung besteht in dem Entkeimen.

Handelt es sich um nichtkonzentrierte oder unter sterilen Kautelen gereinigte Sera, so ist ein separates Entkeimen selbstverständlich überflüssig, und man kann sich mit der Beimischung eines Konservierungsmittels begnügen. Die in diesem Aufsatz ausführlich behandelten Verfahren liefern jedoch keine sterilen Endprodukte, so daß ihr Entkeimen unerlässlich ist. Hat man ein euglobulinhaltiges Serum zu entkeimen, so ist es ratsam, dasselbe vorher einige Wochen im Kühlraum aufzubewahren, damit die labilsten Eiweißkörper ausfallen.

Zum Entkeimen bedient man sich mit dem Filtrieren durch irgendeinen für die Bakterien und Schimmelpilze undurchlässigen Filter. Man verwendet

entweder entsprechende Filterkerzen (BERKEFELD, CHAMBERLAND, MANDLER usw.), Jenaer Glasfilter (G 5) oder die Asbestfilter der *Seitz*schen Werke. Welche man von diesen benützt, ist eher durch die Gewohnheit als durch die ausgesprochenen Vorteile eines bestimmten Filters bedingt. Mit Ausnahme des *Seitz*schen Apparates, der Druck beansprucht, wird die Filtration bei sämtlichen mit Hilfe von Vakuum durchgeführt. Die Filterkerzen sind billiger und können in einer sehr einfachen Weise regeneriert werden, haben aber den Nachteil des leichten Verstopfens. Der *Seitz*-Filter eignet sich besonders für große Mengen, ist aber nicht billig, weil man die Platten nur einmal benützen kann.

Ist das Serum nicht ganz klar, so muß es vor dem Entkeimen geklärt werden. Die Klärung wird entweder durch Filtration oder durch Zentrifugieren erzielt.

Zur ersteren nimmt man einen weitporigen keramischen Filter, z. B. Berkefeld V, Chamberland-L-Kerze, Jenaer G 4 Glasfilter oder weitporige Asbestplatten (sog. Klärungsplatten), wenn der *Seitz*-Filter benützt werden sollte. Von den Zentrifugen eignet sich am besten der schon erwähnte *Sharples*-Apparat.

Um eine Keimfreiheit zu erreichen, dürfen die Porendurchmesser

nicht größer als 2μ sein. Die im Handel erhältlichen sämtlichen Bakterienfilter erfüllen diese Forderung, so daß eine Nachprüfung der Filter nur nach einer längeren Benützung notwendig ist.

Die Porendurchmesser der hier in Frage kommenden Filter kann man sehr rasch und bequem mittels der BECHHOLD'schen „Blasendruckmethode“ unter Anwendung der in Abb. 12 wiedergegebenen Anordnung ermitteln. Dieses Verfahren besteht darin, daß man den Filter mit einer Flüssigkeit tränkt und nachher durch denselben Luft durchpreßt. Nach BECHHOLD ergibt in dem Fall die folgende Formel die Porendurchmesser (D):
$$D_{(\text{mm})} = \frac{4 \sigma}{p \cdot 10^3},$$
 wo σ die Oberflächenspannung des Systems Flüssigkeit/Luft, p den in Atmosphären ausgedrückten Druck, bei dem die Luft durchgeht, bedeuten.

In der Praxis nimmt man entweder Wasser oder Isobutylalkohol als Tränkungsflüssigkeit. Da das System Isobutylalkohol/Luft eine niedrigere Oberflächenspannung (23 dyn/cm^2) hat als Wasser/Luft (73 dyn/cm^2), so kann man bei Verwendung des erstgenannten Systems feinere Poren bestimmen als mittels Wasser/Luft.

Die Technik der Bestimmung ist wie folgt: Man läßt den Filter einige Stunden, am besten nachtsüber in der Flüssigkeit stehen, nachher stellt man ihn in ein

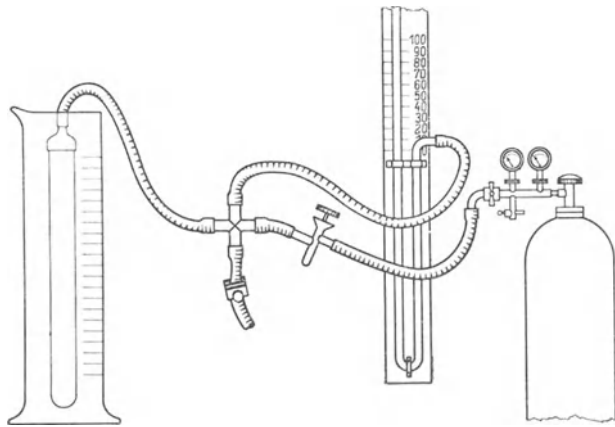


Abb. 12. Anordnung zur Bestimmung der Porendurchmesser einer Filterkerze mittels der Blasendruckmethode (Halbschematisch).

zylindrisches Gefäß. Man verbindet den Vakuumschlauch des Druckluftbehälters mit dem Filter und läßt die Luft langsam hindurchströmen. Man liest den Manometer zweimal ab, und zwar das erste Mal, wenn die ersten Blasen erscheinen, und das zweite Mal, wenn ein allgemeiner Luftdurchtritt zu sehen ist. Die erste Ablesung gibt uns den Durchmesser der größten, die zweite den der Durchschnittsporen an. Hat man z. B. mit dem System Isobutylalkohol/Luft eine *Berkefeld-W-Kerze* zu bestimmen gehabt und die abgelesenen Drucke waren 33,0 bzw. 53,0 cm Hg, so ergibt sich für die größten Poren $\frac{92}{\frac{33}{76} \cdot 10^3} =$

0,00221 mm und für die mittleren Poren $\frac{92}{\frac{53}{76} \cdot 10^3} = 0,00132$ mm Durch-

messer.

Man filtriert das Serum direkt in das Verteilungsgefäß hinüber, so daß es nach dieser Manipulation sofort ampulliert werden kann. Das Verteilungsgefäß muß mit Gummistöpsel, welcher dreimal durchgebohrt ist, verschlossen sein. In zwei Bohrungen kommen in 90° gebogene kurze Glasröhren, in die dritte ein gleichfalls in 90° gebogenes Glasrohr, dessen Ende aber bis zum Boden des Gefäßes geht. Dieses Rohr wird während der Filtration nicht benützt, es dient als Verbindungsstück während des Abfüllens zu dem Verteilungsapparat oder der Bürette. Eins von den beiden kurzen Röhren dient als Verbindungsstück zum Vakuum, das zweite wird wiederum mit dem Filter verbunden. Während des Abfüllens wird das eine kurze Rohr an den Druckluftheizer angeschlossen.

Die Filtration bzw. das Entkeimen ist mit einem unvermeidlichen Verlust sowohl an Volumen als auch an antitoxischem Titer verbunden. Der Volumverlust entsteht dadurch, daß die Filtermasse mit dem zu filtrierenden Serum getränkt wird. Der Titerverlust wird durch Adsorption verursacht. Das Maß beider Arten von Verlust hängt in erster Linie von dem Volumen des Serums und der Dimensionen und Qualität des Filters ab. Ein jeder Filter besitzt ein bestimmtes „Tränkungsvolumen“ und eine bestimmte Adsorptionsfähigkeit oder Adsorptionsoberfläche. Wählt man die richtigen Proportionen (mindestens 5 l Serum pro Kerze von 25 × 5 cm oder mindestens 15 l Serum für den großen *Seitz*schen Apparat), so bleiben sowohl Volum- als auch Titerverlust unter 10%.

Filtriert man größere Quantitäten durch die Kerze und wird der Durchtritt zu langsam, so hilft man sich dadurch, daß man die äußerste Kerzenschicht mit einer aus feinen Messingdrähten angefertigten Bürste oder mit einer ungebrauchten und harten Nagelbürste abkratzt. Nach beendeter Filtration müssen die Kerzen mit destilliertem Wasser, evtl. vorher noch mit verdünnter Lauge eiweißfrei gewaschen, schließlich getrocknet werden. Die Handhabung des *Seitz*-Filters ist in den Prospekten der Firma ausführlich beschrieben.

Es ist wohl überflüssig, zu erwähnen, daß das zur Filtration nötige Gesamtmaterial in Dampf sterilisiert werden soll.

Die Verteilung der Sera wird meistens durch Abfüllen in Ampullen oder kleine Fläschchen aus Büretten vorgenommen. Es existieren zwar verschiedene automatische Vorrichtungen, welche ein genaues Abmessen des Volumens erlauben, doch ist ihr Funktionieren meistens nicht vollkommen störungsfrei, so daß die meisten Laboratorien an der Bürette festhalten.

In manchen Instituten ist es üblich, die verschlossenen Ampullen einer nachträglichen Sterilisation zu unterwerfen, wie es seinerzeit von PASTEUR vorgeschlagen wurde. Zu diesem Zweck werden die Ampullen „tyndallisiert“, worunter man bekanntlich ein fraktioniertes Erwärmen auf 57° versteht. In der Praxis wird das „Tyndallisieren“ derart durchgeführt, daß man das Material an zwei aneinanderfolgenden Tagen eine halbe Stunde bei der genannten Temperatur hält. Praktische Bedeutung hat dieses Verfahren überhaupt nicht, weil, wenn das Serum nicht sowieso keimfrei war, dadurch die Bakterien nicht abgetötet werden, es ist mehr eine Überlieferung, an der man vielleicht nur aus purer Tradition festhält.

Die Prüfung auf Keimfreiheit geschieht meistens an einigen Proben des abgefüllten Serums. Es ist ratsam, eine Probe noch vor Beginn der Verteilung prüfen zu lassen, damit man die Sicherheit hat, daß das Serum den Filter wirklich steril passierte.

Was die Qualität der Ampullen bzw. Fläschchen anbelangt, so ist die Alkalität des Glases im Falle von Serum nicht so wichtig, als wenn es sich um Pockenvaccine (GODINHO und v. KLOBUSITZKY) oder Salze der Alkaloide handelt. Die von AMARAL und Mitarbeitern durchgeführten diesbezüglichen Untersuchungen haben keinen solchen Unterschied in der Titerabnahme festgestellt, den man mit der Reaktion des Serums, also mit dem vom Glas abgegebenen Alkali in Zusammenhang bringen könnte. Bedeutend wichtiger ist die Thermoresistenz und die gute Spaltbarkeit. Die Sera werden bis zum Versand meistens im Kühlraum aufbewahrt, so daß das Glasmaterial einen plötzlichen Temperaturunterschied von 20—30° mit Sicherheit aushalten muß.

Die fertigen und steril gefundenen Ampullen werden noch einzeln durchleuchtet, um eventuelle Glassplitter usw. zu entdecken, und schließlich markiert. Wesentlich ist bei der Markierung, den Titer und die Gültigkeitsdauer des betreffenden Serums anzugeben. Die meisten offiziellen Vorschriften lassen eine fünfjährige Frist zu. Nach Ablauf dieser Zeit werden die Sera von den Herstellungsinstituten zurückgenommen, neu dosiert, evtl. auch sterilisiert.

Anhang.

Bisher haben wir immer nur die eine oder die andere Phase des Konzentrationsprozesses an Beispielen wiedergegeben, besonders über den Filtrationsverlauf wurden keine Protokolle angeführt. Dadurch könnten evtl. falsche Vorstellungen über die Verluste, welche bis zu einem gewissen Grad unvermeidlich sind, erweckt werden, was den Intentionen des Verfassers dieses Aufsatzes entschieden widersprechen würde. Auf Grund unserer Korrespondenz mit den verschiedenen Seruminstituten sind wir zu der Überzeugung gekommen, daß die meisten Laboratorien über ihre Konzentrationsverfahren und über die dabei entstandenen Verluste nichts aussagen wollen, wodurch — vielleicht ungewollt — der Anschein erweckt wird, daß sie ihre Methoden als eine Art von Geheimverfahren betrachten. Aber auf dem Gebiet der Serumherstellung sollte die größte Offenheit herrschen, da es sich dabei in erster Linie nicht darum handeln sollte, wirtschaftliche Interessen vor Augen zu halten und eine eventuelle Konkurrenz von vornherein ausschließen zu wollen, sondern den Kranken oder der Ansteckungsgefahr Ausgesetzten das möglichst Beste und Unschädlichste bieten zu können.

Als logische Folge dieser Auffassung fügen wir nachstehend einige Auszüge aus unseren Versuchsprotokollen bei.

Diphtherieserum. p_H : 8,2. Volumen: 5000 ccm. Titer: 600 internationale Einheiten pro Kubikzentimeter.

I. Fällung mittels 31 % igem gesättigtem $(NH_4)_2SO_4$. 5000 ccm Serum + 2500 ccm H_2O + 2245 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung. Am nächsten Tag filtriert. Filtrat F_1 . Volumen des Filtrates: 9150 ccm. Der Niederschlag wird mit 2500 ccm 31 % iger gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung ausgewaschen, das Waschwasser, dessen Volumen 2560 ccm war, wurde zum F_1 gegeben.

II. Fällung mittels 52 % igem gesättigtem $(NH_4)_2SO_4$. 9150 ccm F_1 + 2560 ccm Waschwasser + 4600 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung.

Am nächsten Tag wird es filtriert. Das Filtrat wird weggegeben, der Niederschlag wird 24 Stunden in den Trichtern gelassen, nachher abgeschabt und in einer Ölpressen ausgepreßt. Das Auspressen dauert 2 Tage. Gewicht der Masse: 420 g. Die Masse wird gegen Leitungswasser in Pergamentsack dialysiert¹.

Leitfähigkeit nach 5 Tagen: $6,84 \cdot 10^{-4}$ r. O. — Leitfähigkeit nach weiteren 3 Tagen, von denen 2 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert wurde: $8,87 \cdot 10^{-4}$ r. O.

Dialyse zu Ende. Volumen des Dialysates: 2160 ccm².

Wird zwischen 2 Pergamentmembranen in einem Dreizellenapparat unter ständigem Rühren elektrodialysiert. Elektrodenoberfläche: 524 cm².

Bei Beginn der Elektrodialyse. Spannung: 40 V. Stromstärke: 100 mA.

Nach 24 Stunden. Spannung: 95 V. Stromstärke: 50 mA.

Leitfähigkeit: $7,15 \cdot 10^{-5}$ r. O. Rührer wird ausgeschaltet.

Nach weiteren 12 Stunden. Spannung: 110 V. Stromstärke: 25 mA.

Leitfähigkeit: $4,08 \cdot 10^{-5}$ r. O.

Aus der oberen klaren Flüssigkeit wurden 325 ccm abgehebert.

Nach Hinzufügen von 2 Tropfen einer gesättigten K_2SO_4 -Lösung wird das Serum gut durchgemischt und weiter elektrodialysiert. In 6 Stunden bildet sich wieder eine klare Flüssigkeitsschicht, aus der 300 ccm abgehebert werden. Die Elektrodekantation wird damit als beendet betrachtet. Volumen des Produktes: 2450 ccm.

Einstellung des p_H . 10 ccm des Serums brauchen 0,76 ccm 2 % iger Na_2CO_3 -Lösung, um ein p_H von 7,4 zu haben (Indicator: Phenolrot). Es werden 3,72 g Na_2CO_3 in 100 ccm Serum gelöst, nachher wird die Lösung mit der ganzen Serummengung vermischt. Man fügt 20,83 g NaCl und 49 ccm einer 20 % igen Carbonsäurelösung hinzu. Es wird dosiert. Enthält: 1050—1150 Einheiten pro Kubikzentimeter. Da das Produkt vollkommen klar ist, wird es nur einmal, durch eine BERKEFELD-W-Kerze filtriert (Volumen nach dem Entkeimen: 2300 ccm), nachher ampulliert und wieder dosiert. Titer des Endproduktes: 1000—1050 Einheiten pro Kubikzentimeter.

Verlust vor der Filtration (1100 Einheiten): 10 %.

Verlust nach der Filtration (1000 Einheiten): 23 %.

Ausbeute: 213 verwertbare Ampullen von 10 ccm, enthaltend je 10000 Einheiten. Gesamtverlust: 29 %.

Tetanuserum. p_H 8,4. Volumen: 5400 ccm. Titer: 1000 amerikanische Einheiten pro Kubikzentimeter.

Fällung durch 52 % ige Sättigung mit $(NH_4)_2SO_4$. 5400 ccm Serum + 2700 ccm H_2O + 8425 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung.

Am nächsten Tag wird filtriert. Volumen des Filtrates: 12800 ccm. Der Niederschlag wird mit 4000 ccm 52 % iger gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung ausgewaschen, das Waschwasser wird weggegeben. Der Niederschlag wird nach 24stündigem Trocknen in den Trichtern abgeschabt und in einer Ölpressen vorsichtig ausgepreßt. Das Auspressen nimmt 2 Tage in Anspruch. Gewicht der Masse: 850 g. Die Masse wird gegen Leitungswasser in Pergamentsäcken 9 Tage, bis Beginn der Euglobulin-Ausfällung dialysiert. Die Dialyse wird 1 Tag gegen destilliertes Wasser fortgesetzt.

Dialyse zu Ende. Volumen des Dialysates: 4600 ccm. Leitfähigkeit des Dialysates: $5,14 \cdot 10^{-4}$ r. O.

¹ Das Leitungswasser hatte eine Leitfähigkeit von $3,70 \cdot 10^{-5}$ r. O.

Wird 2 Tage im Kühlraum bei 4° aufbewahrt. Die Menge des Bodensatzes nimmt in dieser Zeit deutlich zu. Wird dekantiert und zentrifugiert. Das Dekantat (4350 ccm) wird in einem Dreizellenapparat (Elektrodenoberfläche: 524 cm²) dialysiert.

Bei Beginn der Elektrodialyse. Spannung: 25 V, Stromstärke: 45 mA.

Nach 48 Stunden. Spannung: 80 V. Stromstärke: 40 mA. Leitfähigkeit: $7,50 \cdot 10^{-5}$ r. O.

Man läßt nachtsüber stehen. Da am nächsten Tag keine deutliche Schichtung erfolgt ist, wird der größte Teil abgehebert und der Rest zentrifugiert. Volumen des Elektrodialysates: 4175 ccm. Wird durch Vakuumdestillation auf 2200 ccm eingengt.

Einstellung des p_H . Ergänzung des Salzgehaltes sowie Konservierung werden wie beim Diphtherieserum beschrieben gemacht. Titer des Endproduktes: 2150—2200 Einheiten pro Kubikzentimeter. Da das Produkt nicht geklärt werden muß, wird es nur einmal durch eine BERKEFELD-W-Kerze filtriert. Volumen des entkeimten Serums: 2105 ccm. Die diesmalige Dosierung ergab einen Titer von ungefähr 2100 Einheiten pro Kubikzentimeter¹.

Verlust vor der Filtration (2150 Einheiten): 14,2%.

Verlust nach der Filtration (2100 Einheiten): 18,1%.

Ausbeute: 382 verwertbare Ampullen von 5 ccm, enthaltend je 10000 amerikanische Einheiten.

Gesamtverlust: 30%.

Literatur.

AGUAYO Y DE LA PEÑA, M.: Herstellung und Konzentrierung des Meningokokkenheilsersums.

Feststellung einer neuen Meningokokkenabart. Zbl. Bakter. Ref. **108**, 559 (1932/33).

— u. A. CASTRO: Konzentrierung des Pneumokokkenserums mit Äthylalkohol als Fällungsmittel. Zbl. Bakter. Ref. **113**, 61 (1934).

AMARAL, A. DO, J. B. ARANTES e F. FONSECA: Sobre a duração da actividade das anti-toxinas e antivenenos. Mem. Inst. Butantan (port.) **7**, 321 (1932).

ARRUDA, P., D. VON KLOBUSITZKY u. P. KÖNIG: Über eine hochempfindliche Anordnung zur Messung des Leitvermögens schlecht leitender Flüssigkeiten. Z. Elektrochem. Erscheint demnächst.

ASTBURY, W. T. and D. M. WRINCH: (1) Intramolecular folding of proteins by keto-enol interchange. Nature (Lond.) **139**, 798 (1937).

— — (2) The x-ray interpretation of protein structure. Chem. Weekbl. **33**, 778 (1936).

AVERY, O. T.: The distribution of the immune bodies occurring in antipneumococcus serum. J. of exper. Med. **21**, 133 (1915).

BÄCHER, S.: Konzentration und Reindarstellung der Antikörper. W. KOLLE, R. KRAUS, P. UHLENHUTH: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Aufl. Jena: Gustav Fischer. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1929. (Hier ist die gesamte ältere Literatur zusammengestellt.)

BECHHOLD, H. u. A. ROSENBERG: Elektro-Ultrafiltration von Gelatine und Leim. Biochem. Z. **157**, 85 (1925).

BERTHELSEN, K. C. and PH. P. MURDICK: The distribution of electrolytes in serum during immunization. J. of Immun. **21**, 69 (1931).

BETHE, A. u. TH. TOROPOFF: (1) Über elektrische Vorgänge an Diaphragmen. 1. Mitt. Die Neutralitätsstörung. Z. physik. Chem. **88**, 686 (1914).

— — (2) Über elektrolytische Vorgänge an Diaphragmen. 2. Mitt. Die Abhängigkeit der Größe und Richtung der Konzentrationsänderungen und der Wasserbewegung von der H-Ionenkonzentration. Z. physik. Chem. **89**, 597 (1915).

BLANK, F. u. E. VALKÓ: Das Schichtungsphänomen bei der Elektrodialyse als elektro-phoretische Erscheinung. Biochem. Z. **195**, 220 (1928).

BRADFIELD, R.: Zur Theorie der Elektrodialyse. Naturwiss. **16**, 404 (1928).

BRINTZINGER, H.: (1) Dialyse. 1. Mitt. Das Geschwindigkeitsgesetz der Dialyse. Z. anorg. Chem. **168**, 145 (1927).

— (2) Dialyse. 2. Mitt. Dauer und Geschwindigkeit der Dialyse als Funktion der „spezifischen Oberfläche“. Z. anorg. Chem. **168**, 150 (1927).

— u. B. TROEMER: Dialyse. 3. Mitt. Der Temperaturkoeffizient der Dialyse. Z. anorg. Chem. **172**, 426 (1928).

BROWN, A. M.: Felton antibody, its distribution and purity as determined by salting out methods. J. of Hyg. **33**, 252 (1933).

¹ Mit Rücksicht auf den Wert dieses Serums wurde vorher ein verdünntes, minderwertiges Tetanusserum durch die Kerze filtriert, daher der geringe Filtrationsverlust.

- BRUCE, D.: Tetanus, analysis of 1458 cases, which occurred in home military hospitals during the years 1914—1918. *J. of Hyg.* **19**, 1 (1920/21).
- CHICK, H.: (1) The viscosity of protein solutions. II. Pseudoglobulin and euglobulin (horse). *Biochemic. J.* **8**, 261 (1914).
- (2) Note on a further concentration of „concentrated“ diphtheria antitoxin as a result of spontaneous „denaturation“ of the pseudo-globulin with which associated. *J. of Path.* **19**, 131 (1914/15).
- and E. LUBRZYNSKA: The viscosity of some protein solutions. *Biochemic. J.* **8**, 59 (1914).
- CSAPÓ, J. u. D. v. KLOBUSITZKY: (1) Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Salzflockung der Serumeiweißkörper. 1. Mitt. *Biochem. Z.* **151**, 90 (1924).
- — (2) Blutgerinnung und die HOFMEISTERSche Ionenreihe. *Biochem. Z.* **157**, 354 (1925).
- DEMnitz, A. u. W. SCHOLZ: Über die Resorption von Heilserumpräparaten mit verschiedener Eiweißkonzentration. *Klin. Wschr.* **1932 I**, 588.
- EBELING, E.: Über unspezifische Adsorption von Bakteriophagen. *Diss. Münster i. W.* 1935.
- ELSER, W. J., R. A. THOMAS and G. I. STEFFEN: The desiccation of sera and other biological products (including microorganismus) in the frozen state with the preservation of the original qualities of products so treated. *J. of Immun.* **28**, 433 (1935).
- ETTISCH, G., R. BRADFIELD u. W. EWIG: Zur Frage der Elektrodialyse des Serums. *Kolloid-Z.* **45**, 141 (1938).
- W. EWIG u. H. SACHSE: Über gegenseitige Beeinflussung der Löslichkeit von Proteinen. *Biochem. Z.* **203**, 147 (1928).
- u. H. SACHSE: Zur Frage der chemischen Selbständigkeit der Serumproteine. *Biochem. Z.* **230**, 129 (1931).
- FALK, K. G., G. MCGUIRE, E. VALENTINE and E. WHITNEY: Studies on antibodies. II. Antipneumococcus serum. *J. of Immun.* **21**, 199 (1931).
- — and C. ROSENSTEIN: Studies on antibodies. VI. Dried antimeningococcus serums. *J. of Immun.* **22**, 445 (1932).
- FELTON, L. D.: (1) The protective substance in antipneumococcus serum. IV. A separation of phosphorus and some inert protein from the water insoluble precipitate of antipneumococcus serum. *J. inf. Dis.* **42**, 248 (1928).
- (2) Concentration of pneumococcus antibody. *J. inf. Dis.* **43**, 543 (1928).
- (3) The use of ethyl alcohol as precipitant in the concentration of antipneumococcus serum. *J. of Immun.* **21**, 357 (1931).
- (4) Dissociation of the specific protein precipitate of antipneumococcus horse serum, and a comparison with a protein isolated from this immune serum. *J. of Immun.* **22**, 453 (1932).
- FRANKEL, M.: A method of separating antibodies from serum proteins. Investigations on a proteinfree antibody. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **111**, 165 (1932).
- FROUTIN, A.: Influence de la temperature de la coagulation du sérum antidiphthérique sur l'extraction par les solutions de NaCl. *C. r. Soc. Biol. Paris* **68**, 173 (1910).
- GERLOUGH, T. D.: The relation of incidence of serum disease to the square root of amount of antiserum injected. *J. inf. Dis.* **56**, 316 (1935).
- and W. WHITE: Purification of concentrated antitoxins. *J. of Immun.* **22**, 331 (1932).
- GLENNY, A. T. and M. BARR: The precipitation of diphtheria toxoid by potash alum. *J. of Path.* **34**, 118, 131 (1931).
- G. A. H. BUTTLE and M. STEVENS: Rate of disappearance of diphtheria toxoid into rabbits and guinea-pigs. *J. of Path.* **34**, 267 (1931).
- A. G. HAMP and M. LLEWELLYN-JONES: Adsorption of diphtheria antitoxin. *Brit. J. exper. Path.* **12**, 21 (1931).
- GODINHO, R. et D. VON KLOBUSITZKY: Influence du p_H sur l'activité du virus vaccinal. *C. r. Soc. Biol. Paris* **95**, 1352 (1934).
- GRABAR, P.: Données récentes dans le domaine de l'ultrafiltration fractionnée. *Bull. Soc. Chim. biol. Paris* **17**, 1245 (1936).
- GRALLERT, W.: Beiträge zur Messung des Leitvermögens hochverdünnter Elektrolytlösungen. *Z. Elektrochem.* **42**, 330 (1936).
- HALLE, F.: Über den Aufbau der Eiweißmoleküle. *Kolloid-Z.* **81**, 334 (1937).
- HAMMARSTEN, O.: Über die Anwendung des Magnesiumsulfates zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Serumalbumin und Serumglobulin. *Z. physiol. Chem.* **8**, 467 (1897).

- HANSEN, A. et S. SCHMIDT: Préparation de l'hydroxyde d'aluminium destiné à l'adsorption des toxines (anatoxines) et d'ultravirus. C. r. Soc. Biol. Paris **120**, 1150 (1935).
- HARDY, W. B. and S. GARDNER: Proteins of blood plasma. J. of Physiol. **40**, 68 (1910).
- HETSCH, H. u. R. BIELING: Vergleiche über die Heilwirkung von konzentriertem und nicht-konzentriertem antitoxischem Serum. Arb. Inst. exper. Ther. Frankf., Festschr. f. W. KOLLE, S. 230. 1924.
- HEWITT, L. F.: (1) Separation of serum albumin into two fractions. I. Biochemic. J. **30**, 2229 (1936).
- (2) Separation of serum albumin into two fractions. II. Observations on the nature of the glycoprotein fraction. Biochemic. J. **31**, 360 (1937).
- (3) Note on the presence of a new serum protein in the blood of various animals. Biochemic. J. **31**, 1534 (1937).
- HEYMANN, E.: Dialyse und Ultrafiltration, Elektrodialyse und Elektroultrafiltration. Z. physik. Chem. **118**, 65 (1925).
- HILDEBRANDT, A.: Über die Verwendung von gereinigt-eiweißarmen Heilseren bei Diphtheriekranken. Klin. Wschr. **1935 II**, 1563.
- HOMER, A.: (1) An improvised method for the concentration of antitoxic sera. J. of Hyg. **15**, 388 (1916).
- (2) Improvements in the technique of the concentration of antitoxic sera. J. of Hyg. **17**, 51 (1917).
- (3) A comparison between the precipitation of antitoxic sera by sodium sulphate and by ammonium sulphate. Biochemic. J. **13**, 278 (1919).
- HOWE, P. E.: The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J. of biol. Chem. **49**, 93 (1921).
- HUNT, L. W.: Recent observations in serum diseases. J. amer. med. Assoc. **99**, 909 (1932).
- ITO, T. u. W. PAULI: Untersuchungen an elektrolytfreien Proteinen. 8. Mitt. Freie Ladung und Neutralsalzbeziehungen reiner Proteine. Biochem. Z. **213**, 95 (1929).
- JAMIESON, W. A. and H. M. POWELL: Merthiolate as a preservative for biological products. Amer. J. Hyg. **14**, 218 (1931).
- JIRGENSONS, B.: Über die Flockung lyophiler Kolloide durch Nichtelektrolyte und Salze. Kolloidchem. Beih. **44**, 286 (1936).
- JONES, L. and M. S. FLEISHER: The relation of serum protein fractions to serum-sickness in rabbits. J. of Immun. **26**, 455 (1934).
- KIRKBRIDGE, M. B., J. L. HENDRY and P. P. MURDICK: The concentration and standardization of type-I antipneumococcus serum. Amer. J. Hyg. **23**, 187 (1936).
- KLIGLER, I. J. and L. ÖLITZKI: Studies on protein-free suspensions of viruses. I. The adsorption and elution of bacteriophage and fowlpox viruses. Brit. J. exper. Path. **12**, 172 (1931).
- KLINKE, K.: Blut. L. LICHTWITZ, R. E. KIESEGANG und K. SPIRO: Medizinische Kolloidlehre. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1935.
- KLOBUSITZKY, D. VON: (1) Über die Frage der Einheit der Serumeiweißfraktionen. Kolloidchem. Beih. **32**, 382 (1931).
- (2) Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Salzflockung der Serumeiweißkörper. 2. Mitt. Biochem. Z. **209**, 304 (1929).
- (3) Physikalisch-chemische Studien über Eiweiß-Alkoholgemische. 1. Mitt. Über den Einfluß des Äthylalkohols auf die Hitzegerinnung der Serumeiweißkörper. Biochem. Z. **271**, 385 (1934).
- (4) Über die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten mit Rücksicht auf die HOFMEISTERSche Ionenreihe. Biochem. Z. **157**, 277 (1925).
- (5) Electro-ultrafilter for industrial use. J. physic. Chem. (Im Druck.)
- (6) Concentration of tetanic antitoxin by adsorption. J. of Immun. **35**, 329 (1938).
- e C. v. MAGYARY: Sobre a viscosidade dos corpos albuminosos bicarbonatados. Mem. Inst. Butantan (port.) **7**, 5 (1933).
- u. W. PAULI: Untersuchungen an elektrolytfreien Proteinen. 11. Mitt. Elektrochemische Zusammensetzung hochgereinigter Eiweißlösungen. Biochem. Z. **260**, 201 (1933).
- KÖNIG, P. u. W. PAULI: Über Proteinionenbeweglichkeit. Biochem. Z. **252**, 325 (1932).
- LECOMTE DU NOUY, P.: (1) Études sur la viscosité du sérum sanguin en fonction de la température et sur l'hydratation de ses protéines. Ann. Inst. Pasteur **42**, 742 (1928).

- LECOMTE DE NOUY, P.: (2) Étude sur le pouvoir rotatoire et la dispersion rotatoire du sérum, en fonction du temps et de la température. *Ann. Inst. Pasteur* **43**, 749 (1929).
- (3) Recherches sur la température critique du sérum (55—58°) au moyen des mesures photométriques. *Ann. Inst. Pasteur* **44**, 109 (1930).
- (4) Recherches sur la température critique du sérum. Mesure du facteur de dépolari-sation. Mécanisme de la coagulation par le chaleur. *Ann. Inst. Pasteur* **45**, 251 (1930).
- (5) Recherches sur la température critique du sérum. Équilibres ioniques du sérum en fonction de la température. *Ann. Inst. Pasteur* **48**, 187 (1932).
- (6) Recherches sur le sérum et sa température critique. La conductivité électrique du sérum en fonction de la température. *Ann. Inst. Pasteur* **50**, 127 (1933).
- LIU, CHOW and KWAN-HUA: Effect of immunization on the distribution of serum proteins. *Chin. J. Physiol.* **11**, 201 (1937). *Zit. nach Ber. Physiol. B* **99**, 499 (1937).
- LORAU-DESSUS: Recherches sur l'électrophorèse des immunosérums. *J. Chim. physique* **34**, 149 (1937).
- LUSTIG, B.: Zur Kenntnis der Unterfraktionen der Globuline und Albumine im Serum. *Biochem. Z.* **225**, 247 (1930).
- u. P. HAAS: Zur Kenntnis der Unterfraktionen der Globuline und Albumine im Serum. 3. Mitt. Die elementare Zusammensetzung, die Verteilung des Amid-N, Humin-N, Diamino-N, Mono- und Nichtamino-N, des Tryptophans und der Kohlenhydrate auf die einzelnen Unterfraktionen des Rinderserums. *Biochem. Z.* **231**, 472 (1931).
- u. R. KATZ: Zur Kenntnis der Unterfraktionen der Globuline und Albumine im Serum. 2. Mitt. Die Verteilung der Lipotide, des Präzipitinogens und der Bakterienagglutinine auf die einzelnen Unterfraktionen des Rinderserums. *Biochem. Z.* **231**, 39 (1931).
- MACCONKEY, A. T.: (1) On the concentration of serum by means of sodium sulphate. *I. J. of Hyg.* **22**, 4 (1924).
- (2) On the concentration of serum by means of sodium sulphate. *II. J. of Hyg.* **22**, 413 (1924).
- MERRIL, M. H. and M. S. FLEISHER: Simple method for obtaining antisera in a dry state. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **29**, 799 (1932).
- MEYERS, H. R.: A contribution to the study of the etiology of serum disease. *J. of Immun.* **22**, 83 (1932).
- MODERN, F. et G. RUFF: Polarimétrie, réfractométrie et contenu protéique des sérums de chevaux immunisés. *C. r. Soc. Biol. Paris* **123**, 501 (1936).
- MÖRCH, J. R.: Über gereinigtes und konzentriertes Serum gegen Diphtherie. *Zbl. Bakter.* **123**, 297 (1932).
- MURDICK, P. P.: Note on the further purification of diphtheria and tetanus antitoxin concentrated by ammonium-sulfat fractionation. *J. of Immun.* **17**, 269 (1929).
- and S. M. COHEN: (1) A note on the fractionation of antimeningococcus serum. *J. of Immun.* **24**, 531 (1933).
- — (2) A note on the concentration and purification of antimeningococcus serum. *J. of Immun.* **28**, 205 (1935).
- MUTZENBACHER, P. v.: (1) Untersuchung der bei Serumelektrodialyse auftretenden Eiweißfraktionen mit der Ultrazentrifuge. *Biochem. Z.* **235**, 425 (1931).
- (2) Die Fraktionen des Serums. *Biochem. Z.* **266**, 250 (1933).
- NISHIKAWA, S. and S. ONO: Transmission of x-rays through fibrons, lamellar and granular substances. *Proc. Tokyo math.-physic. Soc.* **7**, 131 (1913).
- OLITZKI, L.: Electric charge of antibodies. *J. of Immun.* **24**, 505 (1933).
- ORNSTEIN, O.: (1) Über den Eiweißaufbau des Serumglobulins und dessen Beziehungen zu den Antikörpern. *Klin. Wschr.* **1928 II**, 1081.
- (2) Über die Verteilung der Antitoxine im Serumglobulin mit besonderer Rücksicht auf die Serumreinigung und -konzentration durch Elektrosmose. *Z. Immun.forsch.* **57**, 507 (1928).
- OTTO, R. u. K. IWANOFF: Anaphylaktischer Reaktionskörper und Präcipitin. *Z. Immun.forsch.* **54**, 496 (1928).
- PARK, W. H.: Deleterious effects from serum injections. *Amer. J. publ. Health* **18**, 354 (1928).
- PAULI, W.: Kolloidchemie der Eiweißkörper. *Kolloid-Z.* **31**, 252 (1922).
- u. E. VALKÓ: (1) Elektrochemie der Kolloide. Wien: Julius Springer 1929.
- — (2) Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1933.

- PAVELL, H. M., W. A. JANNIESON and G. F. KEMPF: On the relation of heterophile antigen to serum sickness. *J. of Immun.* **29**, 267 (1935).
- PIETTRE, M. et A. VILA: Sur la séparation des protéines du sérum. *C. r. Acad. Sci. Paris* **170**, 1466 (1920).
- (2) Sur quelques propriétés de la sérine. *C. r. Acad. Sci. Paris* **171**, 371 (1921).
- PIRIE, A.: Adsorption experiments with the Rous sarcoma virus. *Brit. J. of exper. Path.* **12**, 373 (1931).
- POWELL, H. M. and W. A. JAMIESON: Merthiolate as a germicide. *Amer. J. Hyg.* **13**, 296 (1931).
- PRAUSNITZ, P. H. u. J. REITSTÖTTER: Elektrophorese, Elektroosmose, Elektrodialyse. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopf 1931.
- REITSTÖTTER, J. u. G. LASCH: Über die Konzentration von Eiweißlösungen und anderen Solen hydrophiler Kolloide mit Hilfe des elektrischen Stromes. *Biochem. Z.* **165**, 90 (1925).
- ROSENHEIM, A. H.: Adsorption and elution of agglutinins. *J. of Path.* **40**, 75 (1935).
- ROST, F.: Über die Anwendung von Serum bei chirurgischen Krankheiten. *Zbl. Chir.* **61**, 329 (1920).
- RUPPEL, W. G.: Das Verhalten der Eiweißkörper und Antitoxine dem elektrischen Strom gegenüber und die elektroosmotische Isolierung von reinen Eiweiß-Antitoxinen. *Ber. dtsh. pharmak. Ges.* **30**, 314 (1920).
- SABALITSCHKA, Th. u. E. BÖHM: Über die Sterilisation und Sterilhaltung von Normalserum mit Phenol, Trikresol und Nipazol. *Zbl. Bakter. Orig.* **123**, 351 (1932).
- SCHAER, H.: Tetanusprophylaxie und Serumkrankheit. *Schweiz. med. Wschr.* **1934 I**, 791.
- SCHLOSSBERGER, H. u. K. HEICHEN: Bedeutet der Zusatz von Phenol eine Gefahr für die Gesundheit, besonders für die Säuglinge? *Z. ärztl. Fortbild* **1936 I**, 588.
- SCHMIDT, A. A. u. K. TULJTSCHINSKAJA: Biochemische Beiträge zur Immunitätsforschung. 1. Mitt. Einfluß der Immunisation auf den Serumeiweißgehalt. *Z. Immun.forsch.* **70**, 8 (1931).
- SCHMIDT, S.: Sur la mode de préparation des toxins et anatoxins diphtérique purifiées et hyperconcentrées. *C. r. Soc. Biol. Paris* **107**, 327 (1931).
- SEELICH, F.: Recherches sur le sérum et sa température critique. Pouvoir émulsionnant du sérum. „Nombre d'éther“. *Ann. Inst. Pasteur* **52**, 540 (1934).
- SORDELLI, A.: Notas sobre la concentración de sueros antitóxicos. *Rev. Inst. bacter. Buenos Aires (span.)* **2**, 211 (1919).
- SPIEGEL-ADOLF, M.: Neue Beiträge zur Eiweißdenaturierung. 3. Mitt. Adsorption und Elution von Serumweißkörpern mit besonderer Berücksichtigung der Reversibilität der Proteinveränderungen. *Biochem. Z.* **252**, 37 (1932).
- SULTIFF, W. D. and M. FINLAND: Type I lobar pneumonia treated with concentrated pneumococcic antibody (FELTON). *J. amer. med. Assoc.* **96**, 1465 (1931).
- SVEDBERG, Th. u. I. B. ERIKSSON-QUENSEL: Molekülkonstanten der Eiweißkörper. *Tab. Biol. Period.*, Bd. 5, Lief. 11, S. 351. 1935/36.
- SZIRMAI, F.: Experimentelle Untersuchungen über die Grenze des Heilwertes der Diphtheriesera. *Arch. Kinderheilk.* **94**, 45 (1931).
- TASMAN, A. u. A. B. F. PONDMAN: Zur Reinigung des Diphtherietoxins und Anatoxins. 1. Mitt. *Z. Immun.forsch.* **72**, 245 (1931).
- u. J. P. VAN WAASBERGEN: Reinigung von Diphtherietoxin und Anatoxin. 3. Mitt. Vergleichende Reinigungen durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd-Suspension und Fällung mit Aluminiumsulfat. *Z. Immun.forsch.* **75**, 164 (1932).
- TISELIUS, A.: Electrophoresis of purified antibody preparations. *J. of exper. Med.* **65**, 641 (1937).
- VALENTINE, E., G. MCGUIRE, E. WHITNEY and K. G. FALK: Studies on antibodies. III. Agglutinin and precipitin reactions of dried antipneumococcus preparations after storage under various conditions. *J. of Immun.* **21**, 221 (1931).
- WADSWORTH, A. B.: Standard methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health. Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1927.
- and R. BROWN: Chemical and immunological studies of the pneumococcus. I. A specific antigenic carbohydrate of type I pneumococcus. *J. of Immun.* **21**, 245 (1931).
- WEAVER, G. H.: Serum disease. *Arch. internat. Med. (Chikago)* **3**, 485 (1909).

VI. Die Konservierung von Fleisch durch Einfrieren.

Von
E. KALLERT-Berlin.

Mit 2 Abbildungen.

Inhalt.

	Seite
Einleitung: Entwicklung und Vergleich mit anderen Konservierungsverfahren . . .	308
A. Wirkung von Gefriertemperaturen auf Fleisch	311
1. Gefriervorgang	311
2. Gefrierveränderungen	314
3. Verhalten der Gefrierveränderungen beim Auftauen	320
4. Konservierende Wirkung des Einfrierens	324
B. Durchführung der Fleischkonservierung durch Einfrieren	327
1. Schlachtstätten und Kühlhäuser	327
2. Auswahl und Vorbereitung der Schlachttiere	328
3. Schlachtung und Zurichtung	329
4. Vorkühlung	332
5. Einfrieren	333
6. Lagerung	334
7. Transport	337
8. Auftauen	338
C. Gebrauchswert und ernährungspolitische Bedeutung gefrorenen Fleisches	341
Literatur	344

Einleitung: Entwicklung und Vergleich mit anderen Konservierungsverfahren.

Die konservierende Wirkung von Gefriertemperaturen auf Fleisch ist schon frühzeitig erkannt und von jeher durch Verwendung der in kalten Gegenden oder im Winter vorhandenen natürlichen Kälte nutzbar gemacht worden. Die planmäßige Konservierung von Fleisch durch Einfrieren wurde jedoch erst durch die Erfindung der künstlichen Kälteerzeugung auf maschinellem Weg ermöglicht. Mittels der Kältemaschine, die annähernd gleichzeitig in Deutschland, England und Frankreich um 1870 erfunden und in praktisch brauchbare Formen gebracht wurde, konnten nunmehr Gefriertemperaturen unabhängig von äußeren Verhältnissen hergestellt und eingehalten werden. Durch die Errichtung maschinell betriebener Gefrieranlagen zu Land und ihren Einbau in Schiffe war die technische Voraussetzung für die Schaffung großer Bestände an gefrorenem Fleisch und deren Versand auf weite Entfernungen gegeben. Dieser Umstand sollte in der Folgezeit von außerordentlicher Bedeutung für das Wirtschaftsleben einiger überseeischer Länder und für die Ernährung der europäischen Industriestaaten, vor allem Großbritanniens, werden.

In England war um 1860 eine ernste Gefährdung der Fleischversorgung eingetreten, weil die einheimische Erzeugung nicht im entferntesten ausreichte, den infolge der fortschreitenden Industrialisierung und des Anwachsens der

Bevölkerung rasch zunehmenden Fleischbedarf zu decken. Zur gleichen Zeit hatte die Viehzucht in Australien und Neuseeland einen derartigen Aufschwung genommen, daß unbedingt ein Weg zur lohnenden Verwertung des Überschusses gefunden werden mußte. Die dort begründete Büchsenfleischindustrie genügte nicht, die Überproduktion aufzunehmen und die Fleischversorgung Englands fühlbar zu verbessern, der Versand von lebendem Vieh kam wegen der weiten Entfernung nicht in Betracht. Eine befriedigende Lösung dieser Frage brachte erst die Anwendung der maschinell erzeugten Kälte zum Einfrieren und Versand des Fleisches. Nach den Angaben von J. TR. CRITCHELL und J. RAYMOND sind als die ersten Pioniere auf dem Gebiet der Fleischkonservierung durch maschinell hergestellte Kälte die Engländer TH. S. MORT und J. HARRISON anzusehen, die grundlegende Versuche in Australien machten, und die Franzosen CHARLES TELLIER und CARRÉ, deren Verdienst die erste völlig gelungene Verschiffung von gefrorenem Fleisch von Argentinien nach Frankreich im Jahr 1877 war. In Deutschland nahm CARL VON LINDE 1874 das erste Patent auf eine von ihm erfundene Kältemaschine. Seine Arbeiten gaben der Entwicklung der Kälteindustrie einen mächtigen Auftrieb und wurden bald im In- und Ausland verwertet.

In rascher Folge entstanden in Australien und Neuseeland sowie in den La-Plata-Staaten Argentinien und Uruguay Gefrieranlagen von großer Leistungsfähigkeit, die täglich viele Tausende von Rindern und Schafen zu schlachten und einzufrieren vermochten. Der Viehbestand dieser Länder wurde planmäßig veredelt und auf eine erstaunliche Höhe der Fleisch- und Fettproduktion gebracht. Eine Flotte von Dampfern mit Gefrieranlagen, deren Zahl 1912 schon über 200 betrug, besorgte den Transport der gewaltigen Fleischmengen aus den überseeischen Erzeugungsgebieten nach Europa, besonders nach England, das bald über die Hälfte seines gesamten Fleischbedarfs aus der Einfuhr deckte.

Eine besondere Rolle spielte das gefrorene Fleisch während des Weltkrieges. Während die verbündeten Gegner die Versorgung ihrer Bevölkerung und ihrer Heere zu einem großen Teil dadurch sicherstellten, daß sie die Einfuhr aus Übersee in ungeahntem Maße steigerten, sah sich Deutschland gezwungen, beträchtliche Mengen von Rind- und Schweinefleisch aus seiner Inlandserzeugung einzufrieren und auf Vorrat zu legen, um einerseits Schwierigkeiten in der Futterbeschaffung zu beheben und andererseits die Rationierung des immer knapper werdenden Fleisches durchführen zu können. Es tauchte also damals schon aus der Not der Kriegszeit heraus der Gedanke auf, dem später im neuen Deutschland endgültig Geltung verschafft wurde, mit Hilfe des Gefrierverfahrens zeitliche und örtliche Schwankungen in der Erzeugung und im Bedarf an Fleisch auszugleichen.

Nach dem Krieg fand überseeisches Gefrierfleisch auch in andere europäische Länder Eingang und bürgerte sich hier rasch ein, so nach Italien, Belgien, Holland, Frankreich und Deutschland. Die deutsche Gefrierfleißeinfuhr stieg von 25 Millionen Kilogramm im Jahr 1922 auf 123 Millionen im Jahr 1927, um dann infolge gesetzlicher Maßnahmen, die zur Stützung des einheimischen Fleischmarktes ergriffen wurden, schnell abzusinken und 1930 ganz aufzuhören. Ein ähnliches Bild zeigte die Entwicklung der Gefrierfleißeinfuhr auch in den anderen Ländern des europäischen Festlandes, wo der Bedarf an überseeischem

Fleisch in dem Maß geringer wurde, in dem sich die Inlandserzeugung steigerte. Die stärkste Einfuhr von Fleisch aus Übersee hat nach wie vor England aufzuweisen, doch nahm hier die Nachfrage nach Gefrierfleisch (Frozen Meat) immer mehr zugunsten des Kühlfleisches (Chilled Meat) ab.

Eine besondere Bedeutung hat neuerdings die Konservierung von Fleisch durch Einfrieren für Deutschland erlangt. Seit Beginn des Jahres 1936 wird wieder Gefrierfleisch aus Argentinien und Uruguay eingeführt auf Grund der Handelsverträge, die mit diesen Staaten geschlossen wurden. Die Einfuhr und Verteilung dieses Fleisches liegt ausschließlich in Händen der Regierung, die es je nach den Bedürfnissen des inneren Marktes dem unmittelbaren Verbrauch zuführt oder auf Vorrat legt. Ferner werden die zu bestimmten Zeiten anfallenden Überschüsse an Schweinen aus der einheimischen Erzeugung und aus der Einfuhr eingefroren und so lange gelagert, bis sie zur Ausfüllung von Lücken in der Versorgung der Bevölkerung mit Schweinefleisch benötigt werden. Damit erfüllt das Gefrierverfahren eine äußerst wichtige Aufgabe innerhalb der Ernährungspolitik der Regierung, auf die an anderer Stelle noch etwas näher eingegangen werden soll.

Bei einer vergleichenden Betrachtung derjenigen Verfahren, die für die Konservierung von Fleisch im großen geeignet und gebräuchlich sind, stößt man auf einen grundlegenden Unterschied, der zwischen dem althergebrachten Salzen, Pökeln, Räuchern und Einbüchsen und dem Einfrieren besteht. Durch die Behandlung mit Kochsalz und Salpeter beim Salzen und Pökeln, durch die meist sich anschließende Räucherung und durch den Einfluß hoher Hitzegrade beim Einbüchsen erfährt das Fleisch tiefgehende und bleibende Veränderungen seiner gesamten Beschaffenheit. Aus dem frischen Fleisch entstehen Fleischzubereitungen von ausgeprägter Eigenart. Wenn man Fleisch mit Kochsalz und Salpeter behandelt, wie es beim Salzen und Pökeln üblich ist, gibt es einen mehr oder minder großen Teil seines natürlichen Wassergehaltes und seiner Salze und löslichen Eiweißstoffe ab, es nimmt dafür Kochsalz auf, seine natürliche Farbe wird in ein tieferes, beim Kochen bestehen bleibendes Rot verwandelt, sein Gefüge wird fester, seine kulinarischen Eigenschaften werden ganz andere. Die Räucherung entzieht dem Fleisch ebenfalls Wasser und läßt Bestandteile des Rauches eindringen, die ihm einen besonderen Geruch und Geschmack verleihen. Büchsenfleisch, z. B. Rind- oder Schweinefleisch im eigenen Saft, wie sie heute vielfach hergestellt werden, ist ein Erzeugnis besonderer Art, das selbst von küchenmäßig gekochtem Fleisch sehr deutlich abweicht. Die hohe und lange Erhitzung in der geschlossenen Dose, die zur Erzielung langer Haltbarkeit notwendig ist, hat das Auskochen großer Saftmengen, die Gerinnung der Eiweißstoffe, die Umwandlung des Bindegewebes in Leim und eine weitgehende Lockerung des Gefüges zur Folge.

Der Unterschied zwischen dem frischen Ausgangsmaterial und dem durch das Konservierungsverfahren erzielten Produkt pflegt um so größer zu sein, je stärker das erhaltende Mittel eingewirkt hat. Es ist klar, daß auch die Möglichkeiten der Verwendung derartig haltbar gemachten Fleisches lange nicht mehr so mannigfaltig sein können wie die des frischen Fleisches. Aus Pökeln oder Büchsenfleisch kann auch der größte Kochkünstler nur eine beschränkte Anzahl von Gerichten herstellen, weil er an die durch die Art der Konservierung geschaffene Eigenart des Materials gebunden ist. Darin liegt ohne Zweifel ein

Nachteil gegenüber dem frischen Fleisch, dessen hoher Wert für die menschliche Ernährung unter anderem gerade darin besteht, daß es in so außerordentlich abwechslungsreicher Form dargeboten werden kann.

In ganz anderer Weise äußert sich der Einfluß von Gefriertemperaturen auf das Fleisch. Diese kommen, von Ausnahmefällen abgesehen, durch die Vermittlung der umgebenden Luft so zur Wirkung, daß das Fleisch in Räumen aufbewahrt wird, deren Luft genügend tief abgekühlt ist. Dem Fleisch wird dabei weder irgendein Bestandteil entzogen, noch wird ihm ein fremder Stoff zugefügt, die Zusammensetzung bleibt der des frischen Fleisches gleich. Daraus ergibt sich die wichtige Tatsache, daß durch das Einfrieren frisches Fleisch als solches erhalten wird, während es durch die andern Konservierungsverfahren starke und bleibende Veränderungen erfährt. Allerdings läßt der Gefriervorgang die Struktur und die Eigenschaften des Fleisches keineswegs völlig unberührt, er hat vielmehr gewisse Veränderungen zur Folge, die teils vorübergehender, teils bleibender Art sind. Dazu können in der Zeit, während der das Fleisch im gefrorenen Zustand lagert, weitere Veränderungen treten, die hauptsächlich durch äußere Einflüsse hervorgerufen werden. Die genaue Kenntnis all dieser Vorgänge ist notwendig, damit durch geeignete Maßnahmen hygienischer und technischer Art der Enderfolg der Konservierung durch Einfrieren, die langfristige Guterhaltung des Fleisches in frischem Zustand, erreicht wird.

A. Wirkung von Gefriertemperaturen auf Fleisch.

Die Wirkung, welche Gefriertemperaturen auf Fleisch ausüben, ist von mehreren Gesichtspunkten zu betrachten, und zwar zuerst daraufhin, nach welchen Gesetzen der Gefriervorgang im Fleisch abläuft, dann, welche Veränderungen er dort hervorruft, und wie sich diese beim Auftauen verhalten, endlich, worauf die konservierende Wirkung der Gefriertemperaturen beruht.

1. Gefriervorgang.

Mageres Muskelfleisch enthält nach KÖNIG im Mittel rund 75% Wasser, 20% Stickstoffsubstanzen und etwa 1% Salze. Der Rest besteht aus Fett und anderen Substanzen, die beim Frieren von nebensächlicher Bedeutung sind. Die Salze sind im Wasser gelöst, die Stickstoffsubstanzen finden sich zum größten Teil in geformtem Zustand vor, und zwar in Gestalt der Zellen, welche die Gewebe zusammensetzen. Zum besseren Verständnis soll hier kurz auf den feineren Bau des Muskelfleisches hingewiesen werden. Den charakteristischen Bestandteil desselben bilden die Muskelfasern, die aus einer dünnen, elastischen Hülle, dem Sarkolemm, und dem weichen Inhalt, der contractilen Substanz, bestehen. Die Muskelfasern sind, neben- und hintereinander liegend und durch feinste Bindegewebsfasern verbunden, in kleineren und größeren Bündeln angeordnet, die durch Bindegewebe zusammengehalten werden. Zwischen den Muskelfasern sind feinste, regelmäßige, mit Gewebssaft gefüllte Spalträume vorhanden.

Ein kleiner Teil der Stickstoffsubstanzen ist im Wasser gelöst, man hat es also bei dem Zell- und Gewebssaft des Fleisches niemals mit reinem Wasser, sondern mit einer schwachen Salz-Eiweißlösung zu tun. Diese ist zum größten Teil durch Quellung an die Stickstoffsubstanzen gebunden, ein kleinerer Teil befindet sich frei in den Gewebslücken. Über den Begriff des „freien“ und

„gebundenen“ Wassers und über die Menge des einen wie des anderen haben weder ältere noch neuere Untersuchungen, letztere von A. V. HILL und T. MORAN, Klarheit gebracht.

Derjenige Bestandteil des Fleisches, der von Gefrieremperaturen unmittelbar beeinflußt wird, ist das Wasser. Alle Veränderungen, die im Verlauf des Gefrierens im Fleisch eintreten, sind Folgen der Abkühlung des Wassers, das dabei den allgemein gültigen physikalischen Gesetzen folgt. Der Gefrierpunkt reinen Wassers liegt bekanntlich bei 0°. Der Gefrierpunkt wird herabgesetzt, wenn man dem Wasser Salze zufügt, z. B. Kochsalz oder Chlorcalcium oder Chlormagnesium. Das im Fleisch befindliche Wasser gefriert wegen seines Gehaltes an Salzen ebenfalls nicht bei 0°, sein Gefrierpunkt liegt vielmehr bei —1° C. Deshalb beginnt Fleisch nicht bei 0°, sondern erst bei etwa —1° C zu gefrieren.

Wenn man eine Salzlösung bis zu ihrem Gefrierpunkt abkühlt, so scheidet sich reines Wasser in Form von Eiskristallen ab. Dadurch erhöht sich die Konzentration der restlichen Salzlösung und der Gefrierpunkt wird weiter herabgesetzt. Bei weiterer Abkühlung wiederholt sich dieser Vorgang, bis alles Wasser ausgefroren ist. Dieser Zustand wird im sog. kryohydratischen oder eutektischen Punkt erreicht, der für jede Lösung je nach Konzentration und Art des Salzes verschieden tief liegt. Es ist demnach klar, daß auf den einzelnen Temperaturstufen ein verschieden großer Anteil des im Fleisch enthaltenen Wassers ausfriert, und daß dieser Anteil mit sinkender Temperatur immer größer

Gefrier- temperatur ° C	Kältebedarf für 1 kg Fleisch, das auf —1° C vorgekühlt ist Calorien	Ausgefrorener Wasseranteil %
— 1	0,00	0,0
— 1,5	25,22	42,1
— 2	30,00	49,7
— 3	35,67	58,3
— 4	39,48	63,9
— 5	42,42	68,0
— 6	44,86	71,3
— 7	46,95	74,0
— 8	48,80	76,3
— 9	50,45	78,4
—10	51,96	80,2
—12	54,63	83,2
—14	56,96	85,6
—16	59,04	87,8
—18	60,91	89,5
—20	62,63	91,0
—25	66,40	94,0
—30	69,61	96,2
—35	72,44	97,8
—40	74,97	98,9
—45	77,26	99,5
—50	79,37	99,9
—55	81,32	100,0

werden muß. R. PLANK hat experimentell die bei sinkender Temperatur im Fleisch ausfrierende Wassermenge und den dazu erforderlichen Kältebedarf festgestellt und fand folgende Werte:

Mit diesen von PLANK ermittelten Werten stimmen die in neuerer Zeit von R. HEISS gefundenen annähernd überein. Nach HEISS liegt der eutektische Punkt von Fleisch zwischen —62 und —65° C.

Die beim Frieren in einer Salzlösung entstehenden Eiskristalle nennt man Krystallkerne oder Krystallisationszentren. Nach Versuchen von TAMMANN ist die Zahl dieser Kerne in unmittelbarer Nähe des Gefrierpunktes sehr klein, nimmt mit wachsender Abkühlung schnell zu, erreicht bald ein Maximum, wird bei noch tieferer Temperatur wieder kleiner und schließlich verschwindend klein. Die Krystallkerne wachsen nach allen Seiten, und zwar durch parallele Anlagerung weiter aus der Lösung sich abscheidender Krystalle. Die Geschwindigkeit, mit der sich das Wachstum der Krystallkerne vollzieht, wird als Krystallisationsgeschwindigkeit

peratur wieder kleiner und schließlich verschwindend klein. Die Krystallkerne wachsen nach allen Seiten, und zwar durch parallele Anlagerung weiter aus der Lösung sich abscheidender Krystalle. Die Geschwindigkeit, mit der sich das Wachstum der Krystallkerne vollzieht, wird als Krystallisationsgeschwindigkeit

bezeichnet. Sie hängt ebenfalls unmittelbar von der Temperatur ab, ähnlich wie die Zahl der Krystallkerne. Die Krystallisationsgeschwindigkeit ist in der Nähe des Gefrierpunktes gering, nimmt mit wachsender Abkühlung schnell zu, erreicht ein Maximum und fällt dann allmählich auf Null ab. In Abb. 1 sind die Zahl der Krystallkerne (KZ) und die Krystallisationsgeschwindigkeit (KG) über der Temperatur, die vom Gefrierpunkt (GP) ausgehend in der Pfeilrichtung absinkt, in Kurvenform aufgetragen. Die beiden Kurven nehmen, wie auch die Abbildung erkennen läßt, aus Gründen, die hier nicht näher zu erörtern sind, einen zeitlich verschiedenen Verlauf. Aus dieser Tatsache ergeben sich vom Gefrierpunkt aus mit zunehmender Abkühlung vier Temperaturgebiete mit ebenso vielen Möglichkeiten der Krystallbildung, die in der Abbildung angedeutet sind:

1. Wenige Grade unterhalb des Gefrierpunktes (a—a) ist die Zahl der Krystallkerne gering, aber die Krystallisationsgeschwindigkeit schon bedeutend. Es entstehen wenige, aber große Krystalle, so daß die erstarrte Masse ein grobkristallinisches Gefüge aufweist.

2. Bei tieferen Temperaturen (b—b) ist die Zahl der Krystallkerne wie auch die Krystallisationsgeschwindigkeit groß, es bilden sich demnach zahlreiche mittelgroße Krystalle und die Masse zeigt ein feineres Gefüge.

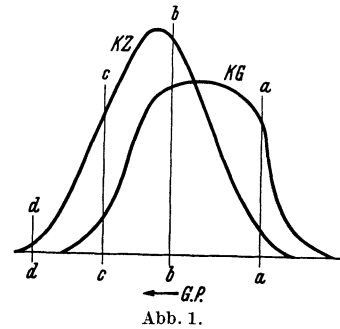
3. Im nächsten Temperaturgebiet (c—c) ist die Zahl der Krystallkerne noch bedeutend, aber die Krystallisationsgeschwindigkeit bereits kleiner, so daß sehr viele kleine Krystalle entstehen, die ein sehr feinkristallinisches Gefüge ergeben.

4. Bei noch tieferen Temperaturen (d—d) ist die Anzahl der Krystallkerne außerordentlich groß und die Krystallisationsgeschwindigkeit gleich Null, es kommt deshalb nicht mehr zur Krystallbildung, die Flüssigkeit erstarrt vielmehr äußerst schnell zu einer amorphen festen Masse.

Natürgemäß sind zwischen diesen vier Fällen alle denkbaren Übergänge möglich. Die Anzahl und Größe der beim Frieren in einer Flüssigkeit entstehenden Eiskrystalle hängt also von der Schnelligkeit und dem Grad der Abkühlung, mit einem Wort von der Gefriergeschwindigkeit, ab. Je langsamer das Frieren erfolgt, desto größer werden die Eiskrystalle und desto größer wird das Gefüge der gefrorenen Masse, je schneller die Lösung zum Gefrieren gebracht wird, um so kleiner fallen die Krystalle aus und um so feiner wird die Struktur.

Einer weiteren Erscheinung beim Frieren von Lösungen ist hier zu gedenken, die auch beim Frieren von Fleisch auftritt, der Unterkühlung. Sie besteht darin, daß Lösungen, die in völliger Ruhe vorsichtig abgekühlt werden, noch unterhalb ihres Gefrierpunktes keine Eisbildung zeigen. Da das Fleisch langsam eingefroren wird, ist anzunehmen, daß dabei Unterkühlungserscheinungen auftreten, die Bildung von Eiskrystallen also unterhalb von -1°C beginnt.

Welche der obengenannten vier Möglichkeiten der Eiskrystallbildung wird nun beim Einfrieren des Fleisches verwirklicht? Das Gefrierfleisch des Handels wird allgemein so hergestellt, daß man frisches Fleisch in großen Stücken, z. B. Rindfleisch in ganzen Vierteln, in kalter Luft von etwa -10° zum Gefrieren bringt. Dabei erfolgt das Durchfrieren sehr langsam, da Luft, Fleisch und Fett schlechte Wärmeleiter sind. Demgemäß wird hier die erste Möglichkeit



verwirklicht, es entstehen im Fleisch verhältnismäßig wenige, aber große Eiskristalle. Auf Schnittflächen von Gefrierfleisch sieht man mit bloßem Auge die Eiskristalle im Gewebe liegen und kann sie mit einer Nadel leicht herausheben.

Wie oben gesagt wurde, ist der weitaus größte Teil des Wassers durch Quellung an die Eiweißstoffe des Fleisches gebunden. Die Entstehung von Eiskristallen im Fleisch setzt also einen andern Vorgang voraus, nämlich die Trennung des Wassers von den Eiweißstoffen und seine Ansammlung an den Stellen, wo nach dem Gefrieren die Eiskristalle liegen. Damit erfährt die enge Verbindung des Wassers mit den Eiweißstoffen eine tiefgehende Störung, aus der Quellung wird im kolloidchemischen Sinn eine Entquellung. Diese vollzieht sich in kalter Luft bei allmählich sinkender Temperatur sehr langsam, bis bei -10° C rund 80% des Wassers ausgefroren sind, während die restlichen 20% in flüssiger Form zurückbleiben.

2. Gefrierveränderungen.

Welche Wirkung hat nun die Abscheidung des Wassers und seine Umwandlung in Eiskristalle auf den feinen Bau des Fleisches? Die Gefrierveränderungen des Muskelfleisches waren schon wiederholt Gegenstand eingehender Untersuchungen. So fanden die beiden amerikanischen Forscher RICHARDSON und SCHERUBEL, daß beim Gefrieren Wasser aus den Muskelfasern austritt und zwischen diesen zu Eis erstarrt. Je weiter die Eisbildung fortschreitet, desto mehr schrumpfen die Muskelfasern ein, so daß auf einem Querschnitt durch Fleisch, das bei -10° gefroren wurde, das Eis einen größeren Teil der Fläche einnimmt als das Muskelgewebe. Nach dem Schweizer SCHELLENBERG zeigen Schnitte durch gefrorenes Fleisch Lücken, die mit Eiskristallen verschiedener Form und Größe ausgefüllt sind. Diese Lücken liegen in der Längsrichtung der Muskelfasern, die durch die Eiskristalle zusammengepreßt werden. Die mechanische Wirkung besteht nach SCHELLENBERG in einem Auseinanderdrängen der Muskelfasern und einer Lockerung des Faserverbandes, wobei es zur Zerreißen einzelner Fasern kommt. Bei längerer Einwirkung tiefer Temperaturen soll sich die fibrilläre Struktur der Fasern derartig ändern, daß sich zuerst die Längs-, dann die Querstreifung verbreitert, um schließlich zu verschwinden. KONRICH fand, daß beim Einfrieren in kalter Luft eine Veränderung des Muskeleiweiß in chemisch-physikalischer Beziehung eintritt. Die Kolloidlösung des Muskeleiweiß friert aus, das Wasser tritt mit einem Teil der Fleischsalze in der Hauptsache auf osmotischem Weg durch die Hülle der Muskelfasern, das Sarkolemm, hindurch, sammelt sich zum allergrößten Teil zwischen den Faserbündeln, zu einem ganz kleinen Teil auch zwischen den Fasern selbst und gefriert dort. Dabei treibt es die Faserbündel der Länge nach auseinander. Die quer zwischen den Faserbündeln verlaufenden Bindegewebszüge werden teilweise zerrissen, teilweise stark gedehnt.

KALLERT hat die Strukturveränderungen des Muskelfleisches und einiger Organe, des Herzens, der Leber, der Niere und Milz, eingehend studiert und dabei die Befunde früherer Untersucher im wesentlichen bestätigen und noch erweitern können. Die Veränderungen des Muskelgewebes lassen sich am besten in Querschnitten erkennen. In solchen durch gefrorenes Fleisch finden sich zwischen den Muskelfaserbündeln breite Lücken, die dem Verlauf der stärkeren Bindegewebsstränge folgen. Das Bindegewebe liegt den Faserbündeln dicht an oder

verbindet als schmale Brücke ein Bündel mit dem andern. Die natürlichen feinen Spalträume zwischen den Muskelfasern sind in unregelmäßige breite Lücken verwandelt. Manchmal haben auch die rings um eine größere Lücke gelegenen Faserquerschnitte unter dem Druck der Eiskristalle eine halbmondförmige Gestalt angenommen. Ganz vereinzelt findet man auch Querschnitte besonders dicker Fasern, die durch einen zentral gelegenen großen Eiskristall sehr stark aufgetrieben wurden und eine entsprechende Lücke aufweisen, wobei der Inhalt der Faser der ausgedehnten Hülle in Form eines schmalen Ringes anliegt. Die in den größeren Lücken und in den erweiterten Zwischenräumen verlaufenden Bindegewebszüge sind gedehnt, zur Seite gedrängt, nicht selten abgerissen, ein Zeichen dafür, welche bedeutenden Spannungen beim Frieren im Muskelgewebe auftreten. Die Quer- und Längsstreifung der Muskelfasern ist auch bei mehrere Monate gelagertem Gefrierfleisch so vollständig erhalten, daß in diesem Punkt eine Unterscheidung von frischem Fleisch nicht möglich ist. Auch findet man fast nie Fasern, deren Hülle zerrissen ist. Diese Veränderungen sind im Muskelfleisch aller Warmblüter offenbar grundsätzlich die gleichen, wie vergleichende Untersuchungen von M. GRÄF an Rind-, Schweine-, Hammel-, Reh-, Kaninchen- und Gänsefleisch gezeigt haben.

Nach diesen Befunden tritt beim Gefrieren das Wasser auf dem Weg der Osmose aus den Muskelfasern aus, deren Hülle unverletzt bleibt, sammelt sich zum kleineren Teil zwischen den Fasern, zum größeren Teil zwischen den Faserbündeln und erstarrt hier zu Eis. Auf diese Weise entstehen im Muskelgewebe zahllose kleinere und größere mit Eis gefüllte Hohlräume, so daß das Muskelfleisch eine schwammige Struktur annimmt, wobei die festen Teile vom Gewebe gebildet werden, während in den Hohlräumen die Eismassen liegen.

Den Austritt des Wassers aus den Muskelfasern und seine Ansammlung an den angegebenen Stellen läßt sich nach PLANK wie folgt erklären: Durch die Capillarkräfte innerhalb der Fasern wird der Gefrierpunkt des dort befindlichen Wassers erniedrigt und seine Unterkühlungsfähigkeit begünstigt. Deshalb setzt der Gefrierprozeß in den feinen Spalten zwischen den Fasern ein, während das Wasser in den benachbarten Fasern noch flüssig ist. Da nun die Dampfspannung über unterkühltem Wasser höher ist als über Eis, wird das Wasser aus den Fasern zu dem Eis in den Interzellularräumen strömen. Diese Erklärung PLANKS kann man auch für die Tatsache heranziehen, daß sich die Hauptmasse des Wassers nicht zwischen den Muskelfasern, sondern den Faserbündeln ansammelt. Dort verlaufen große Bindegewebszüge und findet sich auch verhältnismäßig viel Gewebssaft, so daß jedenfalls hier die ersten Eiskristalle entstehen, daß hierher Wasser aus den feinen Spalträumen zwischen den Fasern nachströmt und daß diese sich dann durch Wasser, das aus den Fasern nachfließt, auffüllen und erweitern.

Auch die Spannungsverhältnisse im Muskelgewebe erfahren, wie schon angedeutet wurde, beim Frieren eine wesentliche Änderung. Wasser dehnt sich beim Übergang in den festen Zustand um etwa 10% seines Volumens aus. An Fischen konnten PLANK, EHRENBAUM und REUTER feststellen, daß sich dies in einer Zunahme des Gesamtvolumens um 8% ausdrückt. Beim Muskelfleisch der Schlachttiere ist das nicht der Fall, wie folgender von KALLERT wiederholt ausgeführte Versuch bewies. Ein Muskel vom Schwein wurde in geschlossener Glasröhre gefroren. Sein Volumen wurde vor und nach dem Frieren durch

Eintauchen in konzentrierte Kochsalzlösung von 20° C gemessen. Der Muskel verdrängte nach dem Gefrieren die gleiche Menge der Lösung wie vorher, sein Volumen hatte also nicht zugenommen. Der Unterschied im Verhalten der Fisch- und der Warmblütermuskulatur erklärt sich aus dem viel festeren Gefüge der letzteren, das die Auswirkung des gesteigerten Innendruckes nach außen in Form einer Volumenzunahme verhindert.

Ganz ähnliche Veränderungen wie im Muskelfleisch entstehen entsprechend dem sehr ähnlichen feinen Bau in Herzen, nur daß das Bild durch die netzartige Struktur des Herzgewebes beeinflußt wird. Die Fasern und Faserbündel des Herzens werden durch das aus den Zellen austretende Wasser, das zu großen Eiskristallen erstarrt, auseinandergedrängt, so daß breite Lücken entstehen. Auch hier findet man so gut wie nie Zerreißen von Muskelfasern, ein Beweis für die große Festigkeit und Elastizität derselben. Das Bindegewebe dagegen wird vielfach zerstört, man sieht seine abgerissenen Fasern in den Lücken liegen. Zungen, die im wesentlichen ebenfalls aus Muskulatur bestehen, erleiden, wie M. GRÄF fand, dieselben Veränderungen wie Muskelfleisch.

Ganz anders sehen die Gefrierveränderungen des für die Konservierung durch Einfrieren wichtigsten inneren Organs, der Leber, aus. Nach den Untersuchungen von KALLERT ruft der Gefrierprozeß in den Leberläppchen tiefgehende Zerstörungen hervor. Das Gewebe gefrorener Lebern ist von zahlreichen Lücken durchsetzt, die längliche oder rundliche Form haben und zum größeren Teil in der Längsrichtung der Leberzellbalken verlaufen, zum kleineren Teil diese quer durchtrennen. In den Lücken liegen oft Haufen von Zellen, die aus ihrem Zusammenhang losgerissen sind oder an einer Stelle noch Verbindung mit den an die Lücke grenzenden Leberzellbalken haben. Stellenweise sind die Lücken mit netzartig geformten Massen ausgefüllt. Die an und in den Lücken selbst oder zwischen zwei Lücken liegenden Zellen und Zellbalken weisen deutliche Zeichen starker Pressung auf, statt der natürlichen polyedrischen Form haben die Zellen eine langgestreckte Gestalt angenommen und sind unregelmäßig eingedrückt. Bei starker Vergrößerung erkennt man, daß die erwähnten netzförmigen Massen aus zerstörten Leberzellen hervorgegangen sind. Diese Veränderungen sind regellos in großer Zahl und Ausdehnung über die einzelnen Leberläppchen verteilt. Beim Schwein bildet das Bindegewebe, das jedes Läppchen vollständig umschließt, auch die Grenze für die Veränderungen, die also in jedem Läppchen getrennt verlaufen, während dies bei den ineinander übergehenden Leberläppchen des Rindes nicht der Fall ist.

Auch aus den Leberzellen tritt also beim Frieren Wasser aus, sammelt sich zwischen den Zellverbänden und erstarrt zu großen Eiskristallen, wodurch zahlreiche unregelmäßig geformte Hohlräume entstehen. Die Zellen und ihre Verbände werden dabei gewaltsam auseinandergetrieben und zusammengepreßt. Die Zerstörung vieler Zellen erklärt sich daraus, daß dieselben von keiner festen, elastischen Membran umhüllt sind wie die Muskelfasern und den beim Frieren auf sie einwirkenden Gewalten keinerlei Widerstand zu leisten vermögen.

Die beim Frieren in kalter Luft entstehenden Gewebsveränderungen kann man also ganz allgemein so kennzeichnen: In den Zellen erfolgt eine Trennung des Wassers von den Eiweißsubstanzen, das Wasser tritt aus den Zellen aus, sammelt sich zwischen den Zellen und Zellverbänden und erstarrt hier zu großen Eiskristallen. Die Eisbildung erfolgt stets an den Stellen und in der Richtung

des geringsten Widerstandes, also im Muskelfleisch und im Herzen zwischen den Fasern und Faserbündeln in der Längsachse derselben. Die Muskelfasern bleiben dabei unverletzt, insbesondere wird die Sarkolemmhülle entgegen früheren Ansichten fast nie zerrissen. Wo der Widerstand nach allen Seiten sehr gering ist wie in der Leber, entstehen Eiskristalle sowohl in der Längs- wie in der Querrichtung der Zellen und Zellverbände. In diesem Fall gehen Zellen in großer Zahl zugrunde. Die auffallendste Folgeerscheinung des Gefrierens ist die Entstehung zahlreicher mit Eis gefüllter Hohlräume in den Geweben.

Bisher wurden nur die Veränderungen geschildert, die beim langsamen Gefrieren in Luft entstehen, weil dieses Verfahren auch heute noch praktisch weitaus das wichtigste ist, nach dem unter anderem das gesamte Gefrierfleisch des Welthandels hergestellt wird. Es muß aber nunmehr auch auf die zum Teil schon in die Praxis der Kältekonservierung umgesetzten Bestrebungen eingegangen werden, die darauf abzielen, durch Erhöhung der Gefriereschwindigkeit die Gewebsveränderungen weniger tiefgreifend zu gestalten. Daß dies durchaus möglich ist, geht aus dem oben aufgestellten Schema über das gegenseitige Verhalten der Zahl der Krystallkerne und der Krystallisationsgeschwindigkeit hervor, wobei die unter den Ziffern 2 und 3 angegebenen Fälle verwirklicht werden können.

Auf die große Bedeutung der Gefriereschwindigkeit für die Art der Veränderungen hat zuerst K. REUTER auf Grund zahlreicher Untersuchungen an Fisch- und später auch an Menschenmuskulatur hingewiesen. Seine Leitsätze, die im wesentlichen heute noch volle Gültigkeit beanspruchen dürfen, verdienen hier im Wortlaut wiedergegeben zu werden: „Beim Gefrieren frischer protoplasmatischer tierischer (vermutlich auch pflanzlicher) Gewebe spielen sich bei gleichmäßiger Abkühlung die physikalisch-chemischen, in festem Abhängigkeitsverhältnis zur Gefriereschwindigkeit stehenden Dissoziationsvorgänge (Ionenwanderungen und kolloidale Trennungerscheinungen) von vornherein isoliert im Innern einer jeden Körperzelle ab und liefern gegebenenfalls den Dimensionen der letzteren angepaßte, feine gewebliche Strukturveränderungen. Der Zellorganismus, als somit noch aktiv morphologisch bestimmender Faktor, kann bei zunehmender Verlangsamung des Abkühlungsprozesses und bei Gegenwart überwiegender Flüssigkeitsmengen unter Sprengung der Zellgrenzen so vollständig ausgeschaltet und beiseite gedrängt werden, daß er morphologisch nur noch die Rolle eines passiven Fremdkörpers innerhalb der zusammenhängend abgeschiedenen Gewebsflüssigkeit spielt, die darauf als Ganzes den Krystallisationsgesetzen unterliegt. Die Grenze der Gefrierverlangsamung, bis zu welcher die Körperzelle das histologische Bild beherrscht, ist bei verschiedenen Geweben naturgemäß verschieden, aber beeinflußt durch den jeweiligen Wassergehalt, die Zellgröße und die Dehnbarkeit der Zellmembran.“

So z. B. gelingt es, durch sehr intensive und schnelle Abkühlung Muskelgewebe so schnell zum Gefrieren zu bringen, daß mikroskopisch erkennbare Störungen des histologischen Gefüges ausbleiben. Bei der Verzögerung des Einfrierens dagegen treten in den Muskelzellen gesetzmäßig bedingte, scharf charakterisierte, kontinuierlich mit der Verlangsamung zunehmende Störungen der Gewebsstruktur auf, deren Intensitäten sich genau umgekehrt verhalten wie die Abkühlungsgeschwindigkeiten.“

Die Ergebnisse REUTERS wurden durch experimentelle Untersuchungen von KALLERT bestätigt. Er fand, daß beim sehr schnellen Gefrieren von Muskelstückchen mittels Kohlensäure das Wasser nicht wie beim langsamen Frieren in Luft aus den Fasern austritt, sondern innerhalb derselben in Form feiner Eisnadeln erstarrt, deren Lage in Querschnitten durch viele kleine Lücken bezeichnet wird. Die Fasern werden dabei stark ausgedehnt, so daß sie wie geschwollen aussehen und die feinen Spalträume zwischen den Fasern zum Verschwinden gebracht werden. Friert man etwas langsamer, so entstehen ebenfalls noch im Innern der Fasern Eiskristalle, die jedoch weniger zahlreich, dafür aber größer sind. Bei weiterer Verlangsamung des Gefriervorganges finden sich in jeder Muskelfaser nur noch ein bis drei große Eiskristalle, während ein Teil des Wassers schon ausgetreten und zwischen den Fasern gefroren ist. Dieses Stadium leitet bereits zu den Veränderungen über, die regelmäßig in luftgefrorenem Fleisch anzutreffen sind.

ZAROTSCHENZEFF hat die Größe der Eiskristalle gemessen, die beim schnellen Frieren durch unmittelbare Berührung mit kalter Sole in Fischfilets entstehen, und folgende Größen gefunden:

Diese und zahlreiche weitere Untersuchungen zeigten, daß man durch starke Steigerung der Gefriereschwindigkeit die Trennung des Wassers von den

Soletemperatur ° C	Gefrierzeit Stunden	Mittlere Kristalldicke in $\frac{1}{1000}$ mm	
		äußere Schicht	innere Schicht
— 18	2	60	67
— 16,5	2	85	90
— 9,5	3	70—135	125—170

Eiweißstoffen weniger weitgehend gestalten kann, so daß dadurch Endprodukte gewonnen werden, die in ihrer Struktur vom Ausgangsmaterial nicht so stark abweichen.

In den letzten beiden Jahrzehnten sind eine ganze

Reihe von Schnellgefrierverfahren ausgearbeitet worden, die alle darauf ausgehen, den schlechten Wärmeleiter Luft auszuschalten und durch unmittelbare oder mittelbare Berührung des Kühlgutes mit tiefgekühlter Sole die Gefrierzeit abzukürzen. Die wichtigsten dieser Verfahren seien kurz erwähnt.

Das Verfahren von OTTESEN besteht darin, daß die Gefrierobjekte, z. B. Fische, durch unmittelbares Eintauchen in stark bewegte Kochsalzlösung von etwa -20° C gefroren werden. Die Konzentration der Sole ist mit der Temperatur so abgestimmt, daß kein Salz in die Gefriergüter eindringen soll. Dem gleichen Zweck dient das Abspülen der Stücke in reinem Wasser vor dem Eintauchen und ein Zusatz von Glycerin zur Sole. Nach den Untersuchungen von PLANK, EHRENBAUM und REUTER und von PLANK und KALLERT erfolgt im OTTESENSCHEN Apparat das Durchfrieren großer Fische 20mal, das großer Fleischstücke, z. B. Rinderviertel, 5mal so schnell wie in kalter Luft. Daß dabei in der Tat wesentlich geringere Gewebsveränderungen eintreten als beim langsamen Frieren, konnten REUTER und KALLERT durch histologische Untersuchungen nachweisen. Auch die empfindlichen inneren Organe, z. B. die Leber, werden dabei weit mehr geschont. In der Praxis hat sich jedoch dieses Tauchverfahren im ganzen nicht bewährt, weil das Eindringen kleiner Salz mengen in die Oberfläche der Gefrierobjekte doch nicht ganz verhindert werden kann, was gewisse Nachteile, z. B. eine Verfärbung bei Fleisch, zur Folge hatte.

Bei den Berieselungsverfahren nach HIRSCH und TAYLOR wird das Gefriergut nicht in Sole getaucht, sondern von dieser berieselt. Es wird hängend durch einen Kanal bewegt, dort zur Vorkühlung mit kaltem Wasser, dann mit Sole berieselt. Die Gefrierzeit ist hier um 50% länger als beim Tauchverfahren. — Eine Abart ist das Verfahren von ZAROTSCHENZEFF, bei dem die Sole durch Düsen gedrückt und zu einem feinen Nebel zerstäubt wird. Die Gefriereinrichtung besteht aus drei Kammern. In der ersten Kammer wird das Kühlgut in einem Sprühregen von kaltem Wasser vorgekühlt, in der zweiten durch Zerstäuben kalter Sole gefroren und in der dritten durch Abbrausen mit Wasser von den Soleresten befreit.

Von den mittelbaren Sole-Schnellgefrierverfahren ist zunächst das von PETERSEN zu nennen, der Fische in Metallbehältern eng zusammenpreßt und durch Eintauchen derselben in tiefgekühlte Chlorcalciumlösung zum Gefrieren bringt. Nach dem von KOLBE angegebenen Verfahren schwimmen Fische in Schalen auf tiefgekühlter Sole durch einen langen, abgedeckten Kanal, an dessen Ende sie gefroren herausgenommen und in den Lagerraum verbracht werden. Eine praktisch brauchbare Lösung für bestimmte Kühlgüter, z. B. Fischfilets in Packungen, ist das Verfahren von C. BIRDSEYE, bei dem an beiden Enden eines langen Kastens je zwei Walzen angebracht sind, über die je ein breites Metallband läuft. In den Zwischenraum zwischen den beiden Bändern, der veränderlich ist, werden die Gefrierobjekte in Packungen gelegt und dadurch, daß gegen die Bänder Sole von -40 bis 45° C gespritzt wird, schnell zum Gefrieren gebracht. Nach einem abgeänderten BIRDSEYE-Verfahren werden die Packungen mit Lebensmitteln zwischen zwei Aluminiumplatten gelegt, in denen Stahlrohre oder Kanäle für verdampfendes Ammoniak verlaufen. Die Verdampfungstemperatur beträgt dabei -30° C. Ein schnelles Durchfrieren wird durch Anpressen der Platten mittels eines Stempels erreicht, so daß die Packungen an den Kühlplatten ohne Luftzwischenraum anliegen.

Endlich fehlte es nicht an Versuchen, verdampfende Kältemittel, z. B. Kohlensäure, Dimethyläther und Difluordichlormethan, zum raschen Gefrieren von Lebensmitteln zu verwenden. Versuche in dieser Richtung wurden unter anderen von PLANK, KUPRIANOFF und PETERS sowie von BONGERT durchgeführt. Sie alle haben bisher keine praktische Bedeutung erlangt. Eine Zusammenstellung der neueren Schnellgefrierverfahren hat PLANK gegeben.

Für die Konservierung von Fleisch im großen Maßstab, also der gewaltigen Fleischmengen, die zur Ausfuhr aus den überseeischen Erzeugungsgebieten bestimmt sind, oder für die Masseneinlagerungen, die zeitweise in Deutschland durchgeführt werden, sind diese und ähnliche Verfahren nicht anwendbar, schon weil sie mengenmäßig in ihrer Leistungsfähigkeit sehr beschränkt sind. Ein weiterer Grund ist der, daß die Vorteile des schnellen Einfrierens nur dann augenfällige sind, wenn es sich um Stücke von geringem Durchmesser handelt, z. B. um kleine oder mittelgroße Fische, um Fischfilets, um kleine verkaufsfertig geschnittene Fleischteile. In der Herstellung und im Vertrieb solcher Erzeugnisse haben sich einige dieser Verfahren auch gut bewährt und werden z. B. in England und den Vereinigten Staaten von Nordamerika praktisch angewendet. Bei dicken Objekten wie ganzen Rindervierteln oder Schweinehälften dagegen, die zum großen Teil noch eine isolierende oberflächliche Fettschicht besitzen, dringt die Kälte doch so langsam ein, daß der Vorteil der geringer-

gradigen Strukturveränderungen auf die äußeren Fleischschichten beschränkt bleibt, während sich in den inneren Schichten, also in der Hauptmasse des Fleisches, die gleichen Veränderungen finden wie in langsam in Luft gefrorenem Fleisch. Endlich ist die praktische Auswirkung der Entstehung weniger weitgehender Gewebsveränderungen beim schnellen Gefrieren gerade beim Fleisch lange nicht so deutlich wie bei anderen Gefrierusername.

Die sinnfälligste äußere Veränderung des Fleisches durch den Gefrierprozeß ist das Hartwerden, das auf der Umwandlung des Wassers in Eis beruht. Der Härtegrad hängt davon ab, welcher Anteil des Wassers ausgefrozen ist. Wie oben angegeben wurde, sind bei -3° C erst rund 58% ausgefrozen, das Fleisch ist dabei noch so weich, daß man mit einem spitzen Messer unter geringem Druck einstechen kann. Erst bei -6° , wenn schon rund 70% des Wassers in Eis verwandelt sind, nimmt das Fleisch eine brettartige Beschaffenheit an, so daß das Einstechen nur unter stärkstem Druck möglich ist. Das Hartwerden hat eine große wirtschaftliche Bedeutung insofern, als es das frische Fleisch, das sonst nur hängend aufbewahrt werden kann, zu einer stapelfähigen Ware macht, die unter bester Ausnützung des Lagerraumes in den Kühlhäusern und des Transportraumes in den Schiffen, den Eisenbahn- oder Lastwagen in hoher Schicht aufeinandergepackt werden kann. Dadurch werden die Lager- und Transportkosten erheblich verringert.

3. Verhalten der Gefriereränderungen beim Auftauen.

Wie im vorigen Abschnitt gezeigt wurde, erfährt das Fleisch beim Einfrieren tiefgehende Veränderungen seines feinen Baues, die durch die Trennung des Wassers von den Eiweißstoffen und die Verwandlung desselben in Eis zustande kommen. Es handelt sich dabei um eine Entquellung im kolloidchemischen Sinn. Die Kolloidchemie kennt zwei Arten von Veränderungen, die an Kolloiden durch Entquellung entstehen, nämlich reversible, d. h. durch neuerliche Quellung ausgleichbare, und irreversible, d. h. nicht mehr ausgleichbare. Für die Bewertung des durch Einfrieren haltbar gemachten Fleisches ist es eine Frage von entscheidender Bedeutung, ob der Vorgang der Entquellung beim Gefrieren umkehrbar ist, d. h. ob die Eiweißstoffe des Fleisches die Fähigkeit behalten, das ausgefrozene Wasser beim Auftauen durch Quellung wieder aufzunehmen, oder ob die Trennung eine endgültige ist. Auf die einfachste Formel gebracht lautet also die Frage: Sind die Gefriereränderungen der Fleischkolloide reversibel oder irreversibel?

Das Quellungsvermögen der Muskulatur ist nicht nur während des Lebens sehr groß, wie unter anderem ENGELS experimentell nachgewiesen hat, auch nach dem Tode ist sie noch in hohem Grade vorhanden. Es ist bekannt, daß lebenswarmes Muskelfleisch sehr große Wassermengen aufzunehmen vermag. Davon machen die Hersteller von Brühwürstchen Gebrauch, die das Fleisch junger Rinder möglichst noch warm unter starkem Wasserzusatz verarbeiten. Die feine Zerkleinerung des Fleisches, die sie dabei vornehmen, vermehrt die Wasseraufnahme erheblich, indem sie die Oberfläche der quellbaren Substanz vergrößert. Damit deckt sich die Feststellung von O. VON FÜRTH und E. LENK, daß unmittelbar nach dem Tode das Quellungsvermögen des Muskelfleisches infolge Anhäufung von Milchsäure ansteigt, um nach etwa 25 Stunden seinen Höhepunkt zu erreichen und dann wieder abzunehmen. Die Quellungsfähigkeit des Muskels

kann nach M. H. FISCHER durch einen Zusatz von Säuren oder Alkalien erhöht werden, und zwar bis zur Aufnahme einer Höchstmenge Wasser von 246% des ursprünglichen Muskelgewichtes. Daraus erklärt sich auch die erwähnte Wirkung der Milchsäure im toten Muskel. Quellungsfähigkeit und Quellungszustand des Muskelfleisches sind je nach der Tierart, dem Alter, der Fütterung usw. sehr verschieden. Darauf beruht unter anderem die Tatsache, daß das Fleisch junger, gut genährter Tiere hochgezüchteter Rassen saftreich und zart ist, während alte oder schlecht genährte Tiere oder solche minderwertiger Rassen ein trockenes, derbes Fleisch besitzen. Auf den gleichen Ursachen beruht die zartere oder derbere Beschaffenheit des Bindegewebes.

Die Beantwortung der Frage, ob die Gefrierveränderungen des Fleisches reversibel oder irreversibel sind, wird durch mehrere Umstände erschwert. So bilden die Kolloidsubstanzen des Fleisches keine Einheit, sie zeigen unter sich sehr erhebliche Verschiedenheiten, die zweifellos auch in der Art, wie sie auf Wasserentziehung reagieren, zum Ausdruck kommen. Ferner ist, wie schon erwähnt wurde, Fleisch durchaus nicht gleich Fleisch zu setzen, es muß hier vielmehr je nach der Herkunft usw. mit großen Verschiedenheiten hinsichtlich der Quellungsfähigkeit der Kolloide und ihrem Verhalten nach der Ent-

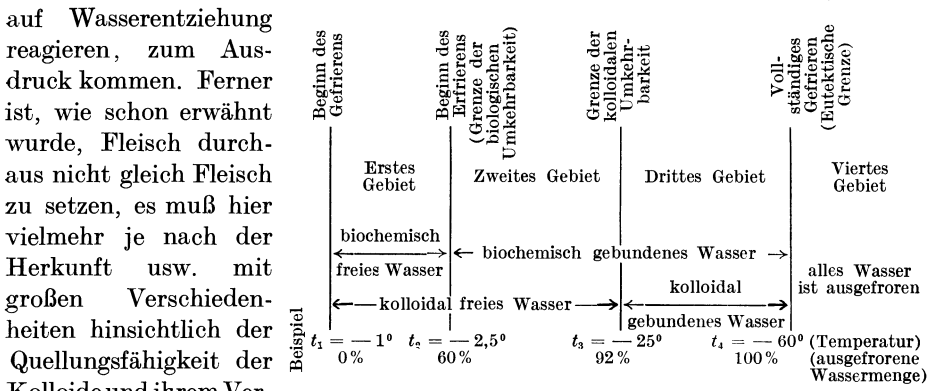


Abb. 2. Schema der Gefrierphasen. (Nach R. PLANK.)

quellung gerechnet werden. Dann hat, wie PLANK betont, die Gefriertemperatur einen großen Einfluß auf die Rückbildungsfähigkeit der Veränderungen, da es von ihr abhängt, wieviel von dem natürlichen Wassergehalt ausfriert. Es gilt jedoch ganz allgemein die Regel, daß, je mehr Wasser ausgefroren ist, um so weniger reversibel die entstandenen Veränderungen sind. Offenbar ist ein gewisser Teil des Wassers nur verhältnismäßig locker an die Kolloide gebunden und kann daher leicht abgegeben und wieder aufgenommen werden, während ein anderer Teil fester gebunden ist und seine Entziehung eine nicht mehr ausgleichbare Störung der Quellungsfähigkeit hinterläßt. Auch OSTWALD sagt, daß eine zu weit gehende Entwässerung schädigend auf das Quellungsvermögen von Kolloiden wirkt.

PLANK hat ein interessantes Schema über die Gefrierphasen von Kolloiden im Leben und nach dem Tod aufgestellt, das ein Bild von der Wirkung der fortschreitenden Abkühlung zu vermitteln vermag (Abb. 2).

Die erste Grenztemperatur t₁ bezeichnet den Beginn des Ausfrierens von Wasser und hängt von der Salzkonzentration des Zellsaftes ab. Bei weiterer Abkühlung im ersten Gebiet kann ein Teil des Wassers ausfrieren, ohne daß die Lebensfähigkeit aufhört, wobei aber die Lebensvorgänge stark verlangsamt werden (Anabiose nach BACHMETJEFF). Die Gefriergeschwindigkeit spielt in diesem Gebiet wahrscheinlich keine große Rolle, vielleicht ist sogar ein langsames Frieren vorteilhafter. Wenn vorsichtig aufgetaut wird, können die Lebens-

funktionen wieder einsetzen, doch hängt dies auch von der Dauer des anabiotischen Zustandes ab. Diese erste Phase kann bei manchen Fischen und bei wechselwarmen Tieren experimentell verwirklicht werden. — Mit der Temperatur t_2 wird die Grenze der biologischen Umkehrbarkeit erreicht, es tritt der Erfrierungstod ein. Die dabei noch nicht ausgefrorene Wassermenge könnte als „biochemisch oder physiologisch gebunden“ bezeichnet werden. Das im zweiten Temperaturgebiet bei weiterer Abkühlung ausfrierende Wasser wird zunächst den fein dispersen Zustand der Kolloide nicht merklich beeinträchtigen. Hier ist die Erhöhung der Gefriereschwindigkeit durch Schaffung einer fein krystallinischen Struktur, die eine weitgehende Rückbildung beim Auftauen erwarten läßt, vorteilhaft. Bei der dritten Grenztemperatur t_3 ist so viel Wasser ausgefroren, daß einzelne Kolloide ihre Quellungsfähigkeit verloren haben. Das bei dieser Stufe noch nicht gefrorene Wasser könnte „kolloid gebunden“ genannt werden. Bei weiterer Abkühlung im dritten Gebiet entstehen irreversible Veränderungen, bis bei der vierten Grenztemperatur t_4 der eutektische Punkt erreicht ist, in dem der letzte flüssig gebliebene Rest im ganzen gefroren ist.

Aus diesen theoretischen Vorstellungen ließen sich nach PLANK praktische Schlußfolgerungen ziehen, wenn einerseits der Prozentsatz des biochemisch und kolloid gebundenen Wassers genau bekannt, andererseits die ausgefrorene Wassermenge als Funktion der Gefriertemperatur feststellbar wäre. Beides stößt aber bisher auf große Schwierigkeiten.

Nach Versuchen von T. MORAN bleiben Eier beim Auftauen unverändert, wenn die Temperatur von -6° C nicht unterschritten wird. Bei tieferer Abkühlung treten jedoch bleibende Veränderungen ein, die um so größer sind, je länger die niedrige Temperatur eingehalten wurde. Der Anteil des Wassers, der bei -6° noch flüssig ist, kann also den Kolloiden des Eies nicht ohne bleibende Schädigung entzogen werden. Dies stimmt ganz mit dem Verhalten lebender Substanzen beim Gefrieren überein. Man konnte für viele Tiere und Pflanzen die unterste Temperaturgrenze festlegen, deren Unterschreitung das endgültige Erlöschen des Lebens zur Folge hat. So fanden GÖPPERT und REIN, daß dieser Todespunkt bei verschiedenen Pflanzen je nach ihrer Art zwischen 0° und -65° C liegt. Nach SMITH und MORAN bleibt die Reizfähigkeit von Froschmuskeln beim Gefrieren bis zu einer Temperatur von $-2,5^\circ$ C erhalten, bei dieser Temperaturstufe tritt dann der Kältetod ein. MOLISCH sagt, daß das molekulare Gefüge des Protoplasmas für immer zerstört wird, wenn der Wasserverlust eine gewisse Grenze überschreitet, weil eine bestimmte Anordnung der kleinsten Teile nur durch eine gewisse Wassermenge ermöglicht wird. Auch bei den Fleischkolloiden gibt es Temperaturgrenzen, unter die man beim Einfrieren nicht gehen darf, ohne irreversible Veränderungen zu schaffen. Eine einseitige Steigerung durch Anwendung besonders tiefer Temperaturen kann sich deshalb hier eher schädlich als nützlich auswirken. Es ist vielmehr für Fleisch und die anderen Gefriergüter die unterste Grenztemperatur, bei der noch keine irreversiblen Veränderungen entstehen, zu ermitteln und diese möglichst schnell zu erreichen.

Von mancher Seite wird behauptet, daß auch die Dauer der Lagerung einen Einfluß auf die Ausgleichbarkeit der Gefrierveränderungen habe in dem Sinn, daß diese mit der Länge der Lagerung abnehme. Es soll sich dabei um eine Erscheinung handeln, die als das „Altern“ der Kolloide bekannt ist. Nach

BECHHOLD nimmt die Quellbarkeit der Kolloide ganz allgemein mit dem Älterwerden ab, wobei, wie REUTER meint, der Sauerstoff der Luft mitwirkt. Man könnte also damit rechnen, daß mit zunehmender Lagerzeit die Gefrieränderungen immer weniger ausgleichbar werden. Als Beweis dafür werden Beobachtungen angeführt, die von PLANK, EHRENBAUM und REUTER, VON TAYLOR u. a. an Fischen gemacht wurden. Es ist aber zu bedenken, daß derartige Erfahrungen nicht ohne weiteres auf das Fleisch der Schlachttiere übertragen werden können, da dasselbe einen ganz anderen feinen Bau und dementsprechend sehr wahrscheinlich auch andere kolloidale Verhältnisse aufweist. Jedenfalls deuten die in der großen Praxis des Gefrierfleischverbrauches gemachten Beobachtungen nicht darauf hin, daß lange Zeit gelagertes Gefrierfleisch mehr Fleischsaft beim Auftauen abgibt als nur kurze Zeit gelagertes.

Eine gewisse Beantwortung der Frage, ob die Gefrieränderungen der Fleischkolloide reversibel seien, war schon durch die übereinstimmende Ansicht der meisten früheren Beobachter gegeben worden, daß langsames Auftauen den Saftverlust einschränke. Diese Einschränkung ist in der Tat nur so zu erklären, daß beim langsamen Auftauen eine Wiederaufnahme des Wassers durch die Kolloide stattfindet. KALLERT hat versucht, den experimentellen Beweis für diese empirisch ermittelte Tatsache zu erbringen. Davon ausgehend, daß Art und Umfang der Entquellung im histologischen Bild so charakteristischen Ausdruck finden, studierte er auch das Verhalten der Gefrieränderungen beim Auftauen in feinen Schnitten. Als Material dienten Rinderfilets, die in Luft bei -8° C gefroren waren. Jedes Filet wurde geteilt, die eine Hälfte wurde langsam, die andere schnell aufgetaut. Nach bestimmten Zeitabschnitten wurden Proben entnommen und histologisch untersucht. Es konnte festgestellt werden, daß eine Rückbildung der Gefrieränderungen des Muskelgewebes stattfindet, daß diese Rückbildung beim langsamen Auftauen eine weitergehende ist als beim schnellen, und daß sie nach dem Auftauen noch fortschreitet, bis das ursprüngliche histologische Bild fast vollständig wiederhergestellt ist.

Die günstige Wirkung des langsamen Auftauens läßt sich daraus erklären, daß die Wiederaufnahme des Gewebssaftes durch die Muskelkolloide eine gewisse Zeit beansprucht, ebenso wie dies bei der Abgabe im Verlauf des Gefrierprozesses der Fall war. Eine vollkommene Reversion im kolloidchemischen Sinn findet freilich nicht statt, es gilt vielmehr auch für die Muskelkolloide der Satz M. G. FISCHERs, daß eine jede Zustandsänderung eine bleibende Veränderung hinterlasse. Das geht schon aus dem histologischen Befund hervor, nach dem selbst in demjenigen Stadium der Rückbildung, in dem das Bild des normalen Muskelgewebes fast völlig wieder erreicht ist, doch noch Überreste der Veränderungen in Form einer bleibenden Verbreiterung mancher Spalträume zu erkennen sind. Ein weiterer Beweis ist der Umstand, daß auch langsam aufgetautes und erst einige Zeit nach dem Auftauen angeschnittenes Fleisch, das eine trockene Schnittfläche hat, auf Druck doch eine merklich größere Saftmenge abgibt als Fleisch, das nicht gefroren war. Die Bindung des Wassers an die Kolloide muß also mindestens zum Teil eine lockerere sein als vor dem Gefrieren. Ob die Quellfähigkeit aller Muskelkolloide durch den Gefrierprozeß gleichmäßig geschädigt wird, oder ob die einen Kolloide mehr, die andern weniger verändert werden, ist kaum zu entscheiden. An den einzelnen Muskelfasern ist keine Veränderung

der Struktur nachzuweisen, so daß eine histologische Unterscheidung zwischen frischem und gefrorenem gewesenen Fleisch nicht möglich ist.

Die oben gestellte Frage ist demnach bezüglich der Muskelkolloide dahin zu beantworten, daß die Gefrieränderungen derselben zum überwiegenden Teil reversibel, zum kleineren Teil irreversibel sind. Damit ist eine feste Grundlage für das Auftauen gegeben, es handelt sich nunmehr lediglich darum, in der Praxis die Rückbildung durch geeignete Maßnahmen bis zu dem erreichbaren Höchstmaß zu fördern.

Der Vorteil des langsamen Auftauens kam in den erwähnten Versuchen KALLERTS mit Filets darin zum Ausdruck, daß die langsam aufgetauten Proben sowohl während des Auftauens als auch nachher aus frischen Schnittflächen erheblich weniger Saft abgaben als die schnell aufgetauten. Diese Beobachtungen konnten später in Versuchen mit ganzen Rindervierteln voll bestätigt werden.

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang noch die Feststellung von KALLERT, daß die bei sehr schnellem Frieren innerhalb der Muskelfasern entstehenden Veränderungen wesentlich weniger rückbildungsfähig sind als die viel umfangreicheren, die sich beim langsamen Frieren außerhalb der Fasern bilden.

Ganz anders verhalten sich nach den Untersuchungen von KALLERT die in Herzen und Lebern bestehenden Gefrieränderungen beim Auftauen. In beiden Organen ist auch durch langsames Auftauen keine merkliche Rückbildung dieser Veränderungen zu erreichen, der Saftverlust während des Auftauens und nachher ist dementsprechend bedeutend. Das histologische Bild nach dem Auftauen unterscheidet sich nur wenig von dem im gefrorenen Zustand. In Herzen und Lebern entstehen also überwiegend irreversible Veränderungen. Bei den letzteren ist dies angesichts der umfangreichen Zerstörungen, die das Gewebe beim Gefrieren erfährt, ohne weiteres verständlich, dagegen nicht bei ersteren, die einen dem Muskelfleisch so ähnlichen feinen Bau aufweisen.

4. Konservierende Wirkung des Einfrierens.

Die konservierende Wirkung von Gefriertemperaturen beruht darauf, daß durch sie alle Zersetzungs Vorgänge, die sich bei höheren Temperaturen im Fleisch abspielen, völlig unterdrückt oder doch ganz außerordentlich verzögert werden. Eine merkliche Verzögerung ist schon durch die andere Form der Kälteanwendung, die Kühlung, zu erreichen, bei der Temperaturen von Null bis zu einigen Graden darüber auf das Fleisch einwirken. Man kann dabei eine Haltbarkeit des Fleisches bis zu drei Wochen erzielen dadurch, daß das Wachstum der auf der Fleischoberfläche sitzenden Zersetzungskeime stark gehemmt wird.

Durch eine weitere Senkung der Temperatur auf $-1,5^{\circ}\text{C}$ kann die Haltbarkeit frischen Fleisches auf die doppelte Zeit, 6—7 Wochen, verlängert werden. Dabei tritt im Fleisch noch keine oder nur eine ganz geringe Eisbildung ein, weil der Gefrierpunkt des Fleisches bei etwa -1° liegt. Diese Art der Kühlung, die man als „Tiefkühlung“ bezeichnen kann, wird schon lange bei der Ausfuhr von Fleisch aus Argentinien nach England benützt, wo das als „Kühlfleisch“ benannte Produkt eine immer größere Rolle spielt. Seit einigen Jahren wird regelmäßig Kühlfleisch auch aus Australien nach England eingeführt, allerdings wird die konservierende Wirkung der Tiefkühlung durch eine Zugabe von 10% Kohlendioxyd zur Raumluft verstärkt. In Deutschland hat man von der

Tiefkühlung in der letzten Zeit ebenfalls mit gutem Erfolg Gebrauch gemacht, wenn es galt, ein plötzliches Überangebot bester Schlachtrinder aus dem Markt zu nehmen und das Fleisch für eine Überbrückungszeit von 6—7 Wochen frisch zu erhalten.

Durch Gefriertemperaturen werden zunächst die chemisch-fermentativen Vorgänge im Fleisch zum Stillstand gebracht, so vor allem der Reifungsprozeß, der auf der Einwirkung der nach dem Tode entstehenden Milchsäure beruht. KALLERT konnte an gefrorenem Rindfleisch nachweisen, daß die Reifung durch das Einfrieren unterbrochen wird und während der Lagerung völlig aufhört, aber nach dem Auftauen ihren Fortgang nimmt. Es ist daher verständlich, daß die mehr oder weniger zarte Beschaffenheit von Gefrierfleisch in hohem Grade davon abhängt, ob es vor dem Einfrieren oder nach dem Auftauen genügend Zeit zum Reifen hatte. Auch alle weitergehenden Spaltungen fermentativer Art werden durch das Einfrieren unterbunden, was daraus hervorgeht, daß das Fleisch auch nach langfristiger Aufbewahrung im gefrorenen Zustand keinerlei Zersetzungserscheinungen aufweist, wie sie z. B. nach den Versuchen von HAUSER in keimfrei gewonnenem und aufbewahrttem Fleisch bei gewöhnlicher Temperatur auftreten. Praktisch besonders wichtig ist, daß auch das Fett der Schlachttiere durch tiefe Temperaturen sehr lange unzersetzt erhalten wird.

Das Wachstum von Bakterien und Hefen kommt bei Temperaturen, die wesentlich unter Null liegen, zum Stillstand, deshalb ist eine Zersetzung von gefrorenem Fleisch durch diese Mikroorganismen nicht möglich. Eine Abtötung derselben erfolgt durch das Einfrieren und während der Kaltlagerung jedoch nicht, wie die Versuche von MACFADYAN, PAUL und PRALL u. a. gezeigt haben. Darnach vertragen Bakterien anstandslos selbst extrem tiefe Temperaturen, z. B. die der flüssigen Luft, — 192, und die des flüssigen Wasserstoffes, — 252°, mehrere Tage, ja sie werden durch Kälte weit länger als durch gewöhnliche Temperaturen in ihrer Lebensfähigkeit erhalten. Man hat also damit zu rechnen, daß alle Zersetzungskeime, die vor oder nach dem Einfrieren auf das Fleisch gelangen, durch die Kälte mit diesem konserviert werden und sich beim Verbringen des Fleisches in höhere Temperatur vermehren können. Schon daraus ergibt sich die Notwendigkeit, das Fleisch sorgfältig vor jeder Verunreinigung zu schützen. Eine Ausnahmestellung nimmt eine ganze Anzahl von Schimmelpilzarten ein, die in ihrer Entwicklung durch Gefriertemperaturen zwar auch stark gehemmt werden, sich aber doch nach längerer Zeit und unter günstigen Umständen bei — 8 bis — 10° auf gefrorenem Fleisch vermehren und zur Schädigung desselben führen können.

Von der Wirkung der Gefriertemperaturen auf krankmachende Mikroorganismen gilt dasselbe wie über die Zersetzungskeime. Auch sie werden durch die Kälte nicht vernichtet, sondern eher konserviert. Zahlreiche hierüber angestellte Untersuchungen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, haben dies bewiesen. Die Erreger des Milzbrandes, der Tuberkulose, des Paratyphus und anderer auf den Menschen übertragbarer Infektionskrankheiten, ebenso der auf die Tiere beschränkten, z. B. der Rinderpest, werden durch die Kälte in vermehrungs- und infektionsfähigem Zustand erhalten. Daraus leitet sich die Forderung ab, daß nur Fleisch, das einer unbedingt zuverlässigen Fleischschau unterworfen und dabei als völlig gesund befunden wurde, zu Gefrierfleisch verarbeitet werden darf. Auf die Erfüllung dieser Forderung sind auch

die in den Exportländern erlassenen Bestimmungen über die Auswahl und Untersuchung der Tiere, deren Fleisch eingefroren und ausgeführt werden soll, eingestellt, wie an anderer Stelle gezeigt werden soll.

Von großer praktischer Bedeutung ist die Frage, wie Gefriertemperaturen auf die Parasiten wirken, die durch den Fleischgenuß auf den Menschen übergehen können. Es kommen hier vor allem drei Parasiten in Betracht, nämlich im Rindfleisch die sog. Rinderfinne, *Cysticercus inermis*, im Schweinefleisch die sog. Schweinefinne, *Cysticercus cellulosae*, beide Vorstufen von Bandwürmern des Menschen, und zwar von *Taenia saginata* und *Taenia solium*, ferner im Schweinefleisch die Trichine, *Trichinella spiralis*, als Larve im eingekapselten Zustand. Die Widerstandsfähigkeit dieser Parasiten war schon häufig Gegenstand experimenteller Untersuchungen. Bezüglich der beiden Finnen hat sich nach R. HOCK, der die Arbeiten der früheren Autoren zusammenstellte, ergeben, daß die Schweinefinne bei -8 bis -10° C frühestens nach $3\frac{1}{2}$ Tagen, die Rinderfinne nach 3 Tagen abstirbt. Bei der allgemein üblichen Art des Einfrierens von Fleisch zum Zweck seiner längeren Erhaltung werden also etwa vorhandene Finnen mit voller Sicherheit abgetötet. Diese Tatsache ist gerade im Hinblick auf die Rinderfinne sehr wichtig, weil sie — im Gegensatz zur sehr selten gewordenen Schweinefinne — verhältnismäßig häufig vorkommt, und weil sich der Verzehr von rohem Rindfleisch in Gestalt des Hack- und Schabefleisches sehr stark eingebürgert hat. Die Gefahr, einen Bandwurm zu erwerben, besteht also beim Genuß dieser beiden Artikel dann nicht, wenn sie aus gefrorenem Fleisch hergestellt sind. In den letzten Jahren konnten eine Reihe von Untersuchern, so S. W. IWANIZKI, H. KELLER, K. SCHEERER, H. HUNDGEBURTH, WINDHAUSEN, ZUNKER nachweisen, daß zur Abtötung der Rinderfinne bereits eine kurze Einwirkung von Temperaturen genügt, die nur wenig unter Null liegen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß nach 24stündiger Wirkung einer Temperatur von -3° C die Invasionsfähigkeit der Finne mit Sicherheit erloschen ist. Auf Grund dieser Feststellungen ist vor kurzem die Bestimmung erlassen worden, daß das Fleisch schwachfinniger Rinder dann als genußtauglich ohne Einschränkung zu erklären ist, wenn es in einem Gefrierraum derart durchgefroren wurde, daß in der Tiefe der Muskulatur eine Temperatur von -3° C mindestens 24 Stunden geherrscht hat. Wesentlich widerstandsfähiger als Finnen haben sich Trichinen erwiesen. RANSOM gibt z. B. an, daß Trichinen im Fleisch erst nach 6tägiger Einwirkung von $-17,8^{\circ}$ C absterben, und daß trichinienhaltiges Fleisch zur sicheren Abtötung der Parasiten wenigstens 20 Tage lang bei einer Temperatur von -15° C gehalten werden müsse. Nach SCHMIDT, PONOMAREW und SAVELIER werden die Trichinen bei -15 bis -16° C erst nach 10 Tagen getötet. In den Versuchen von A. MAAS waren die Trichinen in der Tiefe der Hinterschenkelmuskulatur stark trichinöser Schweinehälften bei -14 bis $-19,5^{\circ}$ C nach 8 Tagen abgestorben. Das übliche Einfrieren des Fleisches bei etwa -10° genügt also nicht, die Trichinen abzutöten. So fanden FEUEREISEN und ZSCHOKKE in gefrorenem Auslandsfleisch wiederholt lebende Trichinen, die bei Versuchstieren Trichinose hervorriefen. Mit Recht unterliegt deshalb gefrorenes ausländisches Schweinefleisch bei der Einfuhr nach Deutschland der Untersuchung auf Trichinen. In den Vereinigten Staaten von Nordamerika werden auf Grund der Feststellungen von RANSOM Schweinefleischprodukte, die in den staatlich überwachten großen Schlachtereien zum

Verzehren ohne vorherige Kochung hergestellt werden, einer Temperatur von mindestens -15°C für die Dauer von mindestens 20 Tagen ausgesetzt.

B. Durchführung der Fleischkonservierung durch Einfrieren.

Die gesamte praktische Durchführung der Konservierung von Fleisch durch das Gefrierverfahren muß von der Absicht beherrscht werden, beste Beschaffenheit und größte Haltbarkeit zu erzielen. Fleisch ist an sich ein sehr empfindliches Nahrungsmittel, das durch unsachgemäße Gewinnung und Behandlung in seinem Wert für die menschliche Ernährung herabgesetzt werden kann. Hier kommt dazu, daß es in gefrorenem Zustand lange Lagerung und weite Transporte ohne Verminderung seiner Güte aushalten soll, bis es vom Herstellungs- zum Verbrauchsort gelangt. Dieses Ziel kann nur bei Verwendung guten, gesunden Fleisches und bei Beachtung aller notwendigen hygienischen und technischen Maßnahmen erreicht werden. Deshalb sind geringwertiges oder nicht mehr einwandfreies Fleisch sowie ungenügende technische Einrichtungen von vornherein auszuschalten. Die geforderte Sorgfalt hat sich auf alle Stadien der Herstellung und Weiterbehandlung des gefrorenen Fleisches zu erstrecken. Sie muß bereits bei der Auswahl und Vorbereitung der Schlachttiere einsetzen, muß die Schlachtung und Zurichtung, die gesundheitliche Überwachung, die Vorkühlung, das Einfrieren selbst, die Lagerung, den Transport und die Ausgabe an den Verbraucher beherrschen. Insbesondere muß darauf geachtet werden, daß von der Herstellung bis zum Verbrauch die dauernde Wirkung des konservierenden Faktors, der Kälte, gewahrt bleibt, daß also die sog. Kühlkette möglichst keine Unterbrechung erfährt, denn jede stärkere Erwärmung des gefrorenen Fleisches gefährdet seine weitere Haltbarkeit.

Über die ganze Frage der Fleischkonservierung durch Einfrieren liegen heute sowohl aus den großen überseeischen Exportländern wie aus den europäischen Verbrauchsgebieten praktische Erfahrungen in größtem Ausmaß vor, die durch zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen ergänzt wurden. Besonders war in Deutschland in der Kriegs- und Nachkriegszeit sowie in den letzten Jahren reichliche Gelegenheit geboten, solche Erfahrungen nicht nur über die Behandlung und den Verbrauch des aus Übersee stammenden Gefrierfleisches, sondern auch über die Herstellung und Verwendung von gefrorenem Fleisch im Inland unter den mannigfaltigsten Verhältnissen zu sammeln und nutzbringend zu verwerten. Es ist deshalb heute möglich, allgemein gültige Grundsätze aufzustellen, nach denen die Konservierung von Fleisch durch Einfrieren mit Aussicht auf vollen Erfolg durchgeführt werden kann. Damit soll jedoch keineswegs gesagt sein, daß nunmehr auf diesem Gebiet alle Fragen restlos geklärt sind, im Gegenteil, es ergeben sich immer wieder neue Fragen, die einer Bearbeitung nach der wissenschaftlichen und praktischen Seite bedürfen.

1. Schlachtstätten und Kühlhäuser.

Auf die notwendigen Baulichkeiten und ihre Einrichtung kann hier nicht näher eingegangen werden, es soll nur auf einige wichtige Punkte hingewiesen werden. Für die lange Guterhaltung des Fleisches ist es wesentlich, daß Schlachtstätte und Kühlhaus in unmittelbarer räumlicher Verbindung stehen. Dadurch werden unnötige Transporte des frischen Fleisches von der einen zum andern vermieden, die durch den Wechsel der Temperatur und die Möglichkeit der

Verunreinigung das Fleisch schädigen und überdies Unkosten verursachen. In den überseeischen Gefrierfleischwerken ist dieser Grundsatz schon allgemein verwirklicht, in Deutschland ist man in den letzten Jahren ebenfalls dazu übergegangen, neue Kühl- und Gefrierhäuser wenn irgend möglich nur noch in unmittelbarem Zusammenhang mit leistungsfähigen Schlachthöfen zu errichten. Für die Vorratswirtschaft mit Fleisch ist dies ein großer Vorteil, für die übrigen Güter, die für die Lagerung in den Kühlhäusern in Betracht kommen, kein Nachteil, da sie fast ausnahmslos von außerhalb angeliefert werden müssen.

Die Schlachtstätten müssen alle notwendigen Einrichtungen zur Unterbringung des Viehes, zur schnellen Durchführung der Schlachtungen, zur Vorbereitung des Fleisches für das Einfrieren besitzen. Sie entsprechen im wesentlichen denjenigen, über die unsere neuzeitlichen Vieh- und Schlachthöfe bereits verfügen. Besonders wichtig ist das Vorhandensein bzw. die Schaffung genügend großer Kühlhallen, in denen das frisch geschlachtete Fleisch auf etwa 0° gekühlt werden kann, bevor es in die Einfrierräume übergeführt wird. Damit die Schlachtungen sorgfältig und vor allem sehr sauber vorgenommen werden können, müssen in den Schlachthallen Anschlüsse in genügender Zahl für fließendes kaltes und heißes Wasser und Behälter zum Reinigen der Hände und Arme der Schlachtenden, der Geräte und der abwaschbaren Schürzen vorhanden sein.

Die Kühlhäuser müssen so eingerichtet sein, daß sie sowohl große Mengen von überseeischem Gefrierfleisch, das mit Waggons oder Lastzügen eintrifft, schnell aufnehmen und einlagern oder umgekehrt wieder auslagern und mit den genannten Verkehrsmitteln auf den Weg bringen, als auch Massenlieferungen von frischem Fleisch ausladen, einfrieren, stapeln und nach Ablauf der Lagerzeit wieder verladen können. Sie müssen also über ausreichende Zu- und Abfahrtswege, Bahnanschluß, Rampen, Aufzüge und sonstige Beförderungsmittel und vor allem über genügend große Räumlichkeiten zur Aufnahme des Fleisches verfügen. Weiter müssen die Leistung der Kältemaschinen und die Isolierung der Räume auf die dauernde Einhaltung genügend tiefer Temperaturen auch unter ungünstigen äußeren Verhältnissen oder bei stärkster Inanspruchnahme durch Ein- und Auslagerungen abgestellt sein. Sachkundiges Personal hat für den geregelten kältetechnischen Betrieb und für die glatte Abwicklung des Fleischumschlages zu sorgen.

In dem klassischen Land der Kühl- und Gefrierfleischindustrie, Argentinien, sind auch gesetzliche Vorschriften über Bau und Einrichtung der Gefrierfleischwerke erlassen. Danach müssen z. B. Wände und Fußböden in den Schlachthallen aus wasserdichtem Material sein, Licht und Luft müssen genügenden Zutritt haben, für fließendes Wasser, wasserdichte Tische, Karren und Behälter für die Eingeweide muß gesorgt sein. Garderoben und sonstige Räumlichkeiten für die Arbeiter und ein Laboratorium für fleischhygienische Untersuchungen sind vorgeschrieben. Die Nebenbetriebe, wie Häutesalzerei, Darmschleimerei, Fettfabrik müssen vom Gefrierhaus getrennt sein. Die Trocken-, Vorkühl- und Gefrierräume müssen in technischer und hygienischer Hinsicht allen Anforderungen entsprechen.

2. Auswahl und Vorbereitung der Schlachttiere.

Zum Einfrieren ist nur das Fleisch hochwertiger, gut genährter, vollfleischiger und fetter Tiere geeignet. Eine die Fleischoberfläche bedeckende Fettschicht

ist der beste natürliche Schutz gegen Austrocknung und andere Veränderungen des Fleisches. Beim Einfrieren magerer Tiere ist mit starker Austrocknung, entsprechend hohen Gewichtsverlusten und einer gewissen Entwertung des Fleisches zu rechnen. Sollen jedoch Tiere ohne reichlichen Fettansatz eingefroren werden, z. B. Kälber, so müssen sie im Fell belassen werden, das ebenfalls gegen Austrocknung schützt. Ferner sind nur Tiere guter Fleischrassen zu Gefrierfleisch zu verarbeiten, da nur ihr Fleisch die erforderliche Elastizität, den richtigen Quellungs Zustand und damit die nötige Widerstandskraft besitzt, den Einfluß der tiefen Temperaturen und aller anderen Einwirkungen ohne dauernde Schädigung auszuhalten. Man macht immer wieder die Beobachtung, daß sich das Fleisch der Rinder und Schweine bester, schwerster Qualität im gefrorenen Zustand am besten und längsten hält, während dasjenige von Tieren geringeren Wertes lange nicht die gleich gute Haltbarkeit aufweist. Bei Schweinen ist besonderer Wert darauf zu legen, daß sie ausgemästet sind und einen festen, kernigen Speck haben, damit sie eine längere Lagerung vertragen. Fleisch von unreifen, schlecht genährten Tieren oder trockenes, grobfaseriges Fleisch gibt niemals gutes Gefrierfleisch.

In Argentinien und Uruguay, die heute allein für die Lieferung von Gefrierfleisch nach Deutschland in Betracht kommen, trägt man der Notwendigkeit einer richtigen Auslese der Tiere von jeher Rechnung. Man hat dort den Viehbestand durch planmäßige Aufkreuzung mit den besten Fleischrassen der Welt, hauptsächlich englischen, so verbessert, daß erstklassiges und sehr gleichmäßiges Viehmaterial für die Erzeugung von Rinder- und Hammelgefrierfleisch dauernd zur Verfügung steht. Das milde Klima ermöglicht es ferner, die Tiere das ganze Jahr über im Freien auf der Weide zu belassen, was sich sehr günstig auf den Gesundheitszustand des Viehes und auf die Güte des Fleisches auswirkt. Eine wiederholte tierärztliche Untersuchung sorgt dafür, daß nur Tiere in gutem und gesundem Zustand zur Schlachtung kommen (s. J. E. RICHELET).

Das Fleisch von Tieren, die durch längere Transporte ermüdet sind, enthält erfahrungsgemäß häufig Bakterien, die vom Darm aus eingedrungen sind und erst nach einiger Zeit durch die natürlichen Abwehrkräfte des Körpers unschädlich gemacht werden. Sie führen, wenn die Tiere in ermüdetem Zustand geschlachtet werden, nicht selten zu einer inneren Zersetzung des Fleisches, besonders bei schweren Tieren, bei denen die Auskühlung nur langsam erfolgt. Nach Transporten muß deshalb den Tieren eine Ruhepause gewährt werden, deren Länge sich nach der Dauer und Art des Transportes zu richten hat. Sie soll aber mindestens 12 Stunden betragen, nach stürmischer Reise über See 2—3 Tage. Während der Ruhezeit müssen die Tiere in hellen, luftigen Stallungen, die im Winter nicht zu kalt, im Sommer nicht zu warm sein dürfen, untergebracht und gut gepflegt, vor allem mit genügend Streu, Futter und Wasser versorgt werden. In Argentinien ist eine Ruhezeit von 48 Stunden vor der Schlachtung gesetzlich vorgeschrieben.

Auf dem Weg zur Schlachtstätte ist heftiges Antreiben oder Schlagen der Tiere zu vermeiden. Schwere Schweine müssen besonders schonend behandelt werden, da sie des Laufens ungewohnt sind und leicht in einem erregten, überhitzten Zustand zur Schlachtung kommen, der für die Haltbarkeit des Fleisches schädlich ist. In Argentinien werden die Rinder auf dem Weg zur Schlachthalle durch ein Badebecken getrieben, das sie durchschwimmen müssen, und werden

dann noch ausgiebig mit Wasser abgebraust. Dadurch wird nicht nur eine Reinigung der Haut erzielt, durch die die Möglichkeit der Verunreinigung des Fleisches beim Schlachten vermindert wird, sondern auch eine Beruhigung der Tiere erreicht.

3. Schlachtung und Zurichtung.

Die Schlachtung muß so sauber wie nur möglich durchgeführt werden, damit Verunreinigungen des Fleisches vermieden werden. Die bei der Schlachtung tätigen Personen sollen leicht waschbare Oberkleidung, vor allem Schürzen aus Gummi od. dgl., tragen. Hände, Arme und Oberkleider sind nach jeder Verunreinigung zu säubern, Geräte immer wieder zu reinigen, der Fußboden während der Schlachtung öfter abzuspritzen. Die Abhäutung soll so ausgeführt werden, daß die Haarfläche der Haut nicht mit der enthäuteten Oberfläche des Tieres in Berührung kommt. Bei Schweinen ist auf restlose Reinigung und Enthaarung zu achten. Bei der Teilung der Tierkörper müssen glatte Schnittflächen geschaffen werden. Blutige oder beschmutzte Stellen sind durch Abwaschen zu reinigen oder durch Ausschneiden zu entfernen. Alle Fleisch- und Knochenanhängsel werden beseitigt, unebene Schnittflächen glatt gemacht. Bei Schweinen wird das weiche Fett, das in der Bauch- und Beckenhöhle sitzt, entfernt, weil es gegen längere Lagerung besonders empfindlich ist. Auch werden zweckmäßigerweise die Köpfe, das Zwerchfell, die Vorderfüße und die Schwänze abgetrennt, weil sie ebenfalls eine geringere Haltbarkeit besitzen.

In den Gefrierfleischwerken Argentiniens vollzieht sich nach den Angaben von R. O. NEUMANN, NICOLAS T. SUAREZ und J. E. RICHELET die Schlachtung und Zurichtung der Rinder folgendermaßen: Nach dem Baden und Abbrausen werden die Rinder die schräg ansteigende Rampe hinaufgetrieben, die zu den im obersten Stockwerk gelegenen Schlachthallen führt. Am Ende der Rampe gelangen sie in einen Gang, der immer enger wird, so daß schließlich nur noch ein Tier hinter dem andern gehen kann. Widerspenstige Tiere, die nicht vorwärts gehen wollen, werden durch Berühren mit einem elektrisch geladenen Stock angetrieben. Der Gang mündet in einen Kasten, der nur ein Rind aufnehmen kann. In dem Augenblick, in dem ein Tier den Kasten betreten hat, schließt sich hinter ihm die Tür. Sofort erhält es von einem Schlächter, der über dem Kasten steht, mit einem langgestielten Hammer einen wuchtigen Schlag, so daß es betäubt niederstürzt. Dann öffnet sich am unteren Teil der einen Seitenwand eine Klappe, durch die das betäubte Tier in die Schlachthalle hinausrutscht. Zwei Arbeiter nehmen es in Empfang, umschlingen seine Hinterbeine mit einer Kette, an der es sofort in die Höhe gezogen und mittels einer Laufkatze einige Meter weiterbefördert wird. Dieser Vorgang wiederholt sich jede halbe Minute. Das mit dem Kopf nach unten hängende Tier empfängt nun den Schlachtstich und blutet aus. Das Blut wird in Rinnen aufgefangen und läuft in einen Sammelbottich, der in einem tieferen Stockwerk steht, und wird von hier nach der Düngerfabrik gepumpt. Andere Arbeiter lösen nunmehr die Kopfhaut und schneiden die Füße ab, die auf kleinen Wagen gesammelt und zur weiteren Verarbeitung in eine andere Abteilung gebracht werden. Dann folgt die Ablösung der ganzen Haut, die mit großer Geschicklichkeit in einigen Minuten vollendet wird. Die Häute fallen durch Öffnungen im Fußboden in das nächste Stockwerk, um von da nach der Häutesalzerei befördert zu werden. Der Kopf

wird vom Körper getrennt. Jeder Tierkörper und die von ihm getrennten Teile erhalten gleichlautende Nummern, damit für die tierärztliche Untersuchung ihre Zusammengehörigkeit ersichtlich ist. Dann werden die Eingeweide herausgenommen, die Organe der Brust- und Bauchhöhle werden nacheinander ausgelöst und gleiten durch trichterförmige Öffnungen in das daruntergelegene Stockwerk, wo sie sofort tierärztlich untersucht werden.

Darauf werden die Tierkörper, die von dem Augenblick der Schlachtung ab dauernd an Laufkatzen hängend automatisch weiterbewegt werden, in der Mittellinie der Wirbelsäule auseinandergesägt. Die beiden Hälften werden einer sehr sorgfältigen Reinigung durch Abwaschen und Abbürsten mit fließendem Wasser unterzogen, alle Fleisch- und Fettanhängsel und Knochensplitter werden entfernt. Die Vordergliedmaßen werden bewegt, um das in den großen Gefäßen des Halses zurückgebliebene Blut herauszutreiben. Schließlich werden die Hälften, nachdem sie gewogen und nach Schwere, Fettansatz und Alter klassifiziert sind, in die Trockenhallen übergeführt, wo sie bei guter Ventilation einige Stunden hängenbleiben, damit sie abtrocknen und auskühlen.

Die Schlachtung und Zurichtung der Schafe und Schweine geschieht in ähnlicher Weise in besonderen Räumen. Die Tiere werden mit Fahrstühlen in das oberste Stockwerk befördert und geschlachtet. Sie treten an Laufkatzen hängend ihre Wanderung durch die Hallen an und gelangen sorgfältig gewaschen in die Trockenräume. Die zum Einfrieren bestimmten Organe, wie Herzen, Lebern, Nieren, Pansen, sowie die kleineren Fleischabschnitte, z. B. Backen und Gaumenfleisch, werden ebenfalls sauber zugerichtet und gewaschen, dann aufgehängt oder auf Tische gelegt, um nach einiger Zeit in die Gefrierräume gebracht zu werden.

Der Schlachtvorgang in den argentinischen Exportschlachtereien ist etwas ausführlicher geschildert worden, um zu zeigen, wie zweckmäßig dort unter weitgehender Mechanisierung und Einteilung der Arbeit verfahren wird. Dadurch und durch Beachtung großer Sauberkeit werden Höchstleistungen hinsichtlich der Zahl der täglichen Schlachtungen und der Güte der fertigen, zur Ausfuhr gelangenden Erzeugnisse erzielt.

Wie schon oben gesagt wurde, ist es eine selbstverständliche Forderung, daß nur Fleisch gesunder Tiere eingefroren werden darf, da im Fleisch befindliche Krankheitskeime durch den Gefrierprozeß nicht unschädlich gemacht werden. In Deutschland wird diese Forderung dadurch erfüllt, daß alle zur Schlachtung kommenden Tiere vor und nach derselben der tierärztlichen Untersuchung auf Grund des Reichsgesetzes betreffend die Schlachtvieh- und Fleischschau unterliegen. Die Einfuhr von geschlachteten Tieren aus dem Ausland, die gelegentlich ebenfalls im Inland eingefroren werden, ist nach § 12 des genannten Gesetzes an bestimmte Bedingungen gebunden, ferner wird solches Fleisch bei der Einfuhr nach den Ausführungsbestimmungen D einer besonders eingehenden Untersuchung unterzogen. Es ist also auch hier die volle Gewähr dafür gegeben, daß nur gesundheitlich einwandfreies Fleisch durch Einfrieren konserviert sind.

Auch die Regierungen der südamerikanischen Exportländer haben strenge gesetzliche Bestimmungen über die Untersuchung des Schlachtviehes und Fleisches sowie des gesamten Betriebes der Gefrierfleischwerke erlassen. In Argentinien wurde durch Gesetz vom 10. Oktober 1900 die tierärztliche Beaufsichtigung der Gefrieranstalten angeordnet, 1906, 1907 und 1927 wurden weitere

eingehende Bestimmungen über die Ausübung dieses Überwachungsdienstes herausgegeben. 1922 waren in den Gefrierfleischwerken ständig 65 approbierte Tierärzte und eine große Anzahl von Gehilfen tätig. Die Tierärzte sind Regierungsbeamte, unterstehen dem Landwirtschaftsministerium und sind von den Unternehmungen völlig unabhängig. Die besondere Aufgabe dieser Beamten besteht neben der allgemeinen gesundheitlichen Beaufsichtigung der Betriebe in der Untersuchung der Schlachttiere und des Fleisches und in der Überwachung der fertigen Erzeugnisse bis zur Verschiffung. Die Fleischschau verfolgt den alleinigen Zweck, alles krankhaft veränderte und qualitativ geringwertige Fleisch von der Verarbeitung zu Gefrierfleisch auszuschließen. Nach KALLERT fällt beim Durchlesen des argentinischen Gesetzes auf, daß es bei starker Anlehnung an das deutsche Fleischbeschaugesetz doch in mancher Beziehung strenger ist als dieses. Der Hauptgrund dafür dürfte sein, daß Vieh und Fleisch dort lange nicht den hohen Geldwert haben als bei uns, daß daher die argentinische Fleischschau bei der Erfüllung ihrer hygienischen Aufgabe strenger verfahren und von der genauen Abwägung wirtschaftlicher und gesundheitlicher Interessen gegeneinander, die bei uns geboten ist, absehen kann. Es kommt hinzu, daß man gesundheitliche Beanstandungen des argentinischen Fleisches in den Einfuhrländern unbedingt vermeiden will, da solche zu Rückschlägen für den Ausfuhrhandel und damit für einen wichtigen Zweig des Wirtschaftslebens führen könnten. Wie R. O. NEUMANN berichtet, wird die Untersuchung des Exportfleisches sehr sorgfältig durchgeführt, sie verdiene daher größtes Vertrauen. Daß dieses Vertrauen gerechtfertigt ist, haben Nachuntersuchungen des Gefrierfleisches gezeigt, die in Deutschland besonders in den letzten Jahren in großem Umfang durchgeführt wurden. Nur in einer verschwindend kleinen Anzahl von Fällen war Anlaß zu einer nachträglichen Beanstandung gegeben.

Vor der Verschiffung wird das Fleisch einer letzten tierärztlichen Untersuchung unterzogen, jedes Packstück erhält zum Zeichen, daß sein Inhalt einwandfrei befunden wurde, einen amtlichen Stempel. Endlich wird den einzelnen Ladungen ein amtliches Gesundheitszeugnis mitgegeben.

4. Vorkühlung.

Nach der Schlachtung läßt man das Fleisch in den Schlachthallen selbst oder in besonderen Räumen kurze Zeit, meist einige Stunden, bei gewöhnlicher Temperatur abhängen, wobei es einen erheblichen Teil seiner natürlichen Wärme verliert und durch Wasserabgabe aus der Oberfläche abtrocknet. Während dieser Zeit soll die Luft mäßig bewegt sein, damit die Wärme- und Feuchtigkeitsabgabe gefördert wird. Starker Zugluft darf frisch geschlachtetes Fleisch nicht ausgesetzt werden, da die Gefahr besteht, daß die Oberfläche zu schnell und zu stark eintrocknet, der Wärmeabfluß aus dem Innern der dicken Muskelpartien gehemmt und dadurch eine Zersetzung derselben herbeigeführt wird.

Durch die nun folgende Vorkühlung wird das Fleisch für das Einfrieren vorbereitet. Zu diesem Zweck wird das Fleisch in die Vorkühlräume übergeführt, die am besten mit den Schlacht- bzw. Trockenhallen einerseits und den Einfrierräumen andererseits durch Laufschiene in unmittelbarer Verbindung stehen. Es soll hier eine Temperatur von etwa 0° eingehalten werden, die Luft soll eine Feuchtigkeit von ungefähr 70% haben und lebhaft bewegt sein. Die Fleischstücke werden unter möglichst guter Raumausnutzung so

gehängt, daß sie sich gegenseitig nicht berühren. Der Zweck der Vorkühlung ist der, das Fleisch auch in den innersten Schichten bis auf etwa 0° herunterzukühlen und die Oberfläche weiter zu trocknen. Dadurch werden Zersetzungs Vorgänge im Innern und auf der Oberfläche verhindert und die Vorbedingungen für die gute Haltbarkeit während der Lagerung geschaffen. Ferner bedeutet die Vorkühlung eine sehr wesentliche Entlastung der Einfrierräume und des Einfrierprozesses, der von einer Fleischtemperatur von etwa 0° ausgehend viel schneller ablaufen kann. Besonders ist die gute Vorkühlung in den Fällen notwendig, in denen das Fleisch von der Schlachtstätte bis zum Gefrierhaus noch einen längeren Transport, sei es in Lastwagen oder Waggon, durchzumachen hat. Die feste Konsistenz, die Fleisch und Fett durch die Vorkühlung erlangen, verhindert, daß die Fleischstücke unterwegs verdrückt und verschmiert werden, daß beim Tragen der Schweine das Rückgrat durchbricht. Aus den genannten Gründen ist eine gute Vorkühlung nicht zu entbehren. Man hat mit dem Einfrieren von Fleisch, das zwecks Zeitersparnis nicht vorgekühlt war, sehr ungünstige Erfahrungen gemacht. So teilt GRÄF mit, daß bei einer Partie Rindfleisch, das lebenswarm eingefroren worden war, schon nach 4wöchiger Lagerung ausgedehnte Schimmelbildung auftrat und beim Verbrauch ein großer Teil sich im Innern als verdorben erwies.

Die Zeit, die das Vorkühlen in Anspruch nimmt, ist je nach der Größe und Beschaffenheit der Stücke verschieden. Am besten wird durch Thermometer, die in einzelne Stücke so eingesteckt werden, daß der Quecksilberbehälter bis zur Mitte der dicksten Stelle reicht und die Skala über die Oberfläche herausragt, der Zeitpunkt ermittelt, an dem die Durchkühlung den gewünschten Grad erreicht hat. Nach den Feststellungen von GRÄF kühlen bei einer Ausgangstemperatur von + 15° C Vorderviertel vom Rind mit einem Gewicht von 62 kg in 42 Stunden, Hinterviertel vom gleichen Gewicht in 53 Stunden im Innern auf 0° ab. Die Abkühlzeit für Schweinehälften im Gewicht von 44 kg war 42, für ganze Schweine von 100 kg 48 Stunden. Man soll also die genannten Fleischarten nach Möglichkeit 2 Tage vorkühlen. Wenn nicht so viel Zeit zur Verfügung steht oder genügend große Vorkühlräume nicht vorhanden sind, wird man sich mit einer etwa 24stündigen Vorkühldauer begnügen müssen, bei der das Fleisch eine Innentemperatur von einigen Graden über Null erreicht. Auch diese erfüllt im wesentlichen den mit der Vorkühlung verfolgten Zweck. Endlich ist noch zu erwähnen, daß das Fleisch während der Vorkühlung einen geringen Gewichtsverlust durch Verdunsten von Wasser aus der Oberfläche erleidet, der je nach der Beschaffenheit der Stücke, ihrer Vorbehandlung und der Verhältnisse im Vorkühlraum verschieden groß ist, im Mittel aber mit 0,5 bis 1% angenommen werden kann.

5. Einfrieren.

Der Transport des Fleisches zu den Gefrierräumen hat auch in den Fällen, in denen keine unmittelbare Verbindung zwischen der Schlachtstätte und dem Kühlhaus besteht, wenn irgend möglich in hängendem Zustand zu erfolgen. In den Einfrierräumen wird das Fleisch so gehängt, daß sich die einzelnen Stücke nicht berühren und allseitig von der kalten Luft umspült werden. Vor dem Einbringen des Fleisches wird die Temperatur auf 8—10° unter Null herabgesenkt; sie steigt, wenn der Raum mit Fleisch gefüllt ist, wieder bis auf annähernd Null

an und muß nun durch scharfe Kühlung möglichst schnell wieder heruntergedrückt werden, damit das Fleisch in kurzer Frist durchfriert. Der Temperaturverlauf wird sowohl im Raum durch Thermometer wie auch im Fleisch selbst genau wie beim Vorkühlen verfolgt. Wenn die Innentemperatur des Fleisches auf etwa -7° gesunken ist, kann der Einfrierprozeß als beendet angesehen und das Fleisch gestapelt werden. Auf dieser Temperaturstufe sind rund 70% des natürlichen Wassergehaltes ausgefroren und das Fleisch ist so hart, daß man mit einem Messer nicht mehr einstechen kann. Die beschleunigte Durchführung des Einfrierens ist notwendig, um eine bestmögliche Haltbarkeit des Fleisches zu erzielen und in Zeiten starken Fleischanfalls die Einfrierräume gut ausnützen zu können. Die Einfrierzeit zeigt naturgemäß je nach der Beschaffenheit der Stücke und den äußeren Verhältnissen erhebliche Schwankungen, man kann aber bei Rindervierteln mit einer durchschnittlichen Dauer von 6—7 Tagen, bei Schweinehälften mit einer solchen von 4—5 Tagen rechnen. Vor der Inbetriebnahme muß jeder Einfrierraum sorgfältig gereinigt, desinfiziert und frisch gekalkt werden, dasselbe muß mit den Hängegerüsten, Fleischhaken usw. geschehen.

6. Lagerung.

Unmittelbar nach dem Einfrieren wird das Fleisch in besonderen Räumen aufgestapelt und bleibt hier bis zum Zeitpunkt des Verbrauches liegen oder wird auch nach Bedarf von einem Ort zum andern versandt, um entweder von neuem eingelagert oder in den Verbrauch gegeben zu werden. Das letztere ist z. B. bei dem überseeischen Gefrierfleisch meistens der Fall, das nach dem Einfrieren kurze Zeit eingelagert, dann nach Deutschland verschifft und hier wieder auf längere oder kürzere Frist auf Vorrat gelegt wird. Während dieser ganzen oft viele Monate betragenden Zeit bedarf das Fleisch einer sorgfältigen sachkundigen Behandlung, denn es bleibt auch im gefrorenen Zustand ein empfindliches Lebensmittel, das durch manche schädlichen Einflüsse schwere Einbuße an seinem Wert erleiden kann.

Für eine längere Lagerung ist nur Fleisch geeignet, das in technischer oder hygienischer Hinsicht einwandfrei eingefroren wurde. Sind beim Vorkühlen, auf dem Transport oder beim Einfrieren Fehler unterlaufen oder Ereignisse anderer Art eingetreten, die die Haltbarkeit des Fleisches in Frage stellen, so soll lieber von der Einlagerung abgesehen werden. Dasselbe gilt von bereits gefrorenem Fleisch, das auf dem Transport beschädigt wurde, z. B. durch Auftauen, durch Verunreinigungen usw.

Vor der Beschickung muß jeder Lagerraum sorgfältig gereinigt und desinfiziert werden. Ferner müssen die Räume mit guter Beleuchtung, ausreichender Kühlung und zuverlässigen Instrumenten zur Messung der Temperatur und Luftfeuchtigkeit ausgerüstet sein. Bei der Stapelung des Fleisches muß darauf Bedacht genommen werden, daß das Fleisch von allen Seiten der bewegten kalten Luft zugänglich ist. Es dürfen also keine toten Ecken entstehen, in denen die Luft stagniert, weil sich in solchen mit Vorliebe Schimmelpilze auf dem Fleisch ansiedeln. Deshalb werden auf den Fußboden Bohlen oder Roste aus abgelagertem, sauberem Holz gelegt, auf die das Fleisch gestapelt wird, ferner bleibt zwischen den Stapeln und den Wänden ein gewisser Abstand. Endlich sind genügend Durchgänge zwischen den Fleischstapeln freizulassen,

die die Besichtigung aller in dem Raum untergebrachten Partien ermöglichen. Die Dichte der Stapelung hängt vor allem von der Höhe des Raumes und der Tragfähigkeit des Fußbodens ab. Sie beträgt zwischen 600 und 1200 kg je Quadratmeter. Zwischen der obersten Fleischschicht und den Kühlsystemen oder den die kalte Luft zuführenden Kanälen muß ein genügender Raum freibleiben, damit die Verteilung der Kälte nicht behindert wird.

Die Temperatur, die während der Lagerung einzuhalten ist, muß nach den in den letzten Jahren in Deutschland gemachten Erfahrungen bei Rindfleisch mindestens 10, bei Schweinefleisch annähernd 15° C unter Null betragen. Bei Schweinen ist eine tiefere Temperatur deshalb notwendig, weil das Fett derselben leichter zersetzlich ist als das Rinderfett. Für die Lagerung von Schafen, Kälbern und inneren Organen gelten die gleichen Temperaturen wie bei Rindfleisch. Die Einhaltung wesentlich tieferer Temperaturen, von etwa — 20°, die von mancher Seite empfohlen wird, ist nicht erforderlich, verteuert aber die Lagerung ganz erheblich, auch ist dabei nach dem im ersten Teil Gesagten mit einer vermehrten Entstehung von irreversiblen Veränderungen der Muskelkolloide zu rechnen. Schwankungen der Temperatur während der Lagerung sind möglichst zu vermeiden, und wenn sie aus betriebstechnischen Gründen auftreten, schnell wieder auszugleichen.

Die Luft in den Lagerräumen muß rein, insbesondere völlig frei von fremden Gerüchen sein, denn Fleisch nimmt auch in gefrorenem Zustand Geruchsstoffe leicht auf. Sie muß ferner wiederholt am Tag gründlich umgewälzt werden, doch ist eine zu starke Luftbewegung, besonders wenn sie dauernd stattfindet, eher schädlich, weil sie die Austrocknung des Fleisches und die Zersetzung des Fettes fördert. Die Luftfeuchtigkeit stellt sich in Räumen, die mit Fleisch vollgelagert sind, in der Regel auf etwa 85—90% relativer Feuchtigkeit ein.

Während der Lagerung können am Fleisch gewisse Veränderungen eintreten, die man jedoch durch Schaffung geeigneter Lagerungsbedingungen ganz verhüten oder auf ein praktisch bedeutungsloses Mindestmaß beschränken kann. So macht sich an den Schnittflächen des mageren Fleisches eine dunkle, an denen der Knochen eine graue Verfärbung nach längerer Lagerung bemerkbar. Beide kommen durch eine Veränderung des Muskel- bzw. Blutfarbstoffes zustande, sie haben jedoch nur die Bedeutung eines Schönheitsfehlers. Ferner erfolgt eine langsam fortschreitende Verdunstung des ausgefrorenen Wassers aus den nicht von einer Fettschicht bedeckten Teilen der Oberfläche. Der Grad dieser Austrocknung hängt von der Länge der Lagerung, vom Fettgehalt der Stücke und von dem Feuchtigkeitsgehalt der Luft ab. Je fetter das Fleisch ist, um so kleiner ist die der Austrocknung zugängliche Oberfläche. Bei bestem Fleisch und unter günstigen Lagerungsbedingungen ist die Austrocknungszone nur wenige Millimeter stark, auch wenn die Lagerung viele Monate beträgt. Dementsprechend ist auch der durch die Austrocknung entstehende Gewichtsverlust bei einer Lagerungsdauer von 6 Monaten auf nur etwa 1,5—2,5% zu beziffern. Diese Zahlen gelten für Rindfleisch in Vierteln, für Schweinefleisch in halben oder ganzen und für Schaffleisch in ganzen Tierkörpern. Bei kleineren Fleischstücken oder Organen können die Gewichtsverluste entsprechend der größeren, ungeschützten Oberfläche erheblich höher sein, doch wird in solchen Fällen meist durch eine zweckmäßige Packung einer übermäßigen Austrocknung vorgebeugt.

Im Fett können unter der Einwirkung des Sauerstoff- und Feuchtigkeitsgehalts der Luft bei längerer Lagerung oder bei ungünstigen Lagerungsbedingungen Spaltungen vor sich gehen, die an der Oberfläche beginnen und langsam in die tieferen Schichten vordringen. Die Luftfeuchtigkeit begünstigt die Spaltung der Fette zu Fettsäuren und Glycerin, der Sauerstoff oxydiert die Spaltungsprodukte zu Ozaniten und Aldehyden. Die Veränderungen sind grobsinnlich an einer gelblichen oder grauen Verfärbung und an einem alten, talgigen oder ranzigen Geruch und Geschmack festzustellen. Am empfindlichsten ist das Fett der Schweine und hier wieder das auf der Innenseite der Hälften sitzende weiche Fett, weit haltbarer sind Rinder- und Schaffett. Bei der Haltbarkeit des Fettes spielen gerade die Auswahl der Tiere, die Art der Schlachtung und Weiterbehandlung des Fleisches eine sehr große Rolle, denn am wenigsten haltbar hat sich stets das Fett ungenügend gemästeter Tiere, vor allem leichter Schweine, beim Schlachten verunreinigtes Fett und Fett von Tieren erwiesen, die nach der Schlachtung nicht schnell genug eingefroren werden konnten. Begünstigt werden die Zersetzungsvorgänge im Fett durch zu hohe Luftfeuchtigkeit (s. u. a. C. LEA) und zu starke Luftbewegung in den Lagerräumen, endlich durch zu hohe Temperatur. Es ist gelegentlich mit gutem Erfolg versucht worden, das Fett gefrorener Schweine dadurch vor Zersetzung zu bewahren, daß man die Stücke mit einer schützenden Eisglasur überzog. Bei der Einfrierung großer Mengen ist dies aber technisch nicht möglich, um so weniger, als die Glasur nach einiger Zeit verdunstet und erneuert werden müßte.

Wie oben angegeben wurde, können sich auf gefrorenem Fleisch selbst bei Temperaturen von 8—10° unter Null Schimmelpilze ansiedeln. Von verschiedenen Autoren wurden bisher eine große Anzahl von Arten der Gattungen *Mukor*, *Penicillium*, *Thamnidium*, *Monilia*, *Aspergillus*, *Chlamydomukor* auf Gefrierfleisch gefunden, so von HENDERSON *Thamnidium chaetoclotioides* und *elegans*, ferner *Chlamydomucor racemosus*, von BERGER, PIO SILVA und M. MÜLLER *Cladosporium herbarum*, der die sog. Schwarzfleckigkeit hervorruft, von PIO SILVA *Mucor mucedo*, *Penicillium glaucum* und *crustaceum*, *Monilia digitata* und *Aspergillus simplex*, von BIDAULT außerdem *Chaetostylum Fresenii*, *Stysanus stimonites*, *Botrytis Micheli*, *Mucor spinosus* und *pusillus*. Damit dürfte aber die Zahl der Schimmelpilzarten, die auf gefrorenem Fleisch vorkommen können, bei weitem nicht erschöpft sein. Bei starker Vermehrung und längerer Einwirkung können die Schimmelpilze tiefgehende Veränderungen im Fleisch hervorrufen und dasselbe für den menschlichen Genuß unbrauchbar machen. So fand BUTJAGIN, daß durch das Schimmelwachstum die Trockensubstanz des Fleisches vermindert wird, der Gehalt an Ammoniak, flüchtigen Säuren und Amidverbindungen zunimmt und auch starke Kohlensäurebildung eintritt; über die fettzersetzende Wirkung der Schimmelpilze hat OHTA berichtet. Von Schimmelpilzen stärker befallenes Fleisch zeigt einen unangenehmen dumpfigen, ammoniakalischen Geruch und Geschmack, den auch die inneren, nicht unmittelbar betroffenen Teile annehmen können.

Die Ansiedlung und Vermehrung von Schimmelpilzen auf gefrorenem Fleisch wird durch folgende Umstände begünstigt: Verunreinigung des Fleisches beim Schlachten und bei der weiteren Behandlung, Lagerung in Räumen, die nicht vor der Belegung gründlich gereinigt und desinfiziert wurden, ungenügende Kühlung und häufige Temperaturschwankungen, besonders oberflächliches

Auftauen, zu geringe Luftbewegung oder Stagnation der Luft und zu hohe Luftfeuchtigkeit in den Lagerräumen. Die vorbeugenden Maßnahmen gegen die Schimmelbildung ergeben sich daraus von selbst. Am wichtigsten ist die Einhaltung einer genügend tiefen Temperatur, die nach allen Erfahrungen der letzten Jahre nicht mehr über -10°C liegen soll und in hohem Grad andere etwa vorhandene ungünstige Einwirkungen auszugleichen vermag. Geringgradige oberflächliche Schimmelbildung ist für die Genußfähigkeit des Fleisches gewöhnlich bedeutungslos, weil sie sich durch Abwischen oder Abkratzen leicht entfernen läßt; bei stärkerer Vermehrung der Pilze dagegen müssen die betroffenen Fleischteile durch Abschneiden entfernt werden.

Die Haltbarkeit von gefrorenem Rind- und Schweinefleisch beträgt, wenn es von hochwertigen Tieren nach sauberer Schlachtung und Behandlung in einwandfreiem Zustand eingefroren wurde und bei den angegebenen Temperaturen gelagert wird, ein volles Jahr. Nach dieser Zeit ist noch keine merkliche Einbuße am Gebrauchswert des Fleisches eingetreten. Vorräte von gefrorenem Fleisch müssen während der ganzen Dauer der Lagerung laufend sorgfältig überwacht werden, damit jede Veränderung in den Lagerungsverhältnissen oder am Fleisch rechtzeitig bemerkt wird. Zuverlässige Meßinstrumente müssen vor allem die Kontrolle der Temperatur ermöglichen, der Zustand des Fleisches muß mindestens einmal wöchentlich durch Untersuchung von Stichproben ermittelt werden.

7. Transport.

Die Versendung gefrorenen Fleisches muß so durchgeführt werden, daß keine Unterbrechung der Kühlkette eintritt, daß also das Fleisch auf dem oft weiten Weg vom Ort seiner Herstellung zu dem des Verbrauches im hartgefrorenen Zustand verbleibt, weil darin eine wesentliche Voraussetzung seiner weiteren Haltbarkeit liegt. Nur wenn das zum Versand kommende Gefrierfleisch nach seiner Ankunft unmittelbar in den Verbrauch gegeben werden soll, ist ein mehr oder minder starkes Antauen unbedenklich.

Das aus Übersee eingeführte Gefrierfleisch wird in Dampfern transportiert, die mit Gefrierräumen ausgestattet sind. Im Anknüpftshafen wird dieses Fleisch auf dem schnellsten Weg in die dort stehenden Kühllhäuser verbracht oder in Kühlwaggons verladen und nach den Kühllhäusern des Binnenlandes verschickt, wo es eingelagert wird. Aus diesen wird es, ebenso wie das im Inland eingefrorene Fleisch, nach Bedarf herausgenommen, um entweder am Ort selbst verbraucht oder nach weiter entfernt liegenden Orten versandt zu werden. Im letzteren Fall werden neben den Kühlwagen der Eisenbahn neuerdings vielfach Lastkraftwagen benützt, die geschlossen und mit Isolierung versehen sind. Dieselben benötigen nur einen Bruchteil der Transportzeit der Eisenbahn und gestalten die Versorgung der Bevölkerung über das ganze Reichsgebiet sehr beweglich. Die Beigabe von Wassereis zu Gefrierfleischtransporten ist zwecklos, da dieses eine höhere Temperatur als das Fleisch hat, dagegen hat sich als zusätzlicher Kälteträger Kohlensäure in fester Form, sog. Trockeneis, das eine Temperatur von -80°C besitzt, gut bewährt.

Auf dem Transport kann das Fleisch von manchen schädlichen Einwirkungen betroffen werden, besonders auf der langen Reise über See, so z. B. durch Versagen der Kühlung, durch Schadhafwerden der Isolierung, durch Schiffsbrände, Eindringen von Seewasser oder Undichtwerden der Kühlrohre, wodurch das

Fleisch mit Salzlösung benetzt wird, durch Verunreinigung mit Kohlenstaub oder anderen stäubenden Frachtgütern, Zement, Gips, Sand, die gleichzeitig mit dem Fleisch verladen werden, durch Aufnahme fremder Gerüche, z. B. nach Apfelsinen oder Citronen, die auf dem gleichen Schiff verladen sind oder auf vorhergehenden Reisen in denselben Räumen untergebracht waren. Einen Fall von Schädigung einer Gefrierfleischladung durch Teergeruch hat GLAGE beschrieben. Alle diese und andere schädlichen Einflüsse können das Fleisch ganz oder zum Teil unbrauchbar für den menschlichen Genuß machen. Eine genaue Prüfung des Fleisches bei der Entladung muß dafür sorgen, daß solche Transportschäden aufgedeckt werden.

8. Auftauen.

In dem Abschnitt über das Verhalten der Gefrierveränderungen der Muskelkolloide beim Auftauen ist ausgeführt worden, daß dieselben zum größeren Teil reversibel, zum kleineren Teil irreversibel sind, daß die Reversion eine gewisse Zeit beansprucht und daß deshalb das gefrorene Fleisch langsam aufgetaut werden muß. Weiter ist klar, daß der außerhalb der Muskelfasern gefrorene Fleischsaft nur dann beim Auftauen von diesen wieder aufgenommen werden kann, wenn er nicht vorher Gelegenheit erhält, auszulaufen. Dies ist aber in erheblichem Ausmaß dann der Fall, wenn das Fleisch im gefrorenen Zustand zerteilt wird. Dabei werden ungezählte mit Eis gefüllte Lücken eröffnet, aus denen beim folgenden Auftauen der Fleischsaft ungehindert ausfließt. So können sehr große Saftverluste eintreten, das Fleisch selbst ist weich und nach der Zubereitung oft strohig. STORP sowie ASCOLI und SILVESTRI fanden z. B. beim Auftauen von kleinen Fleischproben Gewichtsverluste durch Ausfließen von Saft zwischen 8 und 15%. Die praktische Erfahrung hat denn auch immer wieder gezeigt, daß die ungünstigste Art, gefrorenes Fleisch für den Verbrauch vorzubereiten, die ist, es im gefrorenen Zustand zu zerkleinern. Je weitergehend die Zerkleinerung ist, um so größer ist der Saftverlust. Aus diesen Gründen muß in der Auftaupraxis der Grundsatz gelten, das *Fleisch in ganzen Stücken langsam aufzutauen*.

Der Grundsatz des langsamen Auftauens in ganzen Stücken ist schon vor dem Krieg von einzelnen Autoren, unter anderem von FERRETTI, und vor allem während des Krieges von PLANK und KALLERT auf Grund umfangreicher Versuche mit gefrorenem Rind- und Schweinefleisch mit aller Deutlichkeit herausgestellt worden. Sie tauten Schweinehälften und Rinderviertel unter den verschiedensten Bedingungen auf und kamen zu dem Ergebnis, daß bei langsamem Auftauen eine vollständigere Wiederaufnahme der ausgefrorenen Flüssigkeit in die Muskelfasern stattfindet als beim raschen Auftauen, und daß dementsprechend mit wachsender Auftaugeschwindigkeit der Saftverlust zunimmt. Besonders wiesen sie darauf hin, daß das Zerteilen des Fleisches im gefrorenen Zustand den Saftverlust außerordentlich begünstigt. Sie haben auf Grund ihrer Versuchsergebnisse Regeln für das Auftauen von gefrorenem Fleisch aufgestellt, die sich in der Praxis bewährt haben. Darnach soll das Auftauen in ganzen Stücken bei einer mittleren Temperatur von $+5-6^{\circ}\text{C}$ erfolgen, wobei Hinterviertel vom Rind im Gewicht von 60 kg in 80 Stunden, Vorderviertel im gleichen Gewicht in 65 Stunden, halbe Schweine von 30 kg in etwa 65 Stunden auftauen. Das Auftauen soll in besonderen Räumen mit regulierbaren Heiz-, Kühl- und

Ventilationsvorrichtungen durchgeführt werden. Soweit solche fehlen, können zum Auftauen auch gewöhnliche Fleischkühlräume benützt werden, wo naturgemäß mit etwas längeren Auftauzeiten zu rechnen ist.

Weitere umfangreiche Auftauversuche wurden in der Folgezeit von KALLERT mit gefrorenen Rindervierteln argentinischer Herkunft durchgeführt. Sie bestätigten die Ergebnisse der früheren Versuche und ergänzten sie in mancher Hinsicht. Auch hier trat der Unterschied im Saftverlust zwischen schnell in 32—40 Stunden bei 18° C und langsam in 4—5 Tagen bei 6° C aufgetauten Vierteln deutlich hervor. Erstere verloren aus frisch angelegten Schnittflächen erhebliche Mengen Fleischsaft, das Fleisch war weich und feucht, letztere dagegen gaben nur ganz geringe Mengen, oft nur wenige Tropfen, Saft ab, das Fleisch zeigte eine feste und trockene Beschaffenheit. Es konnte aber auch festgestellt werden, daß sich bezüglich der Saftabgabe das Fleisch des einen Tieres nicht immer wie das des andern verhält, ja, daß selbst unter den Muskelpartien ein und desselben Tieres Unterschiede bestehen. So waren z. B. die Schnittflächen der Zwischenrippenmuskeln regelmäßig trockener als die der Rückenmuskeln. Individuelle Unterschiede sind ohne weiteres aus den natürlichen Verschiedenheiten zu erklären, die zwischen den einzelnen Tieren in der Zusammensetzung und Beschaffenheit der Muskulatur bestehen und von mehreren Faktoren, wie Rasse, Alter, Fütterung, bestimmt werden. Eine weitere deutliche Verminderung des Saftverlustes ließ sich in den Versuchen erzielen, wenn die Fleischstücke nach dem Auftauen noch einige Tage hängen blieben. Wie schon experimentell festgestellt war, setzt sich der Prozeß der Wiederaufnahme des Fleischsaftes, der mit dem Schmelzen der Eiskristalle beginnt, eine gewisse Zeit fort. Schneidet man das Fleisch unmittelbar nach dem Auftauen an, so fließt Fleischsaft ab, der von den Muskelfasern noch nicht wieder aufgenommen worden ist. Besonders trifft dies bei den zuletzt aufgetauten Teilen eines großen Stückes, d. h. auf die inneren Schichten, zu. Dementsprechend geben einige Tage nach dem Auftauen angelegte Schnittflächen meist erheblich weniger Flüssigkeit ab als solche, die unmittelbar nach dem Auftauen angelegt werden. Weiter wurde durch die Versuche die praktisch wichtige Erkenntnis gewonnen, daß der Vorgang der Reifung des Fleisches durch das Einfrieren eine Unterbrechung erfährt. Wenn also Fleisch in kürzester Zeit nach der Schlachtung eingefroren wurde, ist es nach dem Auftauen als nicht gereiftes Fleisch anzusehen. Dies ist aber durchweg bei dem aus Übersee eingeführten Gefrierfleisch der Fall, da in den Herkunftsländern aus klimatischen und betriebstechnischen Gründen die Frist zwischen der Schlachtung und dem Einfrieren möglichst abgekürzt wird. Wenn gefroren gewesenes Fleisch in vollem Genußwert zum Verbrauch kommen soll, muß es nach dem Auftauen noch einige Zeit abhängen, damit die unterbrochene Reifung zum Abschluß gelangen kann.

Auf Grund der früheren Erfahrungen und der eigenen Versuche hat KALLERT ein Auftauschema aufgestellt, das den zweifachen Zweck der Verhinderung des Saftverlustes und der Reifung des Fleisches erfüllt. Darnach ist das Fleisch in ganzen Stücken langsam aufzutauen. Die Temperatur soll dabei so gewählt werden, daß Vorderviertel vom Rind in etwa 4, Hinterviertel in 5 Tagen, Schweinehälften in 3 und Schafe in 2—3 Tagen auftauen. Dazu sind je nach der Schwere und dem Fettansatz der Stücke Temperaturen zwischen 5 und 8° C

notwendig. Der Auftauvorgang wird durch Thermometer, die in einzelne Stücke eingesteckt werden, kontrolliert. Das Auftauen ist als abgeschlossen anzusehen, wenn im Innern des Fleisches eine Temperatur von -1°C erreicht ist. Durch Einstellung der relativen Luftfeuchtigkeit auf 90—95% kann während des Auftauens ein Gewichtsverlust durch Austrocknung der Oberfläche vermieden werden, jedoch muß dann der auf dem Fleisch sich bildende Wasserniederschlag sofort nach beendetem Auftauen durch Herabsenkung der Temperatur auf 0° und starke Luftbewegung entfernt werden. Nach dem Auftauen soll das Fleisch aus den angegebenen Gründen noch einige Tage bei etwa 0° hängen bleiben. Diesen Richtlinien wurde auch auf dem 5. internationalen Kältekongreß in Rom im Jahr 1928 von den Referenten über die Auftaufrage, N. T. SUAREZ, Buenos Aires, F. SCHOEPP, Lüttich, und A. BARRIER und A. MONVOISIN, Paris, auf Grund eigener Untersuchungen im wesentlichen zugestimmt.

Das Auftauen in ganzen Stücken in den angegebenen Zeiten und das mehrtägige Abhängenlassen nach dem Auftauen versetzt nach den bisher vorliegenden Erfahrungen das gefrorene Fleisch zweifellos in den bestmöglichen Zustand, der für die Ausgabe zum Verbrauch erreichbar und erwünscht ist. Dieses Verfahren sollte deshalb überall dort angewendet werden, nötigenfalls mit kleinen, durch örtliche Verhältnisse bedingten Abweichungen, wo die Gewähr gegeben ist, daß das aufgetaute und gereifte Fleisch innerhalb weniger Tage und auf dem kürzesten Weg zum Verbrauch gelangt.

Aus den besonderen Verhältnissen, unter denen gegenwärtig die Versorgung des deutschen Reichsgebietes mit gefrorenem Fleisch überseeischer Herkunft und inländischer Erzeugung erfolgt, haben sich auch für das Auftauen einige neue Gesichtspunkte ergeben, denen in der Praxis Rechnung getragen werden mußte. Wie eingangs schon angedeutet wurde, ist in Deutschland die Einfuhr von Gefrierfleisch, die Lagerung und Verteilung desselben ebenso wie die Herstellung von gefrorenem Fleisch im Inland und dessen Abgabe ausschließlich Aufgabe der von der Reichsregierung damit beauftragten Reichsstelle für Tiere und tierische Erzeugnisse. Unter anderem ist die gesetzliche Regelung getroffen, daß das ausländische Gefrierfleisch den Schlachthöfen zugeleitet, dort aufgetaut, der Auslandsfleischschau unterzogen und dann erst den Fleischerinnungen zur Verteilung an den Kleinhandel und an fleischverarbeitende Betriebe ausgehändigt wird. Dadurch wird erreicht, daß das Gefrierfleisch erst nach sachgemäßer Vorbehandlung, d. h. aufgetaut, in den Verbrauch gegeben und daß es vorher nochmals einer Prüfung auf einwandfreie Beschaffenheit unterworfen wird. Es erwies sich als notwendig, das Auftauen den an den einzelnen Schlachthöfen vorhandenen Möglichkeiten und den sehr verschiedenen örtlichen Bedürfnissen der Fleischversorgung anzupassen. So müssen an weitaus den meisten Schlachthöfen die bestehenden Vorkühl- und Kühlräume, bei genügend kühler Außentemperatur auch Schlachthallen und andere geeignete Räumlichkeiten, benützt werden, weil besondere Auftauräume fehlen und wegen der hohen Kosten auch nicht eingerichtet werden können. Ferner wird das an einem Ort aufgetaute Fleisch durchaus nicht immer restlos an diesem verbraucht, ein mehr oder minder großer Teil dieses Fleisches geht in die nähere oder weitere Umgebung, um dort an die Kleinverkäufer verteilt zu werden. Das Fleisch hat also häufig noch längere Transporte durchzumachen, bis es zum Verkaufsort gelangt, ein Umstand, der sich besonders in der warmen Jahreszeit ungünstig

auf die Güte des Fleisches auswirken kann. Endlich hängt die Länge der Frist, die von der Ausgabe an den Kleinverkäufer bis zum Verkauf an den Verbraucher verstreicht, von mehreren nicht voraussehbaren Umständen ab, sie beträgt aber in sehr vielen Fällen mindestens eine Reihe von Tagen. Aus diesen und andern Gründen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, hat sich das vollständige Auftauen des Fleisches vor der Ausgabe an den Kleinhandel nicht überall als durchführbar und zweckmäßig erwiesen, man hat sich deshalb entschlossen, sich dort, wo die örtlichen Verhältnisse es ratsam erscheinen lassen, mit einem teilweisen Auftauen zu begnügen, bei dem die äußeren Schichten soweit weich werden, daß die vorgeschriebene Untersuchung vorgenommen werden kann, während der Kern der Stücke noch gefroren bleibt. Mit diesem gefrorenen Kern, d. h. mit einem bedeutenden inneren Vorrat an Kälte, kann das Fleisch dann unbedenklich auf den Weg geschickt werden oder noch einige Zeit bis zum Verkauf hängen bleiben. Die Tage, die in solchen Fällen von der Ausgabe bis zum Verkauf an den Verbraucher vergehen, sind als weitere Auftauzeit in Rechnung zu stellen. Diese den praktischen Anforderungen Rechnung tragende Auflockerung in der Handhabung des Auftauens konnte um so eher erfolgen, als das Verständnis für die Eigenart und die sachgemäße Behandlung gefrorenen Fleisches im Fleischergerwerbe ständig zunimmt, damit also immer mehr die Gewähr gegeben ist, daß der im Schlachthof eingeleitete Auftauprozess beim Kleinverkäufer zu Ende geführt wird.

Wie oben ausgeführt wurde, sind die Gefrierveränderungen der inneren Organe zum größten Teil nicht ausgleichbar, es erübrigt sich deshalb, beim Auftauen derselben besondere Sorgfalt anzuwenden. Immerhin sollen auch sie unzerteilt bei nicht zu hoher Temperatur aufgetaut werden, z. B. Herzen vom Rind oder Lebern vom Rind und Schwein bei 6—10° C in 5—10 Stunden.

C. Gebrauchswert und ernährungspolitische Bedeutung gefrorenen Fleisches.

Die Frage, ob das Fleisch durch den Gefrierprozeß, die Lagerung im gefrorenen Zustand und das Auftauen eine merkliche Einbuße an Nähr- und Genußwert sowie in seiner Verwendungsmöglichkeit erleidet, ist schon vielfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Besonders hat man sich in England, das in hohem Grade auf die Einfuhr von gefrorenem Fleisch angewiesen ist, damit beschäftigt und ist dort immer wieder zu dem Ergebnis gekommen, daß praktisch kein Unterschied zwischen frischem und gefrorenem Fleisch besteht.

Der Gehalt an Nährstoffen wird durch das Einfrieren und Lagern nicht vermindert, er erfährt eher durch Verdunsten eines gewissen Anteils des natürlichen Wassergehalts eine kleine Erhöhung. So fand RIDEAL, der den Nährstoffgehalt in gleichartigen Stücken von gefrorenem, gekühltem und frischem Fleisch ermittelte, daß die beiden ersteren Sorten einen etwas höheren Nährstoffgehalt aufwiesen als die letztere. Die Verdaulichkeit, die er in künstlichen Verdauungsversuchen prüfte, war bei Gefrierfleisch eine etwas größere als bei Frischfleisch. In Übereinstimmung mit RIDEAL stellten ASCOLI und SILVESTRI fest, daß der Gehalt an Nährstoffen im Gefrierfleisch höher und der Gehalt an Wasser entsprechend niedriger ist als im frischen Fleisch. In der Einwirkung auf die Sekretion des Magensaftes und hinsichtlich der Verdaulichkeit ergab sich kein

merklicher Unterschied gegenüber frischem Fleisch. GRASSMANN fand in vergleichenden Untersuchungen an Rind-, Schweine- und Hammelfleisch, daß gefrorenes Fleisch keinen geringeren Nährstoffgehalt hat als frisches Fleisch. GAUTIER stellte fest, daß der Gehalt an Nährstoffen im gefrorenen Fleisch infolge Wasserverdunstung höher ist als im frischen, STORP endlich äußerte sich dahin, daß aufgetautes Gefrierfleisch trotz des Saftverlustes an sämtlichen wertvollen Bestandteilen reicher sei als Frischfleisch.

Die Bedeutung eines etwa eintretenden Saftverlustes beim Auftauen wurde vielfach stark überschätzt. Nach den Analysen von PFYL und STORP, die mit anderen gut übereinstimmen, hat der aus Schnittflächen aufgetauten Fleisches austretende Saft eine mittlere Zusammensetzung von 88% Wasser, 10% Stickstoffsubstanzen und 1% Asche. Der Saft enthält also rund 12% Stickstoffsubstanzen und Salze, selbst ein größerer Saftaustritt unter ungünstigsten Verhältnissen beim Auftauen würde nur einen geringen, kaum ins Gewicht fallenden Verlust an Nährstoffen zur Folge haben. Durch Auffangen und Verwendung des Fleischsaftes bei der Zubereitung kann auch dieser Verlust vermieden werden, außerdem ist er durch die Erhöhung der Nährstoffkonzentration infolge der Verminderung des Wassergehaltes des Fleisches beim Einfrieren und Lagern von vornherein ausgeglichen. Endlich läßt sich der Saftverlust, wie gezeigt wurde, durch sachgemäße Behandlung des Fleisches beim Auftauen ganz vermeiden oder doch auf ein praktisch bedeutungsloses Mindestmaß einschränken.

Bei der Beurteilung des Nährwertes gefrorenen Fleisches ist endlich die Tatsache zu berücksichtigen, daß zum Einfrieren in der Regel nur das Fleisch hochwertiger Schlachttiere verwendet wird. So stammt das aus Argentinien eingeführte Gefrierriindfleisch von jungen, auf der Weide gehaltenen und gemästeten Ochsen bester Rassen und zeichnet sich deshalb durch seine gleichmäßige und gute Qualität nicht selten gegenüber dem auf den Markt kommenden Frischfleisch aus. Daß die Vitamine im Fleisch durch das Einfrieren und Lagern nicht zerstört oder in ihrer Wirksamkeit abgeschwächt werden, haben A. M. WRIGHT u. a. experimentell nachgewiesen.

Der Genußwert von gefrorenem Fleisch ist in zahllosen Probeessen geprüft worden, die unter anderem auch in Deutschland schon während des Krieges, in der Nachkriegszeit und wieder in der jüngsten Zeit stattgefunden haben. Um von den Teilnehmern ein möglichst unbefangenes Urteil zu erlangen, wurde dabei häufig so vorgegangen, daß die verschiedenen Speisen sowohl aus frischem wie aus gefrorenem Fleisch zubereitet gereicht wurden, so daß sie unmittelbar miteinander verglichen werden konnten. Das übereinstimmende Ergebnis dieser Probeessen war stets, daß eine Unterscheidung guten, richtig behandelten Gefrierfleisches von frischem Fleisch im zubereiteten Zustand nicht möglich ist. Als weiterer Beweis für den vollen Genußwert gefrorenen Fleisches diene die Tatsache, daß unter anderem auf den durch ihre vorzügliche Küche bekannten Personendampfern der Hamburg-Südamerika-Linie nur gefrorenes Fleisch verwendet wird, ferner der gewaltige Verbrauch an Gefrierfleisch seit Jahrzehnten in England und seit vielen Jahren auch in andern Ländern.

Auch die Verwendungsfähigkeit gefrorenen Fleisches ist gegenüber der des frischen Fleisches in keiner Richtung eingeschränkt, sachgemäß behandeltes, einwandfreies Gefrierfleisch kann man vielmehr in der Küche, im Betrieb des Fleischers und in der Fleischwarenfabrik genau wie frisches Fleisch zu den

mannigfaltigsten Gerichten und Erzeugnissen verarbeiten. Der Beweis dafür ist durch zahlreiche Versuche und vor allem durch umfangreichste Erfahrungen aus der Praxis erbracht. So ließen PLANK und KALLERT gefrorenes Rind- und Schweinefleisch zu Wurst, Pökel- und Räucherwaren sowie zu Dosenkonserven verarbeiten, die sich nicht von den gleichen Produkten aus frischem Fleisch unterscheiden. Mit diesem Ergebnis stimmte das von verschiedenen anderen Stellen aus ähnlichen Versuchen erhaltene völlig überein. Schon früher, aber auch gerade in den letzten Jahren wurden in Deutschland aus gefrorenem Rind- und Schweinefleisch in großem Ausmaß, zum Teil im Auftrag des Reiches, Fleischwaren verschiedener Art, unter anderem auch Dosenkonserven, hergestellt, die die volle Verwendbarkeit des gefrorenen Fleisches erwiesen. So gibt R. VON OSTERTAG an, daß die frühere Annahme, daß Gefrierfleisch wegen seines mangelnden Bindevermögens nicht zu Wurst verarbeitet werden könne, durch die umfangreiche Verwurstung von gefrorenem Fleisch, die während der Zwangsbewirtschaftung von der Reichsfleischstelle durchgeführt wurde, widerlegt worden sei, denn diese habe eine durchaus gute Beschaffenheit der Erzeugnisse ergeben. O. ACKLIN hat bei vergleichenden Untersuchungen von Zervelatwürsten aus Inlandsfleisch erster Qualität und 10 und 16 Monate altem Gefrierfleisch irgendwelche grundsätzliche Unterschiede in bezug auf raschere oder qualitativ verschiedenartige Veränderungen (äußere Beschaffenheit, Sauerstoffzehrung, Methylenblaureduktion und Zustand des Wurstfettes, Säuregrad und Verdorbenheitsreaktion) bei Aufbewahrung in einer durchschnittlichen Temperatur von 15° C und einer durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit von 60% an der einen oder der anderen Wurstsorte nicht feststellen können. Für das gute Ergebnis ist die Verwendung einwandfreien und sachkundig behandelten Materials genau wie bei frischem Fleisch Voraussetzung.

Auch bei Hackfleisch aus Gefrierfleisch fand KALLERT keine schlechtere Beschaffenheit und geringere Haltbarkeit als bei solchem aus Frischfleisch. GRESSEL und GRÄFE stellten zwar eine etwas geringere Haltbarkeit des Hackfleisches aus Gefrierfleisch fest, aber erst nach so langer Zeit der Aufbewahrung, wie sie unter praktischen Verhältnissen nicht in Frage kommt.

Die große ernährungspolitische Bedeutung der Fleischkonservierung durch Einfrieren ergibt sich aus folgender Überlegung, wobei auf die eingangs gemachten Ausführungen verwiesen sei: Durch das Einfrieren werden die Eigenschaften des frischen Fleisches nicht wesentlich verändert, gefrorenes Fleisch ist also nichts anderes als frisches Fleisch, in dem unter dem Einfluß der tiefen Temperaturen lediglich eine Änderung in der Verteilung und im Zustand des Wassergehaltes eingetreten ist, die sich aber beim Auftauen bis auf praktisch bedeutungslose Reste wieder ausgleichen läßt. Das frische Fleisch wird demnach durch Einfrieren als solches in seinem vollen Gebrauchswert erhalten, und zwar auf eine Dauer von vielen Monaten. Mit Hilfe des Gefrierverfahrens ist man daher in der Lage, eine Vorratspolitik mit frischem Fleisch auf weite Sicht zu betreiben. Dieser Umstand ist von größter Wichtigkeit für die Sicherstellung der gleichmäßigen Versorgung des Volkes mit Fleisch das ganze Jahr hindurch. Es können Überangebote an frischem Fleisch, die aus der einheimischen, gewissen jahreszeitlichen Schwankungen unterliegenden Erzeugung oder aus der durch Handelsverträge festgelegten Einfuhr aufgefangen und durch Einfrieren auf Vorrat gelegt werden, um in Zeiten des Bedarfes als Frischfleischbestände in

den Markt gegeben zu werden. Es ist klar, daß eine solche Maßnahme nur dann ihren Zweck im Interesse der Volksernährung voll zu erfüllen vermag, wenn sie seitens der zuständigen Regierungsstellen durchgeführt wird, wie dies heute in Deutschland der Fall ist. In den Händen der Regierung bilden Bestände an gefrorenem Fleisch eine mobile Frischfleischreserve, die stets sofort an Orten und zu Zeiten des Bedarfes eingesetzt werden kann und Lücken in der Versorgung mit Fleisch restlos zu schließen vermag. Daß dies mit Vorräten an anderen Fleischprodukten, z. B. mit Büchsen- oder Pökelfleisch, bei weitem nicht im gleichen Umfang möglich ist, ergibt sich aus dem schon eingangs gezogenen Vergleich zwischen der Leistungsfähigkeit des Gefrierverfahrens einerseits und der übrigen Konservierungsmethoden andererseits.

Literatur.

- ACKLIN: Untersuchungen über die Haltbarkeit von Gefrierfleisch unter besonderer Berücksichtigung der Gefrierfleischwurst. *Z. Unters. Lebensmitt.* **55**, 31 (1928).
- ALCOCK: Defrosting Meat Electrically. *Electrical Times* **1925**.
- ASCOLI et SILVESTRI: *Froid* **2**, 29 (1914).
- BARRIER et MONVOISIN: Über die Technik des Auftauens des Fleisches. *Rev. d'Abattoirs* **16**, 30 (1929).
- BECHHOLD, G.: *Die Kolloide in Biologie und Medizin*. Dresden und Leipzig 1828.
- BERGER: *Ref. Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1912 I**, 59.
- BIDAULT: Les moisissures des viandes congelées. *Bull. Soc. sci. Hyg. aliment. Paris* **10**, 12 (1922).
- BONGERT, J.: Verfahren zum Frischhalten von Fleisch, insbesondere von ganzen Tierkörpern und Fischen unter Verwendung fester Kohlensäure als Kältemittel. *Dtsch. Schlachthofztg* **38**, 90 (1938).
- BUTJAGIN: Die chemischen Veränderungen des Fleisches beim Schimmeln. *Arch. f. Hyg.* **52**, 1.
- CRITCHELL, J. TR. and J. RAYMOND: *A History of the Frozen Meat Trade*. London 1912.
- ENGELS: *Arch. f. exper. Path.* **51**, 346 (1904).
- FERRETTI, U.: *Le Carni Conservate Col Freddo Artificiale*. Milano 1911.
- FEUERERISEN: Übertragbare Trichinen im amerikanischen Gefrierfleisch. *Z. Fleisch- u. Milchhyg.* **30**, 251 (1920).
- FISCHER, M. H.: *Kolloidchem. Beih.* **2** (1911).
- FÜRTH, O. VON u. E. LENK: Ursache der Totenstarre. *Biochem. Z.* **33** (1911); **69** (1915).
- GAUTIER, A.: *L'alimentation et les régimes chez l'homme sain et chez les malades*. Paris 1904.
- GLAGE: Teerpappegeruch des Fleisches. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1925 I**, 560.
- GÖPPERT u. REIN: Nach H. W. FISCHER: *Beitr. Biol. Pflanz.* **10** (1911).
- GRÄF, M.: Untersuchungen über Fleischkonservierung durch Einfrieren. *Inaug.-Diss.* Berlin 1923.
- GRASSMANN: Lagerungsversuche mit gefrorenem Fleisch. *Landw. Jb.* **21**, 467 (1893).
- GRESSEL u. GRÄFE: Zur Frage der Haltbarkeit von Hackfleisch aus Frischfleisch und Gefrierfleisch. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1929 I**, 25.
- HAUSER: *Arch. f. exper. Path.* **20** (1885).
- HEISS, R.: Untersuchungen über den Kältebedarf und die ausgefrorenen Wassermengen beim schnellen und beim langsamen Gefrieren von Lebensmitteln. *Z. ges. Kälte-Ind.* **40**, 97 (1933).
- HENDERSON: Nach R. VON OSTERTAG: *Lehrbuch der Schlachtvieh- und Fleischbeschau*, S. 1105. Stuttgart 1932.
- HEYWOOD, R. u. A. ALCOCK: *Procédés et méthodes de décongelation de la viande et du poisson*. *Bull. Internat. de Renseignements Frigorifiques*. Ber. 6. internat. Kälte-Kongreß **1932**.
- HILL, A. V.: *Proc. roy. Soc. Lond.* **106**, 477 (1930).
- HIRSCH, M.: Die Zukunftsaufgaben der Kältetechnik. *Z. ges. Kälte-Ind.* **38** (1931).

- HOCK, R.: Das Abtöten der Rinderfinne durch kalte Luft und gekühlte Salzsole. Z. Inf.-krkh. Haustiere **28**, 47 (1925).
- HUNDGEBURTH, H.: Versuche über die Abtötung der Rinderfinne durch eine Temperatur von -1 , -2 und -4° C. Inaug.-Diss. Gießen 1936.
- IWANIZKI, S. W.: Die Möglichkeit des Tauglichmachens von finnigem Schweinefleisch durch Kälte. Dtsch. Schlachthofztg. **33**, 51 (1933).
- KALLERT, E.: Die Konservierung von Fleisch durch das Gefrierverfahren. Berlin 1926.
- Die gesetzliche Regelung der Untersuchung des Fleisches und der Fleischerzeugnisse in Argentinien (Reglamento Sobre Inspección De Carnes Y Sus Derivados, Buenos Aires 17. 11. 1927). Dtsch. Schlachthofztg. **30**, 319 (1930).
- Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von Hackfleisch aus Frischfleisch und Gefrierfleisch. Berl. tierärztl. Wschr. **1928 I**, 547.
- KELLER, H.: Über den Einfluß von Gefriertemperaturen von -1 bis -4° C auf die Lebensfähigkeit und Invasionsfähigkeit der Rinderfinne. Z. Fleisch- u. Milchhyg. **47**, 393 (1937).
- KÖNIG, J.: Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. Berlin 1910.
- KOLBE, R. E.: Nach R. HEISS: Gegenwartsfragen der Konservierung von Lebensmitteln durch Kälte. Z. Ver. dtsh. Ing. **75**, 1145 (1931).
- KONRICH, FR.: Über die Struktur des Gefrierfleisches und sein bakteriologisches Verhalten vor und nach dem Auftauen. Ver. Mil.san.wes. **1920**, H. 75.
- LEA, C.: Chemical changes in the fat of frozen and chilled meat. J. Soc. chem. Ind. **1931**; **1933**.
- MAAS, A.: Die Abtötung der Trichinen im Schweinefleisch durch Gefrieren. Z. Fleisch- u. Milchhyg. **33**, 1 (1921).
- MACFADYAN: Proc. roy. Soc. Lond. **66** (1909).
- MOLISCH: Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena 1897.
- MORAN, T.: Food Invest. Board, Cambridge, Rep. **1923**, 11; Rep. **1924**, 14; Spec. Rep. Nr 26, 62 (1926).
- Food Invest. Board, Rep. **1930**, 24.
- MÜLLER, M.: Beitrag zur Schwarzfleckigkeit des Gefrierfleisches. Z. Fleisch- u. Milchhyg. **24**, 97 (1914).
- NEUMANN, R. O.: Über das argentinische Gefrierfleisch. Berlin 1925.
- OHTA: Über die fetzersetze Wirkung der Schimmelpilze. Biochem. Z. **31**, 177 (1911).
- PAUL u. PRALL: Arb. ksl. Gesh.amt **26** (1907).
- PETERSEN, P. W.: Refrig. Eng., Juli **1922**.
- PFYL: Nach PLANK u. KALLERT: Über die Behandlung und Verarbeitung von gefrorenem Rindfleisch. Berlin 1916.
- PLANK, R.: Neue Untersuchungen über die Konservierung von Fisch und Fleisch durch das Gefrierverfahren. Z. ges. Kälte-Ind. **32**, 141 (1925).
- Moderne Schnellgefrierverfahren. Dtsch. Schlachthofztg **30**, 193 (1930).
- Die Kältetechnik im Dienste der Lebensmittelbewirtschaftung. Z. Ver. dtsh. Ing. **76**, 1089 (1932).
- E. EHRENBAUM u. K. REUTER: Die Konservierung von Fischen durch das Gefrierverfahren. Berlin 1916.
- u. E. KALLERT: Über die Behandlung und Verarbeitung von gefrorenem Schweinefleisch. Berlin 1915.
- — Über die Behandlung und Verarbeitung von gefrorenem Rindfleisch. Berlin 1916.
- J. KUPRIANOFF u. H. PETERS: Das schnelle Gefrieren von Lebensmitteln durch Berührung mit verdampfendem Kältemittel. Z. Ver. dtsh. Ing. **76**, 583 (1932).
- RANSOM, B. H.: Zur Frage des Vorkommens lebender Trichinen im gefrorenen amerikanischen Schweinefleisch und der Anwendung der Kälte als Mittel zur Verhütung der Trichinengefahr. Rep. of 18. Ann. Meeting of the U. S. Life Stock San. Assoc. 1915.
- REUTER, K.: Über die histologischen und geschmacksphysiologischen Veränderungen gefrorener Fische. PLANK, EHRENBAUM und REUTER: Die Konservierung von Fischen durch das Gefrierverfahren. Berlin 1916.
- Über die Verwendung der Kälte in der anatomischen Technik. Z. angew. Anat. **2**, 297 (1918).
- Erfahrungen an gefrorenen Leichen. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **1**, 330 (1922).

- RICHARDSON and SCHERUBEL: The Deterioration and Commercial Preservation of Flesh Foods. *J. amer. chem. Soc.* **30**, 1515 (1908).
- RICHELET, J. E.: *Ganadería et Industria Frigorífica*. Buenos Aires 1922.
- RIDEAL: *The Hospital*. London 1896.
- SCHEERER, K.: Versuche über die Abtötung der Rinderfinne durch eine Temperatur von -2° C. *Inaug.-Diss.* Gießen 1935.
- SCHELLENBERG, K.: Zur Gefrierfleischfrage. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* **54**, 77 (1912).
- SCHMIDT, PONOMARER et SAVELIER: Einwirkung der Kälte auf die Trichinen. *C. r. Soc. Biol. Paris* **1915**, 306.
- SILVA, PIO: Beitrag zum Studium der schwarzen Flecken auf dem gefrorenen Fleisch. *Z. Fleisch- u. Milchhyg.* **23**, 267 (1913).
- SMITH and MORAN: *Food Invest. Board, Rep.* **1928**, 18; **1929**, 15.
- STORP: Über Gefrierfleisch. *Ver. Mil.san.wes.* **55**, 51 (1913).
- SUAREZ, N. T.: Contribution à l'étude de la décongelation des viandes. *Bull. 6. internat. Kälte-Kongreß* **1932**.
- Notice sur l'industrie frigorifique des viandes dans la république Argentine. Buenos Aires 1910.
- y J. E. RICHELET: *Elaboración de Carnes Conservadas y otros Productos Alimenticios de Origen Animal*. Buenos Aires 1911.
- TAMMANN: *Kristallisieren und Schmelzen*. Leipzig 1913.
- TAYLOR, H. F.: *Ind. Chem.* **24**, 679 (1932).
- WINDHAUSEN: Untersuchungen über die Lebensfähigkeit und Invasionsfähigkeit der Rinderfinne nach dem Gefrieren bei einer konstanten Temperatur von -3° C. *Inaug.-Diss.* Gießen 1935.
- WRIGHT, A. M.: *Ref. Z. Fleisch- u. Milchhyg.* **34**, 54 (1923).
- ZAROTSCHESEFF, M. T.: *Between Two Oceans. Rapid Chilling and Freezing Systems for Fish and Meat*. London 1930.
- ZSCHOKKE: Lebens- und übertragungsfähige Trichinen in gefrorenem Auslandsfleisch. *Z. Fleisch- u. Milchhyg.* **32**, 67 (1921).
- ZUNKER: Die Abtötung der Rinderfinne durch Kühl- und Gefrierverfahren. *Z. Fleisch- u. Milchhyg.* **45**, 121 (1935).

VII. Wirksame Eiweißkörper und Peptide¹.

Von

WILHELM DIRSCHERL-Frankfurt a. M.²

Inhalt.

	Seite
1. Der Aufbau der Peptide	348
2. Der Aufbau der Eiweißkörper	349
3. Wirksame Eiweißkörper und Peptide	352
4. Wirksame Eiweiße und Peptide als Hormone (Proteohormone)	352
5. Das Insulin	352
6. Das Hormon der Epithelkörperchen (Nebenschilddrüsen)	355
7. Die Hormone der Hypophyse	356
Das Wachstumshormon S. 356. — Das Lactationshormon S. 356. — Das diabetogene Hormon S. 356. — Die gonadotropen Hormone S. 356. — Das thyreotrope Hormon S. 357. — Das parathyreotrope Hormon S. 357. — Das adrenotrope Hormon S. 357. — Das corticotrope Hormon S. 357. — Fettstoffwechsel- und Kohlehydratstoffwechselhormon S. 357. — Das Pigmenthormon des Hypophysenmittel- und -hinterlappens (Intermedin, Melanophorenhormon) S. 357. — Vasopressin und Oxytocin des Hypophysenhinterlappens S. 357.	
8. Wirksame Eiweiße als Fermente oder Bestandteile von Fermenten (Apofermente)	358
9. Die Fermentproteine	360
Urease S. 360. — Pepsin S. 361. — Pepsin „Brücke“ S. 361. — Pepsinogen S. 361. — Trypsinogen S. 362. — Trypsin S. 362. — Chymotrypsinogen und Chymotrypsin S. 362. — Carboxyl-peptidase S. 362. — Papain S. 363. — Ficin S. 363.	
10. Fermentproteide	363
Das gelbe Ferment (Flavinenzym) S. 363. — Dehydrasen S. 364. — Codehydrase II und Proteine S. 365. — Codehydrase I und Proteine S. 366. — Carboxylase S. 366.	
11. Hämiproteide	367
Katalase S. 367. — Peroxydase S. 367. — Cytochrom c S. 367.	
12. Kupferproteid	367
13. Eiweiß als Antigen und Antikörper	367
Antigene S. 368. — Antikörper S. 369.	
14. Toxine	369
Bakterientoxine S. 370. — Toxalbumine S. 370. — Schlangengifte S. 370.	
15. Die Virusproteine	371
16. Zusammenfassung und Schlußbemerkungen	373
Literatur	375

Vor der Behandlung des eigentlichen Themas ist es notwendig, kurz auf den chemischen Bau der Peptide und des Eiweißes einzugehen³.

¹ Der Inhalt dieser Abhandlung wurde vom Verfasser in stark gekürzter Form am 2. Juni 1938 auf der 3. Frankfurter Konferenz vorgetragen (s. DIRSCHERL, 1).

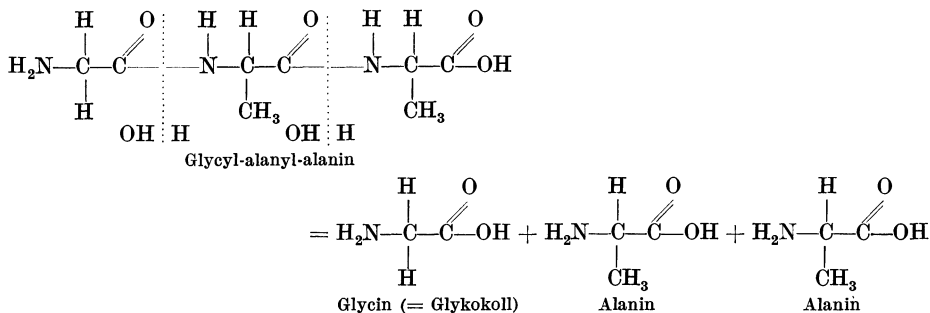
² Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a. M.

³ In ausführlicherer Form hat dies vor kurzem FELIX (1) getan.

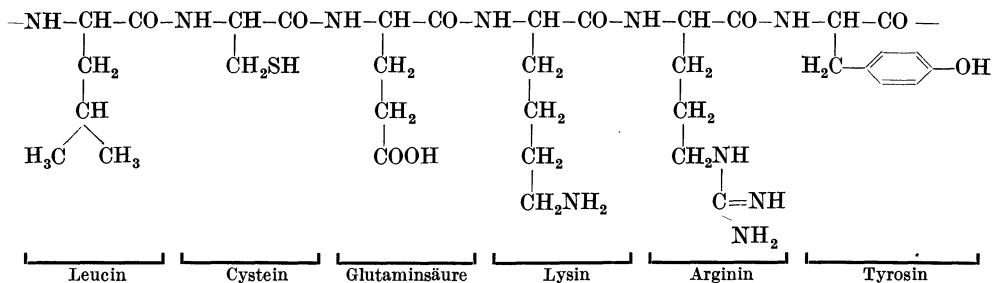
1. Der Aufbau der Peptide.

Peptide können als solche in der Natur vorkommen oder durch Spaltung von Eiweiß erhalten werden. Eine Reihe von Peptiden ist auf künstlichem Wege synthetisch bereitet worden.

Unterwirft man ein Peptid der Behandlung mit Säuren, Basen oder geeigneten Fermenten (Peptidasen), so findet unter Aufnahme der Bestandteile des Wassers Spaltung (Hydrolyse) des Peptides in seine Bausteine, die Aminosäuren, statt, wie das folgende Beispiel zeigt:



Umgekehrt kann man sich den Aufbau eines Peptides aus den betreffenden Aminosäuren so vorstellen, daß zwischen je zwei Molekülen 1 Molekül Wasser austritt und so die charakteristischen „Peptidbindungen“ —CO—NH— zustande kommen. (Daß die Peptidsynthese *in vitro* auf einem etwas anderen Weg durchgeführt wird, ist hier ohne Interesse.) Am einen Ende eines Peptides befindet sich stets eine freie Aminogruppe (—NH₂), am anderen Ende ein freies Carboxyl (—COOH). Aus der Peptidkette ragen die verschiedenen Reste (R) heraus, durch welche sich die einzelnen Aminosäuren voneinander unterscheiden (s. folgendes Schema).



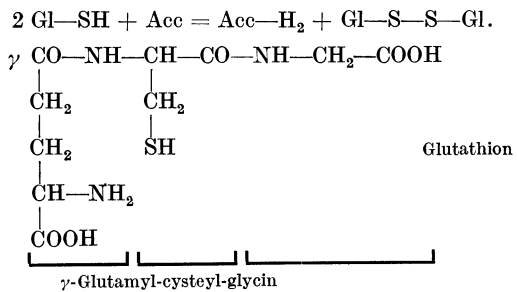
Die Reste können kettenförmig (aliphatisch) oder ringförmig (cyclisch) gebaut sein, in ihnen können weitere funktionelle Gruppen wie Amino-, Carboxyl-, Hydroxyl-, Guanidino-, Sulfhydrylgruppen enthalten sein, die gegebenenfalls Reaktionen mit anderen Stoffen eingehen. Für die Bildung der Peptidbindungen kommen im allgemeinen (das gilt auch vom Eiweiß) nur die in α -Stellung zu dem den Rest tragenden C-Atom befindlichen Amino- und Carboxylgruppen in Betracht, nicht entferntere stehende Gruppen dieser Art.

Die Synthese von Peptiden bietet viele Schwierigkeiten. Man kennt bisher nicht allzuvieler synthetisch dargestellte Peptide. Die längste Kette, ein Okta-dekapeptid, hat EMIL FISCHER vor Jahren aus 15 Glykokoll- und 3 l-Leucin-

molekülen aufgebaut, und zwar das 1-Leucyl-tri-glycyl-1-leucyl-tri-glycyl-1-leucyl-octa-glycyl-glycin.

Durch Hydrolyse von Eiweißkörpern erhält man Peptide, die nur aus wenigen Molekülen Aminosäuren bestehen. Das längste Peptid, das auf diesem Weg **ABDERHALDEN** aus Seidenfibroin dargestellt hat, ist das Pentapeptid Glycylseryl-prolyl-tyrosyl-prolin.

Frei in der Natur vorkommende Peptide sind bis jetzt nur wenige bekannt. In der Muskulatur der Säugetiere findet sich Carnosin, ein Dipeptid aus β -Alanin und Histidin (**GULEWITSCH**; **BARGER** und **TUTIN**; **BAUMANN** und **INGVALDSEN**) und in der Muskulatur von Vögeln und Seefischen das Methylcarnosin oder Anserin (**ACKERMANN**, **TIMPE** und **POLLER**; **LINNEWEH**, **KEIL** und **F. A. HOPPE-SEYLER**). Weit verbreitet in der belebten Welt ist das von **F. G. HOPKINS** entdeckte Tripeptid Glutathion, dem die nebenstehende Formel zukommt. Die Glutaminsäure ist hier — eine Ausnahme von der Regel — mit dem γ -Carboxyl verknüpft. Wichtig ist die Fähigkeit des SH-Glutathions in SS-Glutathion überzugehen. Der Vorgang erfolgt nach nebenstehender Gleichung:



Als Wasserstoffacceptor können verschiedene Stoffe dienen. SH-Glutathion wirkt in manchen Fermentsystemen als Phyto- und Zookinase mit (Literatur bei **GRASSMANN**).

2. Der Aufbau der Eiweißkörper.

Durch vollständige Hydrolyse von Eiweißkörpern erhält man Aminosäuren. Diese sind im Eiweiß wie in den Peptiden miteinander verknüpft. Da Bausteine und Verknüpfungsart die gleichen sind, erhebt sich die Frage, wodurch sich denn eigentlich ein Eiweiß von einem Peptid unterscheidet. Während die bekannten Peptide nur aus wenigen Aminosäuren bestehen und ein Molekulargewicht von einigen Hundert bis etwa Tausend haben, besitzen die Eiweißkörper ein Molekulargewicht von etwa 20000 bis in die Millionen. Als Bausteine kommen die bis jetzt entdeckten 27 Aminosäuren in Betracht. Das Eiweißmolekül enthält demnach viel mehr Bausteine als das Peptidmolekül und kann somit eine größere Mannigfaltigkeit aufweisen. Während manche Aminosäuren häufig fehlen, ist das bei anderen selten oder nie (wie beim Arginin) der Fall.

In der Tabelle 1 sind die Teilchengrößen einer Reihe von Eiweißkörpern zusammengestellt, die mittels der **SVEDBERGSCHEN** Ultrazentrifuge von verschiedenen Untersuchern gemessen worden sind [**SVEDBERG**]. Diese Zahlen

Tabelle 1.
Teilchengröße von Eiweißkörpern.

Eiweiß	Teilchengröße (Ultrazentrifuge)
Cytochrom c	15600
Lactalbumin α	17500
Insulin, kryst.	35100
Pepsin, kryst.	36000
Serumalbumin (Pferd)	67000
CO-Hämoglobin (Pferd)	68000
Gelbes Ferment, kryst.	80000
Serumglobulin (Pferd)	150000
Thyreoglobulin	650000
Mosaikvirusprotein, kryst.	15000000

stimmen, soweit bekannt, mit den auf osmotischem oder anderem Weg festgestellten weitgehend überein. Diese Zahlen werden meist als Molekulargewichte bezeichnet. Andere Autoren halten es für zweckmäßiger, von Teilchengröße zu sprechen. Ohne hier auf eine Diskussion dieser Frage einzugehen, wird im folgenden der weniger festgelegte Begriff Teilchengröße gebraucht.

Von großer Bedeutung ist für die Eiweißchemie die Tatsache, daß die Teilchengröße durch milde Eingriffe verändert werden kann. So gelten die in der Tabelle 1 angegebenen Werte jeweils nur für einen bestimmten p_H -Bereich, außerhalb desselben ist die Teilchengröße nach SVEDBERG kleiner. Wird die p_H -Änderung rückgängig gemacht, so nimmt die Teilchengröße wieder zu. In manchen Fällen, z. B. beim Hämoglobin, findet schon beim einfachen Verdünnen einer Lösung reversibler Zerfall in kleinere Teilchen statt. Ein solcher Zerfall von Eiweißteilchen in kleinere Bruchstücke findet auch in Lösungen von Harnstoff, Amiden, Aminosäuregemischen, Clupein und anderen Stoffen statt. Auch hier führt

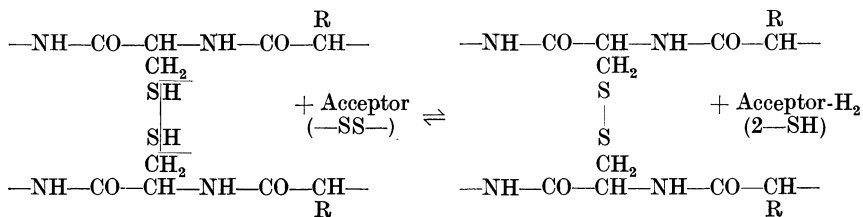
Entfernung der verursachenden Stoffe Rückkehr zur alten Teilchengröße herbei. Es handelt sich bei den Eiweißkörpern um reversibel dissoziabile Komponentensysteme (SÖRENSEN, 1930).

In Tabelle 2 ist die eben erwähnte Einwirkung einer konzentrierten Harnstofflösung auf die Teilchengröße einiger Eiweißkörper zusammengestellt (BURK und GREENBERG, 1930).

Tabelle 2.

Eiweiß	Teilchengröße	
	normal	in Harnstofflösung
Edestin. . .	212 000	49 500
Casein . . .	375 000	33 600
Hämoglobin.	67 000	34 300

Auch die von SVEDBERG hervorgehobene Tatsache, daß die Teilchengröße der meisten Eiweißkörper ungefähr 17 000 oder ein mehr oder weniger großes Vielfaches davon ist, deutet darauf hin, daß die Eiweißteilchen „schwache“ Stellen besitzen, an denen sehr leicht Spaltung, aber auch wieder Bindung eintritt. Diese leicht und reversibel lösbaren Bindungen („Querverbindungen“) verknüpfen wahrscheinlich die einzelnen Peptidketten miteinander und stellen ein Charakteristikum der Proteine dar. Auch bei diesen Querverbindungen werden Unterschiede in der Festigkeit bestehen. Welcher Art sind nun diese Querverbindungen? Da ist vor allem die Disulfidbindung des Cystinmoleküls zu erwähnen. Liegen sich in 2 benachbarten Peptidketten 2 Cysteinreste gegenüber, so kann es durch Wegnahme von 2 Wasserstoffatomen (Oxydation) zur Ausbildung einer SS-Bindung zwischen beiden Peptidketten kommen, ähnlich wie SH-Glutathion in SS-Glutathion übergeht (s. S. 349).



Diese Oxydation kann z. B. auch durch SS-Verbindungen erfolgen.

Die SS-Bindung ist durch Reduktionsmittel, besonders auch durch Einwirkung von SH-Verbindungen, wie z. B. freiem Cystein oder SH-Glutathion aufzuspalten. Die Reaktion ist umkehrbar.

3. Wirksame Eiweißkörper und Peptide.

Das Eiweiß unserer Nahrung wird im Magen-Darmkanal durch die proteolytischen Fermente desselben in kleinere Bruchstücke, Peptide und hauptsächlich Aminosäuren, gespalten. Diese Bruchstücke werden nach ihrer Resorption durch die Darmwand vom Körper zum Aufbau seiner eigenen Eiweißkörper verwendet. Bekanntlich eignet sich nicht jeder Eiweißkörper gleich gut für die Ernährung eines bestimmten Organismus, der eine Eiweißkörper kann biologisch wertvoller als ein anderer sein. Diese sog. biologische Wertigkeit der Eiweißkörper ist aber nicht an die Intaktheit des Eiweißmoleküls gebunden, sie kommt ebenso der Mischung der das betreffende Eiweiß zusammensetzenden Aminosäuren zu. So besitzt auch ein außerhalb des Körpers vorverdautes Eiweiß noch seinen gesamten Ernährungswert. Für die biologische Wertigkeit eines Eiweißes ist lediglich maßgebend, ob das Eiweiß (oder sein Hydrolysat) die zum Aufbau des Körpereiwisses notwendigen Aminosäuren in genügender Menge enthält. In welcher Reihenfolge beispielsweise diese Aminosäuren innerhalb des Eiweißteilchens angeordnet sind, ist für den erwähnten Zweck gleichgültig. Grundsätzlich anders verhält sich die Sachlage bei den wirksamen Eiweißkörpern und Peptiden, die in dieser Arbeit abgehandelt werden sollen. Hier ist die besondere Wirksamkeit an das ganze intakte Eiweißmolekül (Einschränkungen s. unten) gebunden. Das durch Hydrolyse mit Säuren oder geeigneten Fermenten entstehende Gemisch der Aminosäuren besitzt nicht mehr die Wirkung des Eiweißmoleküls.

4. Wirksame Eiweiße und Peptide als Hormone (Proteohormone).

Unter Hormonen im klassischen Sinn verstehen wir Wirkstoffe (Ergine¹), die in den sog. endokrinen Drüsen des Tierkörpers gebildet und direkt oder indirekt über den Lymphweg an das Blut abgegeben werden, um an anderen Stellen des Körpers spezifische Wirkungen auszuüben, die für den normalen Ablauf der Funktionen notwendig sind. (Auf die Änderungen, die der klassische Hormonbegriff erfahren hat, braucht hier nicht eingegangen zu werden, da sie bei dem hier behandelten Thema keine Rolle spielen.)

Die Hormone, die Peptide oder Proteine sind und durch Einwirkung von Proteasen (Peptidasen und Proteinasen) abgebaut und in ihrer Wirksamkeit zerstört werden, faßt man zweckmäßig als Proteohormone zusammen. Diesen Sammelnamen habe ich (zusammen mit AMMON) vorgeschlagen, weil dadurch das Gemeinsame zum Ausdruck kommt: Alle Proteohormone werden im Verdauungskanal zerstört, müssen also unter Umgehung desselben (parenteral) dem Körper zugeführt werden; alle Proteohormone bieten ferner der chemischen Erforschung die gleichen grundsätzlichen Schwierigkeiten, wie sich im folgenden zeigen wird.

5. Das Insulin.

Das Insulin² gehört zu den bestuntersuchten Eiweißkörpern. Seine charakteristische Wirkung ist die Senkung des Blutzuckers. Es wurde 1926 von J. J. ABEL

¹ Als Wirkstoffe (Ergine) bezeichnet man nach AMMON und DIRSCHERL organische Verbindungen, die in der lebenden Zelle gebildet werden und für den normalen Ablauf der Lebensvorgänge im Pflanzen- und Tierreich notwendig sind; sie wirken in so geringen Mengen, daß ihre Wirkung nicht durch Energielieferung infolge Verbrennung des eigenen Moleküls bedingt sein kann.

² Literatur bei DIRSCHERL (2), 1933.

krystallisiert erhalten. Die Krystalle enthalten Zink (SCOTT und FISHER), das aber für die Wirkung von untergeordneter Bedeutung ist. Die blutzuckersenkende Wirkung des krystallisierten Insulins geht verloren, wenn man proteolytische Fermente wie Pepsin, Trypsinkinase, Kathepsin oder Papain einwirken läßt. Die Abnahme der Wirksamkeit eilt dabei sogar der Aufspaltung des Eiweißmoleküls voraus, wie sich bei quantitativer Erfassung zeigen läßt. Daraus kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß offenbar die Lösung der ersten Peptidbindungen des Insulinmoleküls von besonderer Bedeutung für das Verschwinden der Wirksamkeit ist. Läßt man Peptidasen auf das krystallisierte Insulin einwirken, so findet weder Hydrolyse des Eiweißmoleküls noch Zerstörung der Wirksamkeit statt (FREUDENBERG, DIRSCHERL, EICHEL und WEISS, 1931). Durch solche Versuche ist bewiesen, daß die blutzuckersenkende Wirkung des Insulins einem Eiweißkörper zukommt, und es ist die Annahme ausgeschlossen, daß ein wirksamer Nichteiweißkörper in geringer Menge einem krystallisierten, unwirksamen Eiweiß anhänge. Nicht völlig ausgeschlossen ist allerdings die Möglichkeit, daß das krystallisierte Insulin in der Hauptsache aus einem unwirksamen krystallisierten Eiweiß bestehe, dem in geringer Menge ein zweiter wirksamer Eiweißkörper beigemischt sei. Eine solche Annahme ist aber durch nichts gestützt und unnötig. Weiter unten wird sich zeigen, daß auch bei den krystallisierten Fermentproteinen die Sachlage ganz ähnlich ist.

Erwähnenswert sind die Beobachtungen, die FISHER und SCOTT (1934) bei der Verdauung von krystallisiertem Insulin mit krystallisiertem Pepsin machten: In dem durch Trichloressigsäure fällbaren Anteil nahm während der Hydrolyse der Gehalt an Tyrosin ab, während der Lysingehalt anstieg und die Cystinmenge unverändert blieb.

Die Teilchengröße des krystallisierten Insulins ist nach SJÖGREN und SVEDBERG (1931) bei p_H 4,5—7,0 35000, außerhalb dieses Bereiches aber kleiner. Aus chemischen Inaktivierungsversuchen errechnet sich ein Wert von etwa 20000, also annähernd die Hälfte.

Die von DU VIGNEAUD, WINTERSTEINER und JENSEN durchgeführte Bausteinanalyse des krystallisierten Insulins hat eine Reihe von Aminosäuren ergeben (s. Tabelle 3), die zusammen über 90% des Moleküls ausmachen (JENSEN und WINTERSTEINER, 1932, JENSEN und EVANS, 1935). Bei einem angenommenen Molekulargewicht von etwa 20000 und Außerachtlassung des ungeklärten Restes ist demnach 1 Insulinteilchen ungefähr aus folgenden Bausteinen aufgebaut (die Zahlen bedeuten Moleküle): 10 Cystin, 13 Tyrosin, 46 Leucin, 28 Glutaminsäure, 3 Lysin, 3 Arginin, 10 Histidin, einigen Molekülen Phenylalanin und Prolin. Es ist durchaus möglich, daß im Insulinmolekül noch ein unbekannter Baustein in geringer Menge enthalten ist, dessen man bei der Hydrolyse noch nicht habhaft werden konnte, und der für die Wirkung vielleicht von besonderer Bedeutung ist. Für diese Möglichkeit konnte aber bisher kein Beweis erbracht werden. Da nun die bisher nachgewiesenen Bausteine alle wohlbekannte Aminosäuren darstellen, erhebt sich die Frage, wodurch sich der blutzuckersenkende Eiweißkörper Insulin von anderen, in dieser Hinsicht wirkungslosen Eiweißkörpern unterscheidet.

Zunächst interessierte die Frage, ob in das Insulinmolekül vielleicht eine besondere Gruppe eingebaut ist. Außer anderen Forschern haben sich besonders FREUDENBERG, DIRSCHERL und Mitarbeiter in Heidelberg in

zahlreichen, systematischen Versuchen bemüht, festzustellen, welche Gruppen des Insulinmoleküls für die Wirkung besonders wichtig und welche Gruppen weniger wichtig sind. Daß nicht jede Änderung des Eiweißmoleküls zur Zerstörung der Wirksamkeit führen wird, ließ sich voraussehen. Es wurden die verschiedensten Reagenzien auf amorphes und krystallisiertes Insulin einwirken lassen und dabei quantitativ die chemische Veränderung und die Änderung der Wirksamkeit verfolgt. Das erste Beispiel einer reversiblen Inaktivierung des Insulins (FREUDENBERG und DIRSCHERL, 1927) sei geschildert: Läßt man Essigsäureanhydrid unter gewissen Bedingungen auf Insulin einwirken, so nimmt dieses in wenigen Minuten eine Anzahl von Acetylgruppen auf, wobei die Wirksamkeit verschwindet. Durch sehr verdünnte Natronlauge läßt sich ein Teil der Acetylgruppen unter Wiederkehr eines Teiles der Wirksamkeit abspalten (Regenerierung). Aus Modellversuchen an bekannten Körpern ergibt sich, daß unter den gleichen Versuchsbedingungen Hydroxylgruppen, wie sie z. B. Tyrosin enthält, acetyliert und regeneriert werden können. Aus diesem Ergebnis darf man die Schlußfolgerung ziehen, daß (phenolische) Hydroxylgruppen für die Wirksamkeit des Insulinmoleküls von Wichtigkeit sind. Ein weiterer Befund: Das Ultraviolettabsorptionsspektrum des krystallisierten Insulins entspricht ungefähr der Summe der Absorptionsspektren des eingebauten Tyrosins und Cystins. Bestrahlt man das Insulin in Lösung an der Quarzlampe, so findet Inaktivierung statt. Dabei ändert sich das Absorptionsspektrum ähnlich wie bei einem entsprechenden Gemisch aus Tyrosin und Cystin (FREUDENBERG, W. KUHN und H. EYER, 1931). Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Inaktivierung durch das ultraviolette Licht auf einer Veränderung eingebauter Tyrosin- bzw. Cystinmoleküle beruht, wengleich auch andere Erklärungsmöglichkeiten bestehen.

Tabelle 3. Zusammensetzung einiger wirksamer Eiweißkörper
(Gehalt der Aminosäuren in %).

	Cystin	Tyrosin	Phenylalanin	Leucin	Glutaminsäure	Asparaginsäure	Lysin	Arginin	Histidin	Tryptophan	Prolin	Oxyprolin
Insulin, kryst. .	12	12	+	30	21	—	2	3	8	—	+	—
Gelbes Apoferrament, kryst. .	0,48	7,7	5,7		7,1	2	13,7	8,2	2,7	4,8	+	—
Pepsin, kryst. .	1,4	10,3			18,6	6,8	2,1	2,7	0,05	2,2		

Die Wichtigkeit des Tyrosins für die Insulinwirkung zeigen auch folgende Befunde. HARRINGTON und NEUBERGER (1936) haben wahrscheinlich machen können, daß die Inaktivierung des Insulins durch Jod von einer Jodierung der Tyrosinmoleküle in 3,5-Stellung begleitet ist. Das kaum wirksame Produkt ist durch Entfernung des Jods größtenteils reaktivierbar. STERN und WHITE (1938) acetylierten — ähnlich dem Vorgehen von HERRIOTT beim Pepsin (s. S. 361) — Insulin in wäßriger Lösung mit Keten und kamen zum gleichen Ergebnis: Während die freien Aminogruppen für die Wirksamkeit belanglos sind, bedingt Acetylierung der Hydroxyle des Tyrosins Inaktivierung.

Aus solchen und ähnlichen Versuchen (Inaktivierung mit verdünntem Alkali, Formaldehyd, Veresterung mit Alkoholen (CARR, 1929), Methylierung mittels

Diazomethan, Reduktion mit Zn—HCl, Natriumamalgam, Schwefelwasserstoff, Cystein oder SH-Glutathion, Inaktivierung mit Jod, mit schwefliger Säure usw.) ergibt sich die Wichtigkeit von OH—, COOH—, NH— bzw. CONH₂ und wahrscheinlich auch von —S—S-Gruppen für die Wirksamkeit des Insulinmoleküls (s. auch FREUDENBERG und EYER). Da solche Gruppen in den im Insulin eingebauten Aminosäuren (z. B. Tyrosin, Glutaminsäure, Cystin usw.) enthalten sind, hat sich aus den geschilderten Versuchen kein Anhaltspunkt für die Anwesenheit eines unbekanntem Bausteins im Insulinmolekül, wenn auch kein Beweis dagegen, ergeben. Bemerkenswert ist noch die Tatsache, daß nicht sämtliche derartige Gruppen, sondern nur ein Teil dieser für die Wirkung von wesentlicher Bedeutung sind. Das ergibt sich aus den quantitativ-analytischen Feststellungen. Daß es Gruppen im Insulinmolekül gibt, die für die Wirkung kaum oder nur von untergeordneter Bedeutung sind, erhellt auch z. B. aus folgendem Versuch. Man kann Insulin durch Erhitzen mit Salzsäure koagulieren, wobei etwa 0,5% Ammoniak abgespalten werden, ohne daß die physiologische Aktivität merklich abnimmt (FREUDENBERG, DIRSCHERL und EYER, 1931).

Die Zusammenfassung der erwähnten Tatsachen führt zu folgendem Ergebnis. Verkleinerung des Insulinmoleküls durch hydrolytische Spaltung zerstört die Wirksamkeit. Das Eiweißmolekül ist als solches für die Entfaltung der Wirkung notwendig, wenn dabei auch nicht allen Stellen die gleiche Wichtigkeit zukommt. Vielleicht ist nur ein verhältnismäßig kleiner Peptidbezirk für die zur Wirkung führende, unbekannte chemische Reaktion im Organismus notwendig und das Eiweißmolekül in seiner übrigen Ausdehnung mehr für die Herstellung geeigneter physikalisch-chemischer Eigenschaften verantwortlich. Die spezifische Wirkung des Insulinmoleküls muß jedenfalls, solange kein neuer besonderer Baustein gefunden wird, den man dafür verantwortlich machen könnte, der Art und Reihenfolge der bekannten Aminosäuren zugeschrieben werden.

Es ist erwähnenswert, daß die Dipeptide Glutaminyl-cystein und Cysteylglutamin sowie ihre oxydierten Formen (die entsprechenden Tetrapeptide mit SS-Bindungen) keine Insulinwirkung zeigen (HARRINGTON und MEAD, 1936).

6. Das Hormon der Epithelkörperchen (Nebenschilddrüsen).

Dieses Hormon, das für die Regulierung des Calciumstoffwechsels notwendig ist (seine Wirkung kann an der Erhöhung des Blutcalciums gemessen werden), läßt sich nach ähnlichen Methoden wie das Insulin darstellen (COLLIP), konnte aber bisher nicht krystallisiert werden. Die im folgenden kurz erwähnten Befunde beziehen sich also auf unreine Hormonpräparate und sind deshalb nur mit Vorbehalt zu betrachten. (Dasselbe gilt auch für die noch zu besprechenden Proteohormone der Hypophyse.)

Die reinsten Präparate von COLLIP und CLARK sind Eiweißkörper, dialysieren nicht, enthalten etwas Eisen und Schwefel und werden bei Hydrolyse durch Säure, Lauge, Pepsin oder Trypsin unwirksam. TWEEDY und Mitarbeiter haben die beim Insulin angewandte Methodik auf die Epithelkörperchenhormonpräparate übertragen und folgendes festgestellt: Zahlreiche Reagenzien wie Formaldehyd, Alkohol-Säure, Nitrite, Oxydationsmittel wirken inaktivierend, in manchen Fällen ist eine teilweise Regenerierung möglich. Ultraviolettbestrahlung schädigt nicht (bei allerdings kurzer Zeitdauer von 2—3 Stunden), ebensowenig tritt Inaktivierung ein bei Behandlung mit Reduktionsmitteln

wie Schwefelwasserstoff, Sulfit, Natriumamalgam, katalytisch erregtem Wasserstoff. In dieser Hinsicht unterscheidet sich das Hormon der Epithelkörperchen deutlich vom Insulin, das durch verschiedenste Reduktionsmittel unwirksam wird. TWEEDY nimmt daher an, daß der in seinem Präparat enthaltene Schwefel (0,2%) nicht in Form von Cystin in das Eiweiß eingebaut ist, sondern in einer stabileren Form vorliegt. Für die Wirkung des Hormons sind offenbar NH_2 - oder NH - und COOH -Gruppen von Bedeutung; ob der Schwefelgehalt wesentlich ist, läßt sich nicht sagen. Das Epithelkörperchenhormon gehört zu den Proteohormonen.

7. Die Hormone der Hypophyse.

Sie sind sämtlich noch nicht rein (krystallisiert) dargestellt. Die Aussagen über die mehr oder weniger weit gereinigten Hormonpräparate sind deshalb nur mit Vorsicht zu bewerten.

Zunächst seien die Hormone des Vorderlappens erwähnt.

Das Wachstumshormon¹. Es ist nach seinen Eigenschaften ein sehr empfindlicher Eiweißkörper, der durch Formaldehyd inaktiviert werden kann. Das Hormon ist weder dialysierbar noch ultrafiltrierbar. Da es oral nicht wirkt, muß man annehmen, daß es durch die Verdauungsfermente zerstört wird.

Das Lactationshormon. Es ist nicht ultrafiltrierbar und verhält sich nach Löslichkeit und Fällbarkeit wie ein Eiweißkörper (K. J. ANSELMINO und F. HOFFMANN, nach JUNKMANN S. 1064). Nach WHITE, CATCHPOLE und LONG (1937) ist das lactogene Hormon ein krystallisiertes Eiweißkörper mit 1,77% Schwefel.

Das diabetogene Hormon² (B. A. HOUSSAY). Es ist nicht dialysabel und nicht ultrafiltrierbar, ist also eine hochmolekulare Substanz, nach den Löslichkeitseigenschaften wahrscheinlich ein Eiweißkörper.

Die gonadotropen Hormone. M. REISS und F. HAUROWITZ stellten an ihren Präparaten fest, daß es sich nach Zusammensetzung und Farbreaktionen um einen Eiweißkörper handelt, der durch Proteinase in seiner Wirksamkeit zerstört wird. F. G. FISCHER und L. ERTEL fanden an reineren Prolanpräparaten aus Harn (100—130 ME/mg), daß sie frei von Schwefel waren, 10—11% N und bemerkenswerterweise Kohlehydrat (etwa 10%) enthielten. Während Formaldehyd die Wirksamkeit kaum beeinträchtigt, schädigen salpetrige Säure und Benzoylchlorid stark. Die analytischen Angaben wurden von F. HAUROWITZ, M. REISS und J. BALINT an aktivierten Präparaten (10000—30000 ME/mg) bestätigt. K. MYRBÄCK stellte durch Diffusionsmessungen fest, daß dem Hormon ein Molekulargewicht von 12000 ± 5000 zukommt. Die Zerstörbarkeit durch Proteinase wurde auch von anderer Seite festgestellt (F. DICKENS mit Trypsin, H. v. EULER und B. ZONDEK mit Papain). Auch Wasserstoffsuperoxyd (REISS und HAUROWITZ, EVANS, MEYER und SIMPSON) und Ultraviolettbestrahlung (EULER und ZONDEK) zerstören die Wirksamkeit. Die gonadotropen Hormone dialysieren und ultrafiltrieren nur durch grobporige Membranen, durch engporige dagegen nicht.

Alle gemachten Angaben sind um so vorsichtiger zu bewerten, als es sich teils um die Hormone aus Harn, teils aus der Hypophyse selbst handelt und diese Präparate sich in mancher Hinsicht voneinander unterscheiden. Ferner

¹ Literatur bei JUNKMANN, 1936, S. 1058.

² Literatur bei JUNKMANN, S. 1102.

bezieht sich die Inaktivierung nicht immer gleichmäßig auf beide Hormonwirkungen. Und schließlich sind alle Versuche nicht mit reinen Präparaten gemacht, die Reindarstellung steht noch aus.

Das thyreotrope Hormon¹. Die bisher wirksamsten Präparate dialysieren nicht (JUNKMANN; ANSELMINO und HOFFMANN; LOESER); sie geben die Farbreaktionen der Eiweißkörper und werden von Pepsin und Trypsin zerstört (SPAUL). Ob die Wirksamkeit der Präparate mit ihrem Gehalt an oxydiertem Schwefel zusammenhängt, ist unklar (JUNKMANN). Acetylierung und Benzoylierung sowie Behandlung mit Diazomethan zerstören die Wirksamkeit (JUNKMANN; LOESER).

Das parathyreotrope Hormon². Da das Hormon nicht ultrafiltrierbar ist und aus wäßriger Lösung mit organischen Lösungsmitteln ausgefällt werden kann (ANSELMINO und HOFFMANN), könnte es sich auch hier um ein Proteohormon handeln. Die bisher bekanntgewordenen Tatsachen reichen aber nicht zu dieser Feststellung aus.

Das adrenotrope Hormon³. Es ist ultrafiltrierbar und zeigt die Löslichkeitseigenschaften der Eiweißkörper (ANSELMINO und HOFFMANN).

Das corticotrope Hormon⁴. Es ist zum Unterschied von den anderen Vorderlappenhormonen ultrafiltrierbar und ist aus der wäßrigen Lösung durch organische Flüssigkeiten fällbar (ANSELMINO und HOFFMANN). Oral ist das Hormon unwirksam (J. B. COLLIP, ANDERSON und THOMSON).

Fettstoffwechsel- und Kohlehydratstoffwechselhormon⁵. Beide Hormone sind empfindlich gegen starke Säuren und Laugen, fallen aus wäßriger Lösung durch organische Flüssigkeiten und lassen sich durch geeignete Ultrafilter filtrieren, besitzen also kein allzu großes Molekül. Der Beweis für die Eiweißnatur ist nicht erbracht.

Das Pigmenthormon des Hypophysenmittel- und -hinterlappens (Intermedin, Melanophorenhormon⁶). Es ist nicht ultrafiltrierbar und wird durch Trypsin (völlig) und Pepsin (zu 85%) sowie durch Ultraviolettbestrahlung und durch Oxydationsmittel inaktiviert (JORES; DIETEL; ZONDEK und KROHN).

Vasopressin und Oxytocin des Hypophysenhinterlappens⁷. Diese beiden Hormone müssen zusammen abgehandelt werden, da sich fast alle Versuche auf Präparate beziehen, die beide Wirkungen zeigen: Die blutdruckerhöhende des Vasopressins und die uteruskontrahierende des Oxytocins.

Beide Hormone werden durch Pepsin oder Papain nicht, aber durch Trypsin und Erepsin zerstört. Auch Dipeptidase und Proteinase aus Hefe sollen zerstören (GULLAND). Beide Hormone dialysieren. Es handelt sich um kleine Moleküle vom Molekulargewicht etwa 600. Offenbar liegen Peptide vor.

Nach Säurehydrolyse lassen sich Tyrosin und Cystin (DU VIGNEAUD, FREUDENBERG, STEHLE), ferner Arginin (STEHLE) und etwas Histidin (FREUDENBERG) isolieren. Nach FREUDENBERG ist es allerdings nicht sicher, wenn auch wahrscheinlich, daß diese Aminosäuren dem wirksamen Molekül entstammen.

¹ Literatur bei K. JUNKMANN, S. 1072.

² Literatur bei K. JUNKMANN, S. 1095.

³ Literatur bei K. JUNKMANN, S. 1108.

⁴ Literatur bei K. JUNKMANN, S. 1105.

⁵ Literatur bei ANSELMINO und HOFFMANN, 1936.

⁶ Literatur bei F. DIETEL, 1936.

⁷ Literatur bei O. SCHAUMANN, 1937.

Oxydationsmittel und Belichtung mit ultraviolettem Licht zerstören die Wirksamkeit.

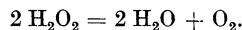
Nach DU VIGNEAUD enthält Oxytocin 14,3% und Vasopressin 10,5% Tyrosin. Der Tyrosingehalt soll mit zunehmendem Reinheitsgrad der Präparate steigen. Der Schwefelgehalt beider Hormone ist gleich groß und beträgt etwa 3%. Während aber Oxytocin bei der Hydrolyse 9% Cystin liefert, finden sich beim Vasopressin davon nur Spuren. Hier muß der Schwefel in Form eines anderen Bausteines vorkommen. In beiden Hormonen aber ist der Schwefel, offenbar in Disulfidbindung (—S—S—), für die Entfaltung der Wirkung notwendig; Reduktion mit Cystein ergibt zwar keine Inaktivierung (vermutlich weil durch Rückoxydation im Körper die wirksame Form wieder gebildet werden kann?), wohl aber die nachfolgende Benzoylierung (wodurch Rückoxydation unmöglich gemacht ist).

Wenngleich sich die erwähnten Proteohormone, soweit das bekannt ist, in ihrer Zusammensetzung und ihren Eigenschaften voneinander unterscheiden, läßt sich doch noch nicht sagen, auf welcher Besonderheit der Struktur die Besonderheit der Wirkung beruht. Vielleicht liegt es nur an der Art und Reihenfolge der zum Eiweißmolekül verknüpften Aminosäuren, ob ein Eiweißkörper als Insulin oder Epithelkörperchenhormon wirkt.

Zur Abgrenzung des Begriffs Proteohormon ist zu sagen, daß das Thyreoglobulin, der wirksame Eiweißkörper der Schilddrüse, der Thyroxin und Dijodtyrosin in der Eiweißkette eingebaut enthält, nicht zu den Proteohormonen zu rechnen ist, weil auch seine, durch Einwirkung von Verdauungsfermenten freiwerdenden Spaltstücke, wie Thyroxinpeptid und die Aminosäure Thyroxin, die volle Hormonwirkung ausüben (wenn man sie injiziert). Bekanntlich wirkt das Thyreoglobulin, im Gegensatz zu den Proteohormonen, auch oral. Daß das Thyroxin oral schlecht wirkt, beruht auf seiner sehr geringen Löslichkeit in Wasser. Verbessert man die Löslichkeit durch Zusatz von Natronlauge, so wird auch die Wirkung verstärkt und die des Thyreoglobulins erreicht. Der Einbau des Thyroxins in die Eiweißkette bewirkt ebenfalls eine Verbesserung der Löslichkeit und damit der Wirkung.

8. Wirksame Eiweiße als Fermente oder Bestandteile von Fermenten (Apofermente).

Unter Fermenten verstehen wir Katalysatoren organischer Natur, die in der lebenden Zelle gebildet werden, aber grundsätzlich auch losgelöst von dieser ihre Wirkung ausüben. (In manchen Fällen gelingt allerdings die Abtrennung von der Zelle noch nicht; das ist aber oft nur eine Frage der Methodik.) Ein Katalysator ist ein Stoff, der die Geschwindigkeit einer Reaktion zu beschleunigen vermag, wobei *ein* Molekül Katalysator sehr viele Moleküle des Substrats umsetzen kann, ohne im Endprodukt der Reaktion zu erscheinen. Z. B. befördert das im Pflanzen- und Tierreich weit verbreitete Ferment Katalase die Zerlegung des bei biologischen Oxydationen intermediär gebildeten Wasserstoffsuperoxyds in Wasser und Sauerstoff nach der Gleichung:



Dabei ist *ein* Molekül Katalase imstande einige hunderttausend Moleküle Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen (HALDANE).

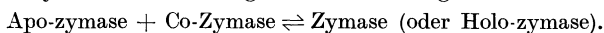
Die Definition der Fermente baut auf ihrer Wirkungsweise auf. Die für den Tierkörper notwendigen Fermente werden in ihm selbst gebildet, teils in besonderen Drüsen (Pankreas, Magen-Darmkanal usw.), teils in allen Zellen.

Die chemische Erforschung der Natur der Fermente hat erst im letzten Jahrzehnt wesentliche Fortschritte gemacht. Die alte Ansicht LIEBIG's, daß die Fermente eiweißähnliche Stoffe seien, hat nach vorübergehender Aufgabe glänzende Bestätigungen erfahren, als es 1926 SUMNER gelang, das harnstoffspaltende Ferment, die Urease, als krystallisierten Eiweißkörper darzustellen, und als in den folgenden Jahren weitere Fermente als Eiweißkörper erkannt wurden. (Die Besprechung der einzelnen Fermente erfolgt weiter unten gesondert.)

Trotz manchen Widerspruchs wird man vorläufig annehmen müssen, daß die ganzen Eiweißmoleküle das Ferment darstellen, und nicht, daß ein kleines Fermentmolekül anderer Zusammensetzung an die großen Eiweißmoleküle adsorbiert ist. Das Problem des Zusammenhangs zwischen Wirkung und chemischem Bau liegt bei diesen Fermenten ganz ähnlich wie bei den Proteohormonen. Auch bei den bis heute noch nicht krystallisiert erhaltenen Fermenten ist man geneigt, Eiweißnatur anzunehmen, obwohl das erst in wenigen Fällen sicher bewiesen ist. Das eine scheint aber sicher zu sein, daß alle Fermente hochmolekulare Stoffe sind. Von dieser Eigenschaft kann man Gebrauch machen bei der Dialyse, wobei die großen Moleküle nicht durch die zu engen Poren der Membran hindurchgehen, während niedermolekulare Stoffe dialysieren. Bei der Dialyse von Fermenten, die Proteine sind, bleibt die gesamte Wirksamkeit im Dialysengefäß zurück und die Außenflüssigkeit ist unwirksam.

Es verhalten sich aber nicht alle Fermente wie einheitliche Proteine. Als HARDEN und YOUNG 1904 Hefesäfte dialysierten, beobachteten sie, daß weder der Innenflüssigkeit noch das Dialysat für sich allein imstande waren, Zucker zu vergären. Beide Flüssigkeiten zusammen vergoren zugesetzten Zucker wie der ursprüngliche Hefesaft vor der Dialyse. Durch die Dialyse wird die Zymase, das Fermentsystem der Hefegärung, in zwei Bestandteile getrennt: In die kleinen Moleküle der „Co-Zymase“, die durch die Dialysenmembran hindurchdiffundieren und in die großen kolloidalen Moleküle der „Apozymase“, die innerhalb der Membran zurückbleiben. EULER und MYRBÄCK nahmen 1924 an, daß beide Bestandteile in einem Dissoziationsgleichgewicht zueinander stehen.

Diese Tatsache läßt sich, unter Verwendung der später eingeführten Begriffe Apo- und Holo-zymase, in der folgenden Gleichung ausdrücken:

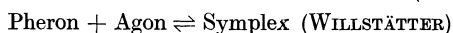


Dieses historische Beispiel, an dem zum erstenmal die Trennung eines Ferments in zwei Bestandteile gezeigt worden ist, die, jeder für sich allein unwirksam, beide für die Entfaltung der Fermentwirkung notwendig sind, ist allerdings nach unserer heutigen Kenntnis wesentlich komplizierter als es damals den Anschein hatte: Die Zymase ist ein Gemisch mehrerer Fermente, die Co-Zymase eine Mischung verschiedener Co-Fermente. Aber für die ganze Fermentchemie ist dieses Beispiel von weitesttragender Bedeutung geworden, da es sich gezeigt hat, daß auch andere Fermente nach diesem Prinzip aufgebaut sind.

Die allgemeine Formulierung lautet:



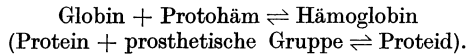
Die Begriffe von KRAUT und PANTSCHENKO-JUREWICZ (1934):



bedeuten nach meiner Auffassung das gleiche (manche Autoren sind anderer

Ansicht), haben aber den großen Nachteil, daß die spezielle Bezeichnung schwerfälliger wird, z. B. spricht man von Esteraseagon an Stelle von Co-Esterase.

Beim Hämoglobin, das allerdings kein Ferment ist (weil es den Sauerstoff weder aus einer Substanz freimacht noch auf andere Substanzen überträgt), sind seit langem ähnliche Verhältnisse bekannt. Das Hämoglobin kann ebenfalls dissoziieren in ein kleineres Molekül (die Eisenporphyrinkomponente) und ein großes Eiweißmolekül (das Globin). Beide Bestandteile können nur zusammen als Sauerstofftransporteur dienen.



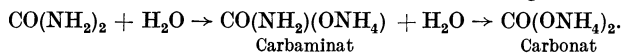
Den Begriffen Apo-, Co- und Holoferment entsprechen die übergeordneten Begriffe Protein, prothetische Gruppe, Proteid. WARBURG verwendet nur die letztgenannten Ausdrücke, das Holoferment wird als „dissoziierendes Proteid“ bezeichnet.

Die Trennung von Fermenten in Apo- und Co-Fermente ist bisher nur in wenigen Fällen sicher erwiesen, denen sich bestimmt weitere Fälle anreihen werden. Es scheint aber doch auch Fermente zu geben, bei denen kein Co-Ferment vorhanden ist, bei denen also gewissermaßen Apoferment = Holoferment zu setzen ist. Wenn auch die Möglichkeit besteht, daß eines Tages mit verbesserter Methodik doch noch die Abtrennung eines Co-Fermentes glückt, so ist es doch andererseits sehr wohl denkbar, daß es Fermente gibt, bei denen das Eiweißmolekül allein zur Fermentwirkung befähigt ist, ebenso wie es bei den Proteohormonen zur Entfaltung der Wirksamkeit genügt.

Für die Fermente, die Proteine sind, und für diejenigen, die zusammengesetzte Proteine (Proteide) sind, besteht jedenfalls *ein* gemeinsames Problem: Die Frage nach dem Zusammenhang zwischen dem Bau des Eiweißmoleküls und der Wirkung als Ferment bzw. Apoferment. Denn auch die Apofermente, die für sich allein unwirksam sind, sind spezifische Eiweißkörper. Ein Co-Ferment verbindet sich nicht mit jedem Eiweiß zum Holoferment.

9. Die Fermentproteine.

Urease¹. Die Urease spaltet Harnstoff in Ammoniak und Kohlensäure. Die Fermentwirkung soll sich auf die Bildung von carbaminsaurem Ammonium beschränken, das von selbst in Ammoniumcarbonat übergeht:



SUMNER gelang 1926 die Krystallisation der Urease aus Jackbohnenmehl. Es handelt sich um ein farbloses Globulin mit einem Schwefelgehalt von 1,2%. Ein Teil des Schwefels ist in Form von SH-Gruppen vorhanden (SUMNER und POLAND, 1933). Die Inaktivierung der Urease mittels kleiner Mengen von Schwermetallsalzen besteht wahrscheinlich in der Bildung von Mercaptiden (—SMe); durch Einwirkung von H₂S oder Thiolverbindungen (—SH) läßt sich die Wirksamkeit wieder herstellen (HELLERMAN, 1933). Nach SUMNER und MYRBÄCK vermögen 40000 g krystallisierte Urease mehr als 10 Grammatome (= 1080 g) Silber zu binden; 1 Grammatom (108 g) genügt aber bereits zur Inaktivierung. Das bedeutet, daß von 10 metallbindenden Gruppen (SH-Gruppen?) eine für

¹ Frühere Literatur bei J. B. SUMNER, 1932.

die Ureasewirkung von besonderer Wichtigkeit ist. Die metallvergiftete Urease krystallisiert nicht mehr.

Pepsin¹. Das Pepsin, das bekanntlich hochmolekulare Eiweißkörper spaltet, wurde 1929 von NORTHROP krystallisiert erhalten. Es ist ein Albumin von der Teilchengröße 35 000 (osmotische Messung) bis 36 000 (Diffusionsmessung, Ultrazentrifuge). Es enthält 0,86% Schwefel und geringe Mengen Phosphor und Chlor. An Aminosäuren sind 10,3% Tyrosin, 18,6% Glutaminsäure, 6,8% Asparaginsäure, 2,2% Tryptophan, 2,7% Arginin, 2,1% Lysin, 0,05% Histidin und 1,4% Cystin nachgewiesen (s. Tabelle 1) (CALVERY, HERRIOTT und NORTHROP, 1936). Daß der isoelektrische Punkt des Pepsins weit im sauren Gebiet liegt (p_H 2,75), erklärt sich durch den geringen Gehalt an basischen Aminosäuren. Das eingebaute Tyrosin ist für die Pepsinwirkung unbedingt wichtig. Das geht aus folgenden Versuchen von HERRIOTT und NORTHROP (1) und HERRIOTT (1) hervor. Acetyliert man krystallisiertes Pepsin in wäßriger Lösung (bei p_H 5—6) mit Keten ($O=C=CH_2$), so findet Acetylierung des Pepsins statt. Zunächst werden die freien Aminogruppen acetyliert, das Reaktionsprodukt ist noch krystallisierbar und hat nichts an Wirksamkeit eingebüßt. Bei weiterer Einwirkung von Keten findet unter Verlust der Wirksamkeit Acetylierung der phenolischen Hydroxylgruppe des Tyrosins statt, wie sich mittels Farbreaktion (nach FOLIN) nachweisen läßt. Durch Verseifung wird mit den freiwerdenden OH-Gruppen auch die Wirksamkeit wiederhergestellt. Auch die Inaktivierung des Pepsins durch Jod greift am Tyrosin an [HERRIOTT (2), 1937], denn nach Spaltung des Jodpepsins wurde Dijodtyrosin erhalten. Vielleicht greift auch die Zerstörung der Wirkung durch Ultraviolettstrahlen am Tyrosinteil an. In der Bedeutung des Tyrosins für die Wirksamkeit des Moleküls weist das Pepsin viel Ähnlichkeit mit dem Insulin auf.

Pepsin „Brücke“. Bekanntlich soll das BRÜCKESCHE Pepsin eiweißfrei sein. KRAUT und TRIA (1937) haben aus dem gleichen Handelspepsin nach NORTHROP krystallisiertes und nach BRÜCKE „eiweißfreies“ Pepsin dargestellt. Jenes wies 15,5% N auf und enthielt viel Tyrosin und Tryptophan, das BRÜCKESCHE Pepsin enthielt nur 8,2% N und wenig oder kein Tyrosin und Tryptophan. Casein wird von den beiden Präparaten etwas verschieden angegriffen, das Wirkungsoptimum liegt bei beiden um p_H 2. Die Untersucher halten es für möglich, daß ein und dieselbe prosthetische Gruppe in den beiden Präparaten an verschiedene Träger gebunden ist. Es ist allerdings bisher noch nicht gelungen, ein Co-Ferment des Pepsins nachzuweisen. Sehr wahrscheinlich handelt es sich bei dem „Pepsin Brücke“ nicht um Pepsin, sondern um ein anderes Ferment ähnlicher Spezifität.

Bei dieser Gelegenheit sei an die Feststellungen von KRAUT und PANTSCHENKO-JUREWICZ erinnert, wonach Leber- und Pankreasesterase das gleiche (noch nicht isolierte) Co-Ferment, aber verschiedene Apo-Fermente besitzen.

Pepsinogen. Von HERRIOTT und NORTHROP (2) wurde 1936 eine krystallisierte unwirksame Vorstufe des Pepsins isoliert, die bei p_H 4,6 autokatalytisch in Pepsin übergeht. Über die Art der Veränderung, die aus dem unwirksamen einen wirksamen Stoff macht, ist nichts sicheres bekannt. NORTHROP (2) nimmt an, daß Peptidbindungen gelöst werden. Nach HERRIOTT (3) hat das Pepsinogen

¹ Literatur bei J. H. NORTHROP, 1932.

eine Teilchengröße von 42000 ± 3000 und enthält nur 0,4% Schwefel; der isoelektrische Punkt ist bei p_H 3,8.

Trypsinogen. Auch das kristallisierte Trypsinogen wird durch geringe Mengen aktives Trypsin autokatalytisch in Trypsin umgewandelt [KUNITZ und NORTHROP (1)].

Trypsin¹. 1930 isolierten NORTHROP und KUNITZ aus Pankreas das kristallisierte Trypsin, einen Eiweißkörper mit 1,1% Schwefelgehalt. Das Teilchengewicht ist 34000 (Osmose) bei p_H 4. Pepsin baut Trypsin zu unwirksamen Spaltstücken ab: Mit 2,5% iger Trichloressigsäure läßt sich während des größten Teiles der Einwirkungsdauer unverändert wirksames Trypsin ausfällen, während von Beginn der Verdauung ab mit 18% iger Trichloressigsäure (mit der größere Spaltstücke ausfallen), Fällungen mit verminderter Wirksamkeit entstehen.

Durch Enterokinase ist das kristallisierte Trypsin nicht aktivierbar im Gegensatz zu unreinen Fermentpräparaten. Die „aktivierende“ Wirkung der Enterokinase beruht auf der Unschädlichmachung von Trypsinhemmungskörpern, welche das Ferment begleiten (H. DYCKERHOFF, H. MIEHLER und V. TADSEN, 1934).

Schweinetrypsin und Rindertrypsin lassen sich serologisch unterscheiden (TEN BROECK, 1934; SEASTONE und HERRIOTT). Rindertrypsinogen kann aber auch durch Schweinetrypsin in aktives Trypsin übergeführt werden [NORTHROP (2)]. Siehe S. 373.

Chymotrypsinogen und Chymotrypsin. KUNITZ und NORTHROP (2) haben 1935 aus Pankreas ein kristallisiertes Chymotrypsinogen, auch einen Eiweißkörper, isoliert, der durch etwas Trypsin (oder sehr langsam in schwach saurer Lösung) in Chymotrypsin umgewandelt wird, welches die Milchgerinnung befördert (Labwirkung). Beim Übergang der inaktiven Vorstufe in das aktive Ferment behalten die Eiweißteilchen ihre Größe bei (etwa 40000), der Gehalt an Tyrosin + Tryptophan bleibt gleich, der isoelektrische Punkt wird von p_H 5,0 nach 5,4 verschoben und die röntgenographische Untersuchung ergibt ein anderes Bild [WYCKOFF, nach NORTHROP (2)]. Das Auftreten von 6 Aminogruppen je Eiweißteilchen wird von NORTHROP durch Öffnung von lysinhaltigen Peptidringen erklärt, wobei die ϵ -Aminogruppe des Lysins frei werden soll. Die Reaktion ist von Bedingungen ähnlich abhängig wie eine Proteolyse. Die Umwandlung des Chymotrypsinogens in Chymotrypsin ist keine Autokatalyse, sie wird auch durch Chymotrypsin nicht bewirkt.

Durch Hydrolyse mittels Säuren oder Pepsins wird die Wirkung des Chymotrypsins zerstört.

Carboxy-peptidase. ANSON erhielt 1935 aus Pankreas von Rindern die Carboxy-peptidase als kristallisiertes Eiweiß mit 0,47% Schwefel und viel Tyrosin. Dieses Ferment spaltet aus Peptiden die endständige Aminosäure ab, deren Carboxyl frei ist. Das Substrat braucht keine freie Aminogruppe zu enthalten. Insofern ist es auch verständlich, daß die Carboxy-peptidase auch bei Anwesenheit von Formaldehyd wirkt, was die anderen Proteasen nicht tun. Aus dieser Tatsache geht aber weiter hervor, daß auch im Ferment selbst keine freie Aminogruppe notwendig ist.

¹ Literatur über Trypsin und die damit zusammenhängenden Fragen bei J. H. NORTHROP und M. KUNITZ, 1933.

Frisches Pankreas enthält kein wirksames Ferment, sondern eine unwirksame Vorstufe (Pro-carboxypeptidase), die wie Trypsinogen und Chymotrypsinogen durch Trypsin in das wirksame Ferment umgewandelt wird.

Papain. BALLS, LINEWEAVER und THOMPSON (1937) haben Papain krystallisiert erhalten. Auch nach fast völliger Zerstörung der Wirksamkeit durch Wasserstoffsperoxyd ließ sich das Ferment in gleicher Weise und Krystallform krystallisieren. Die Inaktivierung ließ sich durch Einwirkung eines Aktivators wieder rückgängig machen.

Ficin. WALTI (1937) hat aus Ficus eine Proteinase vom Papaintyp krystallisiert dargestellt, die er Ficin nennt. Das Ferment enthält 1,6% Schwefel, der (ganz ?) in Form von SH-Gruppen vorhanden ist. Wasserstoffsperoxyd inaktiviert, durch SH-Verbindungen wie Cystein ist Wiederherstellung der Wirksamkeit möglich.

Bei den eben erwähnten Proteinase liegen die Verhältnisse ganz ähnlich wie bei der Urease (s. S. 360). Aus den Untersuchungen von MASCHMANN und HELMERT, BERSIN und LOGEMANN sowie HELLERMAN und PERKINS (1933) weiß man, daß beim Papain (und ähnlich beim Kathepsin) nur die SH-Form wirksam, die SS-Form dagegen unwirksam ist¹.

Auf einige weitere Fermente, die krystallisiert erhalten, aber noch nicht näher beschrieben worden sind, braucht hier nicht eingegangen zu werden.

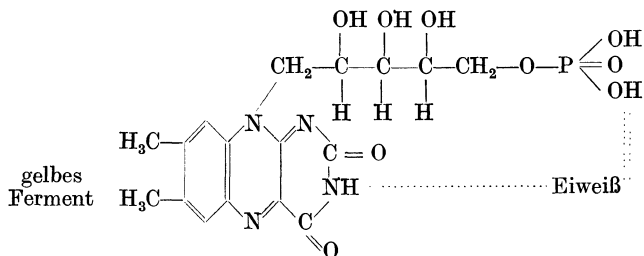
Daß die Schlangengifte, wie z. B. das Crotoxin, Fermente sind, s. S. 370.

10. Fermentproteide.

Das gelbe Ferment (Flavinenzym). Es wurde 1932 von WARBURG und CHRISTIAN (1) auf Hefemacerationssaft erhalten und 1934 von THEORELL (1) in reiner Form krystallisiert. Die Teilchengröße beträgt nach KEKWICK und PEDERSEN 80000 (Sedimentierungs- und Diffusionsversuche). THEORELL (2) konnte das gelbe Ferment durch Dialyse der sauren Lösung in ein farbloses Apoferment, ein Albumin, und ein gelbes Co-Ferment, die Lactoflavinphosphorsäure, trennen. Beide für sich allein unwirksame Komponenten vereinigen sich in neutraler Lösung wieder zum wirksamen gelben Ferment. Aus Teilchengröße und Phosphorgehalt des gelben Ferments ergibt sich, daß es 1 Molekül Lactoflavinphosphorsäure enthält.

Lactoflavinphosphorsäure + Albumin \rightleftharpoons gelbes Ferment.

Die Phosphorsäuregruppe ist wichtig für die Bindung des Co-Ferments an das Eiweiß, freies Lactoflavin kuppelt erst in sehr viel größerer Menge mit dem Apoferment (R. KUHN und H. RUDY, 1936). Ferner soll noch eine Bindung vom Eiweiß zur NH-Gruppe des Flavins bestehen.



¹ Literatur bei L. HELLERMAN, 1937.

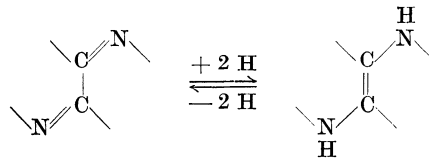
Wichtig ist die Tatsache, daß als Apoferment ein spezifisches Eiweiß dient. Das Co-Ferment kuppelt nicht mit jedem Eiweißkörper (THEORELL). Das geht auch aus den Versuchen von K. FELIX und A. MAGER hervor: Die geringe Fermentwirkung, die dem Co-Ferment allein zukommt, wird durch Kuppelung an Clupein verdoppelt. Das „falsche“ Apoferment vermag also nur eine geringe Wirkung auszuüben.

Die Bedeutung des Apoferment-eiweißes liegt darin, daß es das Redoxpotential des Co-Ferments weniger negativ macht, d. h. das Holoferment ist ein stärkeres Oxydationsmittel als das Co-Ferment. So können durch das Holoferment Stoffe dehydriert werden, für die das Co-Ferment allein ein zu schwaches Oxydationsmittel ist.

Durch die Bindung des Co-Ferments an das spezifische Apofermenteiweiß wird das Absorptionsspektrum des Co-Ferments um $20 m\mu$ nach Rot verschoben. Das heißt, daß durch die Bindung des Co-Ferments an das Eiweiß die Reaktionsfähigkeit des ersten größer wird [WARBURG und CHRISTIAN (1 b)].

Die Wirkung des gelben Ferments besteht darin, daß es 2 Wasserstoffatome aufnehmen (Übergang in das farblose Leukoflavinenzym) und wieder abgeben kann. (Welche Stoffe als Wasserstoffdonatoren bzw. -acceptoren dienen, wird weiter unten nach Besprechung der Dehydrase angeführt werden.) Das Ferment dient mithin als Wasserstoffüberträger zwischen bestimmten Stoffen. Da das Ferment immer wieder zurückgebildet wird, ist ohne weiteres verständlich, daß ein Molekül Ferment ungezählte Moleküle Substrat umsetzen kann. Das ist eben durch die Reversibilität des fermentativen Vorganges bedingt.

Betrachtet man nur den Teil des gelben Ferments, der die beiden Wasserstoffatome aufnehmen und wieder abgeben kann, so ist der Vorgang folgendermaßen zu formulieren:



Über die Natur des Eiweißanteils des gelben Ferments ist bereits einiges erwähnt worden. Abgetrennt vom Co-Ferment ist er weniger beständig. H. THEORELL (3) erklärt das durch Bindung des Co-Ferments an die empfindlichen Stellen des Eiweißes. R. KUHN und P. DESNUELLE haben bei der Hydrolyse des Apoferments die in Tabelle 3 angegebenen Aminosäuren gefunden. Nimmt man das Molekulargewicht des Eiweißes zu 70000 an, so enthält 1 Molekül (die folgenden Zahlen bedeuten Moleküle): 33 Arginin, 13 Histidin, 66 Lysin, 40 Prolin (kein Oxyprolin), 30 Tyrosin, 24 Phenylalanin, 17 Tryptophan, 34 Glutaminsäure, 10,5 Asparaginsäure und 1,4 Cystin. Die Summe der Hexonbasen (Arginin, Histidin und Lysin) macht 24,7% aus, während sie beim Hämoglobin 20,7% beträgt. Der Anteil der 3 Aminosäuren an diesem Betrag ist aber in beiden Fällen sehr verschieden. Die basischen Aminosäuren sind für die Bindung der sauren „prothetischen“ Gruppe von Wichtigkeit.

Dehydrasen. Aus den Arbeiten von O. WARBURG und H. v. EULER und ihren Mitarbeitern kennt man Dehydrasen, welche aus Codehydrasen und Apo-dehydrasen (Eiweißkörpern) bestehen, also Holodehydrasen sind. Bisher sind

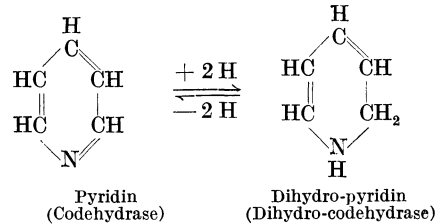
zwei Codehydrasen bekanntgeworden. Jedes dieser Co-Fermente kann mit verschiedenen Apodehydrasen zu einem wirksamen Ferment zusammentreten. Aber keine dieser Apodehydrasen reagiert offenbar mit beiden Co-Fermenten.

[Im Literaturverzeichnis sind nur die Arbeiten erwähnt, die sich auf das Eiweiß beziehen. Die übrige Literatur findet sich in der Zusammenstellung von O. WARBURG (1).]

Die beiden Co-Fermente sind: Das von WARBURG aus Pferdeerythrocyten und von EULER aus Hefe isolierte Diphosphopyridin-nucleotid (WARBURG), ein Bestandteil der alten „Co-Zymase“. EULER bezeichnet dieses Co-Ferment als Cozymase oder Codehydrase I. Aus Pferdeerythrocyten wurde ferner das Triphospho-pyridin-nucleotid (WARBURG) erhalten, das von EULER als Codehydrase II bezeichnet wird. Ich verwende die EULERSche Bezeichnungsweise, weil sie einfacher und übersichtlicher ist.

Beide Co-Fermente enthalten als Wirkgruppe einen Pyridinring, der 2 Wasserstoffatome aufnehmen und wieder abgeben kann (WARBURG, EULER).

Die Co-Fermente allein können zwar manche Stoffe, die starke Reduktionsmittel sind, dehydrieren. Die im Organismus als Substrate in Frage kommenden Stoffe aber können von den Co-Fermenten nur dehydriert werden, wenn sie mit der spezifischen Apodehydrase zusammenwirken. Die Eiweißanteile bedingen



auch hier eine Steigerung der Wirksamkeit und der Spezifität. Die naheliegende Vermutung, daß die Apodehydrasen mittels SS-Gruppen mitwirken, die durch Aufnahme von Substratwasserstoff in SH-Gruppen übergehen könnten und nun das Co-Ferment hydrieren (unter Rückbildung der SS-Gruppen), hat sich — wenigstens an den gleich zu erwähnenden Proteinen von NEGELEIN — nicht erweisen lassen.

Aus der oben angegebenen Gleichung ist ersichtlich, daß die Reaktion Pyridin-Dihydropyridin umkehrbar ist. Die Dehydrierung des Dihydro-Co-Fermentes erfolgt durch das gelbe Ferment, welches dabei hydriert wird (s. S. 364).

Codehydrase II und Proteine. Die Codehydrase II bildet zusammen mit der von NEGELEIN und GERISCHER aus Hefe erhaltenen und als „Zwischenferment“ bezeichneten Apodehydrase ein dissoziabiles Ferment (NEGELEIN und HAAS). Dieses Ferment, von WARBURG Triphospho-pyridin-nucleotid_{ROBISON-Ester} genannt, dehydriert den sog. ROBISON-Ester (eine Hexosephosphorsäure) zu einer Phosphohexonsäure, wobei der Pyridinring des Co-Ferments hydriert wird. Infolge der leichten Dissoziierbarkeit des Ferments ist ein Molekül Apodehydrase instande, sehr viele Moleküle Codehydrase zur Wirksamkeit zu bringen. Die Apodehydrase ist ein sehr unbeständiges Eiweiß, über das sich vorläufig noch nichts weiter aussagen läßt.

WARBURG und CHRISTIAN (2) konnten aus Hefemacerationssaft weitere Proteine gewinnen, die als Apodehydrasen mit Codehydrase II zu Holodehydrasen zusammentreten. Diese Proteine, die noch nicht rein dargestellt sind, vermögen mit Codehydrase II zusammen nicht die Hexosephosphorsäure (ROBISON-Ester) zur Phosphohexonsäure zu dehydrieren. Für diese Reaktion ist als Apodehydrase nur das erwähnte „Zwischenferment“ brauchbar. Sie

sind aber imstande, die gebildete Hexonsäure weiter abzubauen. Das gleiche Co-Ferment besorgt die Dehydrierung des ROBISON-Esters, aber für jede Reaktionsstufe ist ein anderes spezifisches Eiweiß als Apodehydrase notwendig.

Dieses Beispiel zeigt besonders schön, daß das Co-Ferment für die Art der Wirkung (Wirkungsspezifität), das Apoferment dagegen für die Auswahl des Substrates (Substratspezifität) verantwortlich ist.

Dabei ist noch bemerkenswert, daß die Apodehydrasen gleicher Wirkung sich voneinander je nach ihrer Herkunft etwas unterscheiden können. So besitzt die an der Dehydrierung des ROBISON-Esters beteiligte Apodehydrase aus Hefe den isoelektrischen Punkt bei p_H 4,8 (NEGELEIN und GERISCHER), die Apodehydrase aus Rattenblut bei p_H 5,8 [THEORELL (4)]. WARBURG (1) nimmt an, daß jedes dieser Proteide (auch die Codehydrase I enthaltenden) in der Natur in soviel Variationen vorkommt, als es Zellarten gibt. Diese Tatsache ist vom Hämoglobin her bereits bekannt.

Codehydrase I und Proteine. Die Codehydrase I (Co-Zymase) bewirkt im Verein mit einem spezifischen Eiweiß als Apodehydrase die Dehydrierung von Äthylalkohol zu Acetaldehyd. Diese Reaktion ist umkehrbar.



Die Reaktion von rechts nach links spielt bei der Gärung eine wichtige Rolle; durch sie entsteht der Gärungsalkohol.

Die hier mitwirkende Apodehydrase wurde von NEGELEIN und WULFF aus Macerationssaft von untergäriger Hefe krystallisiert erhalten. Das krystallisierte farblose Protein enthält 1,21% Schwefel und weist in seinem Absorptionsspektrum nur die, auch für andere Eiweißkörper charakteristische Bande bei $280 m_\mu$ auf. Geringste Mengen von Schwermetallen (besonders Kupfer), wie sie im gewöhnlichen Wasser enthalten sein können, inaktivieren das Apoferment. Durch Komplexbildner wie Glykokoll läßt sich das Ferment vor der Metallwirkung schützen. Diese Inaktivierungserscheinungen erinnern an das Verhalten der Urease (s. S. 360).

Codehydrase I wirkt zusammen mit einer anderen Apodehydrase als Holodehydrase bei der Dehydrierung von Triosephosphat.

Schwieriger ist die Sachlage bei den im „Gärttest“ von WARBURG und CHRISTIAN (3) untersuchten Fermenten. Als Substrate dienen Hexosephosphorsäure (ROBISON-Ester), Acetaldehyd und Phosphorsäure, die zu Brenztraubensäure und Phospho-glycerinsäure umgesetzt werden. Dabei findet aber auch noch Übergang von Hexosephosphorsäure in Hexose-diphosphorsäure statt. Bei Anwesenheit von Mg und Mn wirken hier mit: Co-phosphorylase (phosphorylierte Adenylsäure) im Verein mit Protein A und Codehydrase I (Co-Zymase) im Verein mit Protein B (MEYERHOF, KIESSLING und SCHULZ). Beide Apofermente sind unbeständig und kommen im Hefemacerationssaft vor [WARBURG und CHRISTIAN (3); NEGELEIN]. Das B-Protein scheint aus einem Gemisch mehrerer Apofermente zu bestehen.

Carboxylase. Die Cocarboxylase ist nach LOHMANN und SCHUSTER (1937) Vitamin B₁-diphosphat. Als Apoferment scheint ein Eiweißkörper zu dienen, diese Frage ist aber noch nicht genauer untersucht.

11. Häminproteide.

Katalase. Dieses Ferment zersetzt Wasserstoffsperoxyd in Wasser und Sauerstoff (s. S. 358). AGNER konnte 1935 zeigen, daß die Katalase aus Pferdeleber durch Dialyse in ein gefärbtes Co-Ferment und ein farbloses Apoferment getrennt werden kann. Beide Bestandteile sind für sich allein unwirksam, zusammengegeben entfalten sie wieder die Wirkung der Katalase. TAUBER und KLEINER (1935) konnten diese Zerlegung mit Katalase aus Ochsen-, Kaninchen- und Rattenleber nicht durchführen. Trypsin zerstört den Eiweißteil. Nach den Untersuchungen von ZEILE und HELLSTRÖM (1930) sowie von K. G. STERN (1936), der die Cokatalase krystallisiert erhielt, ist diese sehr wahrscheinlich Protohämatin IX, also die gleiche prosthetische Gruppe wie im Methämoglobin. Das Eisen ist dreiwertig. Neuerdings haben SUMNER und DOUNCE (1937) die Katalase aus Rinderleber krystallisieren können. Nach dem Fe-Gehalt von 0,1% muß die Teilchengröße mindestens 55000 betragen. Möglicherweise ist das Co-Ferment doch nur mit dem Bluthämin verwandt und nicht damit identisch. Über den Eiweißanteil ist nichts Näheres bekannt. — Interessanterweise wirkt auch eine Verbindung aus Clupein und Hämin katalatisch (FELIX und MAGER).

Peroxydase. Dieses noch nicht rein dargestellte Ferment überträgt Sauerstoff aus Wasserstoffsperoxyd auf bestimmte Substrate. Nach R. KUHN, HAND und FLORKIN (1931) ist die Peroxydase ein Häminprotein, nach KEILIN und MANN (1937) ist das Hämin Protohämatin. KEILIN und MANN nehmen an, daß im Methämoglobin, in der Katalase und der Peroxydase das gleiche Co-Ferment vorliegt, das sich jeweils mit verschiedenen spezifischen Eiweißkörpern (Apofermenten) verbindet.

Cytochrom c. Die Cytochrome sind zwischen das Atmungsferment und die Dehydrogenasen eingeschaltet und sind am Elektronentransport durch Valenzwechsel ihres Eisens beteiligt. Von den drei Komponenten ist nur das Cytochrom c näher untersucht. Die Häminkomponente enthält nach ZEILE und PIUTTI (1933) eine basische Seitenkette unbekannter Konstitution. THEORELL (5, 6) hat das Cytochrom c, wenn auch nicht krystallisiert, so doch in ziemlich reinem Zustand, erhalten. Es besitzt ein Mindestmolekulargewicht von 16500 und ist ein stark basischer Eiweißkörper mit dem isoelektrischen Punkt p_H 9,8. Der Eisengehalt ist etwa so hoch wie beim Hämoglobin (0,34%), ferner sind 1,18% S enthalten. Es scheint aber doch ein wesentlicher Unterschied im Aufbau gegenüber dem Hämoglobin zu bestehen [THEORELL (7)]. Ob der bei saurer Hydrolyse des Cytochroms c abgespaltene Zucker (etwa 3%) dem Cytochrom selbst oder einer Beimengung zuzuschreiben ist, erscheint unsicher.

12. Kupferprotein.

KUBOWITZ (1937) hat nachgewiesen, daß die Polyphenoloxydase aus Kartoffeln ein Kupferprotein ist. Das Kupfer ist nicht durch Dialyse, sondern durch Behandlung mit Säure zu entfernen.

13. Eiweiß als Antigen und Antikörper.

Dieses Kapitel gehört eigentlich, da fast alle Eiweißkörper Antigeneigenschaft besitzen, an den Anfang der ganzen Abhandlung. Aus Gründen der Zweckmäßigkeit findet die Besprechung hier statt. Den wirksamen Eiweißkörpern

ist noch das Merkmal der Artspezifität aufgeprägt. Interessant ist die Tatsache, daß gleiche Fermente verschiedene Artspezifität haben können (s. S. 373) und ferner der öfters erwähnte Befund (s. unten), daß die Wirksamkeit eines Eiweißkörpers leichter als seine Antigeneigenschaft geschädigt wird.

Antigene. Wird einem Organismus körperfremdes Eiweiß unter Umgehung des Verdauungsweges (parenteral) beigebracht, so bildet der betreffende Organismus einen Antikörper, dessen Wirkung spezifisch gegen das als „Antigen“ wirkende Eiweiß gerichtet ist. Fast alle natürlichen Eiweißkörper wirken als Antigene. Niedermolekulare Stoffe können durch Zusammentritt mit hochmolekularen Stoffen wie Eiweiß zu Vollantigenen werden. Man bezeichnet solche kleine Moleküle als Haptene. Man wird dabei an den Zusammentritt von Co-Ferment und Apofermenteiweiß zum Holoferment erinnert, wenngleich sich nicht sicher sagen läßt, wieweit diese Ähnlichkeit geht.

Auch hier taucht wieder die Frage auf, worauf die strenge Spezifität der Antigenwirkung beruht? Man nimmt an, daß die Spezifität auf sog. „determinante“ Gruppen zurückzuführen ist. Über den Einfluß solcher determinanter Gruppen hat man wohl in „komplexen Antigenen“, wie sie LANDSTEINER untersucht hat, Aussagen machen können, die determinanten Gruppen der natürlichen Eiweißkörper aber sind unbekannt. Da die Gelatine, die keine cyclischen Aminosäuren enthalten soll, keine Antigenwirkung zeigt und auch nicht als Träger von Haptenen wirkt, hat man geglaubt, dafür den Mangel an Tyrosin verantwortlich machen zu sollen. Nach DAKIN enthält Gelatine aber 1,4% Phenylalanin und nach GERNGROSS 1% Tyrosin (s. F. SCHNEIDER). Auch Kuppelungsprodukte von Gelatine mit Phenyl-isocyanat (Phenyl-ureido-gelatine; HOPKINS und WORMALL, 1933) und mit 0- β -glucosido-tyrosin (CLUTTON, HARRINGTON und MEAD, 1937) zeigen keine Antigenwirkung. Dagegen wirkt mit diazotiertem Anilin behandelte Gelatine als Antigen, der gebildete Antikörper flockt allerdings nicht nur die Anilingelatine, sondern auch Gelatine selbst (M. ADANT, 1930). Clupein, das wie die Gelatine keine Antigeneigenschaft besitzt, erhält diese Eigenschaft nach Kuppelung mit Phenylisocyanat (GUTMAN, 1938).

Im übrigen läßt sich die bei den Proteohormonen und Fermenten geübte Methodik, nach Einwirkung bestimmter Reagenzien auf das Eiweiß festzustellen, ob Inaktivierung stattfindet, bei den Antigenen kaum oder nur in sehr beschränktem Maß anwenden, weil bei Einführung von chemischen Gruppen meist die Spezifität nicht vernichtet, sondern nur geändert wird, indem Antikörper gegen diese determinante Gruppe gebildet werden. Eine Ausnahme bildet z. B. die Einwirkung von Formaldehyd, der im allgemeinen die Antigeneigenschaft des betreffenden Antigens unverändert läßt, selbst wenn die sonstige spezifische Wirkung beeinträchtigt wird. Davon wird weiter unten noch mehrmals die Rede sein, beispielsweise bei den Toxinen.

Jedenfalls aber ist für die Antigeneigenschaft eines Eiweißes das Molekül als Ganzes notwendig, denn bekanntlich werden ja die körperfremden Eiweißkörper durch die fermentative Aufspaltung im Magen-Darmkanal ihres artspezifischen Charakters entkleidet. Die Größe des Teilchens ist wohl wichtig für die Antigenatur. Die Spezifität ist vermutlich von der Art der Aminosäurebausteine und ihrer Anordnung im Eiweißteilchen abhängig.

HAUROWITZ weist darauf hin, daß die Unfähigkeit der Gelatine zur Antigenwirkung davon abhängen könne, daß die Gelatine zu den Linearkolloiden gehöre,

denen keine feste Struktur zukomme im Gegensatz zu den Albumen und Globulinen, die Sphärokolloide mit festerer Struktur sind. Dann müßte aber auch bei anderen Linearkolloiden wie Fibrinogen, Myosin, Mucin, Mucoiden, Fibroin, Keratin usw. die Antigennatur fehlen. Fibroin (aus Seide) bildet tatsächlich keine Antikörper (C. L. A. SCHMIDT und I. FRUG, 1925), dagegen soll Kollagen schwache Antigeneigenschaft haben, die durch Bestrahlung mit Radiumemanation oder Erhitzen geschwächt wird (J. LOISELEUR und A. URBAIN, 1930) und auch die Mucoide (aus Eiern und Blut) sollen schwache Antigene sein (I. H. LEWIS und H. G. WELLS, 1927).

Wenn die Antigeneigenschaft hauptsächlich vom räumlichen Bau des Eiweißteilchens abhängt, ließe sich zwanglos erklären, daß leichte chemische Eingriffe an bestimmten Gruppen keine Änderung der Antigennatur hervorbringen, dagegen die spezifische Wirkung des betreffenden Eiweißes schädigen.

Antikörper. Auch die Antikörper sind offenbar Eiweiße. Sie finden sich stets in der Globulinfraction des Serums (s. LAUBENHEIMER). CHOW, LEE und WU (1937) stellten fest, daß die Wirksamkeit des Pferdeantipneumokokkenserums Typ 1 durch Trypsinverdauung zerstört wird. Auch A. H. ROSENHEIM (1937) teilt mit, daß die nach Immunisierung mit *B. typhosus* gebildeten Agglutinine des Pferdeserums durch proteolytische Fermente (Pepsin, Trypsin, Papain) zerstört werden. Die Teilchengröße der Antikörper kann der des Serumglobulins (150000) entsprechen, ist aber in anderen Fällen auch größer (HEIDELBERGER und PEDERSEN, 1937; MUTZENBECHER, 1938). Nach BREINL und HAUROWITZ (1930) enthält das Präcipitat aus Hämoglobin und Antihämoglobins serum ein Protein, das dem Globulin des Immunsersums sehr ähnlich ist und etwa die gleichen Mengen Tyrosin, Cystin und Arginin enthält. Diphtherieantitoxin und Streptokokkenantitoxin lassen sich chemisch weder voneinander noch von normalem Serumglobulin unterscheiden (HEWITT, 1934). Die Frage, ob die Antikörper von den Serumglobulinen abtrennbar sind — auch wenn das bisher nicht gelungen ist! — oder ob sie Globuline sind, die sich nur durch geringfügige, aber ausschlaggebende Veränderungen vom normalen Globulin unterscheiden, ist nicht einwandfrei geklärt (LAUBENHEIMER). Es spricht aber vieles für die letzte Möglichkeit (s. H. SCHMIDT). Daß durch Behandlung mit Jod oder Kuppelung mit Diazoverbindungen die Antikörperwirkung verlorengeht, könnte durch Veränderung des Tyrosins gedeutet werden (BREINL und HAUROWITZ, 1932).

14. Toxine.

Die typischen Toxine (Bakterientoxine, Toxalbumine, Schlangengifte) sind auch Antigene (sie rufen im Körper die Bildung von Antitoxinen hervor), wirken aber außerdem toxisch. Weiter oben wurde bereits erwähnt, daß manche Toxine, z. B. Tetanustoxin und das Diphtherietoxin, durch Einwirkung von Formaldehyd in sog. Toxoide übergehen, welche die Antigeneigenschaft unverändert beibehalten, aber die Toxinwirkung verloren haben. Im Sinne EHRLICHs kann man annehmen, daß durch Formaldehyd die toxophoren Gruppen verändert worden sind, die haptophoren Gruppen dagegen unverändert bleiben. Wenn man sich der Tatsache erinnert, daß Insulin, Epithelkörperchenhormon und andere wirksame Eiweißkörper durch Formaldehyd inaktiviert werden, aber durch geeignete Mittel wieder teilweise in ihrer Wirkung regeneriert werden können,

so ist hier doch ein Unterschied vorhanden: Eine Regenerierung der toxischen Wirkung ist bei den Formoltoxoiden unmöglich. Aus der erwähnten Tatsache und weiteren, noch zu beschreibenden Befunden geht hervor, daß die Antigen-eigenschaft durch chemische Reagenzien offenbar weniger leicht vernichtet wird als die toxische Wirkung.

Bakterientoxine. PAPPENHEIMER jr. (1937) beschreibt gereinigtes Diphtherie-toxin als einen Eiweißkörper mit etwa 16% N und 0,75% S, der 9% Tyrosin und 1,4% Tryptophan enthält. 0,0001 mg des Toxins tötet ein Meerschweinchen von 250 g in 5 Tagen.

Toxalbumine. Darunter versteht man pflanzliche Eiweißkörper, die typische Toxine mit (tödlicher) Giftwirkung und Antigeneigenschaft sind. Die Toxalbumine agglutinieren ferner Blutkörperchen. Zu den Toxalbuminen gehören das Abrin aus Jequiritisamen, das Croton aus Crotonsamen und das Ricin aus Ricinus-samen. Ich will mich hier auf die Besprechung des Ricins, das am besten unter-sucht ist, beschränken. Das Ricin ist noch nicht krystallisiert erhalten worden. Nach KARRER (1923) wird bei Einwirkung von Trypsin auf Ricin (ein Präparat, das mit 5 γ pro Kilogramm Kaninchen in 2 Tagen tödlich wirkte), das Eiweiß hydrolysiert und die Wirkung zerstört. Von Magensaft (Pepsin) wird Ricin rascher zerstört, von Erepsin dagegen überhaupt nicht (DE GAETANI und PIS-TORIO, 1929). Durch Formaldehyd kann man Ricin entgiften, ohne die Antigen-wirkung zu beeinträchtigen. Kaninchen, die mit diesem entgifteten Ricin immunisiert werden, vertragen das Vielfache der sonst tödlichen Dosis Ricin (HEYMANS, 1926). Durch Einwirkung verschiedener Oxydationsmittel, auch durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht, wird die toxische Wirkung zerstört. Bei solchen Versuchen hat CARMICHAEL (1929) festgestellt, daß die Abnahme der toxischen (tödlichen) Wirkung nicht immer der Abnahme der Antigen-eigenschaft parallel geht. Er schließt daraus, daß toxische Wirkung und Antigen-eigenschaft verschiedenen Stellen des Eiweißkörpers zuzuordnen sind. (Ähnliches siehe bei Virusprotein.) Daß toxische (tödliche) und agglutinierende Wirkung dem gleichen Eiweißkörper (der ja noch nicht rein dargestellt ist) zukommen, wird von MORIYAMA (1934) aus der Tatsache geschlossen, daß beim Frosch bei niedriger Temperatur die Toxizität gering und die Bindungsfähigkeit an die Blutkörperchen sehr groß ist, wogegen bei höherer Temperatur die Toxizität größer und die Bindungsfähigkeit geringer wird.

Schlangengifte. Hier soll hauptsächlich das Crotoxin besprochen werden, ein farbloser krystallisierter Eiweißkörper, den SLOTTA und Mitarbeiter vor kurzem aus dem Giftsekret der Klapperschläge isoliert und untersucht haben. Dieses Crotoxin zeigt neurotoxische und Lecithinasewirkung. Letzte besteht darin, daß aus dem Lecithin der Blutkörperchen Fettsäure abgespalten wird, wodurch das hämolysierende Lysocithin gebildet wird. Möglicherweise kommt auch die neurotoxische Wirkung durch Lecithinasewirkung (im Nervensystem) zustande. (Auch das Ferment Urease wirkt bei Injektion stark giftig, weil es aus dem Harnstoff des Blutes Ammoniak freimacht.) Die blutkoagulierende Wirkung des Crotalusgiftes zeigt das krystallisierte Crotoxin dagegen nicht, sie muß einem anderen Stoff zugeordnet werden.

Das krystallisierte Crotoxin enthält nach SLOTTA 4% Schwefel, der teils als Cystin, teils als Methionin $\text{CH}_3\text{S} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{COOH}$ enthalten ist. Bei Annahme von einem Molekül Methionin in einem Molekül Crotoxin

errechnet sich aus dem festgestellten Verhältnis von Cystinschwefel zu Methioninschwefel ein Molekulargewicht von 11000. Nimmt man mit Rücksicht auf die SVEDBERGSchen Befunde eine Teilchengröße von etwa 33000 an, so enthielten diese Teilchen 3 Methionin- und 18 Cystinmoleküle. Die Möglichkeit, daß noch eine andere Schwefelverbindung in geringer Menge in das Eiweiß eingebaut ist, besteht noch. Spaltung der Disulfidbindungen des eingebauten Cystins zerstört die Wirksamkeit des Crotoxins. Es handelt sich also beim Crotoxin um einen Eiweißkörper mit Toxin- und Fermentwirkung; dabei sind SS-Bindungen für die Wirkung wichtig.

Das Kobragift, das die gleichen Wirkungen wie das Klapperschlangengift zeigt, ist noch nicht in kristallisierter Form erhalten worden. Die höchstwirksamen Präparate haben 5,1—5,5% Schwefel (H. WIELAND und W. KONZ, 1936; F. MICHEEL und Mitarbeiter). Während MICHEEL die Anwesenheit eines Thiolactonringes annimmt, gibt SLOTTA an, daß ein allerdings unreineres Präparat, das nur etwa $\frac{1}{3}$ der Wirksamkeit der MICHEELSchen Präparate aufweist, nur Disulfidschwefel in Form von Cystin enthält. Nach MICHEEL und SCHMITZ (1938) läßt sich nach Einwirkung von Cystein nur eine geringe Schädigung von 25% der Giftwirkung finden, was auf eine Beimengung zurückgeführt wird. Das Neurotoxin selbst ist beständig. SLOTTA gibt an, daß das Kobragift ganz ungeschädigt bleibt. Ob durch Cystein keine Reduktion der Disulfidbindungen im Molekül des Toxins bewirkt wird oder ob diese Reduktion zwar statthat, aber die entstehende SH-Verbindung des Toxins auch wirksam ist, läßt sich nach SLOTTA vorläufig nicht entscheiden. (Siehe entsprechende Versuche beim Oxytocin.)

15. Die Virusproteine¹.

Im Tier- und Pflanzenreich gibt es sog. Viruskrankheiten. Bereitet man aus den erkrankten Geweben Preßsäfte oder Extrakte, so sind diese, auch wenn man sie durch Filtration von Bakterien befreit, imstande, bei Zufuhr in einen gesunden Organismus die betreffende Krankheit hervorzurufen. Man schreibt diese Wirkung dem sog. Virus zu und hielt diese Virus für ultravisible Erreger pflanzlicher oder tierischer Natur, denn das Virus hat die Fähigkeit, sich im „Wirtsorganismus“ zu vermehren. In vitro kann sich das Virus dagegen nicht vermehren; es verhält sich also ähnlich wie ein Parasit. Zu den Viruskrankheiten gehören eine Reihe wichtiger menschlicher und tierischer Erkrankungen wie die Masern, die Poliomyelitis, das Trachom, die Tollwut, die Maul- und Klauenseuche u. a. Für die Herstellung von Virus in größeren Mengen sind pflanzliche Viruskrankheiten besser geeignet, so z. B. die Mosaikkrankheit des Tabaks, der Kartoffel, der Tomate, die nach den mosaikähnlichen Verfärbungen der befallenen Blätter benannt sind. Ein weiterer großer Vorteil, der zur näheren Untersuchung einlud, war der einfache Nachweis für das Tabakmosaikvirus. Nach F. O. HOLMES entstehen beim Einreiben von geeignet verdünnten Viruslösungen in Tabakblätter fleckige Veränderungen, deren Anzahl proportional der Konzentration der Viruslösungen ist. An Hand dieses Testes läßt sich also bei Reinigungsversuchen der Gehalt der verschiedenen Fraktionen an Virus feststellen. So gelang es STANLEY aus Preßsäften kranker Blätter einen kristallisierten Eiweißkörper zu erhalten, den er für das Tabakmosaikvirus hält. Die

¹ Literatur bei STANLEY, 1937.

Wirksamkeit dieses Virusproteins ist außerordentlich groß: Eine Lösung, die im Kubikzentimeter nur noch 300 „Moleküle“ enthält, wirkt noch nachweisbar. Allerdings sind diese „Moleküle“ außerordentlich groß. Nach I. ERIKSSON-QUENSEL und T. SVEDBERG beträgt die Teilchengröße, in der Ultrazentrifuge bestimmt, 15000000—20000000. Infolge dieser gewaltigen Teilchengröße läßt sich das Virusprotein aus den Preßsäften auch durch Ausschleudern in besonders konstruierten Vakuumzentrifugen (BAUER und PICKES, 1936) mit hoher Tourenzahl gewinnen (WYCKOFF). Auch hier taucht wieder die Frage auf, ob der wirksame Stoff mit dem Eiweiß identisch ist oder diesem vielleicht nur anhaftet. Da auch häufiges (15maliges) Umkrystallisieren keine Veränderung der Wirksamkeit ergab und auch Löslichkeitsversuche für die Einheitlichkeit der Krystalle sprechen, muß man, solange nicht das Gegenteil bewiesen wird, annehmen, daß die Wirksamkeit dem Eiweißteilchen als solchem zukommt. Aus dem Röntgenspektrum des krystallisierten Proteins schließen J. D. BERNAL und I. FANKUCHEN, daß es sich um Bündel aus stäbchenförmigen Teilchen handelt. Die Elementarzusammensetzung erweist, daß im reinen Virusprotein weder Schwefel noch Phosphor enthalten sind. Cystin fehlt also in diesem Protein. Dagegen enthält es, nach den Eiweißfarbreaktionen zu schließen, Tyrosin und Tryptophan. Die weitere Zusammensetzung ist noch unbekannt. Durch Einwirkung von Pepsin oder Trypsin wird die Wirksamkeit zerstört, wie bei allen wirksamen Eiweißkörpern. Das Virusprotein zeigt im Ultraviolett bei ungefähr 2700 Å ein Absorptionsmaximum (vermutlich durch den Tyrosingehalt bedingt); durch Bestrahlung an der Quarzlampe im Absorptionsgebiet wird die Wirkung vernichtet. Dieses Verhalten erinnert an das des Insulins und anderer wirksamer Eiweiße, ebenso die Zerstörung mittels verschiedener Reagenzien. Durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd, salpetriger Säure oder Formaldehyd kann die Viruswirkung des Proteins verschwinden, ohne daß sich Krystallform, Teilchengröße und Antigenwirkung ändern. Serum von Tieren, welche mit dem so inaktivierten Eiweiß behandelt worden sind, gibt mit dem voll wirksamen Virusprotein noch die Präcipitinreaktion. Die Antigeneigenschaft des Virusproteins geht erst verloren, wenn man mit stärkeren Mitteln (starken Laugen oder Säuren, Oxydationsmitteln) inaktiviert.

Das Tabakmosaikvirusprotein verhält sich also grundsätzlich wie die anderen wirksamen Eiweißkörper. Es unterscheidet sich von ihnen durch das Fehlen von Schwefel und die außerordentliche Größe der kleinsten Teilchen.

Bei weiteren Virusarten, die noch nicht krystallisiert erhalten wurden, handelt es sich offenbar auch um Eiweißkörper.

Auch die Bakteriophagen scheinen Proteine zu sein. J. H. NORTHROP (1936) isolierte aus Staphylokokkenbakteriophagen ein Eiweiß mit Phagwirkung von der Teilchengröße ungefähr 300000000. Möglicherweise handelt es sich um ein Gemisch verschiedener Eiweißkörper.

Bei den Virusproteinen taucht die wichtige Frage auf, ob sie Lebewesen sind oder nicht. Die Virusproteine vermehren sich, zeigen also eine Eigenschaft, die im allgemeinen nur lebenden Wesen zukommt. Daß diese Vermehrung nur in den lebenden Zellen des „Wirtsorganismus“ stattfindet, braucht nicht gegen die Annahme der lebenden Natur zu sprechen, denn auch bei den obligaten Parasiten ist das der Fall. Für die belebte Natur spricht auch das Vorkommen von Mutationen (s. Übersicht von FELIX, S. 48).

STANLEY denkt daran, daß das Virusprotein sich selbst bilden könne, ähnlich wie Trypsinogen autokatalytisch in Trypsin übergeht (s. S. 362). Dieser Vergleich ist aber sicher unstatthaft, denn das Trypsinogen ist bereits ein Eiweißkörper, der in Trypsin umgewandelt wird. Bei der Umwandlung des Chymotrypsinogens in Chymotrypsin mittels Trypsins bleibt sogar die Teilchengröße unverändert (s. S. 362). Es muß aber in den kranken Tabakblättern mehr Eiweiß aufgebaut werden als in den normalen Blättern, denn jene enthalten etwa 2—3mal soviel Eiweiß als diese. Die grundsätzliche Frage, ob das Virusprotein sich selbst bildet (sich vermehrt) oder von den krankhaft veränderten Zellen vermehrt gebildet wird, läßt sich bis jetzt nicht entscheiden. Die Lösung dieses Problems wird dann vielleicht auch eine Antwort auf die Frage „Lebewesen oder nicht“ geben.

M. BERGMANN und C. NIEMANN (1937)¹ sprechen die Vermutung aus, daß die Virusproteine Proteinasen, also Fermente sind, die sich von anderen Proteinasen dadurch unterscheiden, daß sie sich selbst aufbauen. Für diese Ansicht wäre der Beweis erbracht, wenn es gelänge, aus einem Hydrolysat von Virusprotein, das ja unwirksam ist, durch Zugabe von wenig Virusprotein dieses wirksame Protein aufzubauen [DIRSCHERL (1), S. 29].

16. Zusammenfassung und Schlußbemerkungen.

Allen wirksamen Proteinen (und Peptiden) ist gemeinsam, daß für die Entfaltung der spezifischen Wirkung das Eiweißmolekül in seiner Ganzheit notwendig ist. Das gilt auch für die Antigennatur der Eiweiße, wenngleich diese „Wirkung“ von den Wirkungen als Hormon, Ferment, Toxin oder Virus einige Verschiedenheiten zu zeigen scheint. So können die serologischen Eigenschaften verschieden sein, obwohl die spezifische Wirkung gleich ist (Trypsin verschiedener Tierarten, Apodehydrasen verschiedener Herkunft; s. S. 362 u. 366). Ferner kann durch milde Eingriffe die spezifische Wirkung des Eiweißmoleküls vermindert oder zerstört werden, ohne die Antigeneigenschaft zu beeinträchtigen. Dafür gibt es eine ganze Reihe von Beispielen. Das mag damit zusammenhängen, daß für die Antigeneigenschaft die räumliche Struktur des Eiweißteilchens eine überragende Rolle spielt, wenn auch vielleicht nicht die ausschlaggebende.

Wenn nun auch das ganze Eiweißmolekül für die Entfaltung einer spezifischen Wirkung notwendig ist, so bezieht sich das doch nicht auf jede einzelne Gruppe als solche. Vielmehr verhält es sich so, daß manche Gruppen und Stellen des Riesenmoleküls von größter, ja unerläßlicher Bedeutung, andere Gruppen dagegen nur von untergeordneter oder gar keiner Bedeutung für die Wirkung des Gesamtmoleküls sind. Das mag damit zusammenhängen, daß vielleicht nur ein kleiner Bezirk des großen Moleküls besonders wichtig ist. Da bei der Hydrolyse der wirksamen Proteine keine besonderen „eiweißfremden“ Bausteine gefunden worden sind, muß man vorläufig annehmen, daß es sich vielleicht um einen kleinen Peptidbezirk handelt, in dem Art und Reihenfolge der verknüpften Aminosäuren bedeutsam sind.

Wenn die Ansicht von der periodisch sich wiederholenden Reihenfolge der Aminosäuren im Eiweißmolekül zutrifft, dann wäre das ganze Problem ver-

¹ Zitiert bei STANLEY.

einfacht und es wäre gleichgültig, ob man eine bestimmte Anordnung bestimmter Aminosäuren nur für einen kleinen Bezirk oder für das ganze Riesenmolekül fordert. Daß die Art der das Eiweißmolekül zusammensetzenden Aminosäuren für die Wirkung wichtig sein kann, geht auch aus unseren, allerdings noch sehr spärlichen bisherigen Kenntnissen über die Zusammensetzung der wirksamen Eiweiße hervor. Art und Menge der Aminosäuren wechseln in ziemlichem Ausmaß. Dabei ist vielleicht auffällig, daß sehr viele wirksame Eiweißkörper Cystin und offenbar alle Tyrosin enthalten. Von beiden Aminosäuren ist in mehreren Fällen nachgewiesen, daß sie für die Wirkung wichtig sind. Man könnte sich vorstellen, daß ein Bezirk, in dem eine oder beide Aminosäuren zusammen mit anderen vorkommen, die reagierende Stelle des „Eiweißes“ darstellt, an der die Reaktion mit irgendeinem Substrat oder Gewebsbestandteil im Körper stattfindet. Die reagierenden Gruppen müssen aber durch andere Gruppen in ihrer Umgebung „aktiviert“ werden. Man weiß ja aus der organischen Chemie, daß die Reaktionsfähigkeit einer Gruppe weitgehend von der Beschaffenheit des ganzen Moleküls und so anderer Gruppen in diesem abhängt. Gleichermassen wird nun die Leichtigkeit, mit der die „wirksame Gruppierung“ reagiert, von der Nachbarschaft im Eiweißmolekül, ja von diesem Molekül selbst in seiner Gesamtheit, bedingt sein. (Ob man bei Inaktivierungsversuchen, wie sie in den vorhergehenden Kapiteln zahlreich geschildert wurden, die wirksame, reagierende Gruppierung oder die aktivierenden Gruppen ausschaltet, läßt sich meistens gar nicht entscheiden, solange man nicht den Mechanismus kennt, nach dem das betreffende wirksame Eiweiß seine Tätigkeit ausübt.) Viele Gruppen sind tatsächlich im Eiweißverband reaktionsfähiger als in einem kleinen Molekül. Die Festigkeit der Disulfidbindung gegenüber Alkali. (s. S. 351) ist in verschiedenen Cystinverbindungen sehr verschieden groß (M. BERGMANN und STATHER, 1926); die Leichtigkeit der Aufspaltung hängt bei Cystinpeptiden von der Anordnung der Bausteine ab, ist aber immer größer als im Cystin selbst (A. SCHÖBERL und TH. HORNUNG, 1938). Auch die Oxyaminosäure Serin spaltet im Peptidverband leichter Wasser ab als im freien Zustand. Man kann sich leicht vorstellen, daß der Organismus die Reaktionsfähigkeit einer oder mehrerer wichtiger Aminosäuren („wirksame Gruppe“) dadurch weitgehend abstimmen kann, daß er sie einmal in der einen, ein andermal in einer anderen Reihenfolge in eine Eiweißkette einbaut. Der Körper hätte so eine ungeheuer abwechslungsreiche und doch sehr sparsame Möglichkeit, mit einigen wenigen Aminosäuren eine große Anzahl von wirksamen Eiweißen aufzubauen.

In diesem Zusammenhang sei noch einmal darauf hingewiesen, daß bei den zusammengesetzten Fermenten, die Proteide sind und aus einem als Apoferment dienenden spezifischen Eiweiß und einem niedermolekularen Co-Ferment bestehen, die Wirkung des Eiweißes auch in einer Aktivierung des Co-Fermentmoleküls besteht. Vielleicht bewirken auch manche wirksame Eiweiße, von denen wir keine prosthetischen Gruppen kennen, im Organismus die Aktivierung bestimmter Stoffe. So wäre es auch denkbar, daß die Proteohormone im Körper vielleicht als Apofermente für irgendwelche Stoffe dienen [DIRSCHERL (1)], beispielsweise Insulin für Vitamin B₁.

Für die weitere Erforschung des Problems der wirksamen Eiweiße ist es vor allem nötig, bei allen Vertretern dieser Gruppe eine möglichst genaue Bausteinanalyse vorzunehmen, die über die Art und Zahl der beteiligten Aminosäuren

Aufschluß gibt. Diese Aufgabe ist bisher nur in ganz wenigen Fällen einigermaßen zufriedenstellend gelöst. Die meisten der in Frage kommenden Eiweißkörper sind indessen noch nicht einmal krystallisiert, also sicher nicht rein erhalten worden. Aber selbst bei krystallisierten Eiweißen ist völlige Reinheit nicht leicht zu erzielen und noch weniger leicht zu beurteilen. Die Reindarstellung und Analyse der (wirksamen) Eiweißkörper ist kein Gebiet, auf dem rasche Erfolge zu erwarten sind. Aber die physiologische Chemie kann sich dieser dringenden Aufgabe nicht entziehen. Ist doch auch seit den Zeiten EMIL FISCHERS und ALBRECHT KOSSELS die Chemie des Eiweißes nicht mehr so interessant und aktuell gewesen wie eben jetzt, wo auch die Spezifität der Erbfaktoren ein Eiweißproblem zu werden verspricht.

Literatur.

- ABDERHALDEN, E. u. A. BAHN: Isolierung von Glycyl-seryl-prolyl-tyrosyl-prolin und von Seryl-prolyl-tyrosyl-prolin beim stufenweisen Abbau von Seidenfibroin (*Bombyx mori*). Z. physiol. Chem. **210**, 246 (1932).
- ACKERMANN, D., O. TIMPE u. K. POLLER: Über das Anserin, einen neuen Bestandteil der Vogelmuskulatur. Z. physiol. Chem. **183**, 1 (1929).
- ADANT, M.: L'azoprotéine gélatine-aniline. C. r. Soc. Biol. Paris **103**, 541 (1930).
- AGNER, K.: Reversible Spaltung der Leberkatalase. Z. physiol. Chem. **235**, II (1935).
- AMMON, R. u. W. DIRSCHERL: Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. Leipzig: Georg Thieme 1938.
- ANSELMINO, K. J. u. F. HOFFMANN: Darstellung und Wirkungsprüfung des Fettstoffwechselhormons und des Kohlehydratstoffwechselhormons des Hypophysenvorderlappens. ABDERHALDENs Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 3 B, H. 6, Lief. 454, S. 873. 1936.
- ANSON, M. L.: Crystalline carboxypeptidase. Erg. Enzymforsch. **7**, 118 (1938).
- BALLS, A. K., H. LINEWEAVER and R. R. THOMPSON: Crystalline papain. Science (N. Y.) **86**, 379 (1937).
- BARGER, G. u. F. TUTIN: Carnosine, constitution and synthesis. Biochemic. J. **12**, 402 (1918).
- BAUMANN, L. and TH. INGVALDSEN: Concerning histidine and carnosine. The synthesis of carnosine. J. of biol. Chem. **35**, 263 (1918).
- BERGMANN, M. and C. NIEMANN: (1) On blood fibrin. A contribution to the problem of protein structure. J. of biol. Chem. **115**, 77 (1936).
- — (2) On the structure of proteins: cattle hemoglobin, egg albumin, cattle fibrin, and gelatin. J. of biol. Chem. **118**, 301 (1937).
- u. F. STATHER: Umlagerungen peptidähnlicher Stoffe. 7. Umwandlung eines cystin-haltigen Diketopiperazins. Z. physiol. Chem. **152**, 189 (1926).
- BREINL, F. u. F. HAUROWITZ: (1) Chemische Untersuchung des Präzipitates aus Hämoglobin und Anti-Hämoglobin-Serum und Bemerkungen über die Natur der Antikörper. Z. physiol. Chem. **192**, 45 (1930).
- — (2) Änderungen der Spezifität von Immunsereen nach chemischer Vorbehandlung. Z. Immun.forsch. **77**, 176 (1932).
- BURK, N. F. and D. M. GREENBERG: The physical chemistry of the proteins in non-aqueous and mixed solvents. I. The state of aggregation of certain proteins in urea-water solutions. J. of biol. Chem. **87**, 197 (1930).
- CALVERY, H. O., R. M. HERRIOTT and J. H. NORTHROP: The determination of some amino acids in crystalline pepsin. J. of biol. Chem. **113**, 11 (1936).
- CARMICHAEL, E. B.: The influence of chemical and other agents upon the toxicity and antigenic power of ricin. III. The production of immunity by means of ricin and detoxified ricin. J. of Pharmacol. **35**, 223 (1929).
- CHOW, B. F., K. H. LEE and H. WU: The chemical nature of antibodies. Chin. J. Physiol. **11**, 175 (1937).
- CLUTTON, R. F., C. R. HARRINGTON and TH. H. MEAD: Studies in synthetic immuno-chemistry. Biochemic. J. **31**, 764 (1937).

- COLLIP, J. B.: (1) A parathyroid hormone and its physiological action. *Amer. J. Physiol.* **72**, 182 (1925).
- (2) The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *J. of biol. Chem.* **63**, 395 (1925).
- and E. P. CLARK: (1) Further studies on the physiological action of a parathyroid hormone. *J. of biol. Chem.* **64**, 485 (1925).
- — (2) Further studies on the parathyroid hormone. *J. of biol. Chem.* **66**, 133 (1925).
- DICKENS, F.: The preparation and properties of the gonadstimulating hormone from the urine of pregnancy. *Biochemic. J.* **24**, 1507 (1930).
- DIETEL, F.: Darstellung des Melanophorenhormons. *ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. V, Teil 3 B, H. 6, Lief. 454, S. 863. 1936.
- DIRSCHERL, W.: (1) Wirksame Eiweiße und Peptide, Proteohormone. *Chemie und Physiologie des Eiweißes*. 3. Frankf. Konf. f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit, 2. u. 3. Juni 1938, S. 16. Herausgeg. von OTTO, FELIX und LAIBACH. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1938.
- (2) Insulin. *C. OPPENHEIMERS Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere*, 2. Aufl., Erg.-Werk I A, S. 199. Jena: Gustav Fischer 1933.
- DYCKERHOFF, H., H. MIEHLER u. V. TADSEN: Über die Hemmung und Aktivierung der Pankreasenzyme (Lipase, Amylase, Trypsin). *Biochem. Z.* **268**, 17 (1934).
- EULER, H. v. u. K. MYRBÄCK: Gärungs-Co-Enzym (Co-Zymase) der Hefe. III. *Z. physiol. Chem.* **136**, 109 (1924).
- u. B. ZONDEK: Stabilität des Prolans. Ein Hinweis auf seine enzymatische Natur. *Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.)* **68**, 232 (1934).
- EVANS, H. M., K. MEYER and M. E. SIMPSON: The growth and gonadstimulating hormones of the anterior hypophysis. *Mem. Univ. California* **11**, 67 (1933).
- FELIX, K.: Die Struktur des Eiweißes als Grundlage für sein physiologisches Verhalten. *Chemie und Physiologie des Eiweißes*. 3. Frankf. Konf. f. med. naturwiss. Zusammenarbeit, S. 1. Herausgeg. von OTTO, FELIX und LAIBACH. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1938.
- u. A. MAGER: Verbindungen des Clupeins mit einigen prosthetischen Gruppen. *Z. physiol. Chem.* **249**, 111 (1937).
- FISCHER, EML: Synthese von Polypeptiden XVII. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **40**, 1754 (1907).
- FISCHER, F. G. u. L. ERTEL: Zur Kenntnis der „Hypophysenvorderlappenhormone“ aus Schwangerenarn. *Z. physiol. Chem.* **202**, 83 (1931).
- FISHER, A. M. and D. A. SCOTT: Peptic hydrolysis of insulin. *J. of biol. Chem.* **106**, 289 (1934).
- FREUDENBERG, K. u. H. EYER: Beiträge zur Chemie des Insulins. *Z. physiol. Chem.* **213**, 226 (1932).
- GAETANI, G. DE e R. PISTORIO: Sulla digeribilità della ricina da parte dei fermenti proteolitici. *Arch. di Fisiol.* **27**, 1 (1929).
- GRASSMANN, W.: Proteolytische Enzyme des Tier- und Pflanzenreiches. *Erg. Enzymforschg* **1**, 127, und zwar S. 152 (1932).
- GULEWITSCH, W.: (1) Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln, 8. Mitt. Über die Bildung des Histidins bei der Spaltung von Carnosin. *Z. physiol. Chem.* **50**, 535 (1907).
- (2) 12. Mitt. Über die Konstitution des Carnosins. *Z. physiol. Chem.* **73**, 434 (1911).
- GUTMAN, N.: Recherches sur le caractère antigénique de la clupéine couplé à des noyaux aromatiques. *Rev. d'Immunol.* **4**, 111 (1938).
- HALDANE, J. B. S.: The molecular statistics of an enzyme action. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **108**, 559 (1931).
- HARINGTON, C. R. and TH. H. MEAD: Synthesis of peptides containing cystine and glutamine, with remarks on their possible bearing on the structure of insulin and a note on the amide nitrogen of insulin. *Biochemic. J.* **30**, 1598 (1936).
- and A. NEUBERGER: Electrometric titration of insulin. Preparation and properties of iodinated insulin. *Biochemic. J.* **30**, 809 (1936).
- HAUROWITZ, F.: *Biochemie*, Teil 3. Wissenschaftliche Forschungsberichte, S. 138. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1938.
- M. REISS u. J. BALINT: Über das Hypophysenvorderlappen-Sexualhormon aus Schwangerenarn. *Z. physiol. Chem.* **222**, 44 (1933).

- HEIDELBERGER, M. and K. O. PEDERSEN: The molecular weight of antibodies. *J. of exper. Med.* **65**, 393 (1937).
- HELLERMAN, L.: Reversible inactivations of certain hydrolytic enzymes. *Physiologic. Rev.* **17**, 454 (1937).
- HERRIOTT, R. M.: (1) Acetylation of tyrosine in pepsin. *J. gen. Physiol.* **19**, 283 (1935).
— (2) Inactivation of pepsin by iodine and the isolation of diiodotyrosine from iodinated pepsin. *J. gen. Physiol.* **20**, 335 (1937).
— (3) Isolation, crystallisation and properties of swine pepsinogen. *J. gen. Physiol.* **21**, 501 (1938).
— and J. H. NORTHPROP: (1) Crystalline acetyl derivatives of pepsin. *J. gen. Physiol.* **18**, 35 (1934).
— — (2) Isolation of crystalline pepsinogen from swine gastric mucosae and its autocatalytic conversion into pepsin. *Science (N. Y.)* **83**, 469 (1936).
- HEWITT, L. F.: Chemistry of antibodies and serum-proteins. I. Nitrogen distribution and amino-acids. II. Protein carbohydrate groups. *Biochemic. J.* **28**, 2080 (1934).
- HEYMANS, M.: L'immunisation par la ricine et le venin formolés. *Arch. internat. Pharmacodynamie* **32**, 101 (1926).
- HOPKINS, F. G.: On glutathione. *J. of biol. Chem.* **84**, 269 (1929).
- HOPKINS, S. J. and A. WORMALL: Phenyl isocyanate protein compounds and their immunological properties. II. The gelatin compounds. *Biochemic. J.* **27**, 1706 (1933).
- JENSEN, H. and E. A. EVANS jr.: Studies on crystalline insulin. XVIII. The nature of the free amino groups in insulin and the isolation of phenylalanine and proline from crystalline insulin. *J. of biol. Chem.* **108**, 1 (1935).
— and O. WINTERSTEINER: Studies on crystalline insulin. XVII. The hydrolysis products of insulin. *J. of biol. Chem.* **98**, 281 (1932).
- JUNKMANN, K.: Thyreotropes Hormon und verwandte Hormone. *ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 3 B, H. 7, Lief. 456, S. 1027. 1936.*
- KARRER, P., A. P. SMIRNOFF, H. EHRENSPERGER, J. VAN SLOOTEN u. M. KELLER: Über Toxine. I. Zur Kenntnis des Ricins. *Z. physiol. Chem.* **135**, 129 (1923).
- KELLIN, D., F. R. S. and T. MANN: On the haematin compound of peroxidase. *Proc. roy. Soc. Lond. B* **122**, 119 (1937).
- KEKWICK, R. A. u. K. O. PEDERSEN: Some physico-chemical characteristics of the yellow respiratory enzyme. *Biochemic. J.* **30**, 2201 (1936).
- KRAUT, H. u. W. v. PANTSCHENKO-JUREWICZ: Über Struktur und Eigenschaften der Esterasen. *Biochem. Z.* **275**, 114 (1934).
— u. E. TRIA: Über krystallisiertes Pepsin nach NORTHPROP und eiweißfreies Pepsin nach BRÜCKE. *Biochem. Z.* **290**, 277 (1937).
- KUBOWITZ, F.: Über die chemische Zusammensetzung der Kartoffeloxydase. *Biochem. Z.* **292**, 221 (1937).
- KUHN, R. u. P. DESNUELLE: (1) Über die Aminosäuren des gelben Ferments. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **70**, 1907 (1937).
— — (2) Über die Isolierung von Arginin, Histidin, Lysin, Glutaminsäure und Asparaginsäure aus gelbem Ferment. *Z. physiol. Chem.* **251**, 19 (1938).
— D. B. HAND u. M. FLORKIN: Über die Natur der Peroxydase. *Z. physiol. Chem.* **201**, 255 (1931).
— u. H. RUDY: Lactoflavin als Co-Ferment; Wirkstoff und Träger. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **69**, 2557 (1936).
- KUNITZ, M. and J. H. NORTHPROP: (1) Isolation from beef pancreas of crystalline trypsinogen, trypsin, a trypsin inhibitor, and an inhibitor-trypsin compound. *J. gen. Physiol.* **19**, 991 (1936).
— — (2) Crystalline chymo-trypsin and chymotrypsinogen. I. Isolation, crystallization, and general properties of a new proteolytic enzyme and its precursor. *J. gen. Physiol.* **18**, 433 (1935).
- LAUBENHEIMER, K.: Beziehungen der Antikörper zu den verschiedenen Eiweißfraktionen des Serums. *Chemie und Physiologie des Eiweißes. 3. Frankf. Konf. f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit 1938, S. 86.*
- LEWIS, I. H. and H. G. WELLS: The immunologic behavior of mucoids. *J. inf. Dis.* **40**, 316 (1927).

- LINNEWEH, W., A. W. KEIL u. F. A. HOPPE-SEYLER: Die Konstitution des Anserins. *Z. physiol. Chem.* **183**, 11 (1929).
- LOHMANN, K. u. PH. SCHUSTER: (1) Co-carboxylase. *Naturwiss.* **25**, 26 (1937).
— — (2) Untersuchungen über die Cocarboxylase. *Biochem. Z.* **294**, 188 (1937).
- LOISELEUR, J. et A. URBAIN: Sur les propriétés antigéniques du collagène et leur modification sous l'action de l'émanation du radium. *C. r. Soc. Biol. Paris* **103**, 776 (1930).
- MEYERHOF, O., W. KIESSLING u. W. SCHULZ: Über die Reaktionsgleichungen der alkoholischen Gärung. Untersuchungen zum Gärtest von O. WARBURG und W. CHRISTIAN. *Biochem. Z.* **292**, 25 (1937).
- MICHEEL, F., H. DIETRICH u. G. BISCHOFF: Über die Neurotoxine aus Giften von Cobraarten. *Z. physiol. Chem.* **249**, 157 (1937).
— u. F. JUNG: Zur Kenntnis der Schlangengifte. *Z. physiol. Chem.* **239**, 217 (1936).
— u. H. SCHMITZ: Zur Kenntnis der Schlangengifte. IV. Mitteilung. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **71**, 703 (1938).
- MORIYAMA, H.: The relation between the toxicity of ricin and the temperature of the frog's body. *Jap. J. of exper. Med.* **12**, 591 (1934).
- MUTZENBECHER, P. VON: Disk. bem. S. 97. Chemie und Physiologie des Eiweißes. 3. Frankf. Konf. f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit, 1938.
- MYRBÄCK, K.: Zit. bei EULER und ZONDEK.
- NEGELEIN, E.: Methode zur Gewinnung des A-Proteins der Gärungsfermente. *Biochem. Z.* **287**, 329 (1936).
— u. W. GERISCHER: Verbesserte Methode zur Gewinnung des Zwischenferments aus Hefe. *Biochem. Z.* **284**, 289 (1936).
— u. E. HAAS: Über die Wirkungsweise des Zwischenferments. *Biochem. Z.* **282**, 206 (1935).
— u. H. J. WULFF: (1) Kristallisation des Proteins der Acetaldehyd-reduktase. *Biochem. Z.* **289**, 436 (1937).
— — (2) Diphospho-pyridin-proteid. *Biochem. Z.* **293**, 351 (1937).
- NORTHROP, J. H.: (1) Crystalline pepsin. *Erg. Enzymforsch.* **1**, 302 (1932).
— (2) The formation of enzymes. (2) *Physiologic. Rev.* **17**, 144 (1937).
— u. M. KUNITZ: Isolation and properties of crystalline trypsin. *Erg. Enzymforschg* **2**, 104 (1933).
- PAPPENHEIMER, jr., A. M.: Diphtheria toxin. I. Isolation and characterization of a toxic protein from corynebacterium diphtheriae filtrates. *J. of biol. Chem.* **120**, 543 (1937).
- REISS, M. u. F. HAUROWITZ: Zur Chemie des Hypophysenvorderlappen-Sexualhormons. *Z. exper. Med.* **68**, 371 (1929).
- ROSENHEIM, A. H.: VIII. The action of enzymes on antibodies. *Biochemic. J.* **31**, 54 (1937).
- SCHAUMANN, O.: Wirkstoffe des Hinterlappens der Hypophyse. A. HEFFTERS Handbuch der experimentellen Pharmakologie, *Erg.-Werk*, herausgeg. von W. HEUBNER und J. SCHÜLLER, Bd. 3, S. 61. 1937.
- SCHMIDT, C. L. A. and J. FRUG: Immunological studies on certain albuminoids. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (N. Y.)* **22**, 345 (1925).
- SCHMIDT, H.: Disk.bem. S. 94. Chemie und Physiologie des Eiweißes. 3. Frankf. Konf. f. med. naturwiss. Zusammenarbeit, 1938.
- SCHNEIDER, F.: Disk.bem. S. 98. Chemie und Physiologie des Eiweißes. 3. Frankf. Konf. f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit, 1938.
- SCHÖBERL, A. u. TH. HORNING: Über die Einwirkung von Alkalien auf Cystin und Cystinderivate. Ein Beitrag zur Frage des labilen Schwefels in Eiweißstoffen. *Liebigs Ann.* **534**, 210 (1938).
- SCOTT, D. A. and A. M. FISHER: Crystalline insulin. *Biochemic. J.* **29**, 1048 (1935).
- SEASTONE, C. V. and R. M. HERRIOTT: Immunological studies on pepsin and pepsinogen. *J. gen. Physiol.* **20**, 797 (1937).
- SLOTTA, K. H. u. W. FORSTER: Schlangengifte. IV. Mitteilung. Quantitative Bestimmung der schwefelhaltigen Bausteine. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **71**, 1082 (1938).
— — u. H. L. FRAENKEL-CONRAT: Schlangengifte. V. Mitteilung. Über die schwefelhaltigen Bausteine des Cobra-Giftes. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **71**, 1623 (1938).
— u. H. L. FRAENKEL-CONRAT: Schlangengifte. III. Mitteilung. Reinigung und Kristallisation des Klapperschlangengiftes. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **71**, 1076 (1938).

- SÖRENSEN, S. P. L.: Die Konstitution der löslichen Proteinstoffe als reversibel dissoziabile Komponentensysteme. *Kolloid-Z.* **53**, 102, 170, 306 (1930).
- STANLEY, W. M.: Isolation and properties of virus proteins. *Erg. Physiol.* **39**, 294 (1937).
- STERN, K. G.: The constitution of the prosthetic group of catalase. *J. of biol. Chem.* **112**, 661 (1936).
- and A. WHITE: Studies on the constitution of insulin. III. The acetylation of insulin by ketene. *J. of biol. Chem.* **122**, 371 (1938).
- SUMNER, J. B.: Crystalline urease. *Erg. Enzymforsch.* **1**, 295 (1932).
- and A. L. DOUNCE: Crystalline catalase. *J. of biol. Chem.* **121**, 417 (1937).
- and L. O. POLAND: Sulfhydryl compounds and crystalline urease. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **30**, 553 (1933).
- SVEDBERG, T.: The ultra-centrifuge and the study of high-molecular compounds. *Nature (Lond.)*, Suppl. **139**, 1051 (1937).
- TAUBER, H. and I. S. KLEINER: Chemical nature of catalase. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **33**, 391 (1935).
- TEN BROECK, C.: The differentiation of trypsins by means of the anaphylactic test. *J. of biol. Chem.* **106**, 729 (1934).
- THEORELL, H.: (1) Reindarstellung (Kristallisation) des gelben Atmungsfermentes und die reversible Spaltung desselben. *Biochem. Z.* **272**, 155 (1934).
- (2a) Über die Wirkungsgruppe des gelben Ferments. *Biochem. Z.* **275**, 37 (1935).
- (2b) Reindarstellung der Wirkungsgruppe des gelben Ferments. *Biochem. Z.* **275**, 344 (1935).
- (3) Das gelbe Oxydationsferment. *Biochem. Z.* **278**, 263 (1935).
- (4) Elektrophoretische Untersuchung des Atmungs-Zwischenferments aus Rattenblutkörperchen. *Naturwiss.* **22**, 290 (1934).
- (5) Reines Cytochrom c. *Biochem. Z.* **279**, 463 (1935).
- (6) Reines Cytochrom c. II. Mitteilung. *Biochem. Z.* **285**, 207 (1936).
- (7) Präparative Versuche über das „unmodifizierte Porphyrin c“. *Enzymologia* **4**, 192 (1937).
- TWEEDY, W. R.: Studies on the plasma calcium-raising principle of bovine parathyroid glands. *J. of biol. Chem.* **88**, 649 (1930).
- W. P. BELL and C. VICENS-RIOS: (1) Parathyroid hormone potency as affected by oxidizing and reducing agents. *J. of biol. Chem.* **105**, XCV (1934).
- — — (2) Further chemical studies on a parathyroid hormone. *J. of biol. Chem.* **108**, 105 (1935).
- and M. TORIGOE: Chemical studies on a parathyroid hormone. *J. of biol. Chem.* **99**, 155 (1932).
- WALTI, A.: Crystalline ficin. *J. of biol. Chem.* **119**, CI (1937).
- WARBURG, O.: (1) Chemische Konstitution von Fermenten. *Erg. Enzymforsch.* **7**, 210 (1938).
- O. u. W. CHRISTIAN: (1a) Ein zweites sauerstoffübertragendes Ferment und sein Absorptionsspektrum. *Naturwiss.* **20**, 688 (1932).
- — (1b) Über das neue Oxydationsferment. *Naturwiss.* **20**, 980 (1932).
- — (1c) Über ein neues Oxydationsferment und sein Absorptionsspektrum. *Biochem. Z.* **254**, 438 (1932).
- — (1d) Über das gelbe Ferment und seine Wirkungen. *Biochem. Z.* **266**, 377 (1933).
- — (2) Abbau von ROBISON-Ester durch Triphosphopyridin-nucleotid. *Biochem. Z.* **292**, 287 (1937).
- — (3) Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten. (Pyridin-nucleotide.) *Biochem. Z.* **287**, 291 (1936).
- WHITE, A., H. R. CATCHPOLE and C. N. H. LONG: A crystalline protein with high lactogenic activity. *Science (N. Y.)* **86**, 82 (1937).
- WIELAND, H. u. W. KONZ: Einige Beobachtungen am Gift der Brillenschlange (*Naja tripudians*). *Sitzgsber. math.-naturwiss. Abt. bayr. Akad. Wiss.* **1936**, 177.
- ZEILE, K. u. H. HELLSTRÖM: Über die aktive Gruppe der Leberkatalase. *Z. physiol. Chem.* **192**, 171 (1930).
- u. P. PIUTTI: Synthetische Beiträge zur Konstitution des Cytochroms. II. *Z. physiol. Chem.* **218**, 52 (1933).

Namenverzeichnis.

Die fettgedruckten Ziffern weisen auf die Literaturverzeichnisse hin, die Zahlen in gewöhnlichem Druck auf die Anführungen im Text.

- Abderhalden **375**.
Abe, T. **228**.
Abel, J. J. **352**.
Ackermann **349, 375**.
Acklin **344**.
Adamski **217**.
Adant, M. **368, 375**.
Aellig **213, 228**.
Agner, K. **375**.
Aguayo y de la Peua **290, 303**.
Albaladejo, L. **221, 228**.
Alcock **344**.
Allin **55**.
Almasy **63**.
Alston **175, 182, 220, 221, 223, 224, 228**.
Altenberg **60**.
Amaral, do **24, 67**.
— **301, 303**.
Ammon **375**.
Anderson **34, 55, 357**.
— -Stewart **189, 195, 213, 215, 233**.
Ando **56**.
Anemaet **187, 193, 202, 231**.
Anigstein **194**.
Anselmino, K. J. **356, 357, 375**.
Anson **362, 375**.
Aoki **190, 191, 196, 229, 231**.
Appelman **172, 204, 208, 221, 229**.
Aragão **195**.
Arantes **303**.
Arnold **182, 229**.
Arruda **275, 303**.
Artusi **56**.
Ascoli **338, 341, 344**.
Astbury **246, 303**.
Avery **303**.
- Baar **56**.
Babes **25**.
Bachmetjeff **321**.
Bächer **102, 303, 356**.
Baermann **171, 173, 176, 179, 180, 184, 207, 221, 222**.
Bahn **375**.
Baker **75, 80, 132**.
Balfour **194**.
Balint, J. **356**.
Balkwin **155, 166**.
Ballantyne **92, 120, 132**.
- Balls **363, 375**.
Balta **194**.
Banzhaf **239, 259, 289**.
— -Klein **290**.
Baratte **56**.
Bárdós **183, 225, 229**.
Barger **349, 375**.
Bariétz **198, 236**.
Barnett Cohen **75, 87**.
Barr **32, 59, 304**.
Barrier, A. **340, 344**.
Barros **183, 188, 203, 229**.
Bartl **213, 229**.
Bascheinin **221**.
Basilewski **189, 191, 195, 229**.
Bauer **48, 64, 166, 203, 372**.
Bau Kien Hun **229**.
Baumann **349, 375**.
Bearden **183, 233**.
Bechhold **132, 303, 344**.
Beckwith **122, 132**.
Beger **217, 229**.
Behrens **93, 132**.
Behring **87**.
— v. **25, 26**.
— Emil v. **239**.
Beiglböck **221, 224, 229**.
Belaya **59**.
Belfanti **239**.
Bélin **91, 132**.
Bender **56**.
Berger **56, 132, 344**.
Bergmann **88, 91, 133**.
— M. **351, 373, 374, 375**.
— Rolf **133**.
Bergwall **181, 224, 229**.
Berkefeld **299**.
Bernabai **56**.
Bernal J. D. **372**.
Bersin **363**.
Berthelsen **253, 303**.
Bertoni **56**.
Berzi **182, 188, 191, 194, 229**.
Besredka **56**.
Bessau **56, 62**.
Bessmanns, A. **229**.
Bessemans **174, 187, 191, 193, 208, 209**.
Bethe **272, 303**.
Beverley **55**.
Bezemer **184, 229**.
Bickel **170, 182, 229**.
Bidault **336, 344**.
- Bieling **56, 243, 305**.
Bies **82**.
Bigelow **129, 133**.
Bijl **179, 185, 187, 193, 203, 229**.
Birdseye, C. **319**.
Birstein **74, 136**.
Blagowechenski **113**.
Blagowechensky **14, 56**.
Blanc **196**.
Blank **303**.
Blažek **50, 56**.
Blumenberg, W. **168, 199, 200, 218, 229**.
Blumenthal **17, 63**.
Bobkowa **62**.
Böhm **298, 307**.
Bönnig, F. A. **229**.
Boer **239**.
Boivin **65**.
Bongert **344**.
Boquien **209, 221, 232, 236**.
Bormann **56**.
Botkine, S. P. **170**.
Bourgeois **212, 231**.
Bousfield **56**.
Boyer **91, 133**.
Boyron **91, 133**.
Bradfield **276, 303, 304**.
Brandwijk **56, 67**.
Braun **56, 66**.
Bray **183, 233**.
Brehme **75, 133**.
Breinl **369, 375**.
Brieger **239**.
O'Brien **33, 34, 37, 44, 56**.
Brintzinger **268, 303**.
Bronfenbrenner **125, 134**.
Brooke **137**.
Brown **56, 175, 182, 184, 220, 221, 223, 224, 228, 228, 229, 290, 303**.
Bruce **304**.
Brücke **361**.
Brunner **239**.
Buchanan **84, 87, 135, 175, 179, 194, 223**.
Buchholz **81, 83, 133**.
Bühler **57**.
Bürgers **57**.
Bürgi **133**.
Buinewitsch, K. **229**.
Buinewitsch-Kowno **220**.

Bunney 57.
 Burbach 29.
 Burk 350, 375.
 Burke 105, 133.
 Burton-Fanning 220.
 Butjagin 336, 344.
 Buttersack 180.
 Buttle 14, 33, 50, 51, 59,
 113, 304.
 Buxbaum 57.
 Byl 177.

Calmette 3, 57, 102.
 Calvery 361, 375.
 Cambessédès 67.
 Caminopetros 188, 189, 192,
 194, 209, 229, 233.
 Campbell 224, 230.
 Capellani 219.
 Capellini 182, 229.
 Carbone 239.
 Carmichael 370, 375.
 Carr 354.
 Carré 309.
 Carrieu 193.
 Carrizosa 229.
 Casassa, A. 57.
 — M. T. e de Mattia 57.
 Catchpole 215, 356.
 Cattaneo 209, 230.
 Celarek 57.
 Certain 196.
 Cerutti 194.
 Cerza 57.
 Césari 3, 63, 102.
 Chabas 57.
 Chaferstein 57.
 Chamberland 299.
 Chambers 220, 230.
 Chapin 58.
 Charles 309.
 Chesney 34, 35, 37, 44, 45, 57.
 Chiari 57.
 Chick 304.
 Chiodi 183, 189, 195, 230.
 Chodzko 183, 203, 230.
 Choltzscheff 62.
 Chopra 184, 230.
 Chow 306, 375.
 Christian 363, 364, 365, 366.
 McCinnon 36.
 Cibils-Aguirre 57.
 Ciuca 57.
 Clark 355.
 Clauberg 57.
 Cleveland 220, 228, 229.
 Cleyndert 203, 230.
 Clutton 368, 375.
 Cochez 170, 203, 224, 225,
 228, 230.
 Coggi 57.
 Cohen 290, 306.
 Cohn 239.
 Colbeck 230.

Coles 194.
 Colley 241.
 Collier 210.
 Collip, J. B. 355, 357, 377.
 MacConkey 263, 306.
 Copanaris 180, 205, 230.
 Cope 61.
 Corti 184, 202, 228, 231.
 Courmont 193.
 Cristau 219.
 Critchell J. Tr. 309, 344.
 Crump 61.
 Csapó 304.
 Cumming 183, 230.
 Cumpston 180, 184, 196, 228,
 230.

Dahr 212, 230.
 Dakin 368.
 Dalling 213.
 Dalmar 194.
 Danglemont 183, 231.
 Danischewskaja 62.
 Das Gupta 184, 230.
 Davidson 182, 224, 230, 236.
 Dean 6.
 Dear 68.
 Debains 13, 63, 102.
 Debré 57, 64.
 Dedié 186, 193, 216.
 Dehmel 50, 51, 52, 55, 66.
 Delbove 184, 234.
 Demnitz 243, 304.
 Demole 170, 182, 229.
 Desnuelle, P. 364.
 Dhont 212, 230.
 Dickens, F. 356, 377.
 Diekhoff 57.
 Dieudonné 239.
 Dietel 357, 377.
 Dimitrijewitch-Speth 57.
 Dinger 173, 175, 207, 209, 230.
 — van 184.
 Dirscherl, Wilhelm 347, 353,
 354, 355, 373, 374, 377.
 Djourichitch 65.
 Doerr 57, 181.
 Dold 57.
 Donnan 268.
 Donnel 367.
 Drew 179, 184, 228, 230.
 Dublin 58.
 Dudley 44, 58.
 Düring, v. 177, 230.
 Durand 193.
 Dyckerhoff, H. 362, 377.
 Dzierzowsky 50, 58.

Eaton 47, 54, 58.
 Ebeling 299, 304.
 Eddie 189, 195, 213, 215, 233.
 Eggstein 195.
 Egis 241.
 Ehler 183, 230.

Ehrenbaum 315, 318, 323, 345.
 Ehrlich 26.
 — P. 101, 239, 369.
 Eichel 353.
 Eisler 58.
 Eisner 64.
 Elser 285, 304.
 Emerson 58.
 Engels 320, 344.
 Erber 182, 187, 198, 208, 228,
 230, 231, 236.
 Eriksson-Quensel, J. 372.
 Ertel, L. 356, 377.
 Erzin 60.
 Esseveld 182, 210, 227, 228,
 230.
 Etris 56.
 Ettisch 244, 248, 304.
 Euler, H. von 356, 364, 365,
 377.
 Evans 353, 356, 377.
 Ewig 248, 304.
 Eyer, H. 354, 355.

Faddejew 62.
 Fairley 221, 223, 230.
 Falchetti 58.
 Falk 285, 304, 307.
 Fan 58.
 Fankuchen, J. 372.
 Faragó 14, 30, 32, 33, 34, 35,
 41, 42, 46, 58, 113.
 Farinaud 184, 232.
 Fayot 58.
 Fechner 10, 58, 107.
 Fejes 67.
 Feldstein 61.
 Felix 351, 364, 367, 372, 377.
 Felton 290, 304.
 Ferretti 344.
 Feuereisen 326, 344.
 Fichet 170, 203, 224, 225, 228,
 230.
 Fiedler 224.
 Fielding 196.
 Finland 242.
 Fischer 192, 193.
 — Emil 348, 353, 356, 375,
 377.
 — F. G. 377.
 — M. H. 321, 344.
 Fisher 377.
 Fitzgerald 36, 58.
 Fjord-Nielsen 17, 41, 61, 66.
 Fleckseder 221, 224, 230.
 Fleisher 241, 285, 305, 306.
 Florkin 367.
 O'Flynn 58.
 Foley 62.
 Polin 361.
 Forleo 179, 230.
 Forsyth 189, 196, 231.
 Foulerton 194.
 Frankel 296, 304.
 Fraser 36, 41, 45, 46, 55, 58, 59.

Fredman 59.
 Freedman 59.
 Freeman 58.
 Freudenberg 353, 354, 355,
 357, 377.
 Freund 239.
 Frieling 214.
 Frindt-Vyhmeister 59.
 Frobisher 59.
 Fromme 168, 169, 178, 180,
 185, 197, 198, 206, 215,
 220, 221, 222, 223, 224,
 236.
 Frouin 266, 304.
 Frug, J. 369.
 Fürth, O. von 320, 344.
 Funes 179, 183, 233.

Gabriel 170, 198, 203, 233, 236.
 Gaetani, de 370, 377.
 Gaethgens 181, 231.
 Gahar 189, 196, 231.
 Galperin 57, 65.
 Galton 10, 59, 109.
 Garanghi 206.
 Gardnier 266, 305.
 Garnier 170, 225, 231.
 Gaudino 59.
 Gautier 344.
 Gayle 207.
 Gegenbauer 59.
 Georgi 59.
 Gerischer 365, 366.
 Gerlough 243, 262, 304.
 Gibson 239.
 Ginnes 59.
 Glage 344.
 Glenn 4, 14, 26, 27, 28, 29,
 32, 33, 34, 50, 51, 59, 103,
 113, 243, 304.
 Godinho 301, 304.
 Goebel 217, 221.
 Göppert 344.
 Gogin 59.
 Goldie 59.
 Golomb 59.
 Gonder 218.
 Gordine 63.
 Gorochnikowa 59.
 Gotschlich 168, 231.
 Gottdenker 58.
 Goudsmith 193.
 Goyle 179, 180, 184, 236.
 Grabar 284, 304.
 Gräf, M. 315, 333, 344.
 Gräfe 343, 344.
 Graf 181, 184, 231.
 Graffar 59.
 Graham 30, 35, 68.
 Grallert 304.
 Grasset 59.
 Grassmann 342, 344, 349, 377.
 Greenwald 57.
 Gressel 343, 344.
 Grillo 235.

Grodzki 59.
 Gröer, v. 60.
 Grooten 222, 233.
 Grossmann 172, 175, 193.
 Grosso 194.
 Grüttner 225, 226, 231.
 Grzegorzewski 59.
 Gsell 182.
 Guetti 194.
 McGuire, G. 304.
 Gülewitsch 349, 377.
 Gulland 179, 357.
 Gundel 26, 27, 52, 54, 55,
 60.
 Gutman 368, 377.
 Gutzeit 203.

Haas 365.
 Haber 62.
 Hässler 46, 47, 60.
 Haine 60.
 Halapine 68.
 Haldane 358, 377.
 Halle 246, 304.
 Halpern 36, 41, 45, 46, 58, 59.
 Hamada 50, 60.
 Hammarsten 244, 265, 304.
 Hammer 193.
 Hamp 304.
 Hand 367.
 Handry 292.
 Hansen 27, 28, 32, 60, 66,
 294, 305.
 Happold 34.
 Harde 60, 63.
 Hardy 266, 305.
 Harrington 355, 368, 377, 375.
 Harrison 14, 33, 60, 113.
 — J. 309.
 Hartley 26.
 Hartoch 8, 64, 107.
 Harzer 180, 214.
 Haslé 184, 231.
 Hauck 180.
 Haurowitz, F. 356, 368, 369,
 377.
 Hauser 344.
 Havens 30, 35, 68.
 Hazen 114.
 — Allen 15, 60.
 Healey 60.
 Hecht 66.
 Hecker 179, 185, 197, 201.
 — v. 169.
 Hegler 180, 181, 203, 221, 222,
 223, 227, 228, 231.
 Heichen 307.
 Heidelberger 369, 376.
 Heiss 312, 344, 345.
 Hellerman 360, 376.
 Hellström 367, 379.
 Helmert 363.
 Hemmingsen 10, 62, 109.
 Henderson 336, 344.
 Hendry 305.

Herriott 354, 357, 376.
 Herrmann, Erika 173.
 Hetsch 61, 243, 305.
 Heuvel 231.
 Hewitt 305, 369, 375, 376.
 Heymann 268, 271, 305.
 Heymans 370, 376.
 Heywood 344.
 Hida 61.
 Hildebrandt 242, 305.
 Hill 344.
 Hirano 184, 231.
 Hirsch 344.
 Hirszfeld 61.
 Hook 345.
 Hocke 54.
 Hoeden, van der 177, 187, 193,
 212, 231.
 Hoen i Feldstein 61.
 Hoesch 181, 202, 231.
 Hoffmann, F. 356, 357, 375.
 Hofmeister 244, 250.
 Hoki 185, 208, 219.
 Holmes, F. O. 371.
 Holzapfel 61.
 Homer 239, 260, 305.
 Honda 12, 67, 111.
 Hoogland 232.
 Hooker 58.
 Hopkins, F. G. 349, 368, 376.
 — S. J. 376.
 Hoppe-Seyler, F. A. 349.
 Hosoya 61, 174.
 Houssay, B. A. 356.
 Howe 305.
 Huber 61, 62.
 Huebener 228.
 Hübner 178.
 Hueshoff 193.
 Huguenin 212, 231.
 Hulshoff 187, 202, 231.
 Hundgeburth, H. 326, 345.
 Hunt 242, 243, 305.

Ido 185, 195, 208, 217.
 Ignatowa 59.
 Ingvaldsen 349.
 Inoue 190, 191, 192, 196, 232.
 Isabolinski 61.
 Isabolinskij 61.
 Ishihara 61.
 Ito 185, 208, 217, 219, 249,
 305.
 Iwanizki, S. W. 326, 345.
 Iwanoff 252, 306.

Jacobsen 212, 214, 234.
 Jacobsthal 175.
 Jakobkiewicz 59, 68.
 Jamieson 298, 305, 307.
 Janbon 179, 187, 193, 208,
 231.
 Jantzen 286.
 Jeghers 183.

- Jensen 17, 30, 41, 50, **61**, **62**,
66, 353, **376**.
 Jirgensons **305**.
 Jitta 180, 181, 196, 202, **231**.
 Jobling 195.
 Johan 46, **61**.
 Johannsen 8, 10, 16, **61**, 107,
 109, 115.
 Jolly 183, **231**.
 Jones **61**, 241, **305**.
 Jores 357.
 Jorge 182, 188, 194, 196, 224,
231.
 Jude **65**.
 Judenitsch **61**.
 Jungherr 213, **231**.
 Junkmann 356, 357, 376.
- Kadaner** 184, 202, 228, **231**,
235.
 Kagabe **61**.
 Kagaya 173, 174.
 Kaiser **233**.
 Kalinskafa **59**.
 Kallert, E. 308, 314, 315, 316,
 318, 323, 324, 325, 338,
 339, 343, **345**.
 Kaneko 174, 179, 190, 191,
 196, **229**, **231**.
 Kantorowicz 177, 213, **231**.
 Karrer 370, **376**.
 Karsten 10, 15, **61**, 109, 114.
 Kassowitz 50.
 Kathe 170, 175, 179, **234**, **235**.
 Kauert **61**.
 Kaufmann, O. **232**.
 Kawai 12, **67**, 111.
 Keil 349.
 Keilin 367, **376**.
 Kekwick 363.
 Keller 54, **61**, **62**.
 — H. 326, **345**.
 Kempf **307**.
 Kern **61**.
 Kerwick, R. A. **376**.
 Kicksch 26, 27, **64**.
 Kien-Hun **232**.
 Kiesegang **305**.
 Kiessling 366.
 King **66**, 211, **232**.
 — Brown **56**.
 McKinnon 58, **61**.
 Kirkbridge 292, **305**.
 Kirschner 173, **232**.
 Kisskalt 9, 10, **62**, 108, 168.
 Kister 181, 186, 193, 228, **232**.
 Kitamura 171.
 Kitaoka 190, 191, 192, 196,
232.
 Kjaer 27, 32, **66**.
 Kjehldahl 244.
 Klarenbeck 177, 211, 212, 213,
230, **232**.
 Klein, F. 16.
 Kleiner 367.
 Kleinschmidt **62**.
- Kligler 295, **305**.
 Klinkke 245.
 Klinkhart 4, 28, 50, 103.
 Klobusitzky, D. von 238, 244,
 248, 275, 279, 295, 301,
303, **304**, **305**.
 Knack 224, **232**.
 Koch **62**, 187.
 Koehn **62**.
 Koelsch 223, 226.
 König 52, **60**, **305**, **345**.
 Körner 178, 201.
 Kohlrausch 274.
 Kolbe 319, **345**.
 Kolle **305**.
 Komiyama **56**, **62**.
 Konrich 314, **345**.
 Kontorii 191.
 Konz, W. 371.
 Koporovsky 57.
 Koporowskaja **65**.
 Korthof, G. 175, 179, 185, 187,
 193, 200, 211, 213, **229**,
232.
 Korthoff 177, 203.
 Kortschemkina **59**.
 Kositzka **62**.
 Kossel 375.
 Kotorii 196, **231**, **232**.
 Kotter 177, 219, **235**.
 Kouvenaar 213.
 Kovács **56**.
 Kramer 169, 180, 181, **232**.
 Kraus 3, **56**, 102.
 Krause 181, 203, 220, **232**.
 Kraut 359, 361, **376**.
 Krestovnikova **62**.
 Kreutzer **62**.
 Krikent 59.
 Krishnamurti 213, **232**.
 Krogh 10, **62**, 109.
 Krohn 357.
 Krupski **63**.
 Kubo 190, 191, 192, 196, **232**.
 Kubowitz 367, **376**.
 Kuenen 191, 192.
 Kuhn, R. 363, 367, **376**.
 — W. 354.
 Kulikow **62**.
 Kumbein 214.
 Kunitz 362, **376**.
 Kunstein 186, 191, 193, **232**.
 Kuprianoff 319, **345**.
 Kuwahara **62**.
 Kwan-Hua **306**.
 Kyriazides 194, **234**.
- Laignel-Lavatine** 170, 221,
232.
 Lainer 181, 221, **232**.
 Lamb 102.
 — G. 3, **62**.
 Lammert 46, 47, **65**.
 Landsteiner 368.
 Langworthy 192, 195, 217.
 Lasch 279, **307**.
- Laubenheimer 369, **376**.
 Lavau 184, **232**.
 Lavergne 203.
 — de 187, 188, 191, 193, 225,
232, **233**.
 Lawrence 213, 214, **233**.
 Lea, C. 336, **345**.
 Leach 30, **62**, **63**.
 Leathers **61**.
 Leanes 183.
 Lebailly 196, 208.
 Lecomte du Nouy 250, **305**,
306.
 Leger 196.
 Lemétayer **65**.
 Lendrum **233**.
 Lendrums 203.
 Lenk, E. 320.
 McLeod 34, **55**.
 Lepilin **62**.
 Lepine 188, 194, **233**.
 Letulle **233**.
 Levaditi **62**, 190.
 Lewis, J. H. 369, **376**.
 Lewkowitzsch **62**.
 Lewzow **61**.
 Lhéritier 196.
 Lichtwitz **305**.
 Liddo **62**.
 Liebethuth **60**.
 Liebig 244.
 Linderström-Lang **232**.
 Lille **60**.
 Lin 253, **306**.
 Linde, Carl von 309.
 Lindenström-Lang 27, **62**.
 Linderström-Lang 294.
 Lineweaver 363.
 Linneweh 349, **378**.
 Lins 195.
 Liszner 184, **233**.
 Llewellyn-Jones **304**.
 Loeser 357.
 Löwenstein 3, 26, **56**, 102.
 Logemann 363.
 Lohmann **378**.
 Loiseau **62**.
 Loiseur, J. 369, **378**.
 Long 356.
 Lorando 180, **233**.
 Lorau-Dessus 249, **306**.
 Lorey 186, 193, 208, **233**.
 Lovell 179.
 Lucet 211.
 Lubrzynska **304**.
 Lustig **306**.
- Maas** 345.
 Maccolini **62**, **65**.
 Macfadyan 325, **345**.
 Macrae 215, **233**.
 Madsen 12, 17, **62**.
 Mager, A. 364, 367.
 Magvary **305**.
 Maigrot 272.
 Maisler 170, 225, **231**.

- Malmgren 183, **233**.
 Mandler 299.
 Manegold 268.
 Mann 367.
 Manteufel 220.
 Marchesi 182, 188, 194, **233**.
 Marie 170, 203, **233**.
 Martin 193, 217.
 Martinez 183.
 — -Leanes 179, **233**.
 Martini 201.
 Maschmann 363.
 Mason 209, **233**.
 Massias 184, 209, **233**.
 Massol 3, 57, 102.
 Matsuzaki 196.
 Matusw 61.
 Maxwell 224, **233**.
 May 58.
 Mayayima 208.
 Mayzner 67, 68.
 Mazurek 59.
 McKeon **236**.
 Mead 355, 368.
 Melanidis, C. **234**.
 Mendelson 196.
 Menton 62.
 Merill 285, **306**.
 Merklen 222, **233**.
 Mertens 210.
 Meyer 189, 195, 213, 215, **233**,
 294, 356.
 Meyerhoff 366, **378**.
 Meyers 241, **306**.
 Micheel 371, **378**.
 Michaelis 249.
 Middleton 194, 208, **233**.
 Miehler, H. 362.
 Miessner 186, 193, 216, **233**.
 Mijara 183.
 Mitelman 63.
 Miyajima 179, 185.
 Miyara 179, **233**.
 Modern **306**.
 — -Ruff 253, **306**.
 Möllers 62.
 Mörch 253, **306**.
 Molisch 322, **345**.
 Moloney 67.
 Momma 61.
 Montagu **233**.
 Montford 182, **233**.
 Montiliu-Volant 188, 220, **235**.
 Monvoisin, A. 340, **344**.
 Moore 192, 195, 217.
 Mooselli 212, **234**.
 Morales 189.
 Moran, T. 322, **345**.
 Morijama 370.
 Mørch 4.
 Morimoto 190, 196, **229**.
 Moriyama 370, **378**.
 Moro 54, 62.
 Mort, Th. S. 309.
 Moss 61.
 Motzfeld 183, **233**.
- Mountin 58.
 Müller, Friedrich 170.
 — L. B. 180.
 — M. **336**, **345**.
 — -Voigt 60.
 Murdick 253, 262, 297, **303**,
305, **306**.
 Mulholland 183, **233**.
 Murgatroyd 174, 175, **233**.
 Mutzenbacher 248, **306**.
 Mutzenbecher 369, **378**.
 Myrbäck, K. 356, 360, **378**.
- Nash 62.
 Naughten 62.
 Nauwercks 224.
 Neale 203, **233**.
 Negelein 365, 366, **378**.
 Neill 62, 195.
 Nélis 28, 62, 63.
 Nemchiloff, N. A. 63.
 — S. F. 63.
 Nemschilowa 45, 63.
 Neumann, R. O. 330, 332, **345**.
 Nicaud 170, 225, **231**, **233**.
 Nicol 65.
 Nicolle 3, 63, 102, 196, 208.
 Niemann, C. 351, 373, **375**.
 Niemeyer 34, 66.
 Niermann 60.
 Nishikawa 246, **306**.
 Noguchi 172, 195.
 Norlin 67.
 Normand 57.
 Northrop, J. H. 361, 362, 372,
 378.
 Noster 63.
 Nowochatny 180, 227, **233**.
- Oelrichs 56.
 Ohta 345.
 Okamoto 60.
 Okell 213, 214, **233**.
 Olin 63, 186, 194, **233**.
 Olitzki 249, 295, 296, **305**, **306**.
 Ono 246, **306**.
 Ornstein 252, 277.
 Ostertag 344.
 Ostwald 321.
 Ottensooser 63.
 Otteraaen 195.
 Ottesen 318.
 Otto 17, 63, 169, 179, 185,
 197, 201, 252, **306**.
- Packchanian 170, 183, 208,
 234.
 Paez 171, 190, 191, 192, 195,
 234.
 Pagonis 188, 194, **233**.
 Paic 62.
 Palant 63.
 Pallaske 213, **234**.
 Panayotatoy 184, 189, 196,
 234.
 Paneth 126, **136**.
- Pansing 63.
 Pantschenko-Jurewicz 359,
 361.
 Pappenheimer 47, 54, 63,
 370, **378**.
 Parish 47, 48, 63.
 Park 63, 241, **306**.
 Passow 136.
 Paul 74, 75, 87, 135, 136,
 325, 345.
 Pauli 82, 136, 249, 272, 305,
 306.
 Pavell 241, 305, 306.
 Pawan 189, 192, 195, **234**.
 Pedersen 363, 369.
 Pergher 176.
 Perkins 363.
 Peters 319.
 Petersen 212, 214, 234, 319,
 345.
 Peterson 84.
 Petrova 62.
 Pettenkofer 207.
 Pettit 174, 178, 193, 217, 219.
 Petzelt 167.
 Petzetakis 180, 188, 191, 194,
 196, 205, 208, 225, 228,
 232, **234**.
 Peyrer 167.
 Pfaundler 63.
 Pfeifer 296.
 Pfeiffer, R. 140, 141, 158, 167.
 Pfyl 342, 345.
 Phelps 84, **136**.
 Philippe 60, 62, 63.
 Phillipp 223.
 Pick 239.
 Pickes 372.
 Piettre 266, 307.
 Pijper 63.
 Pilod 65.
 Pincussen 126, **134**.
 Pinkus 239.
 Pio Silva 336, 346.
 Piras 136.
 Pirie 307.
 Pirot 193.
 Pistorio 370.
 Piutti 367.
 Plank, R. 312, 315, 318, 319,
 321, 322, 323, 338, 343,
 345.
 Plazy 219.
 Pockels 26, 63.
 Pöch 30, 62, 63.
 Pohlmann 235.
 Pol 187, 193, 202.
 Poller 349, **375**.
 Polthoff 95.
 Pondman 307.
 Ponomarer 346.
 Pontano 50, 64.
 Pope 27, 28, 59, 64.
 Postmus 195.
 Potthoff 136.
 Poucher 213.

- Povitzky 64.
 Powell 298, 307.
 Prall 325, 345.
 Prausnitz-Reitstötter 240, 307.
 Prell 75.
 Preto, G. 234.
 Preuss 167.
 Prigge 136, 167.
 — R. 1, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 18,
 20, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
 32, 37, 41, 53, 55, 64,
 100, 103, 107, 110, 111, 112.
 Pritsa 64.
 Prochazka 64.

 Quet 179, 187, 208, 231.
 Quigley 67.

 Rabinovitch 65.
 Radmann 48, 64.
 Rae 224, 230.
 Ragiot 184, 232, 234.
 Rahn 136.
 Ramon 3, 26, 28, 36, 45, 50,
 57, 64, 65, 102, 103.
 Ransom 326, 345.
 Raymond, J. 309, 344.
 Rea 213.
 Reichel 74, 75, 76, 84, 87, 88,
 89, 90, 133, 136.
 Reichenbach 71, 74, 75, 76,
 77, 83, 94, 97, 98, 120, 123,
 136.
 Reiner 136.
 Reinhardt 48, 65.
 Reiss, M. 356, 378.
 Reitani 194.
 Reitano 212, 234.
 Reiter 178, 197, 234.
 Reitstötter 279, 307.
 Remen 155, 166.
 Renaux 4, 103, 187.
 Rettger 105, 135.
 Reuss 74, 136.
 Reuter 315, 317, 318, 323, 345.
 Ribeyro 195.
 Rice 58.
 Richardson 62, 346.
 Richelet, J. E. 330, 346.
 Richet 84, 136.
 Richon 65.
 Rideal 341, 346.
 Ridlon 189, 195, 234.
 Rieger 84, 99, 136.
 Rimpau 136. 171, 175, 179,
 234, 235.
 Rivers 126, 137.
 Rjachina 62.
 Robert-Levy 233.
 Robinson 192, 195.
 Robison-Ester 365, 366.
 Rodenbeck 90, 136.
 Roelke 200.
 Roesli 132.
 Rogers 126, 133.
 Rogova 57, 65.

 Romijn 181, 196, 202, 203,
 227, 234.
 Romiti 179.
 Roos 214, 234.
 Rosenbaum 65.
 Rosenberg 303.
 Rosenheim 296, 307, 378.
 Rosenstein 304.
 Ross 61.
 Rost 243, 307.
 Roux 28.
 Ruata 119, 137.
 Rubarth 216, 235.
 Rubinstin 65.
 Rudder, de 147, 167.
 Rudy, H. 363.
 Ruff 306.
 Rundberg 65.
 Ruppel 240, 277, 307.
 Russ 181.
 Ryle 193.

 Sabalitschka 298, 307.
 Sabates 272.
 Sabelli 50, 65.
 Sabina 188, 220, 235.
 Sachse 244, 304, 248.
 Sack 62.
 Sacquépée 65.
 Saenz 223.
 Saito 65.
 Sanarelli 176, 235.
 Sanchis-Bayarri 188, 194, 220,
 235.
 Sander 218, 225, 235.
 Sardeman 198, 235.
 Sardjito 173, 195, 207, 235.
 Saunders 65.
 Savelier 346.
 Schäfer, Wa. 12, 18, 20, 25,
 55, 63, 64, 65, 111.
 Schaer 243, 307.
 Schafferstein 65.
 Schall 46, 47, 65.
 Scharowskaja 63.
 Schaumann 378.
 Scheele 235.
 Scheerer, K. 326, 346.
 Scheicher 114.
 Schellenberg 314, 346.
 Schelling, v. 20, 40, 65.
 Scherubel 346.
 Schick 50.
 Schlossberger 65.
 — H. 171, 174, 175, 176, 177,
 234, 235, 307.
 Schmalfluss 286.
 Schmid 63, 65, 67.
 Schmidt 111, 209, 253, 294,
 305, 307.
 — C. L. A. 369, 378.
 — H. 12, 17, 26, 27, 28, 32, 34,
 41, 60, 61, 62, 65, 369, 378.
 — H. J. W. 178, 235.
 — S. 4, 17, 27, 32, 65.
 — -Burbach 50, 51, 52, 55, 66.

 Schneider, F. 368, 378.
 Schöberl 378.
 Schoepf, F. 340.
 Scholz 4, 26, 103, 243, 304.
 Schott 228.
 Schreiber 26.
 Schüffner 170, 172, 173, 177,
 178, 179, 180, 181, 187,
 191, 192, 193, 198, 203,
 204, 205, 206, 211, 212,
 213, 214, 217, 219, 227,
 230, 234, 235, 237.
 Schultsz 177, 219, 235.
 Schulz 366.
 Schulze 66.
 Schwetz 235.
 Scott 353, 378.
 Seastone 362, 378.
 Sée 65.
 Seelich 307.
 Seidenberg 53, 66.
 Serpa 25.
 Seiffert 191.
 Semzova 235.
 Sestini 179.
 Seydler 213, 235.
 Shaffer 63.
 Shiozawa 175.
 Sick 180.
 Sickles 67.
 Siegl 57, 66.
 Sigal 66.
 Sigalas 193.
 Silberschmidt 50, 66.
 Silvestri 338, 341, 344.
 Simpson 356.
 Skrotzky 28, 66.
 Slotta 371, 378.
 Smillie 195.
 Smirnow 66.
 Smith 27, 174, 175, 182, 224,
 230, 235, 236, 322, 346.
 Smits 171, 179, 180, 184, 221.
 Sörensen 350, 379.
 Soesilo 192, 193.
 Sollier 179, 187, 193, 208, 231.
 Sonberg 57, 65.
 Sommer, H. 293.
 — E. W. 293.
 Sordelli 25, 66, 307.
 — y Savino 67.
 Sorgdrager 170.
 Souchard 184, 232.
 Soulier 184, 237.
 Soullier 174.
 Spada 189.
 Sparrow 67.
 Spiegel-Adolf 251, 294, 307.
 Spinelli 188, 194.
 Spiro 305.
 Ssinjuchina 195.
 Stanley 371, 373, 379.
 Staub 65.
 Stebbins 59.
 Stéfanopoulu 174, 193, 236.
 Steffen 304.

- Stehle 357.
 Steinmaurer 67.
 Stern, K. G. 354, 367, 379.
 Sternberg 239.
 Stevens 14, 33, 51, 59, 113, 304.
 Stevenson 194.
 Stewart 68.
 Stirl 203.
 Stockhusen 66.
 Stokes 193.
 Storp 338, 342, 346.
 Strasburger 169, 181.
 Straus 29, 67.
 Strøm 67.
 Stumpf 187, 188, 191, 193,
 225, 233.
 Suarez, N. T. 340, 330.
 Südmersen 26, 59.
 Sugg 67, 62.
 Sugie 12, 67, 111.
 Sultiff 242, 307.
 Sumner 360, 367, 379.
 Suzuki 61.
 Svedberg 307.
 — T. 372, 379.
 Swan, W. 236.
 McSweeney 67.
 Szeynam 59.
 Szirmai 243, 307.

 Tadsen, V. 362.
 Takaki 193.
 Tammann 312, 346.
 Tanaka 61, 67.
 Tanes 62.
 Tang 184, 236.
 Tanon 67.
 Tarasoff 171.
 Tarassoff 179, 183, 221, 236.
 Tarrassoff 175.
 Tasman 56, 294, 307.
 Tauber 367, 379.
 Taylan 58.
 Taylor 67, 179, 180, 184, 207,
 236.
 — von 323, 346.
 Tellier 309.
 Ten Broeck 379.
 Tetsunosuke 61.
 Tetzner 215, 236.
 — A. 170.
 Teveli 67.
 Theiler 174, 237.
 Theorell 67, 363, 366, 367, 379.
 Thiel, van 172, 173, 177, 204,
 208, 223, 229, 235, 236.
 Thiery 174.
 Thill 169, 181.
 Thiry 187, 191, 193, 208, 209,
 229, 236.
 Thomas 304.
 Thomson 34, 55, 357, 363.
 Tiellin 174, 229.
 Tiellu 208, 236.
 Tietz 60.
 Timmerman 67.
 Timpe 349, 375.

 Tiseliu 307.
 Tohyama 179.
 Tomesik 36, 46, 67.
 Top 67.
 Tornan 67.
 Toropoff 272, 303.
 Toulléc 184, 231.
 Touresky 57.
 Towler 169, 183.
 Trevan 10, 67.
 Trio 361.
 Troemer 303.
 Troisier 170, 198, 209, 236.
 Tsurumi 179, 184, 228, 236.
 Tuljtschinskaja 253.
 Turcu 67.
 Tureskaja 65.
 Tutin 349.
 Tweedy 355, 379.
 Tytler 193.
 Tzortzakis 234.

 Ubisch, v. 24, 67.
 Uhlenhuth 169, 171, 172, 173,
 175, 176, 178, 179, 180,
 181, 185, 186, 187, 191,
 192, 193, 197, 198, 199,
 201, 202, 204, 206, 207,
 212, 213, 214, 215, 217,
 219, 220, 221, 222, 223,
 224, 236, 303.
 Urbain, A. 369.
 Uriarte 189.

 Vagedes, v. 173, 236.
 Valentine 285, 304, 307.
 Valkó 303.
 Vancel 184, 231, 237.
 Vancels 174.
 Vaniček 67.
 Vanucci, F. 236.
 Vanuzzi 182.
 Vaughan 58.
 Vejnar 67.
 Verschaffelt 230.
 Vertschaffelt 173, 209.
 Vierordts 224.
 Vigneaud, du 353, 357, 358.
 Vila 266.
 Villazon 189.
 Voet 230, 232.
 Vogt, A. 237.
 Volk 67.
 Volkenburgh, van 59.

 Waasbergen 294.
 Waddington 28, 59.
 Wachworth 67.
 Wadsworth 195, 259, 307.
 Wagner-Sacharowa 59.
 Waitz 222, 232.
 Walch 170, 175, 195.
 — -Sorgdrager 175, 177, 195,
 214, 234, 235, 237.
 Walker 58, 67, 169, 183.
 Wallace 59.
 Walpole 27, 59.

 Walti 363, 379.
 Wani 185, 208, 217, 219, 237.
 Warburg 363, 364, 365, 366, 379.
 Wassilieff 224.
 Watson 68.
 Weaver 307.
 Webb 6.
 Weber 186, 193, 237.
 — -Fechner 110.
 Weigmann 57.
 Weil 169, 224.
 Weiss 353.
 Welcke 220.
 Welker 200, 210, 215, 217,
 226.
 Weleminsky 178.
 Wells 30, 35, 68.
 — H. G. 369, 376.
 White 62, 262, 304, 354, 356,
 379.
 Whitman 53, 66.
 Whitney 304, 307.
 Wiechowski 10, 68, 109.
 Wieland, H. 371, 379.
 Wigham 59.
 Wilken 181, 203, 232.
 Williams 68.
 Willstätter 293, 359.
 Windhausen 326, 346.
 Winterberg 296.
 Wintersteiner 353, 376.
 Winton 22, 68.
 Wirth 186, 192, 193, 208, 210,
 211, 213, 214, 218, 222,
 225, 237.
 Wohlfeil 40, 68.
 Wohlrab 50.
 Wolfert 182, 227, 237.
 Wolff 193, 213.
 Wolstenkroft 224, 237.
 Wormall 368.
 Wright 63.
 Wrinch 246, 303.
 Wüstenberg 60, 68.
 Wulff 366, 378.
 Wyckhoff 372.

 Yang 174, 237.

 Zajdl 61, 68.
 Zarotschenzef 318, 346.
 Zrodowski 68.
 Zeile 367, 379.
 Zimmermann 181, 186, 193,
 199, 202, 212, 213, 215,
 217, 219, 236, 237.
 Zoeller 50.
 Zondeck 356, 357.
 Zoutendyk 266.
 Zschokke 326, 346.
 Zuelzer, M. 171, 172, 173, 174,
 176, 179, 183, 184, 186,
 187, 191, 192, 193, 194,
 197, 201, 206, 207, 222,
 228, 237.
 Zunker 346.
 Zurinowa 59.

Sachverzeichnis.

- Abbau, enzymatischer 293.
 Abhäutung 330.
 Abkühlungsgeschwindigkeit 317.
 Abkühlzeit 333.
 Abrin 370.
 Absorptionsexponent 86.
 Abstandsgesetz 81.
 Abstrebe-gesetz 85.
 Abstrebe-kurve 70.
 — bakterielle 69.
 Absterbe-vorgang, bakterieller 71, 96, 132.
 — chemische Natur des 78.
 — Gleichung des 102.
 Abtötung, thermische 87.
 Abtötungs-verfahren, thermisches 123.
 Abtötungszeit 94.
 Acceptor 77, 99.
 Acceptoren 129, 130.
 Acceptorenthese 122.
 Adsorption 293.
 Agglutinin 249.
 Agglutinine 252.
 Agon 359.
 Akiyama 171.
 Aktivierung, unspezifische 28.
 Alanin 348.
 Alaunimpfstoff 14, 15, 17, 19, 30, 32, 37, 41.
 Alauntoxoid 32, 42, 50.
 Albumin 242, 245, 247.
 Albuminfraktion 239.
 AIFT 30.
 Alphaseparator 255.
 Altern 69.
 Altersdisposition 227.
 Aluminiumbehandlung der Formoltoxoid 28.
 Aluminiumhydroxyd 28.
 Aluminiumhydroxyd-Formol-Toxoid 30.
 Aluminiumhydroxydimpfstoff 30, 32.
 Aluminiumhydroxydtoxoid 52.
 Aluminiumimpfstoff 29, 34, 35, 36, 42, 51.
 Aluminiumtoxoid 31, 46, 48.
 Aminogruppe des Lysins 351.
 Aminosäure 361.
 Aminosäuregehalt der Serum-eiweißkörper 246.
 Ammoniumsulfat 256, 261.
 Ampholyte 249.
 Antigen 368.
 Antigenmessung, Theorie und Methodik der 2.
 Antigenmicelle 34.
 Antigenspitze 2.
 Antikörper 369.
 — an Pseudoglobulin gebunden 256.
 — im Serum 251.
 Antikörperproduktion 12.
 Antipneumococcusserum 249.
 Antitoxindose 5.
 Antitoxintiter 17, 18, 55.
 Antitoxinüberschuß 5.
 Apodehydrase 364.
 Apoferment 358, 359, 360.
 Apofermenteiweiß 364.
 Apozymase 359.
 Arginin 348, 353, 354, 357, 361, 364.
 Armee-Krankheit 170.
 ARNDT-SCHULZSches Grundgesetz 106.
 Asparaginsäure 354, 361, 364.
 Aspergillus 336.
 — simplex 336.
 Auftauen 338.
 — Gefrierveränderung beim 320.
 Auftaufrage 340.
 Auftauschema 339.
 Auftauvorgang 340.
 Aufzählungskurve 10.
 — normale 15.
 Ausgangskeim-dichte, Logarithmen der 97.
 Autokatalyse 125.
 Bac. oedematicus 89.
 Bacilleneiweiß 53.
 Bact. coli 104.
 — typhi 119.
 — — flavum 119.
 Bakterienfiltrat, toxoidhaltiges 55.
 Bakterienpopulation 71.
 Bakterientod 74, 76.
 Bakterientoxin 369, 370.
 Bakteriophagen 75.
 Bandwurm 326.
 BANZHAFSche Methode 260.
 BANZHAFSches Verfahren 261.
 Bataviatyp 210.
 BERKEFELD-Kerze 120.
 — -W-Kerze 300.
 Berufskrankheit 226.
 — Unfallversicherung auf 225.
 — WEILSche Krankheit als 223.
 Bindungsversuch 2.
 Binominalkurve, normale 11.
 Binomischer Lehrsatz 9.
 BIRDSEYE-Verfahren 319.
 Bothrops-Antiserum 276.
 Botrytis Micheli 336.
 Breslauer Impfkation 39.
 Bruder-Schwester-Inzucht 22.
 BRÜCKESches Pepsin 361.
 Brühwürstchen 320.
 Büchsenfleisch 344.
 BUNSEN-ROSCOE-Gesetz 76, 81.
 Butantan Instituto 259.
 Canicolfieber 177.
 Canicollinfektion 211, 213, 214, 216.
 Canicolaspirochäte 212.
 Capillarkraft 315.
 Carboxylase 366.
 Carboxy-peptidase 362.
 Cavia porcellus 24.
 — rufescens 24.
 Chaetostylum Fresenii 336.
 Chilled Meat 310.
 Chinon 272.
 Chlamydomucor racemosus 336.
 Chlamydomucor 336.
 Chlorcalcium 312.
 Chlormagnesium 312.
 Chromgelatinemembran 273.
 Chymotrypsinogen 362.
 Chymotrysin 373.
 Cocarboxylase 366.
 Co-Esterase 360.
 Co-Ferment 359.
 Colibakterien 113, 114.
 Colpidie 84.
 Co-Dehydrase 365, 366.
 Co-Zymase 359, 365.
 Crotin 370.
 Crotoxin 370, 371.
 Cyclol 246.
 Cystein 348, 350, 355.
 Cysteylglutamin 355.

- Cysticercus cellulosae 326.
 — inermis 326.
 Cystin 353, 354, 357, 364, 374.
 Cystinpeptid 374.
 Cytochrom 349, 367.
- DANYSZ-Phänomen** 3.
 Darmschleimerei 328.
 Dehydrase 364.
 Depolarisation 250.
 Depotwirkung 33.
 Desinfektionsgleichung 99.
 Desinfektionswirkung 95.
 Dialyse 268.
 Diazomethan 355.
 Difluordichlormethan 319.
 Dijodtyrosin 361.
 Dimethyläther 319.
 Diphtherie-Alaun-Formol-Toxoid 30.
 Diphtherie-Alaunimpfstoff 14.
 Diphtherie-Alauntoxoid 53.
 Diphtherieantitoxin 5, 24, 253, 254, 369.
 Diphtherie-Antitoxingemisch 25.
 Diphtheriebacillus, Toxin des 2.
 Diphtheriebakterien 127.
 Diphtherie-Formoltoxoid 26.
 Diphtherieimmenserum 259.
 Diphtherieimpfstoff 13.
 — Bewertung der 6.
 — Wirksamkeit der 27.
 Diphtherieschutzimpfung, aktive 48.
 — mit Impfstoffen 1.
 — in Ungarn 41.
 Diphtheriesera, Wertbemessung der 3.
 Diphtherieserum 247, 253, 258, 260, 264, 276, 281, 302.
 Diphtherietoxin 294, 369.
 Diphtherie-Toxin-Gemisch 25.
 Diphtherietoxoid 53.
 Dispersitätsgrad der Serumfraktion 247.
 Dissoziation 3.
 Dissoziationsvorgang 317.
 Di-Toxoid 30.
 Doppelschritt-Methode 44.
 Dreipunktmethode 18.
 Dreizellenelektrodialysator 273.
 Düngstofffabrik 330.
- Einfrieren** 333.
 — konservierende Wirkung des 324.
 — Konservierung von Fleisch durch 308, 327.
Einfriererraum 333.
Einfrierzeit 334.
Einheitsgröße 12.
- Einpunktmethode** 19.
Eisessig-Kollodiummembran 284.
Eiskrystall 312, 318.
Eiskrystallbildung 313.
Eiweißfraktion 248.
 — des Serums 244.
Eiweißkörper, Aufbau der 349.
 — und Peptide 347, 352.
Eiweiß-Kollodiumsuspension 274.
Eiweißreagenzien 247.
Elektrodekantierung 240, 281.
Elektrodialysator 288.
Elektrodialyse 240, 271, 272.
Elektrolyt 240.
 — amphoterer 119.
Elektronenstrahlung 74.
Elektro-Osmose 240.
Elektroultrafilter 279, 280.
Elektroultrafiltration 240, 278, 289.
Elution 293.
Endoagar 111.
Entkeimen der Immunsera 296.
Enzymatischer Abbau 293.
Epithelkörperchen 355.
Erepsin 370.
Ergin 352.
Erntefieber 170, 171, 179, 221.
ESBACH-Reagens 247.
Esteraseagon 360.
Euglobulin 242, 244, 247, 250, 251.
Euglobulinfraktion 239.
Euglobulin-Pseudoglobulin-niederschlag 266.
Evaporation 282.
Exponentialfunktion 73.
Exportfleisch 332.
Exportländer 331.
Exportschlachtereien 331.
- Fällungsmittel, Entfernung des** 267.
Faktor u 107.
Feldfieber 170.
FELTONSche Fraktionierung 291.
Ferment 373.
 — gelbes 363.
Fermentproteid 363.
Fermentprotein 360.
Fettfabrik 328.
Fettstoffwechsellhormon 357.
Fibringlobulin 244.
Fibrinogen 254, 369.
Fibroin 369.
Ficin 363.
Flächenteil, überlebende 73.
Flavin 363.
Flavinenzym 363.
- Fleisch, die Konservierung durch Erfrieren** 308, 327.
 — Gebrauchswert und ernährungspolitische Bedeutung des gefrorenen 341.
 — Gefriertemperatur 311.
Fleisch- und Schlachtviehbeschau, Reichsgesetz betreffend die 331.
Fleischkolloid 320.
Fleischkonservierung 309, 343.
Fleischversorgung 308.
Flockung 3.
Flockungsdiagramm 4.
 — symmetrisches 5.
Flockungseinheit 4, 30.
Flockungsgeschwindigkeit 6.
Flockungsreaktion 6.
Formolimpfstoff 27.
Formoltoxoid 13, 26, 29, 33, 54.
 — Aluminiumbehandlung der 28.
FRASER-JENSENSche Intracutanmethode 45.
Frischfleischreserve 344.
Frozen Meat 310.
Fuchs, WELLSche Krankheit beim 215.
- Gänsefleisch** 315.
Gärtest 366.
Gasbrandimmenserum 259.
Gebrauchswert und ernährungspolitische Bedeutung gefrorenen Fleisches 341.
Gefrierfleisch 310, 313, 342.
 — überseeisches 309.
Gefrierfleisch-einfuhr 309.
Gefrierfleischindustrie 328.
Gefrierfleischladung 338.
Gefrierfleischtransport 337.
Gefrierfleischverbrauch 323.
Gefrierfleischwerk 328, 330, 331, 332.
Gefriergeschwindigkeit 317, 322.
Gefrierobjekt 318.
Gefrierphase, Schema der 321.
Gefrierprozeß 320, 323.
Gefrierpunkt 312.
Gefrierriindfleisch 342.
 — ausländisches 340.
Gefriertemperatur 308, 311, 312, 321, 325.
Gefrierveränderung 314, 316, 322, 323, 341.
 — beim Auftauen 320.
Gefrierverfahren 343.
Gefrierverlangsamung 317.
Gefriervorgang 311, 318.
Gefrierzeit 318.
Gegenstromprinzip 269, 271.

- Gelatine, Toxin-Lösung 3.
 Gesamtantigen 2.
 Geschlechtsdisposition 227.
 Geschwindigkeitskonstante 72.
 Gesundheitszeugnis, amtliches 332.
 Gerbsäure 247.
 GIBSONSche Methode 239.
 Gift-Serum-Gemisch 3.
 Giftwert, direkter 2.
 — indirekter 2.
 Gleicherbigkeit 22.
 Gleichung, monomolekulare 71, 124.
 Globin 360.
 Glockenkurve 10.
 Glutaminsäure 348, 349, 351, 353, 354, 361, 364.
 Glutaminyl-cystein 355.
 Glutathion 349, 350.
 Glycin 348.
 Glycyl-alanyl-alanin 348.
 Glykoprotein 245.
 Gravis-Antigen 34.
 Gravis-Infektion 34.
 Gravis-Toxin 35.
 Grenztemperatur 322.
 Grippe, saisonweises Auftreten von 160.
 Grippeepidemie 138, 139, 141, 146, 163, 164, 166.
 Grippekomplikation 159.
 Grippepneumonien 142, 157.
 Grippevirus 297.
 Größen-Einheit 12.
 Grundgesetz, psychophysisches 11.
 Grundleiden 156.

Hackfleisch 343.
 Hämprotein 367.
 Hämoglobin 273, 360.
 Häutesalzerei 328, 330.
 HALDENWANGERScher Porzellanfilter 277.
 Hammelfleisch 315.
 Hammelgefrierfleisch 329.
 Hasamiyama-Krankheit 171.
 HASENSche Gerade 20.
 HASENSches Verfahren 16.
 Hebdomadisseren 174.
 Heilserumkonzentration 239.
 HENRYScher Verteilungssatz 85.
 Heubacillen-Sporen 100.
 Histidin 353, 354, 357, 361, 364.
 Holodehydrase 364.
 Holoferment 359, 360.
 Holozymase 359.
 Hormon 373.
 — adrenotropes 357.
 — corticotropes 357.
 — der Hypophyse 356.
 Hormon diabetogenes 356.
 — gonadotropes 356.
 — parathyreotropes 357.
 — thyreotropes 357.
 Hundepest 210.
 Hundetyphus 210.
 Hydrolyse 348.
 Hypophysenhinter- und -mittellappen, Pigmenthormon des 357.
 Hypophysenmittel- und -hinterlappen, Pigmenthormon des 357.

 Icterogenestyp 178.
 Ikterus, epidemisch katarhalischer 182.
 — infektiöser 182.
 Immunisierung, aktio-passive 50.
 — nasale 50.
 Immunsera, Herstellung von konzentrierten 238.
 Immunserum, Entkeimen des 296.
 — Konzentration von 286.
 Impfstoff, hochaktiv 31, 35.
 Impfstoffe, Diphtherie-Schutzimpfung mit 1.
 Impfung, einzeitige 37.
 — fraktionierte 43, 44.
 Influenza.
 — Ätiologie der 140.
 Influenzabacillen 138.
 — Vorkommen von 138.
 Influenzabacillenbefund 148, 152.
 Influenzabacillenkultur 144.
 Initialflockung 4.
 Insulin 349, 352, 353, 354.
 Insulinmolekül 353.
 Intermedin 357.
 Intermedius 34.
 Intermitteffekt 79.
 Intensitätskurve 80.
 Inzuchtmeerscheinstamm 25.
 Inzuchtstamm 23.
 Ionenwanderung 317.
 Isobutylalkohol 299.

 Jenaer Glasfilter 277.
 Jequiritisame 370.

Kältebedarf 312.
 Kältekongreß 340.
 Kältekonserverung 317.
 Kältemittel 319.
 Kaltluftmasse, arktische 155.
 Kaninchenfleisch 315.
 Kaninchenserumwasserkultur 172.

 Katalase 358.
 Kathepsin 353.
 Keimdichte 94.
 Keimdichte-Desinfektionszeitbeziehung 128.
 Keuchhusten 158.
 Kinderheim, Diphtherie im 49.
 KITASATO-Flasche 278.
 KJELDAHL, Eiweißbestimmung nach 244.
 Klapperschlangennimmserum 266.
 Klauenseuche 371.
 Kobragift 371.
 Kohlehydratstoff, Wechseltormon 357.
 Kohlensäure 319.
 Kollektivmaßlehre 8.
 Kolloid 322.
 Kolloidsubstanz 321.
 Koordinatensystem 71.
 Konservierung von Fleisch durch Einfrieren 308.
 Konservierungsmethode 344.
 Konservierungsverfahren 308.
 Koratin 369.
 Krystalldicke 318.
 Krystallisationsgeschwindigkeit 312.
 Krystallisationsgesetz 317.
 Krystallisationszentrum 312.
 Krystallkern 312, 313.
 Kühlfleisch 310, 324.
 Kühlfleischindustrie 328.
 Kühlhaus 327, 328, 337.
 Kühlrohr 337.
 Kupferproteid 367.
 Kurve, monomolekulare 74, 80.

 Lactalbumin 349.
 Lactationshormon 356.
 Lactimverbindung 351.
 Lactoflavinphosphorsäure 363.
 Lagerraum 334.
 Lagerung 334.
 Lagerungsbedingung 335.
 Leben-Tod-Alternative 77.
 Leben-Todreaktion, heterogene 132.
 Leptospira icteroides 172.
 Leptospirose 213, 215.
 Leucin 348, 353, 354.
 Leukoflavinzym 364.
 LEVADITI-Färbung 209.
 LEVINTHAL-Agar 111.
 LIEBIG-Fleischextrakt 108.
 Luftfeuchtigkeit 336.
 Luftkörper 153.
 LUSZCZAKSche Formel 84.
 Lysin 348, 353, 354, 361, 364.

- M. alexandrinus** 189, 190.
 — **decumanus** 190.
 — **norvegicus** 187.
Magnesiummixtur 256.
Magnesiumsulfat 265.
Masern 158, 371.
Maßpräparat 13.
Maulseuche 371.
MAXWELLSche Kurve 74.
 — **Verteilungskurve** 93.
Melanophorenhormon 357.
Meningococcusimmunserum 285.
Meningococcusserum 289.
Merthiolat 297.
Mesentericus 89.
Mesentericussporen 89.
Meßgenauigkeit 21.
Meteorologische Beobachtungen 148.
Micellengröße 34.
Milzbrand 325.
Milzbrandsporen 86, 89.
Mischimpfstoff 52, 53.
Molekül 372.
Molekülkomplex 77, 125, 132.
Monilia 336.
 — **digitata** 336.
Monomolekularkurve 75.
Monomolekulartheorie 74, 76.
Morbus Weil 169, 204.
Mosaikkrankheit 371.
Mosaikvirusprotein 349.
Mucin 369.
Mucoiden 369.
Mucor mucedo 336.
 — **pusillus** 336.
 — **spinosus** 336.
Mukor 336.
MURDIKSche Methode 262.
Mus decumanus 186.
 — **musculus** 213.
 — **rattus** 190.
Muskelfleisch 311, 314.
Muskelkolloid 323, 324, 335.
Myosin 369.
- Nagetiere als Spirochäten-träger** 208.
Natives Serum 240.
Natriumamalgam 355.
Natriumsulfat 264.
Nebenschilddrüse 355.
Neurotoxin 371.
Nieren-Elektroultrafilter 279.
Nieren-Ultrafilter 279.
Nipagin 297.
Nipasol 297.
Nipasolnatrium 298.
Normalstandardlösung 15, 21.
- Ogive** 10.
Oktadekapeptid 348.
Opaleszenztemperatur 248.
- Opsonine** 252.
Optochinbehandlung, Pneumokokken nach 105.
Ovalbumin 273.
Oxyaminosäure 374.
Oxydation 350.
Oxyprolin 354, 364.
Oxytocin 357, 358, 371.
- Papain** 353, 363, 369.
Parallelismus 13.
 — **mathematischer** 16.
Paratyphus 325.
Pararäuschbrand 89.
Park-Williams Nr. 8 34.
PARK-WILLIAMS-Toxin 35.
PAULISches Schichtungsphänomen 281.
Penicillium 336.
 — **glaucum** 336.
Pepsin 349, 353, 361, 369.
Pepsinbrücke 361.
Pepsinogen 361.
Peptidase 348, 352.
Peptidbindung 348.
Peptide, Aufbau der 348.
 — **und Eiweißkörper** 347, 352.
Peroxydase 367.
PETRI-Schale 114.
Phagendichte 125.
Phase, negative 52.
Phenylalanin 353, 354, 364, 368.
Pheron 359.
Physiologischer Hochstand 154.
Phytokinase 349.
Pigmenthormon des Hypophysenmittel- und -hinterlappens 357.
Pneumococcusserum 242, 289, 291, 292.
Pneumoimmunserum 285.
Pneumokokken 127, 156.
 — **nach Optochinbehandlung** 105.
Pneumokokkenserum 297.
Pneumonie, lobäre 157.
Pökelfleisch 344.
Poliomyelitis 371.
Polypeptidkette 246.
Polytoma uvella 126.
POPE-Bouillion 31.
Potentialdifferenz, elektrolytische 117.
Präzipitine 252.
Prolin 353, 354, 364.
Protease 352.
Proteid 360.
 — **dissoziierendes** 360.
Protein 360, 365, 366.
Proteinase 352, 363.
Proteohormon 352, 358, 374.
Protoham 360.
Protrophytensymbiose 201.
- Prozentsatzfehler** 22.
Pseudoglobulin 241, 242, 250, 251, 286.
 — **I** 244.
 — **II** 244.
 — **gebundene Antikörper** 256.
Pseudoglobulinfraktion 239.
Pseudoglobulinlösung 249.
Pseudoruhrbakteriophage 295.
Putrificus 89.
Pyridin 365.
- Quantenbegriff** 74.
Quellungsdruck 86.
Quellungsfähigkeit 321, 322.
Quellungsvermögen 320.
Quellungszustand 321.
Querverbindung 350.
- Rachendiphtherie** 158.
Ratten als Virusreservoir 185.
Rattenspirochäte 197.
Rattenspirochätose 188.
Reaktion, akzelerierende 92, 100, 105.
 — **monomolekulare** 72, 85, 99, 132.
 — **retardierende** 92, 105, 117.
Reaktionsgeschwindigkeit 101.
Receptor 77.
Rehfleisch 315.
REICHELSChe Formel 88.
Reichsfleischstelle 343.
Reichswetterdienst 154.
Reihenversuch 7, 8.
Resistenz 77.
Resistenzschwankung 110.
Resistenzstaffelung 129.
 — **geometrische** 76.
Revaccination, nasale 50.
Ricin 370.
Rinderfilet 323.
Rinderfinne 326.
Rinderpest 325.
Rindertrypsin 362.
Rindfleisch 315.
 — **gefrorenes** 325.
ROBISON-Ester 365, 366.
Röhrenverstärker 275.
Rohtoxoid 33, 42.
- Saftverlust** 342.
Salzkonzentration 321.
Scharlach 158.
SCHNEIDER-Grade 78.
SCHICK-Dosis 45.
SCHICK-Reaktion 12.
Schiefheit 10.
Schimmelpilzart 325.
Schlachthalle 329, 332.
Schlachtrind 325.
Schlachtstätte 327.

- Schlachttiere, Auswahl und Vorbereitung 328.
 Schlachtung 330.
 Schlachtvieh- und Fleischschau, Reichsgesetz betreffend die 331.
 Schlammfieber 170, 171, 221.
 Schlammfieberleptospiren 175.
 Schlangengift 369, 370.
 Schlangengiftimmuns Serum 259.
 Schlangengiftwirkung 84.
 Schlangerosum 258.
 SCHLEICHER-SCHÜLLSches Filterpapier 277.
 Schnellgefrierverfahren 319.
 SCHWARZSCHILDSche Gleichung 78.
 SCHWARZSCHILDScher Faktor 81.
 SCHWARZSCHILDSches Gesetz 81.
 Schweinefinne 326.
 Schweinefleisch 315, 326.
 Schweinetripsin 362.
 Schwellenschwärzung 78.
 Schwingrohrgenerator 275.
 Schutzinheit 9, 13.
 Schutzimpfung bei Diphtherie mit Impfstoffen 1.
 Schutzwirkung 94.
 SEITZscher Apparat 300.
 Sekundärgift 95.
 Seroglykosid 245.
 Serumalbumin 244, 250, 251, 273, 349.
 Serumalbuminlösung 249.
 Serumeiweißfraktion 242.
 Serumeiweißkörper 244.
 — Aminosäuregehalt der 246.
 — Chemie der 245.
 — elektrodialysierter 250.
 — physikalische Chemie der 247.
 Serumglobulin 349.
 Serumkrankheit 241, 247.
 Serum-Salzgemisch 258.
 SHARPLES-Zentrifuge 255.
 Shock, anaphylaktischer 241.
 Siebentagefieber 171, 217.
 Silberfuchsepisootie 215.
 Silberfuchssucht 186.
 Simultanimpfung 52.
 Simultanschutzimpfung 50, 51.
 Sodoku 220.
 Solbrol 297.
 Sole-Schnellgefrierverfahren 319.
 Soletemperatur 318.
 Sonnenscheindauer 150, 152.
 Sp. grippotyphosa 217.
 Spermophilus citillus 192.
 SPIEGLER-Reagens 247.
 Spirochaeta autumnalis 171, 174, 175.
 — canicola 176, 177.
 Spirochaeta grippotyphosa 171, 176.
 — hebdomadis 171, 174.
 — icterogenes 171, 174, 175, 177, 179, 206.
 — pseudoicterogenes 171.
 Spirochätenfieber 170, 184.
 Spirochätenträger 199.
 — internationaler 192.
 — Nagetiere als 208.
 Spirochätenträgertum bei Hunden 209.
 Spritzpistole 72.
 Standardimpfstoff 17.
 Staphylococcus aureus 108, 112, 113.
 Staphylokokken 86, 89, 103, 114, 115, 117, 118, 122, 156.
 Staphylokokkenbakteriophagen 372.
 Stichprobe 19.
 Stimulus, primärer 32.
 — sekundärer 32.
 Strahlentod 78.
 Streptokokken 122, 156.
 Streptokokkenantitoxin 369.
 Streptokokkenserum 297.
 Stuttgarter Hundeseuche 176, 205, 210, 215.
 Stysanus stimonites 336.
 Substrat 2.
 — Messung des spezifischen 2.
 Sulfosalicylsäure 247.
 Summenkurve 10.
 Symplex 359.
 Tabakmosaikvirus 371.
 Tabakmosaikvirusprotein 372.
 TAF-Präparat 26, 27, 33.
 Tapioca 28.
 Tarozzibouillon 106.
 Temperaturkoeffizient 87.
 Tetanus 89.
 Tetanusantitoxin 295.
 Tetanusprophylaxe, antitoxische 36.
 Tetanussera 242, 243.
 Tetanusserum 264, 289.
 — Konzentration von 287.
 Tetanustoxin 369.
 Tetanustoxoid 53.
 Thamnidium 336.
 — chaetoclotioides 336.
 Thermoresistenz 93.
 Typhus des chiens 176.
 Typhusagglutinin 254.
 Typhus-Paratyphusimpfstoff 53.
 Thyreoglobulin 349.
 Thyrosin 357, 358, 361, 364, 368.
 Thyroxinpeptid 358.
 Tiefkühlung 324.
 Titerbestimmung, Genauigkeit der 22.
 Titration 11, 14.
 Titrationsmethode 17.
 Todesproblem 69.
 Tollwut 371.
 Toxalbumin 369, 370.
 Toxin 369, 373.
 — des Diphtheriebacillus 2.
 Toxin- und Toxoid-Antitoxin-Flocken 26.
 Toxin-Antitoxin-Flockung 3.
 Toxin-Antitoxin-Gemisch 25.
 Toxinempfindlichkeit 24.
 Toxoid 369.
 Toxoid-Antitoxin-Komplex 51.
 Toxoid-Lanolin-Gemisch 50.
 Trachom 371.
 Trägheit-Inertia 78.
 Transport 337.
 Transportschaden 338.
 Trichinella spiralis 326.
 Trichinose 326.
 Trichloressigsäure 247.
 Trockeneis 337.
 Trockenhalle 331, 332.
 Trockenimpfstoff 13.
 Trockenserum 282.
 Trypsin 362, 369.
 Trypsinkinase 353.
 Tryptophan 245, 354, 361, 364.
 Trypsinogen 362.
 Trysin 373.
 Tuberkelbakterien 89.
 Tuberkulose 325.
 two-shot-Impfung 44.
 two-shot-Methode 48.
 Tyrosin 348, 353, 354, 374.
 Überempfindlichkeit, paralleler-gische 55.
 Ultrafiltration 282.
 Ultraschallwellen 75.
 Ultraviolettbestrahlung 117.
 Unfallversicherung auf Berufskrankheiten 225.
 Unterkühlungsfähigkeit 315.
 Urämie, azotämische 210.
 Urease 360.
 Vakuumdestillation 282.
 Vakuumultrafiltration 283.
 Variant 10.
 Variationsbreite 24.
 Variola-Vaccine 53.
 Vasopressin 357, 358.
 Verteilungskurve 10.
 — binomiale 9.
 Vierzellenelektrodialysator 277.
 Virulenzsteigerung 162.
 Viruskrankheit 371.
 Virusprotein 371, 372, 373.
 Virusreservoir 201.

Viscosität, relative 250.
 Vorkühldauer 333.
 Vorkühlung 332.

Wachstumshormon 356.
 Wärmebeschleunigung 92.
 Wärmetod 76.
 Wahrscheinlichkeitspapier,
 logarithmisches 15.
 Wahrscheinlichkeitsrechnung
 144.
 Wanderrate 198.
 Warmblütermuskulatur 316.
 Wasseranteil, ausgefrorener
 312.
 Wasserrfieber 170, 171.
 Wasserspirochäte 172, 205.
 — Erlangen 173.
 Wasser-Weil-Stämme 175.

Wasser-Weil-Spirochäte 206.
 WEBER-FECHNERSches Gesetz
 11.
 Weilinfektion 211.
 WEILSche Krankheit 178.
 — — als Berufskrankheit
 223.
 — — Begriff der 169.
 — — bei Füchsen 215.
 — — Epidemiologie der 168.
 Weilspirochäte 172, 188.
 — Eintrittspforte der 219.
 Wendepunktskurve 80.
 Wertbemessung der Di-
 phtheriesera 3.
 Wertbemessungsmethode 27.
 WHATMAN-Papier, englisches
 259.
 Wirksamkeit, antigene 6.
 Wirkungskurve 9, 10.

Wirkungsmaximum 13, 14.
 Wirtsorganismus 372.
 WOLFFHÜGELScher Zählplat-
 tenfehler 131.

Zeitkurve 80.
 Zephirol 116.
 Zersetzungs Vorgang 336.
 Zervelatwurst 343.
 Zonenphänomen 4.
 Zookinase 349.
 ZSIGMONDYScher Membran-
 filter 277.
 Zurichtung 330.
 Zweipunktmethode 19, 21.
 Zwei-Schuß-Methode 44.
 Zwischenferment 365.
 Zymase 359.

Inhalt der Bände 1—22.

A. Namenverzeichnis.

- Ackeret, Robert, u. Walter Frei, Die Ergebnisse der Chemotherapie in der Veterinärmedizin, III, 336 bis 377.
- Arnold, K. (München), Neuere Arbeiten über Variola und Vaccine, X, 367—487.
- Aykroyd, W. R., International vitamin standards and units, XIV, 376—381.
- Barros, Enrique, s. Elkeles, Gerhard und Enrique Barros, Die Psittacosis (Papageienkrankheit) mit besonderer Berücksichtigung der Pandemie 1929—1930, XII, 529—639.
- Baumgärtel, Traugott (München), Die Serodiagnostik der Syphilis im Lichte der neueren Forschung, V, 475 bis 531.
- Berger, Erwin (Basel), Experimentelle und epidemiologische Grundlagen der aktiven Schutzimpfung gegen Tuberkulose, XII, 42—131.
- Blumenberg, W. (Breslau), Über den neuesten Stand der Epidemiologie der Weilschen Krankheit, XXII, 168—237.
- Blumenthal, G. (Berlin), Die experimentelle Erzeugung von Antikörpern, insbesondere von komplementbindenden Antikörpern in Blut und Liquor von Kaninchen, XV, 276—303.
- s. Otto, R. (Berlin) und G. Blumenthal (Berlin), Über den augenblicklichen Stand der Serodiagnostik der Lues, XIII, 686 bis 715.
- Böhmer, K. (Kiel), Bang-Infektion des Menschen, XIII, 453—515.
- Breger, J. (Berlin), Fortschritte im Kampfe gegen die Geschlechtskrankheiten unter besonderer Berücksichtigung bevölkerungspolitischer Gesichtspunkte, XVIII, 58—122.
- Brockmann, H. u. K. Maier (Göttingen), Chemie der Vitamine und Hormone, XX, 155—273.
- Bürgers, Th. J. (Königsberg), Epidemiologie der Diphtherie und aktive Schutzimpfung, XVII, 231—306.
- Calmette, A., u. W. Schäfer (Paris), Über Tuberkulose-schutzimpfungen, IX, 54.
- Claus, Martin, Über unspezifische Therapie mit besonderer Berücksichtigung der Proteinkörpertherapie, V, 329—393.
- Coca, A. F., A critical review of investigations of allergic diseases, XIV, 538—560.
- Dahmen, Hans (Berlin), Beschälseuche, VI, 233—280.
- Die Lungenseuche des Rindviehs, VI, 281—304.
- Rotz, VII, 543—615.
- David, Hans, s. Schnürer, Josef und Hans David (Wien), Schutzimpfung der Hunde gegen Wut, XI, 556—636.
- Dirscherl, W. (Frankfurt a. M.), Wirksame Eiweißkörper und Peptide, XXII, 347—379.
- Doerr, R. (Basel), Neuere Ergebnisse der Anaphylaxieforschung, I, 257—371.
- Die Anaphylaxieforschung im Zeitraume von 1914 bis 1921, V, 71—274.
- Filtrierbare Virusarten, XVI, 121—208.
- Domagk, Gerhard (Wuppertal-Elberfeld), Die Bedeutung des Stoffwechsels für die Entstehung, Prophylaxe und Therapie der bösartigen Geschwülste, XIX, 308—351.
- Donath, Julius, und Karl Landsteiner, Über Kälte-hämoglobinurie, VII, 184 bis 228.
- Dresel, E. G. (Heidelberg), Sozialhygienische Fürsorgebestrebungen, V, 791—867.
- Eagles, G. Hardy (London), The in vitro cultivation of filterable viruses, XIII, 620—640.
- Eichbaum, Franz, s. Neisser, Max und Franz Eichbaum (Frankfurt a. M.), Die „oligodynamische Metallwirkung“ in Theorie und Praxis, XIII, 170—226.
- s. Neisser, Max und Fritz Eichbaum (Frankfurt a. M.), Die tuberkelbacillenähnlichen, säurefesten Saprophyten, XIV, 82—138.
- Nachtrag zu dem Beitrag, Die tuberkelbacillenähnlichen, säurefesten Saprophyten (XIV, 1933), XV, 756.
- Eisenberg, Philipp, Über Mutationen bei Bakterien und anderen Mikroorganismen, I, 28—142.
- Elkeles, Gerhard (Berlin-Charlottenburg), Paratyphus, Fleischvergiftung und ihre Beziehungen zueinander, XI, 68—219.
- und Enrique Barros (Córdoba, Argentinien), Die Psittacosis (Papageienkrankheit) mit besonderer Berücksichtigung der Pandemie 1929—1930, XII, 529—639.
- Ernst, W. (München), Neuere Arbeiten über Encephaliden bei Tieren, XII, 1—14.
- Fischl, V. (Prag), Fortschritte der Chemotherapie, XVII, 350—414.
- Fitzgerald, J. G., Die wissenschaftliche Tätigkeit des hygienisch. Laboratoriums des „United States Public Health Service“, I, 1—27.
- Neuere Forschungen über Poliomyelitis anterior in Amerika, I, 219—30.
- Fraenkel, Eugen, Anaerobe Wundinfektionen, II, 376 bis 433.
- Frei, Walter, u. Robert Ackeret, Die Ergebnisse der Chemotherapie in der Veterinärmedizin, III, 336 bis 377.

- Freudenberg, Karl (Berlin), Die Gesetzmäßigkeiten der menschlichen Lebensdauer, XV, 335—441.
- Fromme, Walther (Dahlem), Weilsche Krankheit, IV, 2 bis 99.
- Fürst, Th. (München), Epidemiologie, Diagnose und Prophylaxe der Malaria und malariaähnlichen Erkrankungen (Pappataci und Recurrens), IV, 204—248.
- Improvisation der Desinfektion im Felde, II, 143 bis 165.
- Trinkwasserversorgung u. Beseitigung der Abfallstoffe im Felde, II, 109—142.
- Gay, Frederick P., Typhusimmunisierung, I, 231 bis 256.
- Geiger, Wilhelm, Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches mit besonderer Berücksichtigung der durch den Krieg geschaffenen Verhältnisse, III, 1—42.
- Gennerich, Wilhelm (Kiel), Der heutige Stand der Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten im Kriege, II, 286—337.
- Gerlach, F. (Wien-Mödling), Die Schutzimpfung gegen Tuberkulose mit B.C.G. nach Calmette-Guérin, XI, 775—886.
- Gigon, Alfred (Basel), Über rationale Massenernährung, III, 164—220.
- Gins, Heinrich A. (Berlin), Neuere Ergebnisse der Virusforschung unter besonderer Berücksichtigung der Schutzimpfung, XXI, 103—156.
- Gotschlich, Emil (Saarbrücken), Über den jetzigen Stand der Lehre vom Fleckfieber (Flecktyphus), II, 232—285.
- Gottstein, A. (Berlin), Die Seuchenkurve, XVI, 209 bis 225.
- Gottstein, Adolf (Berlin), Rechnende Epidemiologie, X, 189—270.
- Gottstein, Werner (Charlottenburg), Die Encephalitis lethargica, V, 394—474.
- Graetz, Fr. (Hamburg), Über Probleme und Tatsachen aus dem Gebiet der biologischen Spezifität der Organantigene in ihrer Bedeutung für Fragestellungen der normalen pathologischen Biologie, VI, 397 bis 591.
- Groß, H. (Hildesheim), Die Fermente und Giftstoffe der Staphylokokken, XIII, 516—558.
- Groth, A. (München), Die Gewinnung der Schutzpockenlymphe, X, 335—366.
- und H. O. Münsterer (München), Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Vaccination und vaccinalen Immunität, XVII, 1—75.
- Gruber, Georg B. (Innsbruck), Trichinellen, Trichinose u. ihre Abwehr, VIII, 165 bis 265.
- Grumbach, A. (Zürich), Die Lehre von der fokalen Infektion, XV, 442—609.
- Gundel, M. (Heidelberg), Die Bakteriologie, Epidemiologie und spezifische Therapie der Pneumokokkeninfektionen des Menschen, unter besonderer Berücksichtigung der Pneumonie XII, 132—267.
- Die Ursachen des Rückganges der Tuberkulosesterblichkeit und die moderne Tuberkulosebekämpfung XIII, 1—169.
- Haagen, E. (Berlin), Die Züchtung des Variola-Vaccinivirus, XVIII, 193—250.
- Halle, W., und E. Pribram (Wien), Neuere Ergebnisse der Dysenterieforschung, II, 338—375.
- Happe, H., s. Seligmann, E. und H. Happe (Berlin), Stand der aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie, XI, 637—700.
- Haupt, H. (Dresden), Die Bekämpfung der Tuberkulose unter den Rindern, IV, 397—432.
- (Leipzig), Der gegenwärtige Stand der Systematik und Benennung der Bakterien in der medizinischen Bakteriologie, XIII, 641 bis 712.
- (Leipzig), Zur Systematik der Bakterien (Die für Mensch und Tier pathogenen gramnegativen alkalibildenden Stäbchenbakterien), XVII, 175—230.
- Haupt, H. s. Klimmer, M. und H. Haupt (Leipzig), Die Streptokokkenmastitis (der gelbe Galt) der Rinder, XI, 364—446 und 771—774.
- Hayeck, Hermann v. (Innsbruck), Die praktische Bedeutung der Immunität für die Behandlung und Prognose der Tuberkulose, III, 113—163.
- Heine, Wilhelm (Gelsenkirchen), Epidemiologie und Bekämpfung der Ankylostomiasis in der Welt, XXI, 157—268.
- Heinlein, H. (Köln), Morphologische Veränderungen durch parenterale Eiweißzufuhr, XX, 274—348.
- Herzfeld, E., und Klinger (Zürich), Neuere eiweißchemische Vorstellungen in ihren Beziehungen zur Immunitätslehre, IV, 282 bis 309.
- Hesse, Erich, Hygiene im Stellungskriege, II, 1 bis 108.
- Hirszfeld, L. (Warschau), Über die Konstitutionsserologie im Zusammenhang mit der Blutgruppenforschung, VIII, 367—512.
- Hauptprobleme der Blutgruppenforschung in den Jahren 1927—1933, XV, 54—218.
- Huebschmann, P. (Leipzig), Die Ätiologie der Influenza, V, 19—70.
- Jena, Eduard (Berlin), Über die chemische Schutzwirkung der Haut, IX, 564.
- Jungeblut, Claus W. (Stanford U. S. A.), Die Bedeutung des retikuloendothelialen Systems für die Infektion und Immunität, XI, 1—67.
- Jusatz, H. J. (Berlin-Dahlem), Die Beeinflussung des Immunitätszustandes durch Vitamine, XIX, 464—497.
- Kallert, E. (Berlin), Die Konservierung von Fleisch durch Einfrieren, XXII, 308—346.
- Kallós, Paul u. Kallós-Deffner (Uppsala), Die experimentellen Grundlagen der Erkennung und Behandlung der allergischen Krankheiten, XIX, 178—307.
- — Tuberkuloseallergie, XVII, 76—146.

- Kauffmann, E. (Kopenhagen), Die Salmonella-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der Nahrungsmittelvergifter, XV, 219—275.
- Kaznelson, Paul (Prag), Die Grundlagen der Protein-körpertherapie, IV, 249 bis 281
- Kikuth, Walter (Düsseldorf-Elberfeld), Die Bartonellen und verwandte Parasiten bei Mensch und Tieren, XIII, 559—619.
- Kitt, Theodor (München), Leukämien, Lympho- und Myeloblastosen der Säugetiere, XII, 30—41.
- Die Leukomyelose der Hühner, XII, 15—29.
- Klieneberger, E. (Frankfurt), Bakterienpleomorphismus und Bakterienentwicklungsgänge, XI, 499—555.
- Kliewe, H. und G. Weise (Gießen), Die Hygiene der Kleinwohnung, XII, 719 bis 807.
- Klimmer, M., Spezifische Diagnostik, Prophylaxis und Therapie des durch den Bangschen Bacillus verursachten Abortus, I, 143 bis 188.
- (Leipzig), Der neueste Stand der Forschung über das Bangsche Bacterium, XIII, 327—452.
- Beitrag zur Schutz- und Heilimpfung gegen die Tuberkulose, XIV, 1—81.
- und H. Haupt (Leipzig), Die Streptokokkenmastitis (der gelbe Galt) der Rinder, XI, 354—446 u. 771—774.
- Klinger, R. (Zürich), s. a. Herzfeld, E.
- Klobusitzky, D. von (Pécs, Ungarn und Sao Paulo, Brasilien), Theoretische und praktische Grundlagen der Herstellung von konzentrierten Immunsera, XXII, 238—307.
- Klose, F. (Berlin), Über die Ätiologie und spezifische Behandlung der Gasödemerkrankung, IV, 1—20.
- Knorr, M. (Erlangen), Das Koch-Weeksche Bacterium und der Pfeiffersche Influenzabacillus, VI, 350—396.
- Knorr, M. (Erlangen), Die Entwicklung des Vitamingedankens in der Bakteriologie, VII, 641—706.
- Koegel, A. (München), Die Leberegelkrankheit, VIII, 266—310.
- Kohlrausch, W. (Berlin-Charlottenburg), Methodik und Durchführung ärztlicher Untersuchungen zu Sportzwecken, X, 697—732.
- Kollath, W., Biologie der Vitamine und Hormone. Eine Studie über die Unterschiede von Vitaminforschung und Krankheitsforschung, XIV, 382—435.
- (Rostock), Redox-Potentiale, Zellstoffwechsel und Krankheitsforschung, XXI, 269—337.
- Landsteiner, Karl (New York), s. Julius Donath-Wien.
- Lange, B. (Berlin), Die individuelle natürliche Widerstandsfähigkeit als Gestaltungsfaktor der Tuberkulose unter besonderer Berücksichtigung ihrer erblichen Grundlagen, XVIII, 123—192.
- Lange, Bruno (Berlin), Die Infektion auf dem Luftwege durch Tröpfchen und durch Staub, IX, 237.
- Lange, C. (Berlin), Die Serodiagnose der Syphilis mit aktivem Serum, XV, 1—53.
- Lecompte du Noüy, P. (Paris), Les Aspects physico-chimiques de l'Immunité, XV, 304—334.
- Lehmann, G. (Dortmund), Die physiologischen Grundlagen der körperlichen Leistungsfähigkeit, XVII, 307 bis 349.
- Lehmann, Günther (Dortmund), Die Filterung der Atemluft und deren Bedeutung für Staubkrankheiten, XIX, 1—87.
- Lehmann, Walther (Hamburg), Bakteriologie und Klinik der Streptokokkenkrankungen, XI, 220—353.
- Scharlach und seine Beziehungen zur Streptokokken, XII, 640—718.
- Lerche, Martin (Berlin) und Heinz Rievel (Berlin), Die Aufgaben des Tierarztes in der Lebensmittelhygiene, XXI, 1—25.
- Levaditi, C., État actuel de la Bismuthothérapie et de la Bismuthoprévention de la Syphilis, XIV, 297—328.
- Lewin, Carl (Berlin), Der Stand der ätiologischen Krebsforschung, VIII, 513—660.
- (München), VIII, 266—310.
- Löhr, Wilhelm (Kiel), Die Bedeutung der anaeroben Bacillen als Infektionserreger in den Bauchorganen, insbesondere in der Bauchhöhle des erwachsenen Menschen, X, 488—560.
- Loewy, A. (Davos), Der heutige Stand der Physiologie des Höhenklimas, VIII, 311—366.
- Lubinski, Herbert (Breslau), Studie zur Serologie der Influenza, VII, 229—294.
- und Carl Prausnitz (Breslau), Lyssa, VIII, 1—164.
- Maier, K. (Göttingen) siehe Brockmann, H. u. Chemie der Vitamine und Hormone, XX, 155—273.
- Martini, E. (Hamburg), Verbreitung von Krankheiten durch Insekten, VII, 295 bis 542.
- Marxer, A. (Berlin), Die Immunisierung gegen Malleus IV, 383—396.
- Michalka, J. (Wien), Der heutige Stand der Diagnostik und Immunotherapie der Schweinepest, XIX, 127 bis 177.
- Mießner, H. und G. Schoop (Hannover), Gasödeme der Haustiere, XI, 447—498.
- Mikulaszek, E. (Lwów), Bakterielle Polysaccharide, XVII, 415—496.
- Much, Hans (Hamburg), Tuberkulose, Allgemeines über Entstehung und Bekämpfung im Kriege und Frieden, II, 622—667.
- Münsterer, H. O. und A. Groth (München), Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Vaccination und vaccinalen Immunität, XVII, 1—75.
- Munter, Hans, s. Otto.
- Neisser, Max (Frankfurt a. M.) und Franz Eichbaum (Frankfurt a. M.), Die „oligodynamische Metallwirkung“ in Theorie und Praxis, XIII, 170—226.
- Neumann, R. O. (Hamburg), Die animalischen (und vegetabilischen) Nahrungsmittel und ihre Verluste bei der küchentechnischen Zubereitung, X, 1—188.

- Nußbaum, H. Chr. (Hannover), Die technischen und wirtschaftlichen Gesichtspunkte für die Gestaltung der Neusiedelungen und die Herstellung der Neubauten von Heimen und bescheidenen Wohnungen, IV, 329—382.
- Otto, R. (Berlin), Fortschritte der Fleckfieberforschung (Flecktyphus und endemische Fleckfieber, sowie ihnen nahestehende exanthematische Krankheiten), XV, 610—658.
- und G. Blumenthal (Berlin), Über den gegenwärtigen Stand der Serodiagnostik der Lues, XIII, 686—715.
- und Hans Munter (Berlin), Bakteriophagie (d'Herellesches Phänomen), VI, 1 bis 102 und 592—611.
- Peter, F. M. (Leverkusen), Die synthetischen Malariamittel, XIX, 88—126.
- Petruschky, J., Tuberkuloseimmunität, I, 189—218.
- Pfaffenberg, R. (Greifswald), Die Psittacosis (Papageienkrankheit) in den Jahren 1931—1935, XVIII, 250 bis 331.
- Pfannenstiel, W. (Frankfurt a. M.), Zusammenfassende Studie über die Ergebnisse der Serodiagnostik der Tuberkulose und Lepra (Agglutination, Präzipitation und Komplementbindung), VI, 103—232.
- Pfeiffer, R., Das Influenzaproblem, V, 1—18.
- Pfeiler, W. (Bromberg), Durch Paratyphaceen bedingte Tierkrankheiten, III, 289.
- Poppe, Kurt (Charlottenburg), Neue Ergebnisse der Milzbrandforschung und Milzbrandbekämpfung, V, 597 bis 697.
- Prausnitz, Carl (Breslau), s. Lubinski.
- Die Standardisierung von Heilseren, serologischen Reaktionen und Impfstoffen, X, 271—334.
- Pribram, E., und W. Halle (Wien), Neuere Ergebnisse der Dysenterieforschung, II, 338—375.
- Prigge, R. (Frankfurt a. M.), Diphtherie-Schutzimpfung mit hochaktiven Impfstoffen, XXII, 1—68.
- Radochla, Raimund (Berlin), Die Verbreitung des Typhus und des Paratyphus durch das Wasser (1845 bis 1936), XXI, 46—102.
- Redetzky, Hermann (Berlin), Die verschiedenen Theorien über Entstehung und Erlöschen von Seuchen vom Standpunkt der öffentlichen Gesundheitspflege, XII, 465—528.
- Reuter, M. (Nürnberg), Tierseuchen und sporadische Tierkrankheiten im Kriege, II, 668—747.
- Rievel, H. u. M. Lerche (Berlin), Die Aufgaben des Tierarztes in der Lebensmittelhygiene, XXI, 1—25.
- Rigler, R. (Frankfurt a. M.), Über körpereigene Wirkstoffe, XVI, 74—98.
- Rothacker, A., Über den neuesten Stand der biochemischen Methoden zum Nachweise parenteraler Verdauungsvorgänge (Abderhaldensche Reaktion, Weichardtsche Reaktion und E. Rosenthals Serumdiagnose der Schwangerschaft), I, 423—459.
- Rott, F., Geburtenhäufigkeit, Säuglingssterblichkeit und Säuglingsschutz in den ersten beiden Kriegsjahren, II, 561—621.
- Ruge, H. (Kiel) u. E. Röper (Altona), Der heutige Stand der Chagaskrankheit mit besonderer Berücksichtigung der Epidemiologie und der Übertragungsversuche auf Säugetiere, XIX, 352—463.
- Sachs, H. (Heidelberg), Antigenstruktur und Antigenfunktion, IX, 1.
- Sander, Fritz (Rostock), Die atypischen Bakterienformen unter besonderer Berücksichtigung des Problems bakterieller Generationswechselvorgänge, XXI, 338 bis 493.
- Schallmayer, W., Einführung in die Rassenhygiene, II, 433—532.
- Schilling, Claus (Berlin), Spirochäten- und Protozoenkrankheiten und ihre gegenseitigen Beziehungen, IX, 124.
- Schlüter, W. (Marburg), Der Keuchhustenbacillus
- BORDET-GENGOU und das Keuchhustenproblem, XVIII, 1—57.
- Schmidt, Richard (Nürnberg), Darstellung und chemischer Nachweis einiger kreislaufwirksamer Stoffe, XVI, 99—120.
- Schmitt, Hans, Kritische Zusammenfassung der Arbeiten über Hitzedesinfektion aus den Jahren 1914 bis 1919, IV, 310—328.
- Schnell, Walter (Halle), Die Hygiene im modernen Volksschulhausneubau, XI, 701—770.
- Schnitzer, R. (Frankfurt a. M.), Die spezifische Arzneifestigkeit der pathogenen Mikroorganismen, XIII, 227—326.
- Schnürer, Josef und Hans David (Wien), Die Schutzimpfung der Hunde gegen Wut, XI, 556—636.
- Schoop, G., s. Mießner, H. und G. Schoop (Hannover), Gasödemie der Haustiere, XI, 447—498.
- Schrader, E. (Erlangen), Neuere epidemiologische Erfahrungen auf dem Gebiete der Typhus- und Diphtherieausbreitung durch den bacillenausscheidenden Menschen, III, 43—112.
- Schreiber, H., Über die Bedeutung von Schwefel in Form von SH- bzw. SS-Gruppen enthaltenden Stoffen für den Organismus, XIV, 271—296.
- Schubert, Hans (Königsberg i. Pr.), Über bakterielle Absterbekurven, XXII, 69 bis 137.
- Schultz, Edwin W. (Stanford-University, U. S. A.), Die antigenen Eigenschaften der ultravisiblen Virusarten, IX, 184.
- Schweinburg, F. (Wien), Neuere Ergebnisse der Tollwutforschung, XX, 1—154.
- Seiffert, G., Hygiene der Kriegsgefangenen in Deutschland, II, 166—231.
- Seiser, Adolf (Halle a. d. S.), Abwasserreinigung mit belebtem Schlamm, IX, 343.
- Seligmann, E. und H. Happe (Berlin), Stand der aktiven Schutzimpfung gegen Diphtherie, XI, 637—700.

- Simonson, Ernst (Frankfurt a. M.), Der heutige Stand der Physiologie des Gesamtstoffwechsels, IX, 385.
- Sleeswijk, J. G., Die Spezifität. Eine zusammenfassende Darstellung, I, 395 bis 406.
- und W. M. M. Pilaar, Die Hygiene des Kraftfahrzeugwesens, XIV, 329—375.
- Sobernheim, G. (Bern), Die neueren Anschauungen über das Wesen der Variola- und Vaccinimmunität, VII, 133—183.
- Solbrig (Breslau), Übersicht über den jetzigen Stand der Schulgesundheitspflege mit besonderer Berücksichtigung der durch den Krieg geschaffenen Verhältnisse, III, 221—288.
- Solbrig (Breslau), Übersicht über die bei uns beobachteten Kriegsseuchen, im besonderen die Bekämpfungsmaßnahmen, V, 751—790.
- Standfuß, Richard (Potsdam), Die Tierparatyphosen, XV, 659—755.
- Steiner, Gabriel (Heidelberg), Krankheitserreger und Gewebefund bei multipler Sklerose. Vergleichend-histologisch-parasitologische Untersuchungen bei multipler Sklerose und anderen Spirochäten, XII, 268 bis 464.
- Süpfle, Karl, Das Wesen des Impfschutzes im Lichte der neueren Forschungen, I, 407—422.
- Tandler, Julius, Krieg und Bevölkerung, II, 533 bis 560.
- Teleky, Ludwig (Düsseldorf), Englische und amerikanische Untersuchungen über Temperatur und Feuchtigkeit und deren Einfluß auf den Menschen, mit besonderer Berücksichtigung von gewerblichen und Bergwerksbetrieben, IX, 295.
- Trautwein, Karl (Insel-Riems), Maul- und Klauenseuche, X, 561—696.
- Ulsamer, Otto (Erlangen), Die Chlorung des Trink- und Abwassers, VIII, 661 bis 725.
- Vaughan, Victor C., Die Phänomene der Infektion, I, 372—394.
- Wätjen, J. und Kl. Wasmuth (Halle a. S.), Über das Vorkommen von Influenzabacillen in epidemiefreier Zeit am laufenden Sektionsgut während eines Jahres, XXII, 138—167.
- Wasielewski, Th. v. (Rostock), Fortschritte der Coccidienforschung, VI, 305—349.
- und W. F. Winkler (Rostock), Das Pockenvirus, VII, 1—132.
- Wasmuth, Kl. s. J. Wätjen (Halle a. S.).
- Weichardt, Wolfgang (Erlangen), Die Leistungssteigerung als Grundlage der Proteinkörpertherapie, V, 275—328.
- (Wiesbaden): Über die Grundlagen der unspezifischen Therapie, XVI, 1—73.
- Weisbach, W., Ergebnisse physikalisch-chemischer Untersuchungen beim serologischen Luesnachweis, VII, 616—640.
- Weise, G., s. Kliewe, H. und G. Weise (Gießen), Die Hygiene der Kleinwohnung, XII, 719—807.
- Werner, H., Über den gegenwärtigen Stand der Quintanaforschung, III, 378 bis 390.
- Winkler, W. F., s. Th. v. Wasielewski.
- Winterstein, A. und K. Schön, Chemie der Vitamine und Hormone, XIV, 436—537.
- Wolff, Georg (Berlin), Die Theorie, Methodik und Fehlerquellen der Weil-Felixschen Reaktion, V, 532—596.
- Zeiss, Heinz (Berlin), Typhus, Boden und Wasser, XXI, 26—45.
- Zeiss, Heinz (Hamburg), Das Bacterium vulgare (Proteus) Hauser, Diagnose u. menschenpathogenes Verhalten, V, 698—750.
- Zernik, F., Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiete der schädlichen Gase und Dämpfe, XIV, 139—270.
- Zipf, K. (Königsberg i. Pr.), Körper eigene Wirkstoffe (Histamin und Acetylcholin), XX, 349—381.
- Zironi, A., Die Theorie der spezifischen Überempfindlichkeit bei Infektionen, XIV, 561—617.
- (Mailand), Über die spezifische Überempfindlichkeit bei bösartigen Geschwülsten, XVII, 147 bis 174.
- Zlocisti, Theodor (Berlin-Südende), Epidemiologie und Diagnostik des Fleckfiebers (Die Weil-Felixsche Reaktion), IV, 100—203.

B. Sachverzeichnis.

- Abdominaltyphus, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 388—394.
- Abfallstoffe, Beseitigung ders. im Felde und Trinkwasserversorgung, Th. Fürst (München), II, 109—142.
- Abortus, spezifische Diagnostik, Prophylaxis und Therapie des durch den Bangschen Bacillus verursachten, M. Klimmer, I, 143 bis 188.
- Absterbekurven, Über bakterielle, Hans Schubert (Königsberg/Pr.), XXII, 69—137.
- Abwasserchlorung, s. Chlorung.
- Abwasserreinigung mit belebtem Schlamm, A. Seiser, IX, 343.
- Acetylcholin:
— Histamin und — körpereigene Wirkstoffe, K. Zipf (Königsberg i. Pr.), XX, 349—381.
- Adenosintri-phosphorsäure, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Agglutination bei Tuberkulose und Lepra, s. Serodiagnostik.
- Allergie, s. Tuberkuloseallergie, P. Kallós und L. Kallós-Deffner (Uppsala), XVII, 76—146.
- Allergische Krankheiten, kritische Übersicht der Forschungen über, Arthur F. Coca (New York), XIV, 538—560.

- Allergische Krankheiten, experimentelle Grundlagen der Erkennung und Behandlung, P. Kallós und L. Kallós-Deffner (Uppsala), XIX, 178—307.
- Allergische Reaktion durch bakterielle Polysaccharide, s. Polysaccharide.
- Amöben, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 326.
- Anaerobe Wundinfektionen, Eug. Fraenkel, II, 376 bis 433.
- Anaphylaxieforschung, neuere Ergebnisse, R. Doerr, I, 257—371.
- Anaphylaxieforschung von 1914—1921, R. Doerr (Basel), V, 71—274.
- Animalische Nahrungsmittel und ihre Verluste bei der küchentechnischen Zubereitung, R. O. Neumann (Hamburg), X, 1—188.
- Ankylostomiasis, Epidemiologie und Bekämpfung in der Welt, W. Heine (Gelsenkirchen), XXI, 157 bis 268.
- Antigene, s. Organantigene.
- Antigene Eigenschaften der ultravisiblen Virusarten, E. Schultz, IX, 184.
- Antigeneigenschaften bakterieller Polysaccharide, s. Polysaccharide.
- Antigenfunktion und Antigenstruktur, H. Sachs, IX, 1.
- Antigenstruktur und Antigenfunktion, H. Sachs, IX, 1.
- Antikörper, Die experimentelle Erzeugung von —, insbesondere von komplexbindenden Antikörpern im Blut und Liquor von Kaninchen, G. Blumenthal (Berlin), XV, 276 bis 303.
- Antikörperbildung, s. Variola- und Vaccineimmunität, G. Sobernheim (Bern), VII, 153—163.
- Arbeit s. Leistungsfähigkeit.
- Arzneifestigkeit, Die spezifische — der pathogenen Mikroorganismen, R. Schnitzer (Frankfurt a.M.), XIII, 227—326.
- Ascorbinsäure, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Aspects physico-chimiques de l'immunité, P. Lecomte du Noüy (Paris), XV, 304 bis 334.
- Atemluft, Filterung und deren Bedeutung für Staubkrankheiten, G. Lehmann, XIX, 1—87.
- Atmungsferment: — „zweites“ (Warburg), s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Augenerkrankungen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 363—364.
- Bacillen, Die Bedeutung der anaeroben — als Infektionserreger in den Bauchorganen, insbesondere in der Bauchhöhle des erwachsenen Menschen, W. Löhr (Kiel), X, 488—560.
- Bacillenausscheider, Typhus- und Diphtherieausbreitung durch dies., E. Schrader (Erlangen), III, 43—112.
- Bacterium vulgare (Proteus) Hauser, Diagnose und menschenpathogenes Verhalten, Heinz Zeiß (Hamburg), V, 698—750.
- Bakterielle Erkrankungen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 378—407, 419.
- Bakterielle Polysaccharide, E. Mikulaszek (Lwów), XVII, 415—496.
- Bakterien, s. a. Mikroorganismen.
- Mutationen bei, und anderen Organismen, Philipp Eisenberg, I, 28—142.
- akzessorische Stoffe für, M. Knorr (Erlangen), VII, 660—698.
- hämophile, M. Knorr (Erlangen), VII, 675—689.
- Der gegenwärtige Stand der Systematik und Benennung der —, H. Haupt (Leipzig), XIII, 641—685.
- Zur Systematik der —, H. Haupt (Leipzig), XVII, 175—230.
- Bakterienformen, Die atypischen — unter besonderer Berücksichtigung des Problems bakterieller Generationswechselvorgänge, F. Sander (Rostock), XXI, 338—493.
- Bakterienpleomorphismus und Bakterienentwicklungsgänge, E. Klieneberger (Frankfurt), XI, 499—555.
- Bakteriologie und Klinik der Streptokokkenkrankungen, Walther Lehmann (Hamburg), XI, 220—353.
- Bakteriophagie (d'Hérellesches Phänomen), Richard Otto und Hans Munter (Berlin), VI, 1—102.
- Nachtrag, VI, 592—611.
- Bandwürmer, s. Würmer.
- Bang-Infektion des Menschen, K. Böhmer (Kiel), XIII, 453—515.
- Bangsche Bacterium, Der neueste Stand der Forschung über das —, Martin Klimmer (Leipzig), XIII, 327—452.
- Bartonellen und verwandte Parasiten bei Mensch und Tieren, Walter Kikuth (Düsseldorf-Elberfeld), XIII, 559—619.
- Bauchhöhle, Die Bedeutung der anaeroben Bacillen als Infektionserreger in den Bauchorganen, insbesondere in der — des erwachsenen Menschen, W. Löhr (Kiel), X, 488—560.
- Bauchorgane, s. Bauchhöhle.
- Bergwerksbetriebe, s. Temperatur und Feuchtigkeit, IX, 295.
- Beschälseuche, Hans Dahmen (Berlin), VI, 233 bis 280.
- Bevölkerung, Krieg und, Julius Tandler (Wien), II, 533—560.
- Blattern, Infektionsweg bei den, und das Krisen des Variola-Vaccinevirus im Körper, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 51—59.
- Blut, s. Influenza, Serologie der, Herbert Lubinski, VII, 277—281.
- s. Kältehämoglobinurie, Julius Donath und Karl Landsteiner, VII, 184—228.
- Blutflagellaten, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 326—349.
- Blutgruppenforschung, s. Konstitutionsserologie.
- Boden und Wasser, Typhus, H. Zeiss (Berlin), XXI, 26—45.
- Botulismus, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 369.
- Calmette-Guérinsche Schutzimpfung, s. Tuberkulose-schutzimpfung.
- Carcinom, s. a. Geschwülste.
- Carrionsche Krankheit, s. Veruga peruviana.

- Cerebrospinalmeningitis, epidemische, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 405—406.
- Chagaskrankheit, heutiger Stand mit besonderer Berücksichtigung der Epidemiologie und der Übertragungsversuche auf Säugtiere, H. Ruge (Kiel) u. E. Röper (Altona), XIX, 352—463.
- Chemie der Vitamine und Hormone, H. Brockmann und K. Maier (Göttingen), XX, 155—273.
- Chemotherapie in der Veterinärmedizin, Walter Frei und Robert Ackeret, III, 336—377.
- Fortschritte der —, V. Fischl (Prag), XVII, 350 bis 414.
- Chlorung des Trink- und Abwassers, Otto Ulsamer (Erlangen), VIII, 661—725.
- Cholera, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 394—395.
- Coccidienforschung, Fortschritte der, Th. v. Wasielewski (Rostock), VI, 305 bis 349.
- CO-Ferment der Milchsäureoxydation, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Colibacillen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 394.
- Cytochrom, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Darmflagellaten, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 326.
- Denguefieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 360—361.
- Dermovaccine, Neuro- und, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 43—47.
- Desinfektion, Improvisation ders. im Felde, Th. Fürst (München), II, 143—165.
- Desinfektion, s. a. Hitzedesinfektion.
- D'Herellesches Phänomen, Richard Otto und Hans Munter (Berlin), VI, 1—102.
- Nachtrag, VI, 592—611.
- Diagnostik und Immunotherapie der Schweinepest, heutiger Stand, J. Michalka (Wien) XIX, 127—177.
- Diphtherie, Epidemiologie der — und aktive Schutzimpfung, Th. J. Bürgers (Königsberg), XVII, 231 bis 306.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 404.
- Diphtherieausbreitung durch den bacillenausscheidenden Menschen, neuere epidemiologische Erfahrungen, E. Schrader (Erlangen), III, 43—112.
- Diphtheriebacillen, s. Bakterien.
- Diphtherieschutzimpfung, aktive, E. Seligmann und H. Happe (Berlin), XI, 637—700.
- mit hochaktiven Impfstoffen, R. Prigge (Frankfurt a. M.), XXII, 1—68.
- Disposition für Impftumoren, s. Geschwülste.
- Dourine, s. Beschälseuche.
- Dysenterieforschung, neuere Ergebnisse der, E. Pribram und W. Halle (Wien), II, 338—375.
- Einfrieren, Die Konservierung von Fleisch durch —, E. Kallert (Berlin), XXII, 308—346.
- Einschlußkörperchen: — Virusarten, filtrierbare s. d.
- Eitererreger, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 406—407.
- Eiweißchemische Vorstellungen, neuere, in ihren Beziehungen zur Immunitätslehre, E. Herzfeld und R. Klinger (Zürich), IV, 282 bis 309.
- Eiweißkörper, Wirksame, und Peptide, W. Dirscherl (Frankfurt a. M.), XXII, 347—379.
- Eiweißtherapie, s. Unspezifische Therapie.
- Eiweißzufuhr, morphologische Veränderungen durch parenterale —, H. Heinlein (Köln), XX, 274—348.
- Elementarkörperchen: — Virusarten, filtrierbare s. d.
- Encephaliden, Neuere Arbeiten über — bei Tieren, W. Ernst, XII, 1—14.
- Encephalitis lethargica, Werner Gottstein (Charlottenburg), V, 394—474.
- Epidemiologie der Diphtherie und aktive Schutzimpfung, Th. J. Bürgers (Königsberg), XVII, 231—306.
- rechnende, A. Gottstein (Berlin), X, 189—270.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 435—460.
- und Bekämpfung der Ankylostomiasis in der Welt, W. Heine (Gelsenkirchen), XXI, 157—268.
- Epitheliosis desquamativa, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 363.
- Fermente und Giftstoffe der Staphylokokken, H. Groß (Hildesheim), XIII, 516 bis 558.
- Feuchtigkeit und Temperatur, Einfluß der, auf den Menschen, L. Teleky, IX, 295.
- Fiebertherapie, s. Unspezifische Therapie.
- Filarien, s. Würmer.
- Filterable viruses, The in vitro cultivation of — —, G. Hardy Eagles (London), XIII, 620—640.
- Fleckfieber, Epidemiologie und Diagnostik, Theodor Zlocisti (Berlin-Südende), IV, 100—203.
- Über den jetzigen Stand der Lehre vom, Emil Gottschlich (Saarbrücken), II, 232—285.
- Weil-Felixsche Reaktion, s. Weil-Felixsche Reaktion.
- Fleckfieberforschung, Fortschritte der —, R. Otto (Berlin), XV, 610—658.
- Flecktyphus, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 371—375.
- Fleisch, Die Konservierung von — durch Einfrieren, E. Kallert (Berlin), XXII, 308—346.
- Fleischvergiftung, Paratyphus — und ihre Beziehungen zu einander, Gerhard Elkeles (Berlin-Charlottenburg), XI, 68—219.
- Flußfieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 417.
- Fortschritte der Fleckfieberforschung, R. Otto (Berlin), XV, 610—658.
- Frambösie, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 355.

- Fünftagefieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 375—378.
- s. Quintanaforschung.
- Fürsorgebestrebungen, sozialhygienische, E. G. Dresel (Heidelberg), V, 791—876.
- Galt, Der gelbe — der Rinder, s. Streptokokkenmastitis.
- Gasbrand, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch E. Martini, VII, 405.
- s. Wundinfektionen.
- Gase und Dämpfe, schädliche, F. Zernik (Würzburg), XIV, 139—270.
- Gasödeme der Haustiere, H. Mießner und G. Schoop (Hannover), XI, 447—498.
- Gasödemerkrankung Ätiologie und spezifische Behandlung, F. Klose (Berlin), IV, 1—20.
- Geburtenhäufigkeit, Säuglingssterblichkeit und Säuglingsschutz in den ersten beiden Kriegsjahren, F. Rott, II, 561—621.
- Gelbfieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 356—359.
- Generationswechselfvorgänge, Problem bakterieller —, F. Sander (Rostock), XXI, 338—493.
- Gesamtstoffwechsels, der heutige Stand der Physiologie des, E. Simonson, IX, 385.
- Geschlechtskrankheiten, Fortschritte im Kampfe gegen — unter besonderer Berücksichtigung bevölkerungspolitischer Gesichtspunkte, J. Breger (Berlin), XVIII, 58—122.
- im Kriege, heutiger Stand ihrer Bekämpfung, Wilhelm Gennerich (Kiel), II, 286—337.
- Geschwülste, bösartige, Bedeutung des Stoffwechsels für die Entstehung, Prophylaxe und Therapie, G. Domagk (Wuppertal) XIX, 308—351.
- bösartige, Über die spezifische Überempfindlichkeit, A. Zironi (Mailand), XVII, 147—174.
- s. a. Krebsforschung.
- Gesetzmäßigkeiten, Die — der menschlichen Lebensdauer, K. Freudenberg (Berlin), XV, 335—441.
- Giftstoffe, Fermente und — der Staphylokokken, H. Groß (Hildesheim), XIII, 516—558.
- Gliederfüßler, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 306—308.
- Gonokokken, s. Bakterien.
- Gruppenforschung in der Pathologie, s. Konstitutionsserologie.
- Hämoglobinurie, s. Kälte-hämoglobinurie, Julius Donath und Karl Landsteiner, VII, 184—228.
- s. Marschhämoglobinurie, VII, 220—221.
- paralytische, VII, 221.
- Haemopoietin, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Hauptprobleme der Blutgruppenforschung in den Jahren 1927—1933, L. Hirszfeld (Warschau), XV, 54 bis 218.
- Haustiere, Gasödeme der —, H. Mießner und G. Schoop (Hannover), XI, 447—498.
- Haut, chemische Schutzwirkung der, E. Jena, IX, 564.
- Hautkrankheiten, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 407.
- Hefezellen, Vitaminbedarf der, M. Knorr (Erlangen), VII, 651—660.
- Heilsera, Standardisierung von —, serologischen Reaktionen und Impfstoffen, C. Prausnitz (Breslau), X, 271—334.
- Heime, Neubauten ders., technische und wirtschaftliche Gesichtspunkte, s. Neusiedelungen.
- Herelle, s. Bakteriophagie.
- Hexosederivate, s. Wirkstoffe, körpereigene.
- Histamin:
- Behandlung mit, s. Unspezifische Therapie.
- und Acetylcholin, K. Zipf (Königsberg i. Pr.), XX, 349—381.
- Hitzedesinfektion, Kritische Zusammenfassung der Arbeiten aus den Jahren 1914—1919 über, Hans Schmitt (München), IV, 310—328.
- Höhenklima und seine Physiologie, A. Loewy (Davos), VIII, 311—366.
- Hormone, Biologie der Vitamine und, Werner Kollath (Breslau), XIV, 382—435.
- Chemie der Vitamine und H. Brockmann und K. Maier (Göttingen), XX, 155—273.
- — Winterstein u. Schön (Heidelberg), XIV, 436 bis 537.
- Hundwut, s. Lyssa.
- Hygiene im modernen Volksschulhausneubau, Walter Schnell (Halle), XI, 701 bis 770.
- im Stellungskriege, Erich Hesse, II, 1—108.
- soziale, Fürsorgebestrebungen, s. diese.
- Hygienisches Laboratorium des „United Staates Public Health Service“, seine wissenschaftliche Tätigkeit, J. G. Fitzgerald, I, 1—27.
- Icterus infectiosus, s. a. Weilsche Krankheit.
- Immunsierung gegen Diphtherie, s. Schutzimpfung.
- gegen Malleus, A. Marxer, IV, 383—bis 396.
- Immunität bei bösartigen Geschwülsten, siehe Geschwülste.
- Die Bedeutung des retikuloendothelialen Systems für die Infektion und —, Claus W. Jungeblut, XI, 1—67.
- praktische Bedeutung derselben für die Prognose und Behandlung der Tuberkulose, Hermann v. Hayek (Innsbruck), III, 113—163.
- s. Rotz, Hans Dahmen (Berlin), VII, 578—579.
- s. Tuberkuloseallergie, P. Kallós und L. Kallós-Defner (Uppsala), XVII, 76—146.
- vaccinale und Vaccination, Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der, A. Groth und H. O. Münsterer (München), XVII, 1—75.
- s. Variola- und Vaccineimmunität, G. Sobernheim (Bern), VII, 133—183.
- Vererbung der, s. Variola- und Vaccineimmunität, G. Sobernheim, VII, 166 bis 169.
- Immunitätslehre, Neuere, eivweiß-chemische Vorstellungen in ihren Beziehungen zur, E. Herzfeld und R. Klinger (Zürich), IV, 282—309.

- Immunitätszustand, Beeinflussung durch Vitamine, H. J. Jusatz (Berlin-Dahlem) XIX, 464—497.
- Immunotherapie und Diagnostik der Schweinepest, heutiger Stand, J. Michalka (Wien) XIX, 127—177.
- Immunsera, Theoretische und praktische Grundlagen der Herstellung von konzentrierten —, D. v. Klobutzky (Pécs, Ungarn und Sao Paulo, Brasilien), XXII, 238—307.
- Impfschutz, sein Wesen im Lichte der neueren Forschungen, Karl Süpfle, I, 407—422.
- Impfstoff, Desinfektion des, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 71—83.
- Virulenzprüfung des, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 83—87.
- Impfstoffbereitung, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 59—87.
- Impfstoffe, Die Standardisierung von Heilsenen, serologischen Reaktionen und —, C. Prausnitz (Breslau), X, 271—334.
- hochaktive, Diphtherieschutzimpfung mit —, R. Prigge (Frankfurt a. M.), XXII, 1—68.
- Infektion auf dem Luftwege durch Tröpfchen und Staub, B. Lange, IX, 237.
- Die Bedeutung des retikuloendothelialen Systems für die — und Immunität, Claus W. Jungeblut, XI, 1—67.
- Die Lehre von der fokalen —, A. Grumbach (Zürich), XV, 442—609.
- die Phänomene der, Victor C. Vaughan, I, 372—394.
- Infektionen, s. Überempfindlichkeit.
- Infektionserreger, Die Bedeutung der anaeroben Bacillen als — in den Bauchorganen, insbesondere in der Bauchhöhle des erwachsenen Menschen, W. Löhr (Kiel), X, 488—560.
- Infektionskrankheiten, s. Chemotherapie, Fortschritte der —.
- Infektionstherapie, s. Unspezifische Therapie.
- Influenza, Serologie der, Herbert Lubinski, VII, 229 bis 294.
- Influenzaätiologie (s. a. Influenzaproblem), P. Huebschmann (Leipzig), V, 19—70.
- Influenzabacillen, Über das Vorkommen von — in epidemiefreier Zeit am laufenden Sektionsgut während eines Jahres, J. Wätjen und Kl. Wasmuth (Halle a. S.), XXII, 138—167.
- Influenzaproblem, R. Pfeiffer (Breslau), V, 1—18.
- Influenzavaccine, s. Influenza, Serologie der, Herbert Lubinski, VII, 288—290.
- Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini (Hamburg), VII, 295—542.
- Kala-Azar, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 334—343.
- Kältehämoglobinurie, Julius Donath und Karl Landsteiner, VII, 184—228.
- Kaninchenhornhaut, s. Vaccineeepitheliose.
- s. Variolaepitheliose.
- Keuchhustenbacillus Bordet-Gengou und das Keuchhustenproblem, W. Schlüter (Marburg), XVIII, 1 bis 57.
- Kleinwohnung, Die Hygiene der —, H. Kliewe und G. Weise, XII, 719—807.
- Koch-Weeks-Bacillen: — s. Influenza, Serologie der, Herbert Lubinski, VII, 276—277.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 364.
- Koch-Weeksches Bacterium und der Pfeiffersche Influenzabacillus, M. Knorr (Erlangen), VI, 350—396.
- Körpereigene Wirkstoffe (Histamin und Acetylcholin), K. Zipf (Königsberg i. Pr.), XX, 349—381.
- Komplementbindung bei Tuberkulose und Lepra, s. Serodiagnostik.
- s. Influenza, Serologie der, Herbert Lubinski, VII, 281—288.
- Konservierung von Fleisch durch Einfrieren, E. Kallert (Berlin), XXII, 308 bis 346.
- Konstitutionsserologie im Zusammenhang mit der Blutgruppenforschung, L. Hirsfeld (Warschau), VIII, 367 bis 512.
- Kraftfahrwesen, Hygiene des, Sleeswijk u. Pilaar (Delft), XIV, 329—375.
- Krankheiten, allergische, experimentelle Grundlagen der Erkennung und Behandlung, P. Kallós u. L. Kallós-Deffner, XIX, 178 bis 307.
- Krankheitsforschung, Redox-Potentiale, Zellstoffwechsel und —, W. Kollath (Rostock), XXI, 269 bis 337.
- Kratzer, s. Würmer.
- Krebsforschung, Stand der ätiologischen, Carl Lewin (Berlin), VIII, 513—660.
- Kreislaufwirksame Stoffe: — Darstellung und chemischer Nachweis, Richard Schmidt (Nürnberg), XVI, 99—120.
- Krieg und Bevölkerung, Julius Tandler (Wien), II, 533—560.
- Geburtenhäufigkeit, Säuglingssterblichkeit u. Säuglingsschutz in den ersten beiden Kriegsjahren, F. Rott (Berlin), II, 561—621.
- Kriegsgefangene in Deutschland, Hygiene ders., G. Seiffert, II, 166—231.
- Kriegsseuchen, Übersicht über die bei uns beobachteten, im besonderen die Bekämpfungsmaßnahmen, O. Solbrig (Breslau), V, 751—790.
- Kuhpockenerreger, Menschen- und, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 33—36.
- Lebensdauer, Die Gesetzmäßigkeiten der menschlichen —, K. Freudenberg (Berlin), XV, 335—441.
- Lebensmittelhygiene, Aufgaben des Tierarztes in der —, M. Lerche (Berlin) und H. Rievel (Berlin), XXI, 1—25.
- Leberegelkrankheit, A. Koege (München), VIII, 266 bis 310.

- Lehre, Die — von der fokalen Infektion, A. Grumbach (Zürich), XV, 442—609.
- Leistungsfähigkeit, körperliche, physiologische Grundlagen der —, G. Lehmann (Dortmund), XVII, 307—349.
- Leistungssteigerung als Grundlage der Proteinkörpertherapie, Wolfgang Weichardt (Erlangen), V, 275 bis 328.
- Lepra, Serodiagnostik (Agglutination, Präzipitation und Komplementbindung): s. Serodiagnostik.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 400—404.
- Leukämien, Lympho- und Myeloblastosen der Säugetiere, Theodor Kitt, XII, 30—41.
- Leukomyelose der Hühner, Theodor Kitt, XII, 15—29.
- Lues, s. a. Syphilis.
- Über den augenblicklichen Stand der Serodiagnostik der —, R. Otto (Berlin) und G. Blumenthal (Berlin), XIII, 686—715.
- Luesnachweis, serologischer, W. Weisbach (Halle), VII, 616—640.
- Lungenebel, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 414.
- Lungenseuche des Rindviehs, Hans Dahmann (Berlin), VI, 281—304.
- Lymphhe, bakteriologische Untersuchung der, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 69—71.
- Lymphoblastosen, Leukämien, und Myeloblasten der Säugetiere, Theodor Kitt, XII, 30—41.
- Lysin, bakteriophages, s. Bakteriophagie.
- im Hämoglobinurieblute, s. Kältehämoblobinurie, Julius Donath und Karl Landsteiner, VII, 187—190.
- Lyssa, Herbert Lubinski und Carl Prausnitz (Breslau), VIII, 1—164.
- Malaria und malariaähnliche Erkrankungen (Pappataci und Recurrens), Epidemiologie, Diagnose und Prophylaxe, Th. Fürst (München), IV, 204—248.
- Malaria, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 308—325.
- Malariabehandlung der progressiven Paralyse, s. Unspezifische Therapie.
- Malariamittel, synthetische, F. M. Peter, XIX, 88—126.
- Malleinreaktion, s. Rotz, Hans Dahmen (Berlin), VII, 559 bis 562.
- Malleus, Immunisierung gegen, A. Marxer, IV, 383 bis 396.
- Maltafieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 405.
- Massenernährung, rationelle, Alfred Gigon (Basel), III, 164—220.
- Maul- und Klauenseuche, K. Trautwein (Insel-Riems), X, 561—696.
- Medinawurm, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 413—414.
- Meningokokken, s. Bakterien.
- Metalltherapie, s. Unspezifische Therapie.
- Metallwirkung, Die „oligodynamische —“ in Theorie und Praxis, Max Neisser (Frankfurt a. M.) und Franz Eichbaum (Frankfurt a. M.), XIII, 170—226.
- Mikroorganismen, s. a. Bakterien.
- Die spezifische Arzneifestigkeit der pathogenen — R. Schnitzer (Frankfurt a. M.), XIII, 227—326.
- Milzbrand, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 399—400.
- Milzbrandforschung und Milzbrandbekämpfung, neue Ergebnisse, Kurt Poppe (Charlottenburg), V, 597 bis 697.
- Morphologische Veränderungen durch parenterale Eiweißzufuhr, H. Heinlein (Köln), XX, 274—348.
- Multiple Sklerose, Krankheits-erreger und Gewebefund bei — —. Vergleichend-histologisch-parasitologische Untersuchungen bei — — und anderen Spirochätosen, Gabriel Steiner, XII, 268—464.
- Mutationen bei Bakterien und anderen Mikroorganismen, Philipp Eisenberg, I, 28 bis 142.
- Myeloblastosen, Leukämien, Lymphoblastosen und — der Säugetiere, Theodor Kitt, XII, 30—41.
- Nahrungsmittel, Die animalischen (und vegetabilischen) — und ihre Verluste bei der küchentechnischen Zubereitung, R. O. Neumann (Hamburg), X, 1—188.
- Nahrungsmittelvergifter, Die Salmonella-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der —, F. Kauffmann (Kopenhagen), XV, 218 bis 275.
- Neuro- und Dermovaccine, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 43—47.
- Neusiedlungen, Die technischen und wirtschaftlichen Gesichtspunkte für die Gestaltung ders. und die Herstellung der Neubauten von Heimen und bescheidenen Wohnungen, H. Chr. Nußbaum (Hannover), IV, 329—382.
- Ödem, malignes, s. Gasödemerkrankung, Wundinfektionen.
- Omegastoff, s. Wirkstoffe körpereigene.
- Organantigene und ihre biologische Spezifität in ihrer Bedeutung für Fragestellungen der normalen und pathologischen Biologie, Probleme und Tatsachen, Friedrich Graetz (Hamburg), VI, 397—591.
- Orientbeule, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 344—349.
- Papageienkrankheit in den Jahren 1931—1935, R. Pfaffenberg (Greifswald), XVIII, 250—331.
- s. Psittacosis.
- Pappataciefieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 361—363.
- s. Malaria.
- Paralyse, progressive: — Malariabehandlung, s. Unspezifische Therapie.
- Parasiten, s. a. Bartonellen.

- Paratyphaceen-Tierkrankheiten, W. Pfeiler (Bromberg), III, 289—335.
- Paratyphus, Fleischvergiftung und ihre Beziehungen zu einander, Gerhard Elkeles (Berlin-Charlottenburg), XI, 68—219.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 394.
- Typhus und —, Verbreitung durch das Wasser (1845—1936), R. Rodachla (Berlin), XXI, 46—102.
- Parenterale Verdauungsvorgänge, s. Verdauungsvorgänge, Organantigene.
- Pellagra, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 370—371.
- Peptide, Wirksame Eiweißkörper und —, W. Dirscherl (Frankfurt a. M.), XXII, 347—379.
- Peripneumonie des Rindviehs, s. Lungenseuche.
- Persucht, s. a. Rindertuberkulose.
- Pest, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 378—387.
- Pfeiffers Influenzabacillus u. das Koch-Weekssche Bacterium, s. Koch-Weekssches Bacterium.
- Pferdeseuche, venerische, s. Beschälseuche.
- Phlebotomen, s. Orientbeule.
- Physiologie des Gesamtstoffwechsels, der heutige Stand der, E. Simonson, IX, 385.
- Pioplasmen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 415.
- Plasmodien, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 308—325, 415.
- Pleuropneumonia contagiosa bovum, s. Lungenseuche.
- Pneumokokken, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 407.
- Pneumokokkeninfektionen, Bakteriologie, Epidemiologie und spezifische Therapie der — des Menschen unter besonderer Berücksichtigung der Pneumonie, M. Gundel, XII, 132—267.
- Pocken, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 364—365.
- Pockendiagnose, morphologische, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 94—106.
- Pockenformen, leichte, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 47—51.
- Pockenimmunität, Wesen der, G. Sobernheim, VII, 169 bis 176.
- Pockenpustelinhalt, spezifische Gebilde im, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 95—98.
- Pockenvirus, Abarten des, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 33—51.
- Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler (Rostock), VII, 1—132.
- Poliomyelitis anterior in Amerika, neuere Forschungen, J. G. Fitzgerald, I, 219 bis 230.
- Poliomyelitis anterior s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 366—369.
- Polmonera, s. Lungenseuche.
- Polysaccharide, bakterielle, E. Mikulaszek (Lwów), XVII, 415—496.
- Präcipitation bei Tuberkulose und Lepra, s. Serodiagnostik.
- Proteinkörpertherapie, Grundlagen der, Paul Kaznelson (Prag), IV, 249 bis 281.
- Unspezifische Therapie mit besonderer Berücksichtigung der, Martin Claus (Berlin), V, 329 bis 393.
- Proteus vulgaris Hauser, Diagnose und menschenpathogenes Verhalten, Heinz Zeiss (Hamburg), V, 698—750.
- Protoplasmaaktivierung, s. Unspezifische Therapie.
- Protozen- und Spirochätenkrankheiten und ihre gegenseitigen Beziehungen, C. Schilling, IX, 124.
- Psittacosis (Papageienkrankheit) mit besonderer Berücksichtigung der Pandemie 1929—1930, Gerhard Elkeles und Enrique Barros, XII, 529—639. — Die — in den Jahren 1931—1935, R. Pfaffenberg (Greifswald), XVIII, 250 bis 331.
- Quintanaforschung, gegenwärtiger Stand der, H. Werner, III, 378—390.
- Rassenhygiene, Einführung in die, W. Schallmayer (Planegg-Krailling), II, 433 bis 532.
- Rauschbrand, s. a. Gasödeme.
- Recurrens, s. Malaria.
- Redox-Potentiale, Zellstoffwechsel und Krankheitsforschung, W. Kollath (Rostock), XXI, 269—337.
- Reiztherapie, s. Unspezifische Therapie.
- Retikuloendotheliales System, Die Bedeutung des — für die Infektion und Immunität, Claus W. Jungeblut, XI, 1—67.
- Revaccination, Antikörper und, s. Variola- und Vaccineimmunität, G. Sobernheim, VII, 164—166.
- Rheumatismus, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 365.
- Rickettsiosen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 371—373, 417—419.
- Rinder, Lungenseuche der, s. Lungenseuche.
- Rindertuberkulose, Bekämpfung der, H. Haupt (Dresden), IV, 397—432.
- Rotz, Hans Dahmen (Berlin), VII, 543—615.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 404.
- s. a. Malleus.
- Rückfallfieber, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 350—355.
- Ruhr, bacilläre, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 395—398.
- Säugetiere, Epidemiologie und Übertragungsversuche der Chagaskrankheit auf, H. Ruge (Kiel) u. E. Röper (Altona), XIX, 352—463.
- Säuglingsschutz, s. Geburtenhäufigkeit usw.

- Säuglingssterblichkeit, Säuglingsschutz und Geburtenhäufigkeit in den ersten beiden Kriegsjahren, F. Rott (Berlin), II, 561 bis 621.
- Säurefeste Saprophyten, Franz Eichbaum (Frankfurt a. M.), XIV, 82—138.
- Salmonella-Gruppe, Die, mit besonderer Berücksichtigung der Nahrungsmittelvergifter, F. Kauffmann (Kopenhagen), XV, 218 bis 275.
- Saprophyten, Die tuberkelbacillen-ähnlichen, säurefesten —. Nachtrag zu Bd. XIV, 1933, Eichbaum, XV, 754.
- Scharlach und seine Beziehungen zu Streptokokken, Walther Lehmann, XII, 640—718.
- Schizotrypanum, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 332—334.
- Schlafkrankheitsbekämpfung, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 331—332.
- Schlamm, Abwasserreinigung mit belebtem, A. Seiser, IX, 343.
- Schulgesundheitspflege, Übersicht über den jetzigen Stand der, mit besonderer Berücksichtigung der durch den Krieg geschaffenen Verhältnisse, Solbrig (Breslau), III, 221—228.
- Schutzimpfung, aktive und Epidemiologie der Diphtherie, Th. J. Bürgers (Königsberg), XVII, 231 bis 306.
- Experimentelle und epidemiologische Grundlagen der aktiven — gegen Tuberkulose, Erwin Berger, XII, 42—131.
- gegen Diphtherie, Stand der aktiven, E. Seligmann und H. Happe (Berlin), XI, 637—700.
- der Hunde gegen Wut, Josef Schnürer und Hans David (Wien), XI, 556 bis 636.
- gegen Tuberkulose mit B.C.G. nach Calmette-Guérin (F. Gerlach, Wien-Mödling), XI, 775—886.
- Neuere Ergebnisse der Virusforschung unter besonderer Berücksichtigung der —, H. A. Gins (Berlin), XXI, 103—156.
- Schutzpockenlymphe, Die Gewinnung der —, A. Groth (München), X, 335—366.
- Schutzwirkung, chemische, der Haut, E. Jena, IX, 564.
- Schutz- und Heilimpfung gegen Tuberkulose, M. Klimmer (Leipzig), XIV, 1—81.
- Schwefel, Bedeutung für den Organismus, Helmuth Schreiber (Breslau), XIV, 271—296.
- Schweinepest, heutiger Stand der Diagnostik und Immunotherapie, J. Michalka (Wien), XIX, 127—177.
- Serodiagnose, s. Rotz, Hans Dahmen (Berlin), VII, 562 bis 578.
- der Syphilis mit aktivem Serum, C. Lange (Berlin), XV, 1—53.
- Serodiagnostik, Augenblicklicher Stand der — der Lues, R. Otto (Berlin) und G. Blumenthal (Berlin), XIII, 686—715.
- der Tuberkulose und Lepra (Agglutination, Präcipitation und Komplexbindung), zusammenfassende Studie über ihre Ergebnisse, W. Pfannenstiel (Frankfurt a. M.), VI, 103—232.
- Serologie der Influenza, Herbert Lubinski, VII, 229 bis 294.
- Serologische Reaktionen, Die Standardisierung von Heilseren, — — und Impfstoffen, C. Prausnitz (Breslau), X, 271—334.
- Serologischer Luesnachweis, W. Weisbach (Halle), VII, 616—640.
- Serumreaktionen, spezifische durch bakterielle Polysaccharide, s. Polysaccharide.
- Seuchen, Die verschiedenen Theorien über Entstehung und Erlöschen von — vom Standpunkt der öffentlichen Gesundheitspflege, Hermann Redetzky, XII, 465—528.
- Seuchenbekämpfung, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 460—462.
- Seuchenkurve, A. Gottstein (Berlin), XVI, 209—225.
- Sklerose, Krankheitserreger und Gewebefund bei multipler —. Vergleichend-histologisch - parasitologische Untersuchungen bei multipler Sklerose und anderen Spirochätosen, Gabriel Steiner, XII, 268—464.
- multiple, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 359—360.
- Sommerdiarrhöen, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 398—399.
- Sozialhygienische Fürsorgebestrebungen, E. G. Dresel (Heidelberg), V, 791—867.
- Spezifität, biologische, der Organantigene in ihrer Bedeutung für Fragestellungen der normalen und pathologischen Biologie, Probleme und Tatsachen, Fr. Graetz (Hamburg), VI, 397—591.
- die, eine zusammenfassende Darstellung, J. G. Sleswijk, I, 395—406.
- Spirochäten, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 350—360, 416.
- Spirochäten- und Protozoenkrankheiten und ihre gegenseitigen Beziehungen, C. Schilling, IX, 124.
- Spirochätosen, Vergleichend-histologisch - parasitologische Untersuchungen bei multipler Sklerose und anderen —, Gabriel Steiner, XII, 268—464.
- Sportzwecke, Methodik und Durchführung ärztlicher Untersuchungen zu —, W. Kohlrausch (Berlin-Charlottenburg), X, 697—732.
- Standardisierung von Heilseren, serologischen Reaktionen und Impfstoffen, C. Prausnitz (Breslau), X, 271—334.
- Staphylokokken, Fermente und Giftstoffe der —, H. Groß (Hildesheim), XIII, 516—558.
- Staubkrankheiten, Bedeutung der Filterung der Atemluft durch, G. Lehmann, XIX, 1—87.
- Staub- und Tröpfcheninfektion auf dem Luftwege, B. Lange, IX, 237.

- Stellungskrieg, Hygiene in dems., Erich Hesse, II, 1—108.
- Stoffwechsel, Bedeutung für die Entstehung, Prophylaxe und Therapie der bösartigen Geschwülste, G. Domagk (Wuppertal), XIX, 308—351.
- Streptokokken, Scharlach und seine Beziehungen zu —, Walther Lehmann, XII, 640—718.
- Streptokokkenerkrankungen, Bakteriologie und Klinik der —, Walther Lehmann (Hamburg), XI, 220—353.
- Streptokokkenmastitis (der gelbe Galt) der Rinder, M. Klimmer und H. Haupt (Leipzig), XI, 364—446 und Nachtrag 771—774.
- Syphilis, Sero-Diagnose der — mit aktivem Serum, C. Lange (Berlin), XV, 1—53.
- Kältehämoglobinurie und, s. Kältehämoglobinurie, Julius Donath und Karl Landsteiner, VII, 214—218.
- Wismutbehandlung und -bekämpfung, C. Levaditi (Paris), XIV, 297—328.
- Syphilisdiagnostik, serologische, im Lichte der neueren Forschung, Traugott Baumgärtel (München), V, 475—531.
- Temperatur und Feuchtigkeit, Einfluß der, auf den Menschen, L. Teleky, IX, 295.
- Therapie, s. Chemotherapie.
- unspezifische, mit besonderer Berücksichtigung der Proteinkörpertherapie, Martin Claus (Berlin), V, 329—393.
- Tierarzt, Aufgaben des — in der Lebensmittelhygiene, M. Lerche (Berlin) und H. Rievel (Berlin), XXI, 1—25.
- Tierkrankheiten durch, Paratyphaceen bedingte, W. Pfeiler (Bromberg), III, 289—335.
- bakterielle, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten, durch E. Martini, VII, 419.
- Tierparatyphosen, Die, Rich. Standfuß (Potsdam), XV, 659—753.
- Tierpocken, Erreger der, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 36—43.
- Tierseuchen und sporadische Tierkrankheiten im Kriege, M. Reuter (Nürnberg), II, 668—747.
- Tollwutforschung, neuere Ergebnisse der, F. Schweinburg (Wien), XX, 1 bis 154.
- Trachom, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 363.
- Trichinellen, Trichinose und ihre Abwehr, Georg B. Gruber (Innsbruck), VIII, 165—265.
- Trinkwasserchlorung, s. Chlorung.
- Trinkwasserversorgung und Beseitigung der Abfallstoffe im Felde, Th. Fürst (München), II, 109 bis 142.
- Tröpfchen- und Staubinfektion auf dem Luftwege, B. Lange, IX, 237.
- Tropen, Impfstoffbereitung in den, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 62—65.
- Trypanosomen s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 326—332, 415—416.
- Tuberkuloseallergie, P. Kallós und L. Kallós-Deffner (Uppsala), XVII, 76—146.
- Tuberkulose, Allgemeines über Entstehung und Bekämpfung im Frieden und Krieg, Hans Much (Hamburg), II, 622—667.
- Die individuelle natürliche Widerstandsfähigkeit als Gestaltungsfaktor der — unter besonderer Berücksichtigung ihrer erblichen Grundlagen, B. Lange (Berlin), XVIII, 123—192.
- praktische Bedeutung der Immunität für die Behandlung und Prognose der, Hermann v. Hayek (Innsbruck), III, 113—163.
- Experimentelle und epidemiologische Grundlagen der aktiven Schutzimpfung gegen —, Erwin Berger, XII, 42—131.
- Tuberkulose-Immunität, J. Petruschky, I, 189—218.
- Schutz- und Heilimpfung gegen, M. Klimmer (Leipzig), XIV, 1—81.
- Tuberkulose, Serodiagnostik (Agglutination, Präcipitation und Komplementbindung) s. Serodiagnostik.
- s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 404.
- Tuberkulosebekämpfung, s. Tuberkulosesterblichkeit.
- Tuberkuloseschutzimpfungen, A. Calmette und W. Schäfer, IX, 54.
- mit B.C.G. nach Calmette-Guérin (F. Gerlach, Wien-Mödling), XI, 775—886.
- Tuberkulosesterblichkeit, Die Ursachen des Rückgangs der — und die moderne Tuberkulosebekämpfung, M. Gundel (Heidelberg), XIII, 1—169.
- Tularämie, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 388.
- Typhus, Boden und Wasser, H. Zeiß (Berlin), XXI, 26 bis 45.
- und Paratyphus, Verbreitung durch das Wasser (1845—1936), R. Radochla (Berlin), XXI, 46 bis 102.
- Typhusausbreitung durch den bacillenausscheidenden Menschen, neuere epidemiologische Erfahrungen, E. Schrader (Erlangen), III, 43—112.
- Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches, Geiger (Straßburg), III, 1—42.
- Typhusimmunisierung, Frederick P. Gay, I, 231 bis 256.
- Typhus-Coligruppe s. Bakterien.
- Theorie der spezifischen — bei Infektionen, Amilcare Zironi (Mailand), XIV, 561 bis 617.
- Überempfindlichkeit, spezifische bei bösartigen Geschwülsten, A. Zironi (Mailand), XVII, 147—174.
- Ultraviolelele Virusarten, antigene Eigenschaften der, E. Schultz, IX, 184.

- „United Staates Public Health Service“, die wissenschaftliche Tätigkeit des hygienischen Laboratoriums des, J. G. Fitzgerald, I, 1—27.
- Unspezifische Therapie:
— Grundlagen der, Wolfgang Weichardt (Wiesbaden), XVI, 1—73.
- Vaccination und vaccinale Immunität, Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der, A. Groth und H. O. Münsterer (München), XVII, 1—75.
- Vaccine, Generalisierung des Virus der, G. Sobernheim, VII, 135—144.
— Neuere Arbeiten über Variola und —, K. Arnold (München), X, 367—487.
- Vaccinebehandlung:
— nichtspezifische, s. Unspezifische Therapie.
- Vaccineepitheliose der Kaninchenhornhaut s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 87—91.
- Variola, Generalisierung des Virus der, G. Sobernheim, VII, 135—144.
- Variola und Vaccine, Neuere Arbeiten über —, K. Arnold (München), X, 367—487.
- Variolaepitheliose der Kaninchenhornhaut s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 91—94.
- Variola- und Vaccineimmunität, Wesen der, G. Sobernheim (Bern), VII, 133—183.
- Variola-Vaccineerreger, Generalisation des, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 55—59.
— Die Züchtung des —, E. Haagen (Berlin), XVIII, 193—250.
- Variola-Vaccinevirus, Resistenz des, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 65—69.
- Verdauungsvorgänge, parenterale, über den Stand der biochemischen Methoden zum Nachweis ders. (Abderhaldensche Reaktion, Weichardtsche Reaktion und E. Rosenthals Serumdiagnose der Schwangerschaft), A. Rothacker, I, 423—459.
- Verruga peruviana, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 365—366, vgl. a. Bartonellen.
- Veterinärmedizin, Chemotherapie in der, Walter Frei und Robert Ackeret, III, 336—377.
- Veterinärpolizei, s. Rotz, Hans Dahmen (Berlin), VII, 579 bis 580.
- Virulenzprüfung des Impfstoffes, s. Pockenvirus, Th. v. Wasielewski und W. F. Winkler, VII, 83—87.
- Virusarten, antigene Eigenschaften der ultravisiblen, E. Schultz, IX, 184.
— filtrierbare, R. Doerr (Basel), XVI, 121—208.
- Viruses, The in vitro cultivation of filterable —, G. Hardy Eagles (London), XIII, 620—640.
- Virusforschung, Neuere Ergebnisse unter besonderer Berücksichtigung der Schutzimpfung, H. A. Gins (Berlin), XXI, 103—156.
- Vitamine, Beeinflussung des Immunitätszustandes durch, H. J. Zusatz (Berlin-Dahlem) XIX, 464—497.
— Biologie der — und Hormone, Werner Kollath (Breslau), XIV, 382—435.
— Chemie der — und Hormone, Winterstein und Schön (Heidelberg), XIV, 436—537.
— Internationale Standards und Einheiten, W. R. Aykroyd (Genf), XIV, 376 bis 381.
— und Hormone, Chemie der —, H. Brockmann und K. Maier (Göttingen), XX, 155—273.
- Vitamingedanke, Entwicklung des, in der Bakteriologie, M. Knorr (Erlangen), VII, 641—706.
- Volksschulhausneubau, Die Hygiene im modernen —, Walter Schnell (Halle), XI, 701—770.
- Wasser, Verbreitung des Typhus und Paratyphus durch das — (1845—1936), R. Radochla (Berlin), XXI, 46—102.
— Typhus, Boden und, H. Zeiss (Berlin), XXI, 26—45.
- Weil-Felixsche Reaktion, Theorie, Methodik und Fehlerquellen, Georg Wolff (Berlin), V, 532—596.
- Weil-Felixsche Reaktion, s. Fleckfieber.
- Weilsche Krankheit, Walther Fromme-Dahlem, IV, 21 bis 99.
— — Über den neuesten Stand der Epidemiologie der —, W. Blumenberg (Breslau), XXII, 168—237.
- Weilsche Krankheit:
— s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini, VII, 355—356.
- Wirkstoffe, körpereigene, R. Rigler (Frankfurt a. M.), XVI, 74—98.
— — (Histamin und Acetylcholin), K. Zipf (Königsberg i. Pr.), XX, 349—381.
- Wismut, Therapie und Prophylaxe der Syphilis, C. Levaditi (Paris), XIV, 297—328.
- Wolhynisches Fieber, s. Quintanaforschung.
- Wundinfektionen, anaerobe, Eug. Fraenkel, II, 376 bis 433.
- Würmer, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini (Hamburg), VII, 299—306, 413 bis 414.
- Wurmeier, mechanische Verbreitung von, s. Insekten, Verbreitung von Krankheiten durch, E. Martini (Hamburg) VII, 306.
- Wurmkrankheiten, s. Chemotherapie, Fortschritte der —.
- Wut, Die Schutzimpfung der Hunde gegen —, Josef Schnürer und Hans David (Wien), XI, 556—636.
- Zellstoffwechsel und Krankheitsforschung, Redox-Potentiale, W. Kollath (Rostock), XXI, 269—337.