

Aus dem Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden.
(Direktor: Herr Obermedizinalrat Prof. Dr. Klimmer.)

**Über die Wirkung von Chloroform-, Äther- und
Xyloleextrakt aus Tuberkelbazillen sowie von
Phymatinsalbe verglichen mit der des flüssigen
Phymatins auf die Konjunktiven tuberkulöser
und gesunder Rinder.**

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung der Veterinärmedizinischen Doktorwürde

der

durch die ordentlichen Professoren

der

Tierärztlichen Hochschule zu Dresden verstärkten Medizinischen Fakultät

der

Universität Leipzig

vorgelegt von

Ernst Findeisen

Tierarzt aus Mehren bei Meissen

Aus dem Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden.
(Direktor: Herr Obermedizinalrat Prof. Dr. Klimmer.)

Über die Wirkung von Chloroform-, Äther- und Xyloleextrakt aus Tuberkelbazillen sowie von Phymatinsalbe verglichen mit der des flüssigen Phymatins auf die Konjunktiven tuberkulöser und gesunder Rinder.

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung der Veterinärmedizinischen Doktorwürde

der

durch die ordentlichen Professoren

der

Tierärztlichen Hochschule zu Dresden verstärkten Medizinischen Fakultät

der

Universität Leipzig

vorgelegt von

Ernst Findeisen

Tierarzt aus Mehren bei Meißen

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1922.

ISBN 978-3-662-22905-7 ISBN 978-3-662-24847-8 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-24847-8

Gedruckt mit Genehmigung der durch die ordentlichen Professoren der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden verstärkten Medizinischen Fakultät der Universität zu Leipzig
(am 17. Dezember 1921)

Sonderabdruck aus
den Beiträgen zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 51, 1922
Herausgegeben von Prof. Brauer, Hamburg

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Einleitung.

Wie schon Robert Koch nachgewiesen hat, verhalten sich tuberkulöse Individuen gegenüber einer Reinfektion mit Tuberkelbazillen refraktär, d. h. die Reinfektion gelingt nicht, vielmehr entsteht an der Injektionsstelle ein nekrotischer Herd. Es sind also im Tuberkelbazillus Stoffe enthalten, die bei tuberkulösen Tieren eine Reaktion auslösen. Aus den verschiedenen Methoden der Tuberkulinreaktion an tuberkulösen Tieren können wir entnehmen, daß erstens im bakterienfreien, flüssigen Nährboden, auf dem Tuberkelbazillen gewachsen sind, ebenfalls ähnliche reaktive Stoffe enthalten sind und zweitens, daß die Reaktion des tuberkulösen Organismus bei subkutaner Injektion in Form von Fieber, bei örtlicher Applikation in Form der verschiedenartigsten Entzündungserscheinungen auftritt. Neben diesen im Tuberkulin enthaltenen, wasserlöslichen Bestandteilen der Tuberkelbazillen verursachen auch die mit Wasser ausgelaugten zertrümmerten Tuberkelbazillen (T.R. Robert Kochs) Tuberkulin-Reaktionen.

Nach dem Gesagten kann man also als bewiesen annehmen, daß die wasserlöslichen Anteile sowie die im Wasser ausgelaugten Bazillen reaktive Substanzen enthalten. Welche Stoffgruppen der mit Wasser ausgelaugten Bazillen für die Reaktion in Frage kommen, ist zur Zeit noch nicht einwandfrei geklärt. Allgemein angenommen wird nur, daß hierfür namentlich Eiweißkörper oder diesen nahestehende chemische Stoffe verantwortlich zu machen sind. Der Tuberkelbazillus enthält außer Eiweiß noch durch fettlösende Flüssigkeiten (Äther, Chloroform, Xylol) extrahierbare Stoffe, die durch nachträgliches Waschen mit Alkohol in zwei Gruppen geschieden werden können, die als Gemische von Fettsäuren und Lipoiden einerseits und von Neutralfetten und

hochmolekularen Alkoholen andererseits bezeichnet worden sind. Nach unseren zur Zeit allgemein angenommenen theoretischen Anschauungen über Infektion und Immunität können wir auch aus der veränderten Reaktionsfähigkeit des Organismus gegenüber Präparaten aus den Erregern gewisse Schlüsse auf den Mechanismus von Infektion und Immunität ziehen. So hat man innige Beziehungen zwischen Allergie und Immunität feststellen können. Aus Versuchen, bei tuberkulös infizierten Rindern Allergie gegenüber den einzelnen Bestandteilen bzw. den technisch bequem darstellbaren Gemischen solcher Teile der Tuberkelbazillen festzustellen, können deshalb gewisse Schlüsse auf die Wirkung der fraglichen Bestandteile auf die Tuberkuloseimmunität gezogen werden.

Zur Feststellung der Wirkungsweise von Tuberkelvollbazillen sowie der in Xylol, Chloroform und Äther löslichen Substanzen auf die Konjunktiva tuberkulöser Rinder hat mich Herr Obermedizinalrat Prof. Dr. Klimmer beauftragt, entsprechende vergleichende Untersuchungen anzustellen und als Vergleichsmaß das Phymatin zu benutzen. Da es nicht ratsam erschien, die in ihrer Konsistenz wachsähnlichen Substanzen in wässriger Emulsion auf die Konjunktiva zu applizieren, die Anwendung in Salbenform hingegen von vornherein sicherer erschien, so lag es im Rahmen meiner Arbeit, gleichzeitig meine vergleichenden Untersuchungen auf die Anwendungsmöglichkeit von Phymatin in flüssiger und in Salbenform auszudehnen.

Literatur.

Die spezifische Wirkung der Tuberkuline beruht, wie schon angedeutet, auf gewissen Stoffen, die während des Wachstums der Tuberkelbazillen auf Glycerinbouillon in das Nährsubstrat übergehen. Daß Vollbazillen die Tuberkuloseallergie auszulösen vermögen, ist nach den Kochschen Versuchen mit T. R. wohl anzunehmen. Angaben über Versuche, mit Vollbazillen die Konjunktivalallergie des Rindes auszulösen, sind mir nicht bekannt.

Während früher mehr oder weniger allgemein angenommen wurde, daß nur den zu dem Eiweiß gehörigen oder diesem nahestehende Stoffe des Tuberkelbazillus reaktive Wirkungen zukommen, ist in neuerer Zeit durch die Arbeiten von Deycke und Much (1) noch eine andere Gruppe der Tuberkelbazillenleibessubstanz als die Allergie auslösend bezeichnet worden. Durch die bekannte Partigentheorie der Tuberkuloseimmunität wurden die genannten Autoren dazu geführt, ihre therapeutischen Maßnahmen durch den Ausfall der allergischen Reaktion mit ihren vier Partigenen zu bestimmen. Neben den wasserlöslichen Bestandteilen und Eiweiß verursachten nach Deycke und Much auch Fettsäurelipoidgemisch- und Neutralfett emulsionen mitunter, wenn auch meist schwächere, so doch deutliche Reaktionen bei tuberkulösen Meerschweinchen und Menschen.

Die Herstellung (2) der einzelnen Partigene hat im Laufe der Zeit verschiedene Veränderungen erfahren. Die anfangs versuchte Auflösung der Tuberkelbazillen mit den starken Basen Neurin, Cholin und Lezithin wurde wegen der starken Beeinträchtigung der reaktiven Eigenschaften der einzelnen Bestandteile sehr bald wieder verlassen. Später suchten die genannten Autoren eine andere chemische Methode zur schonenden Gewinnung ihrer Partigene. Zunächst wurden die Tuberkelbazillen bzw. die zur Kontrolle mit herangezogenen

säurefesten Saprophyten mit Benzoylchlorid extrahiert. Die entfetteten Bazillenleiber enthalten nur noch Eiweiß und können in Dimethylamin oder Dimethylharnstoff aufgelöst werden. Die extrahierten Fettkörper bestehen aus Fettsäuren, Lipoiden, Neutralfetten und Fettalkoholen. Dieser Verdampfungsrückstand des Benzoylchlorids kann durch Alkohol in Fettsäure und Lipoide (alkohollöslich) sowie in Neutralfette und Fettalkohol (in Alkohol unlöslich) zerlegt werden.

Die schonendste Aufschließungsmethode der Tuberkelbazillen besteht nach Deycke und Much in der Einwirkung von schwachen Säuren, wie z. B. 1%iger Milchsäure, auf die Bazillenleiber. Aus dem Filtrerrückstand können dann durch Fraktionierung die einzelnen Partigene gewonnen werden. Beide Autoren halten diese Methode für die beste, da die Bazillen vollständig aufgeschlossen werden, ohne daß die spezifischen Substanzen zu stark beeinflusst werden. Haupt (3) konnte trotz Verwendung einer 2%igen Milchsäure während einer Zeit von 4 Monaten und trotz genauen Einhaltens der übrigen Vorschriften keine Aufschließung der Tuberkelbazillen mit Milchsäure erreichen.

Den einzelnen Partigenen entsprechen nun nach Deycke und Much (4) (Arbeit von Much und Leschke) einzelne Partialantikörper beim tuberkulose-immunen Organismus. Zur Feststellung der Partialantikörper verwendeten sie zunächst den Komplementbindungsversuch, gingen aber später zur Intra-kutanprobe über. Sie verglichen dabei zunächst die Reaktionen, die einerseits Tuberkulin, andererseits die einzelnen Partialantigene bei tuberkulösen Meerschweinchen verursachten. Dabei hatten sie folgende Ergebnisse:

Die Nastinpräparate (Tuberkulonastin, Neutralfett) geben schon bei normalen Tieren eine gewisse Reaktion, die Deycke auf eine Entzündung und geringgradige Nekrose der Haut infolge der Nichtresorbierbarkeit der Fettbestandteile zurückführt. Die bei tuberkulösen Tieren mit starken Nastinverdünnungen erhaltenen Reaktionen bezeichnet er als nichtspezifisch, da sie sich nur durch die größere Stärke von den bei normalen Tieren auftretenden unterscheiden. Im Gegensatz dazu zeigten die Versuche, die Altstaedt (5) an tuberkulösen Menschen anstellte, eine strenge Spezifität. Allerdings treten die Reaktionen mit den Fettkörpern der Tuberkelbazillen meistens, wenn auch nicht immer, bedeutend später auf als die Albuminreaktion, häufig erst nach 5 Tagen.

Anders verhalten sich die Reaktionen, die er mit dem Fettsäurelipoidgemisch bei mit Milchsäure-tuberkelbazillenaufösungen vorbehandelten Meerschweinchen erhielt. Die normalen Tiere zeigten eine geringfügige unspezifische lokale Reaktion, während die vorbehandelten und später infizierten Tiere eine weit ausgedehnte Nekrose an der Impfstelle zeigten; ja in einigen Fällen war die Reaktion stärker als mit Tuberkulin. Die beiden Autoren lassen die Frage offen, ob auch rein tuberkulöse, d. h. nicht vorbehandelte Tiere diese Reaktion geben, da sie bisher nur an zwei solcher Tiere den Versuch mit negativem Erfolge anstellten.

Bei der Prüfung des Tuberkelbazilleneiweißes wurde in allen Fällen eine außerordentlich starke lokale Reaktion ausgelöst, die die Tuberkulinreaktion bedeutend übertreffen kann.

Außerdem soll nach Deycke und Leschke ein Giftstoff, den er durch Aufschließung mit Glykuronsäure gewann, eine intrakutane Reaktion hervorrufen.

Nach den genannten Autoren gibt also jeder Bestandteil der Leibessubstanz der Tuberkelbazillen, sei es das Eiweiß oder die Fettkörper oder der Giftstoff, für sich eine spezifische, dem Tuberkulin ähnliche Reaktion. Auf die von Deycke und Much der Intrakutanreaktion mit den Partigenen zugeschriebene Bedeutung zur Titrierung der Partialimmunität eines tuberkulösen Organismus näher einzugehen, ist für die vorliegende Arbeit entbehrlich.

Die Ansicht der Deycke-Muchschen Schule über die Tuberkulose-Immunität unterscheidet sich grundlegend, darauf sei nochmals hingewiesen, von der allgemeinen Immunitätslehre dadurch, daß die genannten Autoren eine Immunität gegen Neutralfett annehmen, während im allgemeinen angenommen wird, daß nur Eiweißkörper oder diesen chemisch nahestehende hochmolekulare Verbindungen antigen im Sinne der Immunitätslehre wirken. Es haben deshalb die Untersuchungen von Deycke und Much und ihrer Schule von verschiedenen Seiten eine Nachprüfung erfahren, die vielfach negative Ergebnisse hatte.

So versuchte Beck (6) vergeblich, Meerschweinchen mit Fett- und Wachs-substanzen zu immunisieren. Uhlenhuth (7) hatte sich auf der Internationalen Leprakonferenz dahin ausgesprochen, daß spezifische Antikörper gegen reine Fette noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen seien. Auch Klimmer (8) negiert die Fettimmunität. Bürger und Möllers (9) kommen zu dem Resultat, daß bei Verwendung von absolut trockenen Tuberkelbazillen und von sicher wasserfreien Extraktionsmitteln es nicht gelingt, aus den Tuberkelbazillen Fette zu extrahieren, die intrakutan im Tierversuch spezifische antigene Eigenschaften aufweisen. Da aber das Ausgangsmaterial nach der Extraktion antigene Stoffe an Wasser abgibt, liegt der Schluß nahe, daß die extrahierten Fette, die spezifische antigene Eigenschaften aufwiesen, mit Proteinen verunreinigt gewesen sind. Leibkind (10) konnte im Blutserum von mit Tuberkelbazillenfetten vorbehandelten Kaninchen mit Hilfe der Komplementbindung keine Antikörper gegen die zur Immunisierung der Versuchstiere benutzten Fette nachweisen.

Nach diesen Untersuchungen erscheint die Frage der Bedeutung der Antikörperbildung gegen Fette bei der Tuberkuloseimmunität noch ungeklärt.

Während die Muchsche Schule die Hautreaktion mit Emulsionen der Fettkörper anstellte, erschien es bei der von mir beabsichtigten Applikation auf die Konjunktiva angebracht, die Fettsubstanzen in Salbenform zu bringen, um ein längeres Verweilen der fein verteilten Fettsubstanzen auf die Bindehaut zu gewährleisten. Um die Versuche mit Phymatin einerseits und der Fettsubstanz andererseits direkt in Vergleich setzen zu können, mußte ich demgemäß auch das Phymatin in Salbenform anwenden. Schon vor dem Kriege sind derartige Versuche unternommen worden. In der Humanmedizin verwendete Wolff-Eisner (11) 1 bis 2%ige Tuberkulinvaseline, von der er zur Ophthalmoreaktion mit einem Glasstab ein erbsengroßes Stück auf das untere Augenlid strich. Moro (12) nahm mit einer 50%igen Tuberkulinsalbe, zu deren Herstellung er Lanolinum anhydricum verwandte, diagnostische Impfungen an der Haut vor. In der Veterinärmedizin verwandte Gärtner (13), der die Vorzüge der Applikationsweise in Salbenform hervorhebt, die Tuberkulinsalben. Er strich ein bohngroßes Stück Bovotuberkulolvaselinsalbe (ca. 2 $\frac{1}{2}$ Tropfen Bovotuberkulol enthaltend) in den Konjunktivalsack und verteilte es durch kreisende Bewegungen der geschlossenen Augenlider. Zur Kon-

trolle der Spezifität seiner Salbe zog er nur den Schlachtbefund bei, der in 6 Fällen (5 tuberkulös, 1 tuberkulosefrei) den Ausfall der Reaktion bestätigte, in 3 Fällen hingegen konnte trotz positiver Augenreaktion Tuberkulose bei der Schlachtung nicht festgestellt werden, was ich im Gegensatz zu Gärtner nicht ohne weiteres als Fehlresultat buchen möchte, da bei der Fleischbeschau versteckte Herde wohl vielfach übersehen werden. Die von Gärtner aus den Resultaten gezogenen Schlußfolgerungen auf eine unspezifische Reizwirkung der Salbengrundlage sind deshalb meines Erachtens ungenügend begründet, wenn auch bei Verwendung einer namentlich petroleumhaltigen Vaseline unspezifische Reizungen keineswegs ausgeschlossen sind. Die von Gärtner festgestellte schlechte Resorbierbarkeit der Vaseline von der Konjunktiva aus, kann vielleicht als schlechte Löslichkeit in der Tränenflüssigkeit gedeutet werden und würde dann allerdings einen Nachteil dieser Salbengrundlage darstellen. Weiterhin verwendete er, wie Moro, das Lanolin, zur Herstellung seiner Salben, das den Vorteil hat, nicht ranzig zu werden und sich mit Wasser leicht zu mischen. Damit stellte er zunächst eine 20%ige Phymatinlanolinsalbe her, von der er ein doppelt erbsengroßes Stück 6 Rindern ins Auge einstrich. Reizende Nebenerscheinungen konnte er nicht feststellen. In allen Fällen stimmten Reaktion und Fleischbeschaubefund überein. Nur in einem Falle war die Reaktion ziemlich schwach. Deshalb verwandte er in einem anderen Versuche ein nur erbsengroßes Stück einer 40%igen Phymatinlanolinsalbe mit demselben guten Erfolge. Auf Grund weiterer Versuche mit 100%iger, 75%iger und 50%iger Phymatinlanolinsalbe kommt er zu dem Ergebnis, daß die zweckmäßigste Konzentration des Phymatins in der Salbe 50% oder 75% ist, während die 100%ige Salbe infolge ihres zu hohen Gehaltes an konzentriertem Phymatin ziemlich stark reizt.

Täuber (14) prüfte die Wirkung des Lanolins und der Cheseborough-Vaseline, die ihm als chemisch rein empfohlen wurde, auf die Konjunktiva des Rinderauges. Er applizierte ein erbsengroßes Stück Lanolin mit einem sterilen Glasstabe und konnte feststellen, daß 5,88% der geimpften Rinder ein geringes Tränen aufwiesen. Bei der Cheseborough-Vaseline konnte bei einem von 25 Versuchstieren leichtes Tränen bis zur 24. Stunde festgestellt werden.

Auch in die Praxis ist die Phymatinsalbe bereits eingeführt. In der Tierärztlichen Rundschau 1921, Nr. 22, S. 515, ist auf eine Anfrage folgende Empfehlung zu lesen: „Phymatin nach Klimmer ist bei Humann & Teisler, Dohna bei Dresden, zu haben. Bestellen Sie sich Phymatinsalbe! Die Applikation in den Konjunktivalsack ist leichter und bequemer als mit flüssigem Phymatin und die Wirkung vollauf letzterem gleich.“

Eigene Untersuchungen.

Versuchsplan.

Wie eingangs schon erwähnt, bezweckte ich mit meinen Versuchen, die Wirkung der Tuberkelvollbazillen sowie der in Äther, Xylol und Chloroform löslichen Bestandteile des Tuberkelbazillenleibes auf die Lidbindehaut des Rindes festzustellen. Diese in ihrer Konsistenz wachsartigen Substanzen lassen sich wegen ihrer Unlöslichkeit in wässrigen Flüssigkeiten (die Extraktions-

mittel selbst kommen wegen ihrer reizenden Wirkung auf die Schleimhaut nicht in Frage) nur in Form einer Emulsion oder einer Salbe in den Konjunktivalsack instillieren. Die erstgenannte Applikationsweise schien mir von vornherein wenig sicher, da nach längerem Stehen eine ungleiche Verteilung der in feinsten Form suspendierten Fetteilchen zu befürchten war. Außerdem war zu bedenken, daß die Fettbestandteile durch den nach jeder Applikation vermehrten Tränenfluß aus dem Lidsack ausgeschwemmt werden und so nicht lange genug mit der Konjunktiva in Berührung bleiben könnten. Diese Gründe veranlaßten mich, die Anwendung in Salbenform zu versuchen, die vielleicht auch eine bequemere Applikationsweise darstellte. Von einer Salbengrundlage, die für meine Versuche als geeignet angesehen werden konnte, mußte ich erstens eine vollständige Reizlosigkeit auf die Konjunktiva und zweitens ihre gute Löslichkeit im Konjunktivalsack (in der Tränenflüssigkeit, bei der Temperatur des Lidsackes usw.) fordern. Endlich sollte auch die Grundlage in ihrer Konsistenz nach der Lösung noch zähflüssig genug sein, um ein längeres Verweilen auf der Bindehaut zu gewährleisten.

Nach entsprechenden Voruntersuchungen mußte ich vor Beginn meiner Hauptversuche noch feststellen, ob Phymatin mit dieser Grundlage zur Salbe verarbeitet, auch solche zuverlässige Resultate zeitigt, wie dies vom originalen flüssigen Phymatin aus der Literatur bekannt ist.

Meine Hauptversuche erstreckten sich zunächst auf die Feststellung der Reaktionsfähigkeit der Konjunktiva tuberkulöser Rinder für Vollbakterien, da derartige Versuche mit Vollbakterien bisher am Auge tuberkulöser Rinder noch nicht durchgeführt worden waren, und mir sonst der Einwand gemacht werden könnte, daß die Allergie der Konjunktiva überhaupt nur auf die Tuberkuline beschränkt sei. Dem Einwand, daß die den Tuberkelbazillen anhaftenden Nährbodenbestandteile (Tuberkulin) eine Allergie gegen Vollbazillen vortäuschen könne, konnte durch vorheriges Auswaschen der Tuberkelbazillen mit heißem Wasser, in dem diese Nährbodenbestandteile leicht löslich sind, begegnet werden. Von besonderem Interesse mußte es sein, festzustellen, bis zu welcher Konzentration der Vollbazillen man herabgehen kann, ehe die Reaktion am Auge aufhört. Diese Feststellung ist namentlich bedeutungsvoll angesichts der von Möllers und Bürger ausgesprochenen Vermutung, daß die bisher als antigen wirksam beschriebenen Tuberkelbazillenfette durch Bazillenproteine usw. verunreinigt wären. In einer Entgegnung auf die Versuchsergebnisse der genannten Autoren hat Deycke gegen die Reinigung der Extrakte durch Berkefeldfilter (Adsorption biologischer Stoffe) Bedenken vorgebracht, woraus man entnehmen muß, daß die Fettkörper, mit denen die Muchsche Schule gearbeitet hat, nicht durch Bakterienfiltration von den bei der Extraktion in das Benzoylchlorid gelangten Bazillenleibern befreit worden sind. Auf welche Weise die Muchsche Schule die Gewähr geben will, daß das Fett frei von allen Bazillenleibern war, ist aus ihren Arbeiten nicht ersichtlich. Die gereinigten Verdampfungsrückstände der Äther-, Chloroform- und Xylolextraktion der getrockneten Bazillen, sowie andererseits die extrahierten Bazillen selbst wurden dann auf ihre Reaktivität auf die Lidbindehaut tuberkulöser Rinder geprüft. Alle diese Substanzen wurden in Salbenform gebracht und jedem Rinde auf die Bindehaut des linken Auges appliziert, während gleichzeitig in das rechte

Auge eine Phymatinsalbe bzw. Phymatin instilliert wurde. Aus einem Vergleich der Reaktion an beiden Augen konnte direkt das Verhältnis der Stärke der spezifischen Reizwirkung des betreffenden Stoffes mit der des Phymatins bestimmt werden. Auf diese Weise konnte ich auch das Verhältnis der Wirkungsstärke von Phymatin zu Phymatinsalbe und von Phymatinsalbe zu Salben aus Vollbazillen, extrahierten Bazillen und Tuberkelbazillenfetten, sowie dieser Salben untereinander feststellen.

Versuchstechnik.

Als Versuchsmaterial, das im ganzen 397 Rinder umfaßt, dienten mir die Schlachtrinder des Städtischen Schlachthofes zu Dresden¹⁾.

Als Ausgangsmaterial zur Herstellung meiner Salben zur Augenprobe kam zunächst das Phymatin in Betracht, das, als Standard-Präparat im Hygienischen Institut vorrätig, mir zur Ophthalmoreaktion überlassen wurde. Die zur Herstellung der Salben verwendeten Tuberkelbazillen waren nach mehrwöchigem Wachstum auf Glycerinbouillon durch Filtration der abgetöteten Bouillon gesammelt und auf dem Wasserbade getrocknet worden. In diesem Zustande waren sie seit langer Zeit im Hygienischen Institut kalt und vor Licht geschützt aufbewahrt worden. Diese Bazillen stellten meine ungereinigten Vollbazillen dar. Zur Entfernung der anhaftenden Nährbodenbestandteile wurden sie 3 mal mit heißem Wasser ausgewaschen. Zur Gewinnung fettfreier Bazillen extrahierte ich die trockenen Vollbazillen mit Xylol, in derselben Versuchsanordnung, mit der ich die Äther-, Chloroform- und Xyloleextrakte zu meinen Versuchen darstellte. Im Soxhletschen Extraktionsapparate wurden in Schleischsche Hülsen abgefüllte trockene Tuberkelbazillen tagelang mit etwa 250 ccm Xylol oder Äther oder Chloroform extrahiert. Die Extrakte wurden zunächst durch Zentrifugieren von den mitgerissenen Tuberkelbazillen grob befreit. Die vollkommene Befreiung gelang mit Berkefeldfilter nicht ganz (vgl. Versuch Nr. 6), so daß ich bei der Reinigung der Extrakte späterhin aus Asbest selbst hergestellte Filter verwendete.

Die Extrakte wurden mehrere Male durch das gleiche (für verschiedenartige Extrakte wurden natürlich verschiedene Filter verwendet) Filter geschickt, wobei sehr großer Wert darauf gelegt wurde, daß das Filtrat nur in ganz sterilen, nie benutzten Reagenzgläschen aufgefangen wurde, damit sich an der Wand anhaftende Bakterien nicht der Flüssigkeit beimischen konnten. Dann wurden die Filtrate eingedampft und von jedem mehrere Präparate angefertigt. Tuberkelbazillen konnten trotz peinlichster Untersuchung in keinem Präparate nachgewiesen werden. Die so gereinigten Extrakte stellten nach dem Verdunsten der Extraktionsmittel das Ausgangsmaterial für meine Salben dar. Die Konsistenz der drei Extrakte war einheitlich wachsartig, schneid- und knetbar. Die Farbe des Ätherextraktes war hellgelb, des Xylol- und Chloroformextraktes dunkelbraun. Der Geruch bei allen erinnert an Fruchtäther, der des Chloroformextraktes ist leicht säuerlich.

¹⁾ Für das erwiesene Entgegenkommen bei Überlassung des Materials und die liebenswürdige Unterstützung durch die Herren Kollegen bei Erhebung des Schlachtbefundes sei es mir gestattet, den Herren, insbesondere dem Direktor des Schlachthofes, Herrn Veterinärarzt Angermann, meinen verbindlichsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Die verwendete Salbengrundlage zeichnet sich durch geleeartige Konsistenz aus. Nach der Applikation auf die Augenbindehaut löst sie sich bis zur Zähflüssigkeit und ist, wie besondere Versuche ergaben, völlig reizlos für die Lidbindehaut. Sie weist somit alle für meine Versuche erforderlichen Eigenschaften auf. Zur bequemeren Handhabung wurden die mit der Salbengrundlage hergestellten Phymatin-, Tuberkelbazillen-, Wachs- usw. Salben in Zinntuben abgefüllt. Die Konsistenz der Salben ist geleeartig, und die Salbe fließt auf Druck in gleichmäßiger Säule aus der Tube. Bei der Bakteriensalbe mußte besonderer Wert auf eine möglichst feine und gleichmäßige Verteilung der Bakterien gelegt werden. Diese Vollbakteriensalben zeigten einen gelblichen Farbenton. Durch intensives Verreiben konnte auch eine vollkommen gleichmäßig verteilte Wachssalbe erhalten werden. Die Salben zeichneten sich je nach dem zur Herstellung der Wachse verwendeten Extraktionsmittel durch verschiedene Farben aus. Xylol- und Chloroformextraktsalbe sahen beide dunkelbraun aus und ließen sich nicht voneinander unterscheiden, während Ätherextraktsalbe eine hellgelbe Farbe aufwies. Ein besonderer Geruch konnte nicht festgestellt werden.

Die Applikation des flüssigen Phymatins geschah in der üblichen Weise mittels Tropffläschchens, und zwar wurden jeweils 3 bis 5 Tropfen in das rechte Auge eingeträufelt, wie überhaupt das zur Kontrolle in allen Versuchen verwandte Phymatin bzw. Phymatinsalbe stets ins rechte Auge appliziert wurde. Die eigentlichen Versuche wurden stets am linken Auge durchgeführt. Die Technik der Salbeninstillation gestaltet sich stets folgendermaßen:

Ein Gehilfe fixiert den Kopf des Rindes durch Festhalten an den Hörnern. Ein seitliches Abbeugen bis beinahe zur Wagerechten wie bei Anwendung des Tropffläschchens ist nicht erforderlich. Vielmehr genügt es, wenn der Kopf nur geringgradig seitlich abgelenkt wird. Die Applikation der Salbe ist also in dieser Hinsicht leichter als die des flüssigen Phymatins. Bei der Instillation der Salbe selbst wurden zwei Methoden ausprobiert. Zunächst wurde die Salbe ohne ein besonderes Hilfsmittel direkt aus der Tube aufs Auge verbracht. Dabei zieht man mit der linken Hand in üblicher Weise die Augenlider vorsichtig auseinander, indem man, soweit es möglich ist, das obere Augenlid etwas umstülpt, so daß die Konjunktiva deutlich zu sehen ist. Dann streicht man mit der Tubenöffnung in langem Strich entlang der Berührungslinie von Kornea und Konjunktiva des oberen Augenlides, ohne jedoch mit der Tube die Konjunktiva zu berühren, was bei einiger Vorsicht sehr leicht zu verhüten ist. Während dieser Bewegung übt man auf die Tube einen leichten Druck aus wodurch die Salbe aus der Öffnung herausgedrückt wird und auf die Kornea in der Ausdehnung obiger Bewegung gelangt. Es ist unschwer zu erreichen, daß dabei stets gleichmäßig ein etwa kleinerbsengroßes Stück Salbe entleert wird. Dann läßt man das umgestülpte Augenlid in die alte Lage zurückgleiten, so daß die Salbe bedeckt wird und mit einer möglichst großen Fläche der Konjunktiva in Berührung kommt. Dies läßt sich mit Sicherheit dadurch erreichen, daß man das obere Augenlid nach Aufstreichen der Salbe mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand über die Salbe hinweghebt; dadurch wird ein Abschleudern der Salbe sicher verhindert, wie es fast nach jeder Applikation von dem Tiere durch energisches Kopfschütteln versucht wird. Durch den

Lidschlag wird dann die Salbe in dem Konjunktivalsack verteilt. Nach der Applikation der Salbe, ebenso wie nach der Instillation des Phymatins wurde das Auge weder leicht massiert noch zugehalten, um jede mechanische Reizung zu verhüten.

Bei der zweiten Applikationsmethode der Salbe wurde ein kleiner Spatel aus Zelluloid verwendet. Aus der Tube wurde ein Stück Salbe von der Größe einer kleinen Erbse herausgedrückt und mit dem Spatel abgehoben. Mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand hebt man das obere Augenlid ab, so daß sich eine kleine sagittale Falte bildet. Ein Schiefhalten des Kopfes ist nicht nötig. Letzterer braucht nur fixiert zu werden. In die Höhle unter der Falte, also zwischen Konjunktiva des Lides und des Bulbus, streicht man die Salbe ein und läßt das obere Augenlid los, so daß die Salbe vollkommen bedeckt ist. Jede weitere Manipulation am Auge ist unnötig, wenn nicht nachteilig. Die zuletzt geschilderte Methode eignet sich sehr gut zum Impfen größerer Bestände, da sie nach meiner Erfahrung den geringsten Zeitaufwand erfordert.

Die Applikation erfolgte gewöhnlich abends zwischen 5 und 6 Uhr. Nach 12 Stunden wurde das erste Mal und in der Folge, soweit es möglich war, alle 2 Stunden bis zur Schlachtung abgelesen. In einzelnen Fällen konnte ich diese Ablesungen aus äußeren Gründen nicht vollständig durchführen.

Zur Kennzeichnung des Grades der Reaktion (schleimig-eitriges Exsudat, Tränenfluß, Rötung, Schwellung, Injektion der Gefäße) wurden der Kürze wegen folgende Abkürzungen eingeführt. Es bedeutet: E = schleimig-eitriger Ausfluß. Der angeführte Index gibt in aufsteigender Folge die Menge des Exsudates an, so daß 1 etwa die Größe einer Erbse, 2 die Menge von 2 Erbsen, 0 kein Exsudat bezeichnet.

T + Tränenfluß	}	mit den einzelnen Graden in aufsteigender Reihe.
R + Rötung,		
S + Schwellung,		
I + Gefäßinjektion,		
– = Reaktion nicht abgelesen		

Soweit es sich mit der Ablesezeit vereinbaren ließ und aus technischen Gründen möglich war, wurde der Schlachtbefund in bezug auf Tuberkulose an Hand der Fleischschau erhoben.

In den einzelnen Versuchsreihen wurde (tuberkulösen bzw. tuberkulosefreien Rindern) in das rechte bzw. linke Auge folgendes instilliert:

1. (5 bzw. 8) 80%ige Phymatinsalbe bzw. reine Salbengrundlage,
2. (20 „ 42) flüssiges Phymatin bzw. Salbe mit 100% Phymatin,
3. (3 „ 19) 100%ige Phym.-Salbe bzw. Salbe mit 10% Rohtuberkelbazillen,
4. (13 „ 10) 80 „ „ „ „ „ 10 „ gewaschenen Rindertuberkelbazillen,
5. (14 „ 9) 80 „ „ „ „ „ 10 „ gewaschenen Menschentuberkelbazillen,
6. (7 „ 15) 100 „ „ „ „ „ 10 „ Xyloleextrakt,
7. (12 „ 12) flüssiges Phymatin „ „ „ 10 „ Ätherextrakt,
8. (8 „ 8) „ „ „ „ 10 „ Chloroformextrakt,
9. (7 „ 7) „ „ „ „ 10 „ Xyloleextrakt,
10. (16 „ 27) 80%ige Phym.-Salbe „ „ „ 10 „ mit Xylol extrahierter Tuberkelbazillen,
11. (insgesamt 135 Rinder) flüssiges Phymatin bzw. Salbe mit Rohtuberkelbazillen in Konzentrationen von 10, 5, 2,5, 1, 0,5, 0,1 0,05, 0,01%.

Versuchsergebnisse.

Die erste Versuchsreihe ergab, daß die Salbengrundlage den Anforderungen entsprach. Sie verursachte keine unspezifische Reizung des Auges tuberkulöser oder tuberkulosefreier Rinder und mengte sich der Tränenflüssigkeit gut und gleichmäßig bei.

Alle mit dieser Salbengrundlage hergestellten Präparate, dies sei den Ergebnissen der verschiedenen Versuchsreihen vorausgenommen, die Phymatin-, Tuberkelbazillen- und Extrakt-Salben, erwiesen sich als völlig reizlos auf die Bindehaut tuberkulosefreier Tiere. Empfehlenswert erscheint es mir immerhin, die Phymatinsalben nicht in 100%iger, sondern in 80%iger Konzentration anzuwenden, da mit der erstgenannten Dichte doch noch geringfügige unspezifische Reaktionen vorkamen, die allerdings unterhalb der als positiv zu bewertenden Reaktionsstärke gelegen waren.

Auf die Konjunktiva tuberkulöser Rinder verbracht, ruft eine 100- oder 80%ige Phymatinsalbe vollkommen gleichkräftige Reaktionen hervor, wie flüssiges Phymatin (Versuch-Nr. 2).

In den Versuchsreihen 3, 4 und 5 erwiesen sich Salben, in denen zu 10% Vollbazillen enthalten waren, als nahezu ebenso stark wirksam wie 80- oder 100%ige Phymatinsalben, und zwar auch dann, wenn die zur Herstellung solcher Salben verwendeten Tuberkelbazillen vorher durch Auswaschen mit kochendem Wasser von anhaftenden Nährbodenbestandteilen restlos befreit waren. Menschen- und Rindertuberkelbazillen zeigten dabei keinen Unterschied in ihrer spezifischen Wirkung.

Mit Rindertuberkelbazillensalbe (Versuch 4) reagierten von 13 tuberkulösen Rindern 11 mit geringerer, 2 mit gleicher Exsudatbildung, wie sie 80%ige Phymatinsalbe hervorrief. Die Reaktion war in 11 Fällen unter E_1 (Phymatin: 3 Fälle), in 2 Fällen E_1-E_2 (Phymatin: 8 Fälle), die restlichen 2 über E_2 .

Bei Verwendung von Menschentuberkelbazillensalbe (Versuch 5) konnten bei 7 von 14 tuberkulösen Rindern gleichstarke, bei einem eine etwas stärkere und bei 6 tuberkulösen Rindern geringergradige Reaktionen festgestellt werden als bei Verwendung von 80%iger Phymatinsalbe. Die Reaktionen hielten sich in 9 Fällen unter E_1 , betrug in 3 Fällen E_1-E_2 und in 2 Fällen E_2-E_3 .

Im Vollbazillus ist also ein die konjunktivale Allergie auslösender Stoff enthalten.

Meine weiteren Untersuchungen (Versuch 6 bis 9) erstreckten sich auf die Lösung der Frage, ob die äther-, chloroform- oder xylollöslichen Anteile der Tuberkelbazillen die Träger dieser eine Allergie auslösenden Stoffe des Tuberkelbazillus sind.

Eine mit dem nach Filtration durch Berkefeldfilter gewonnenen „Xylolwachs“ hergestellte Salbe (Versuchsreihe 6) löste bei einem tuberkulösen Rinde eine gleichstarke, bei den übrigen 6 geringere Reaktionen aus als eine 100%ige Phymatinsalbe. Die Reaktionsstärke betrug bei 4 Rindern $E_0-E_{1/2}$, bei dreien E_1 . Mit dem Xylolwachs konnte also bei drei von sieben tuberkulösen Rindern eine deutliche konjunktivale Reaktion ausgelöst werden.

Um mit Sicherheit einen Versuchsfehler auszuschließen, habe ich den zur Herstellung der Wachssalbe verwandten Xyloleextrakt nochmals eingehend

auf seinen Gehalt an Tuberkelbazillen untersucht. Das Tuberkelbazillenwachs wurde in dünner Schicht auf einen neuen ungebrauchten Objektträger ausgestrichen, fixiert und gefärbt. Dies geschah durch Einlegen der Präparate in Karbolfuchsin bei Bruttemperatur für 1 oder 24 Stunden bzw. durch ein- bis zweiminütiges Aufkochen mit diesem Farbstoffe und anschließender Entfärbung in 25%iger Schwefelsäure. In den so gefärbten Präparaten konnte ich in jedem Gesichtsfelde 1 bis 2 Tuberkelbazillen nachweisen.

Dieser Befund veranlaßte mich, weiteren Versuchen eine nochmalige Reinigung meiner Wachssubstanzen vorzuschicken. Zu diesem Zwecke wurden sämtliche Extrakte in ihren homologen Extraktionsmitteln erneut gelöst und durch die oben des Näheren geschilderten Asbestfilter mehrere Male hindurchgesaugt. Von der absoluten Freiheit der Filtrate von irgendwelchen Beimengungen von Tuberkelbazillen überzeugte ich mich durch Anfertigung von Objektträgerpräparaten nach der obigen Methode. Da ich trotz eifrigem Suchen in vielen Gesichtsfeldern verdächtige Stäbchen nicht finden konnte, nahm ich an, daß die so gereinigten Extrakte tatsächlich von jeder Beimengung geformter Substanzen frei seien. In den folgenden Versuchsreihen (7 bis 9) habe ich dann die Wirkung dieser gereinigten Extrakte auf die Lidbindehaut tuberkulöser Rinder geprüft.

Der Ätherextrakt (7. Versuchsreihe) vermochte bei 8 von 10 tuberkulösen Rindern, die mit flüssigem Phymatin deutliche Reaktionen aufgewiesen hatten ¹⁾, nicht die geringste Reizung, bei einem graues, schleimiges Exsudat von der Größe einer Viertelerbse zu einer Ablesung (12. Stunde) und bei dem letzten dasselbe von der Größe einer halben bis dreiviertel Erbse (12. und 14. Stunde) zu verursachen. Bei den späteren Ablesungen trat dieses Exsudat nicht mehr auf. Eine typische (eitriges Exsudat) Allergie der Lidbindehaut tuberkulöser Rinder gegenüber Ätherextrakt war also nicht festzustellen.

Auf Einträufelung von Chloroformextrakt (8. Versuchsreihe) zeigten von 8 tuberkulösen Rindern, von denen 7 auf Phymatin deutlich reagierten, ein Rind graues, schleimiges Exsudat von der Größe einer halben Erbse, die 7 anderen gar keine Reaktion. Auch der Chloroformextrakt erwies sich also als unwirksam auf die Konjunktiva des Auges tuberkulöser Rinder.

Von den 7 tuberkulösen Rindern, denen Salbe mit Zusatz von Xyloleextrakt (9. Versuchsreihe) appliziert wurde, zeigte eins deutliche Reaktion in Form von Exsudat, Tränenfluß, Rötung und Schwellung des Auges, zwei ganz geringfügige Exsudation, die übrigen vier gar keine Reaktion. Das eine positive Ergebnis glaube ich angesichts der durchgängig negativen Resultate bei allen anderen Versuchen und unter Berücksichtigung der ungünstigen Haltung der Tiere auf dem Schlachthofe als unspezifische, wahrscheinlich mechanische Reizung ansprechen zu können. Danach hat auch der Xyloleextrakt in Übereinstimmung mit den anderen beiden Extrakten eine bei tuberkulösen Rindern bestehende Allergie nicht auszulösen vermocht.

Zur Kontrolle wurden anschließend die mit Xylol extrahierten Tuberkelbazillen darauf untersucht, ob sie noch in gleicher Weise, wie ich dies oben

¹⁾ Die weiteren 2 tuberkulösen hatten in der Beobachtungszeit weder auf Phymatin noch auf Wachs reagiert.

für Volltuberkelbazillen festgestellt hatte, spezifisch reizend auf die Konjunktiva des Auges tuberkulöser Rinder wirke. Von den 13 auf Phymatin reagierenden ¹⁾ tuberkulösen Rindern zeigten 10 eine deutliche Reaktion auch mit den mit Xylol extrahierten Bazillen, und zwar war die Reaktion bei zwei mit beiden Mitteln gleichstark, bei 7 die des Phymatins stärker und bei einem die des Phymatins schwächer. Es waren also nach der Extraktion mit Xylol noch genügend reaktive Stoffe in den Tuberkelbazillen enthalten, daß die Konjunktivalallergie ausgelöst wurde.

Meine letzte Versuchsreihe endlich diente dem Zwecke festzustellen, bei welcher Konzentration der Tuberkelbazillen in der Salbe gerade noch eine positive Augenreaktion ausgelöst werden konnte. Die Reaktionsstärken waren gleich, größer oder kleiner als Phymatin

bei 10	%iger Salbe in	3, 5 oder 2	Fällen,		
„ 5	„ „ „	5, 4	„ 1	„	
„ 2,5	„ „ „	2, 5	„ 1	„	
„ 1	„ „ „	3, 0	„ 10	„	
„ 0,5	„ „ „	1, 0	„ 10	„	
„ 0,1	„ „ „	1, 0	„ 5	„	
„ 0,05	„ „ „	0, 0	„ 6	„	und
„ 0,01	„ „ „	0, 0	„ 5	„	

Die 10, 5 und 2,5%igen Vollbazillensalben haben eine stärkere, die 1- und weniger %igen hingegen eine geringere Wirkung entfaltet als flüssiges Phymatin. Die Grenze der Wirksamkeit der Vollbazillen auf die Lidbindehaut tuberkulöser Rinder liegt etwa bei einer 0,1%igen Konzentration.

Konnte ich auch eine quantitative Untersuchung meiner rohen Extrakte auf ihren Gehalt an Tuberkelbazillen nicht vornehmen, so dürfte dieser angesichts der Tatsache, daß in jedem Gesichtsfelde des dünnen Ausstriches bei Betrachtung mit Ölimmersion 1 bis 2 Bazillen gefunden wurden, der Konzentration von 0,1% ziemlich nahe stehen. Auf diese Weise ist mein zuerst gewonnenes Resultat einer Allergieauslösung mit meinem Xyloleextrakt wohl mit Sicherheit als Fehlresultat anzusehen.

Zusammenfassung.

1. Die verwendete Salbengrundlage verteilt sich, in den Lidsack des Rindes verbracht, leicht und gleichmäßig und bleibt zähflüssig genug, um ein schnelles Ausschwemmen durch die Tränen zu verhüten. Bei Verbringen auf die Konjunktiva von tuberkulösen oder tuberkulosefreien Rindern verursacht sie keinerlei reizende Wirkung.

2. Die Applikation derartiger Salben in den Lidsack gelingt leicht, indem man die Salbe aus der Zinntube entlang der Berührungslinie der Bindehaut des umgestülpten oberen Augenlides und Augapfels hinführt, ohne die Bindehaut selbst zu berühren. Es gelingt auf diese Weise leicht, auch die Dosierung einer kleinen Erbse einzuhalten. Empfehlenswert ist es, das obere Augenlid über die Salbe hinwegzuheben, so daß sich nach der Instillation die Salbe sicher

¹⁾ Die weiteren 3 tuberkulösen hatten in der Beobachtungszeit weder auf Phymatin noch auf xyloleextrahierte Bazillen reagiert.

unter dem oberen Augenlid befindet. Eine andere Methode hat sich bezüglich der Schnelligkeit der Instillation als noch besser bewiesen, während die Sicherheit einer genügend langen Einwirkung überdies gewährleistet wird. Dabei geschieht das Einbringen der Salbe mittels eines kleinen Spatels unter das abgehobene obere Augenlid, wobei der Spatel am Lidrand abgestrichen wird. Nach Loslassen des oberen Augenlides befindet sich ebenfalls die Salbe mit Sicherheit unter dem oberen Augenlide, wodurch ein Abschleudern verhindert wird.

3. Mit dieser Salbengrundlage hergestellte 100%ige Phymatinsalbe ist für die Konjunktiva des Auges tuberkulosefreier Rinder in gleicher Weise reizlos wie Phymatin und ihre Wirkung auf tuberkulöse Rinder ist, gemessen an der Lidbindehaut, der des Phymatins gleich. Eine geringfügig höhere Wirkung des Phymatins in Salbenform kann leicht abgestellt werden, indem der Gehalt der Salbe an Phymatin auf 80% vermindert wird. Angesichts der bequemen Handhabung der Salbe, sowie der sicheren Dosierung, dürfte es empfehlenswert sein, sich in größerem Umfange der Phymatinsalbe (80%ig) an Stelle des tropfbar flüssigen Phymatins zu bedienen.

4. Tuberkelvollbazillen in Salbenform gleichmäßig verteilt und in den Konjunktivalsack der tuberkulosefreien Rinder verbracht, wirken dort in keiner Weise unspezifisch reizend. Geringer Tränenfluß, sowie hirsekorngroße, graue Exsudatmassen, wie sie durch Instillation dieser Salbe bei tuberkulosefreien Rindern zur Beobachtung kamen, werden auch durch Instillation entsprechender Phymatinsalben verursacht und liegen nach dem üblichen Beurteilungsmodus dieser Reaktionen unterhalb der positiv zu bewertenden Reizwirkung. Auf die Augenbindehaut tuberkulöser Rinder wirken einfach filtrierte sowie von allen Nährbodenbestandteilen durch Auswaschen mit heißem Wasser befreite Tuberkelbazillen vom Rind und Menschen in gleicher Weise spezifisch ein wie Phymatin. Die Reaktionsstärke ist dabei namentlich bei Rindertuberkelbazillen von mir als etwas geringer befunden worden. Es muß weiteren Untersuchungen überlassen bleiben, inwieweit dieses Ergebnis tatsächlich auf eine geringere Wirkung oder nur auf ein verspätetes Eintreten zurückzuführen ist, was ich bei meinen ungünstigen Beobachtungszeiten zu ermessem nicht imstande bin. Bei Versuchen zur Feststellung der Konzentration der Vollbazillen in der Salbe, bei der gerade noch eine spezifische Wirkung auf das Auge tuberkulöser Rinder erfolgt, konnte ich vielfach auch stärkere Reaktionen mit 10%iger bis 1%iger Vollbazillensalbe auslösen. Auch Salben, in denen Vollbazillen in einer Konzentration von 0,1% enthalten sind, können noch deutliche Reaktionen am Auge des tuberkulösen Rindes auslösen. Bei geringeren Konzentrationen der Tuberkelbazillen hingegen war die Reaktion auch bei tuberkulösen Tieren negativ.

5. Xylol-, Äther- und Chloroformextrakt wirken auf die Lidbindehaut tuberkulosefreier Rinder nicht unspezifisch reizend. Xylolextrakt von Tuberkelbazillen, der von mitgerissenen Bakterien nicht vollkommen befreit war, verursacht auf die Konjunktiva tuberkulöser Rinder verbracht, bei diesen eine spezifische Reizwirkung, die, wenn auch quantitativ geringer als Phymatin, doch qualitativ dieser entspricht.

Xylol-, Äther- und Chloroformextrakt von Tuberkelbazillen, die von mitgerissenen Bakterien restlos befreit waren, waren nicht imstande, auf der Konjunktiva des Auges tuberkulöser Rinder eine spezifische Reizwirkung zu entfalten.

6. Mit Xylol extrahierte Tuberkelbazillen lösen auf der Lidbindehaut tuberkulöser Rinder eine charakteristische, spezifische Reizwirkung aus, die in ihren Erscheinungen der des Phymatins weitgehend gleicht. Unspezifische Reizung auf die Augen tuberkulosefreier Rinder hingegen tritt nicht ein.

Schlußfolgerungen.

Aus meinen Versuchsergebnissen ziehe ich folgende Schlüsse.

1. Die im Tuberkulin (Phymatin) enthaltenen spezifischen Stoffe wirken auf die Konjunktiva des tuberkulösen Rindes in der Weise, daß im medialen Augenwinkel ein schleimig-eitriges Exsudat auftritt oder nach 24 Stunden noch Tränenfluß besteht oder nach 24 Stunden nach der Einträufelung noch eine markante Rötung der Konjunktiva und Schwellung der Bindehaut und des Augenlides sichtbar ist.

2. An Stelle des tropfbar-flüssigen Phymatins empfiehlt es sich, wegen der bequemen Handhabung eine 80%ige Phymatinsalbe anzuwenden, die in jeder Hinsicht bezüglich der Wirkung dem Phymatin entspricht.

3. In den Vollbazillen sind Stoffe enthalten, die in gleicher Weise wie das Phymatin auf die Konjunktiva des tuberkulösen Rindes spezifisch wirken.

4. In den von den Bazillen hinlänglich befreiten Xylol-, Äther- und Chloroformextrakten der Tuberkelbazillen sind spezifisch reizende Stoffe, wie sie bei der Augenprobe mit Phymatin wirksam sind, nicht enthalten, vielmehr bleiben diese bei der Extraktion in den Bazillenleibern zurück.

5. Die Lidbindehaut des tuberkulösen Rindes reagiert auf die in Xylol, Äther und Chloroform löslichen Stoffe des Tuberkelbazillus nicht. Es kann somit in dieser Richtung von allergisch nachweisbaren Fettantikörpern im Sinne Muchs nicht gesprochen werden.

Nach Beendigung meiner Arbeit bitte ich Herrn Obermedizinalrat Prof. Dr. Klimmer, meinem hochverehrten Lehrer, für die Überlassung des Themas, die meinen Untersuchungen jederzeit entgegengebrachte Anteilnahme und seine freundliche Unterstützung in allen Fragen meinen ergebensten Dank entgegenzunehmen.

Ferner möchte ich an dieser Stelle Herrn Privatdozenten Dr. Haupt, Oberassistenten am Hygienischen Institut, für seine Hilfsbereitschaft während der Anfertigung meiner Versuche sowie für die sehr wertvollen Ratschläge, mit denen er mir jederzeit zur Seite stand, meinen besten Dank aussprechen.

Literatur.

1. Much, Immunitätswissenschaften. 1914. 2. Aufl. 82, 83 u. 280ff.
2. Leschke, Die Auflösung von Tuberkelbazillen nach Deycke und Much. Klinik der Tuberkulose. 20, 393ff. 1911.
3. Haupt, Habilitationsschrift 1914. 60.
4. Much und Leschke, Das biologische und immunisatorische Verhalten der Tuberkelbazillenaufösungen nebst Tuberkulinstudien und Tuberkuloseimmunitätsstudien. Klin. d. Tuberkul. 20, 427ff. 1911.
5. Altstaedt, Untersuchungen mit Muchschen Partialantigenen am Menschen. Klin. d. Tuberkul. 4 u. 5, 254.

6. Beck, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **6**, 698. 1909.
 7. Uhlenhuth, Lepra. Bibl. intern. **11**, 1910.
 8. Klimmer, Gesundheitspflege der landwirtschaftlichen Nutztiere. 3. Aufl. 366.
 9. Bürger und Möllers, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. **42**. Jahrg. 1574.
 10. Leibkind, Über den Stand der Frage der Partialantigene mit Beitrag zur Frage der Immunisierung gegen Fette. Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. **47**, 19. 1920.
 11. Wolff-Eisner, Tuberkulinvaseline zur Anstellung der Tuberkulinreaktion. Dtsch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 47. 2080.
 12. Moro, Münch. med. Wochenschr. 1908. **55**. Jahrg. I. Hälfte. 217.
 13. Gärtner, Beiträge zur Ophthamoreaktion und Intrakutanreaktion beim Rinde. Inaug.-Diss. Giesen 1910. 22, 38, 42, 46, 48, 52.
 14. Täuber, Über die Wirkung der hauptsächlich im Tuberkulin und in den zu den lokalen Tuberkulinreaktionen verwendeten Tuberkulinlösungen enthaltenen nichtspezifischen Bestandteile auf die Augen-Scheidenschleimhaut und äußere Haut des Rindes. Inaug.-Diss. Dresden 1910. 30.
 15. Klimmer und Wolff-Eisner, Tuberkulosedagnostik mit Tuberkulinpräparaten. Handbuch der Serumtherapie und Serumdiagnostik in der Veterinärmedizin (Bd. 2 der Serumtherapie). 108. 1911.
-