

HANDBUCH DER VIRUSFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. R. DOERR UND PROF. DR. C. HALLAUER
BASEL BERN

I. ERGÄNZUNGSBAND

DIE NATUR DER VIRUSARTEN · MENSCH UND TIER ALS VIRUSTRÄGER
UND VIRUSAUSSCHEIDER · DIE UNSPEZIFISCHE PROVOKATION MANI-
FESTER VIRUSINFEKTIONEN · DIE CHEMOTHERAPIE DER DURCH VIRUS-
ARTEN HERVORGERUFENEN INFEKTIONSKRANKHEITEN · VIRUSIMPF-
STOFFE ZUR MENSCHLICHEN SCHUTZIMPfung · GENERAL PATHOLOGY
OF VIRUS INFECTIONS IN PLANTS

BEARBEITET VON

R. DOERR-BASEL · B. FUST-BERN · C. HALLAUER-BERN
L. O. KUNKEL-PRINCETON, NJ.

MIT 62 ABBILDUNGEN IM TEXT



WIEN
SPRINGER-VERLAG
1944

ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN
COPYRIGHT 1944 BY SPRINGER-VERLAG OHG. IN VIENNA
Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1944

ISBN-13: 978-3-7091-9543-7 e-ISBN-13: 978-3-7091-9790-5
DOI: 10.1007/978-3-7091-9790-5

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Die Natur der Virusarten. Von R. DOERR, Basel. Mit 3 Abbildungen	1
I. Einleitung	1
II. Die Eigenschaften der Virusarten als Quelle der Problematik	4
III. Welche Virusarten weichen in einer fundamentalen Beziehung von den pathogenen Mikroben ab?	8
A. Die Virusproteine	8
1. Moleküle der Virusproteine und infektiöse Einheiten	10
2. Teilchengröße und Teilchenform des Virusproteins des Tabakmosaiks im elektronenoptischen Bild	14
a) Die Wirkung von Ultraschallwellen auf das Virusprotein des Tabakmosaiks und sein Verhalten im elektronenoptischen Bild	15
b) Biologische Deutung der Variabilität der Stäbchenlänge	17
c) Die Bestrahlungsversuche	20
3. Hochmolekulare Normalproteine und endogene Virusbildung	20
4. Beziehungen zwischen Virusprotein und Zellkern	26
5. Die Versuche, die chemische Grundlage der Vermehrungsfunktion zu ermitteln	27
6. Die Absterbeordnungen der Viruselemente	35
7. Die Inaktivierung durch ionisierende Strahlen	38
8. Makromolekulare Virusproteine als Träger der Virusfunktionen	40
9. Zur kristallinen Struktur der Virusproteine	41
B. Kristalle, infektiöse Einheiten und Elementarkörperchen	45
IV. Das infektiöse (vermehrungsfähige) Virusmolekül als biologische Einheit	46
1. Virusmoleküle als Endglieder einer kontinuierlichen Reihe	46
2. Die großen Virusarten (Vaccine- und Psittacosevirus)	48
3. Die dimensionale Virusskala in biologischer Beleuchtung	50
4. Die Virusvermehrung	53
Die Virusvermehrung als Autokatalyse	53
5. Viruselemente und Gene	63
V. Phylognese der Virusarten und Abiogenese	70
Abiogenetische Entstehung der Proteine	73
Literaturverzeichnis	75
Mensch und Tier als Virussträger und Virusausscheider. Von R. DOERR, Basel	88
I. Einleitung	88
1. Definition	88
2. Mannigfaltigkeit der Formen des Trägertums	89
3. Träger bei Viruskrankheiten	89
4. Mechanismus des Trägertums. Beziehungen der latenten (subklinischen) Infektion zur Pathogenese der Symptome der Infektionskrankheiten	90

	Seite
II. System des Trägertums tierpathogener Virusarten.....	93
A. Das Trägertum, das während der ganzen Dauer seines Bestehens subklinisch bleibt	93
1. Die Latenz (das Trägertum) als cyclischer Prozeß	93
a) Die Dengue	93
b) Das Pappataciefieber	96
c) Das Gelbfieber	97
2. Das Trägertum als Folge einer besonderen, für das typische Krankheitsbild belanglosen Lokalisation	101
a) Die pleuropneumonieähnlichen mäusepathogenen Stämme von A. B. SABIN	101
b) Das Speicheldrüsenvirus der Meerschweinchen	102
c) Die Encephalomyelitis der weißen Mäuse (THEILERSche Krankheit)	103
d) Die Poliomyelitis	104
α) Virusnachweis bei latent infizierten Kontaktfällen	105
β) Die Spärlichkeit der Virusbefunde bei gesunden Kontaktpersonen als Folge einer nicht genügend leistungsfähigen Untersuchungsmethode	106
γ) Die indirekten Beweise für die Existenz einer hochgradigen latenten Durchseuchung	109
B. Das Trägertum (die Virusausscheidung) als Vorläufer der spezifischen Erkrankung	114
1. Masern, Röteln, Varicellen, Pocken	114
2. Die Lyssa des Hundes	119
C. Das Trägertum als Folge eines Infektionsprozesses.....	123
1. Lymphogranuloma inguinale	129
2. Psittacosis.....	136
a) Menschen als Virusträger	136
b) Tiere als Träger und Ausscheider des Psittacosevirus	143
Mäuse	143
Andere Säugetiere	145
Vögel	145
3. Herpes febrilis	150
4. Poliomyelitis	153
a) Virusbefunde im Nasenrachenraum von Patienten und Rekonvaleszenten	153
b) Virus im Stuhle von Kranken (Rekonvaleszenten) und im Darminhalt von Poliomyelitisleichen	154
c) Kritik der gastrointestinalen Theorie	156
d) Menge des durch den Stuhl abgesonderten Virus und Dauer der Ausscheidung	160
5. Die ansteckende Blutarmut der Pferde.....	161
6. Die Influenza erysipelatosä (Rotlaufseuche) der Pferde.....	167
7. Lyssa	169
a) Hunde	169
b) Andere Säugetiere	173
8. Schweineinfluenza	177
Schlußwort	179
Literaturverzeichnis.....	180

	Seite
Die unspezifische Provokation manifester Virusinfektionen. Von B. FUST, Bern. Mit 6 Abbildungen	195
Allgemeiner Teil.	
I. Einleitung	195
II. Die Eruiierung latenter Virusinfektionen.....	196
A. Die Provokation manifester Virusinfektionen durch Blindpassagen...	197
B. Die Provokation manifester Virusinfektionen durch Einverleibung an und für sich harmloser oder wenig toxischer Substanzen	201
C. Die Eruiierung latenter Virusinfektionen durch Überimpfung von Organ- emulsionen auf hochempfindliche Gewebe	203
D. Der Nachweis besonderer latenter Virusinfektionen durch Verimpfung von Organemulsionen auf hochempfängliche Wirte.....	204
III. Die Bedeutung der unspezifischen Provozierbarkeit latenter Virusinfektionen	204
IV. Die unspezifische Beseitigung manifester Virusinfektionen .	206
Spezieller Teil.	
A. Die Provokation manifester Virusinfektionen mittels Blindpassagen.....	208
1. Hodenblindpassagen	208
a) Virus III.....	208
b) Virus „S“	213
c) Kaninchenpocken.....	214
2. Hirnblindpassagen.....	214
a) Poliomyelitis	214
b) Rolling disease	220
c) Maul- und Klauenseuche	221
d) Influenza	222
3. Lungenblindpassagen	223
a) Influenza	223
b) Pneumotrope Mäusevira.....	227
c) Pneumotrope Virusarten bei Frettchen, Meerschweinchen und Kaninchen	230
d) Ektromelie	231
4. Cutane Blindpassagen	234
5. Intraperitoneale Blindpassagen	234
B. Die unspezifische Provokation manifester Virusinfektionen durch Einver- leibung atoxischer oder oligotoxischer Stoffe	236
1. Lymphocytäre Choriomeningitis	236
2. Rolling disease	241
3. Encephalitis postvaccinalis	244
4. Poliomyelitis	245
5. BORNASche Krankheit	248
6. Ektromelie	249
7. Influenza.....	249
8. Marmorlungenkrankheit der Maus	250
9. Die provokatorische Funktion der bakteriellen Komponente bei be- stimmten „gekuppelten“ Infektionen	252
10. Der Einfluß des Virus der Erkältungskrankheit des Menschen (Common cold) auf die Nasen-Rachenflora des Schimpansen	254
C. Die Eruiierung latenter Virusinfektionen durch Überimpfung von Organ- emulsionen auf hochempfindliche Gewebe.....	255
1. Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens	255

	Seite
2. Kanarienvogelpocken	256
3. Encephalomyelitis der Mäuse	256
4. Filtrierbare mesenchymotrope Mikroorganismen	258
D. Der Nachweis besonderer latenter Virusinfektionen durch Verimpfung von Organemulsionen auf hochempfindliche Wirte	259
1. Das Mäusevirus von LAIGRET und DURAND	259
2. Lyssa	261
Literaturverzeichnis	263
Die Chemotherapie der durch Virusarten hervorgerufenen Infektionskrankheiten. Von R. DOERR, Basel	271
I. Die Sulfanilamidtherapie	272
A. Allgemeiner Teil	272
1. Beginn und Werdegang	272
2. Die antibakterielle Wirkung der Sulfonamidderivate als Erkenntnisquelle für die Möglichkeit einer Sulfonamidtherapie der Virusinfektionen	279
a) Der bakteriostatische Effekt	280
b) Die Beziehungen der Sulfanilamide zu den Bakterien	282
Die Inhibitoren der bakteriostatischen Wirkung	282
Spezifität der Beziehungen der verschiedenen Sulfanilamidderivate zu bestimmten Bakterien	288
Verbindungen, deren bakteriostatische Wirkung durch p-Aminobenzoensäure nicht beeinflußt wird	291
Intracelluläre Bakterien und Viruselemente	293
c) Der antagonistische Einfluß der Sulfanilamidderivate auf experimentelle Infektionen der Laboratoriumstiere	296
d) Die klinische Erprobung am infizierten Menschen	298
B. Spezieller Teil	298
a) Lymphogranuloma inguinale	298
b) Das Trachom	312
c) Lymphocytäre Choriomeningitis	318
d) Herpes corneae	318
e) Herpes zoster (ZONA)	318
f) Hundestaube	320
g) Influenza	320
h) Masern	322
i) Pocken	323
j) Poliomyelitis	326
k) Rabies	328
l) Psittacose	328
m) Parotitis epidemica	328
n) Encephalitiden verschiedener Ätiologie	328
o) Andere virusbedingte Infektionen	329
II. Die Chemotherapie der Virusinfektionen durch Substanzen anderer Art	330
Literaturverzeichnis	333
Virusimpfstoffe zur menschlichen Schutzimpfung. Herstellung, Anwendung und Wirksamkeit. Von C. HALLAUER, Bern	349
I. Allgemeine Kriterien	349
II. Die zur menschlichen Schutzimpfung verwendeten Impfstoffe	351

	Seite
A. Variola	352
1. Entwicklung der Impfstoffgewinnung	352
a) Beschaffung von Ausgangsstämmen	352
b) Erhaltung der Virusstämme in Wirtspassagen	353
c) Entkeimung und Reinigung der Impfstoffe	355
d) Primär keimfreie Impfstoffe	357
e) Antigenimpfstoffe	365
2. Technik der Impfstoffherstellung	366
a) Animale Dermovaccine	366
b) Gewinnung der gebrauchsfertigen Kälberlympe	368
c) Kultur- und Eihautvirus	371
d) Auswertung der Impfstoffe	372
e) Konservierung der Impfstoffe	375
3. Technik der Vaccination	376
a) Art der Impfstoffapplikation	376
b) Zeitpunkt der Erstimpfung	383
c) Kombinierte Impfungen	383
4. Dauer des Impfschutzes	384
Bestimmungsmethoden	384
Ergebnisse	385
Literaturverzeichnis	388
B. Lyssa	401
1. Die Veränderlichkeit und Vielheit der Virus-fixe-Stämme und ihre Bedeutung für die Impfstoffgewinnung	401
2. Impfstoffgewinnung	403
a) Fixierung von Straßenwutstämmen	403
b) Virusbeschaffung durch Dauerpassagen fixierter Virusstämme ..	406
c) Konservierung des Stamm- und Impfvirus	407
α) Immersion in Glycerin	407
β) Kältekonservierung	408
γ) Konservierung durch Trocknung	408
d) Abschwächung und Inaktivierung des fixierten Virus	409
α) Physikalische Abschwächungsmittel	410
β) Immuneserum als Abschwächungsmittel	415
γ) Chemische Abschwächungs- bzw. Inaktivierungsmittel	417
3. Die Applikation der Impfstoffe	426
a) Immunisierungsprinzip von PASTEUR	426
b) Intensivierung der Impfverfahren	427
4. Die Bewertung der Impfstoffe bzw. der Impfverfahren	434
a) Ergebnisse und Bewertung der Impfstatistik	434
b) Ergebnisse des Tierversuches	437
c) Quantitative Auswertung der Impfstoffe	438
d) Überlegenheit der infektiösen über die inaktivierten Impfstoffe ..	440
e) Vorteile der auf chemischem Wege abgeschwächten bzw. inaktivierten Impfstoffe	443
Anhang	445
A. Übersicht über die hauptsächlichsten Impfverfahren	445
B. Internationale Lyssastatistik von MCKENDRICK	452
C. Übersicht über die Ergebnisse der Tierversuche	454
Literaturverzeichnis	458

	Seite
General Pathology of Virus Infections in Plants. By L. O. KUNKEL, Princeton, New Jersey. Mit 53 Abbildungen.....	473
I. Introduction	473
II. Effects Described by Common Names	474
III. Nature of Virus Infections	476
IV. Mosaic Diseases	479
V. Ringspot Diseases	492
VI. Non-Spotting Diseases	494
VII. Multiple Infections with Closely Related Viruses	503
VIII. Multiple Infection with Unrelated Viruses.....	510
Summary	514
Bibliography	514
Sachverzeichnis	522

Erster Abschnitt.

Die Natur der Virusarten.

Von

R. DOERR, Basel.

I. Einleitung.

Die Aufforderung, daß sich die Erforschung der Virusarten auf Beobachtung und Experiment beschränken und alle Versuche einer Einordnung der hier erwachsenden Probleme in das biologische und weltanschauliche Denken — weil vorläufig aussichtslos — beiseite schieben möge (H. ZINSSER, N. W. PIRIE u. a.), hatte einen in solchem Ausmaß seltenen Mißerfolg zu verzeichnen. Dies war mit Sicherheit vorauszusehen. Ursprung und Wesen des Lebens zu ergründen, war und bleibt letztes und höchstes Ziel der Wissenschaft, und die Eigenschaften der virusartigen Infektionsstoffe, vor allem die minimalen und im Minimalen doch auch wieder begrenzten Dimensionen ihrer Einheiten berechtigten zu der Erwartung, diesem Ziele näherzukommen. Nur so ist es verständlich, daß die vom Spezialisten erzielten Ergebnisse so rasch das Interesse weitester Kreise zu erwecken vermochten, und daß sich nicht nur Biologen der verschiedensten Richtung, sondern auch Chemiker und Physiker mit der „wahren Natur der Virusarten“ zu beschäftigen begannen.

Es ist somit nicht notwendig, ausführlich auf die Begründung eines Standpunktes einzugehen, welcher eine natürliche Auswirkung der Virusforschung verhindern möchte. Ein kurzer Hinweis auf zwei besonders häufig vorgebrachte Motive dürfte genügen.

N. W. PIRIE hält es für richtig, in allen Diskussionen über Grenzfälle (als solche „border-line systems“ werden die bei der Gewebekultur beobachteten Phänomene, enzymatische Prozesse und die Wechselbeziehungen zwischen den Virusarten und ihren Wirten bezeichnet) die Ausdrücke „Leben“ oder „belebt“ so lange zu vermeiden, bis eine allgemeingültige Definition des Lebens aufgestellt werden kann. Als warnendes Beispiel wird u. a. der frühere Gegensatz von „sauer“ und „alkalisch“ angeführt, der durch eine einheitliche quantitative Vorstellung, das Verhältnis der H^+ - zu den OH^- -Ionen ersetzt werden konnte. In den meisten Gebieten der Biologie sei die alte Nomenklatur unbrauchbar, denn die Worte „sauer“ und „alkalisch“ hätten nicht die geeignete Bedeutung, um etwa Flüssigkeiten vom p_H 6 oder 8 zu beschreiben. Nun ist es durchaus möglich, daß sich auch der Sinn der Antithese „belebt — unbelebt“ einmal in ähnlicher Weise ändern könnte. Bisher ist aber diese Wandlung *nicht* eingetreten und sie kann auch nicht dadurch herbeigeführt oder beschleunigt werden, daß man die Ausdrücke verfehmt, die in eine andere Beziehung gebracht werden sollen.¹ Solange die Lehre von der Wasserstoffionenkonzentration

¹ „Gerade die ängstliche Umgehung sachlich zutreffender Bezeichnungen kann Mißverständnisse erzeugen und zu einer Vogel-Strauß-Wissenschaft führen, die auf

noch unbekannt war, hat die Chemie mit den Begriffen „sauer“ und „alkalisch“ erfolgreich operiert, und diese Begriffe haben, obgleich in ihrer Verwendbarkeit eingeschränkt, ihre Rolle auch heute noch nicht ausgespielt. Was sich hier vollzogen hat, ist, soweit es sich um den Nachweis fließender Übergänge zwischen belebten und unbelebten Objekten handelt, eine Hoffnung auf künftige Leistungen der Wissenschaft, von der man nicht voraussagen kann, ob ihr Erfüllung beschieden sein wird. Daß es uns gegenwärtig schwer, ja sogar unmöglich wird, bestimmte Fälle der phänologisch erschlossenen Umwelt in eine der beiden, zueinander in Gegensatz gebrachten Kategorien des Seins mit Sicherheit einzuordnen, kann darauf hindeuten, daß der Gegensatz in der angenommenen Form nicht existiert, aber ein Beweis dafür ist es nicht und noch weniger natürlich ein Indikator, in welcher Richtung eine Lösung zu suchen wäre, welche uns aus dem Zustande unzureichend definierbarer oder — unvoreingenommen gesprochen — unzureichend definierter Begriffe hinausführt. Übrigens verwendet die Wissenschaft auch heute vielfach Ausdrücke, welche sie nicht oder nicht in befriedigender Weise zu bestimmen vermag; der Chemiker spricht von Katalysen (siehe S. 55), der Mediziner diskutiert über den Rheumatismus, der Immunologe über Allergie und Hyperergie und diese Worte erhalten sich mit erstaunlichem Beharrungsvermögen, obwohl über die Verschwommenheit ihres Inhalts kein Zweifel besteht.

HANS ZINSSER wieder hat in einem 1937 erschienenen Aufsatz, „On the nature of virus agents“, erklärt, daß die Frage, ob diese Infektionsstoffe unbelebt oder belebt sind, nicht nur als überflüssig oder unnützlich („futile“) zu betrachten sei, sondern daß sie überdies zu völlig sterilen metaphysischen Bestrebungen führe, das Leben zu definieren. Dieser scharfen Ablehnung sei ein Satz von J. VON UEXKÜLL (l. c., S. 29) gegenübergestellt: „Abgesehen davon, daß die Grenze zwischen Physik und Metaphysik nicht so sicher gezogen werden kann, wie es den Anschein hat,¹ ist doch zu bedenken, daß das Leben selbst ein metaphysischer Vorgang sein könnte. Und wenn das der Fall ist, dürfen die Biologen, deren Aufgabe in der Erforschung des Lebens besteht, gar nicht vor der Metaphysik haltmachen, sie setzen sich sonst dem Verdacht aus, sich wie kleine Kinder zu fürchten, einen dunklen Raum zu betreten.“

Vermutlich hängt diese abwehrende Scheu vor allen Erörterungen über das Leben damit zusammen, daß so vielen Naturwissenschaftlern jede philosophische Vorbildung fehlt. Nicht allen, wie ein Passus aus CLAUDE BERNARDS „Definition de la vie“ lehrt, den G. FAVILLI zitiert und der auch hier wiedergegeben werden soll: „... nous pourrions multiplier (les citations) à l'infini sans trouver une seule définition complètement satisfaisante de la vie. Pourquoi en est-il ainsi? C'est qu'à propos de la vie il faut distinguer le mot de la chose elle-même. PASCAL, qui a si bien connu toutes les faiblesses et toutes les illusions de l'esprit humain, fait remarquer qu'en réalité les vraies définitions ne sont que des créations de notre esprit, c'est à dire des *définitions de noms* où des conventions pour abrégé les discours; mais il reconnaît des mots primitifs que l'on comprend sans qu'il soit besoin de les définir. Or le mot *vie* est dans ce cas. Tout le monde s'entend quand on parle de la vie et de la mort.“

In der Tat steht die Sache so, daß sich die Virusforschung weniger als irgendeine andere biologische Spezialdisziplin damit begnügen kann, ihre Objekte so genau als dies die verfügbaren Methoden erlauben, zu charakterisieren, miteinander zu vergleichen und nach einem der hier anwendbaren Gesichtspunkte zu ordnen. Schon der Umstand, daß es sich um infektiöse Agenzien handelt,

dem verhängnisvollen Irrtum beruht, eine problematische Sache lasse sich dadurch erledigen, daß man sie umtauft oder überhaupt vermeidet, sie auszusprechen.“ (G. WOLFF, l. c., S. 179.)

¹ J. VON UEXKÜLL hätte sich hier noch bestimmter äußern können; wie es um die Grenze zwischen Physik und Metaphysik bestellt ist, lehren zahlreiche Werke der neueren Literatur, z. B. das bekannte Buch von A. S. EDDINGTON, „The nature of the physical world“, das sich an weitere Kreise wendet, die Abhandlung von A. WENZL, „Metaphysik in der Physik von heute“, die Kontroverse zwischen AL. MÜLLER und MAX PLANCK über „Naturwissenschaft und reale Außenwelt“ usw.

welche aus Einheiten von bestimmter Form und Größe bestehen und ihre wesentlichsten Verrichtungen — Vermehrung und pathogene Auswirkung — nur in lebenden Organismen, in ihren „Wirten“ entfalten, lehrt, daß wir es mit dem Einzelfall der weit allgemeineren Naturerscheinung des *Parasitismus* zu tun haben, und zwingt uns, nach dem Band zu suchen, das die ganze Mannigfaltigkeit der Parasiten umspannt und dem Verhältnis zu ihren Wirten zugrunde liegt. Daß man sich diesem Zwang trotz des Gegengewichtes ausgedehnter und erfolgkröner experimenteller Arbeit und trotz einer „antispekulativen“ Einstellung auf die Dauer nicht entziehen kann, zeigt sich bei W. M. STANLEY, der als Chemiker zur Virusforschung kam, also nicht als Fachbiologe, und der in seinen neueren Veröffentlichungen immer mehr auf Diskussionen eingeht, die nicht ausschließlich durch Tatsachen unterbaut sind, sondern in welchen hypothetische Gedanken oder, wie sich STANLEY selbst an einer Stelle (3) ausdrückt, die Phantasie zu Wort kommen.

WALTER GERLACH sprach in einem Aufsatz „Über Theorie und Experiment in der exakten Wissenschaft“ (siehe unter HARTMANN und GERLACH) den Wunsch aus, daß „die hier und da und von Zeit zu Zeit auftretenden Mißverständnisse, die in entwicklungsschwangeren Zeiten leicht zu leidenschaftlichen Äußerungen führen“, geklärt und auf das zurückgeführt werden möchten, „was sie sind: nämlich Meinungsverschiedenheiten, die auf der bewährten Basis offener Aussprache bei gegenseitiger Achtung des ehrlichen Denkens des anderen stets die Quelle fortschreitender Erkenntnis waren und bleiben“. Wenn PIRIE meint, die Worte „belebt“ und „unbelebt“ hätten nur noch einen ganz bestimmten Sinn, wenn sie von Dichtern, Abdeckern (Knackers) und Soldaten gebraucht werden, so existiert dieser Grundsatz für ihn offenbar nicht; doktrinäre Unduldsamkeit und die Neigung, in der Debatte auf die Niederung seichter Witze und Wortspiele abzugleiten, trifft man übrigens auch bei anderen Autoren. Das Mittel, um solcher, der naturwissenschaftlichen Denkart im Grunde fremder Einstellung zu steuern, ist, wie W. GERLACH betont, die offene Aussprache. Sie kann nur dann fruchtbar sein, wenn sie zunächst das in der Natur gegebene Objekt zu kennzeichnen und diejenigen Eigenschaften desselben festzustellen sucht, welche als Quellen der Problematik zu gelten haben; auf dieser Grundlage lassen sich dann die Probleme selbst schärfer präzisieren und die Vorschläge zu ihrer hypothetischen Bewältigung objektiv darstellen.

Im ersten Abschnitt des Handbuches der Virusforschung habe ich eine in diesem Sinne disponierte und einen größeren Rahmen füllende Darstellung veröffentlicht, *in welcher ich von den historischen Voraussetzungen der Virusforschung ausgegangen bin*. Dies schien mir unerläßlich. Denn es ist eine Tatsache, wie E. G. CONKLIN nachdrücklich betont, daß alle Wissenschaft und alle Entdeckungen soziale Phänomene sind und daß ihre fortschrittliche Entwicklung an das bewußte oder unbewußte Zusammenwirken einer Mehrzahl geistig Schaffender zwangsläufig gebunden erscheint; jedes Ereignis ist das Resultat seiner Vorgeschichte. Es ist indes naturgemäß überflüssig, an dieser Stelle nochmals auf die Vorläufer der heutigen Virusforschung zurückzukommen. Man darf sogar behaupten, daß sich der *aktuelle* Stand der Problematik seit dem Beginne des Jahres 1938, bis zu welchem Zeitpunkt ich das Schrifttum im Handbuch berücksichtigen konnte, kaum geändert hat, wenn man auf das wesentliche abstellt. Wohl aber lieferte die experimentelle Virusforschung in den letzten fünf Jahren reichhaltige Ergebnisse, die manche der früheren theoretischen Aussagen stützen oder in anderem Lichte erscheinen lassen, und vor allem hat die Hypothesenbildung neue Wege beschritten, die nicht mehr so leicht zu übersehen und zum Teile auch schwerer zu verstehen sind als die älteren und einfacheren Vor-

stellungen. Eine Neuorientierung in diesem besonderen Gebiet dürfte dem Fernstehenden wie auch manchem auf engbegrenzte Teilfragen konzentrierten Fachmann willkommen sein.

II. Die Eigenschaften der Virusarten als Quelle der Problematik.

Das in der Natur gegebene Objekt sind die Virusarten. Ihr wesentlichstes Merkmal ist die *Vermehrungsfähigkeit*. Es ist bisher nicht möglich gewesen, diese Eigenschaft in anderer Weise als durch die Einführung in die Gewebe eines lebenden Wirtsorganismus in Erscheinung treten zu lassen und die verschiedenen Methoden der Viruszüchtung (im Gewebsexplantat, in der Chorionallantois des Hühnerembryos) sind nur als experimentelle Kunstgriffe zu bewerten, durch welche diese Bedingung in äußerlich geänderter Form befriedigt werden kann. Außerhalb geeigneter Wirte konnte zwar ein — bei manchen Virusarten jahrelanges — Fortbestehen der Vermehrungsfähigkeit festgestellt werden, aber nur in latenter Form, als potentielle Energie oder „Energie der Lage“. So weit als Laboratoriumserfahrung endgültig und maßgebend sein kann, würde sich also der Schluß ergeben, daß sämtliche Virusarten früher oder später zugrundegehen müßten, wenn sie von ihren Wirten dauernd abgesperrt wären, oder mit anderen Worten, wenn die ständig erneute Regeneration in Wirtsketten ausgeschlossen werden könnte.

Was uns in dieser Charakteristik entgegentritt, ist, wie bereits betont wurde, zunächst nichts anderes als *das Phänomen des obligaten Parasitismus* und stellt daher an und für sich kein für die Virusarten spezifisches Problem dar. Das „Virusproblem“ entsteht erst durch die Notwendigkeit, den obligaten Parasitismus in einem Bereich zuzugestehen, in welchem die vermehrungsfähige Einheit Eigenschaften hat, welche andere obligate Parasiten nicht aufweisen. Davon wird später die Rede sein.

An dieser Stelle muß nur vorerst eine Behauptung von W. M. STANLEY (6, 8) erörtert werden, welche den bisherigen Ausführungen zuwiderläuft. STANLEY bezeichnet die latente Vermehrungsfähigkeit (suspended animation) als eine Eigenschaft, welche nur den Virusarten — wenigstens in so hohem Grade — zukommt. Bakteriensporen und Pflanzensamen können jedoch viele Jahre hindurch keimfähig bleiben und die zeitweilige Sistierung und Wiederaufnahme der Lebensfunktionen (die von PREYER so genannte Anabiose) ist seit A. v. LEEUWENHOEK's erster Beobachtung bei den verschiedensten Lebewesen festgestellt und genauer untersucht worden. Ein in dem hier diskutierten Zusammenhang besonders wichtiger Fall ist die Konservierung der Infektiosität pathogener Mikroben (Streptokokken, Meningokokken, Pnëumokokken, Syphilisspirochäten usw.) durch Eintrocknen im gefrorenen Zustande (H. F. SWIFT u. a.) oder durch Einwirkung sehr niedriger Temperaturen ohne Eintrocknung (TH. B. TURNER). STANLEY will diese Analogien (er führt bloß die Sporen und Pflanzensamen an) nicht gelten lassen, „weil die Differenzen, welche zwischen gewöhnlichen lebenden Organismen und Virusarten existieren, auch zwischen Sporen und Pflanzensamen einerseits und Virusarten andererseits bestehen müssen.“ Diese Begründung ist indes nicht stichhaltig. Was über die Unterschiede zwischen Virusarten und pathogenen Mikroben bekannt ist, berechtigt nicht zu der Annahme, daß die Übergänge von kinetischer in latente Vermehrungsenergie und umgekehrt durch ihren Mechanismus grundsätzlich differieren müssen; maßgebend ist daher vorderhand nur das phänologisch gleiche Verhalten, um so mehr als auch die Bedingungen für die Anabiose von Bakterien und anderen Zellformen nach scheinbar ganz einfachen Eingriffen (Eintrocknen, Einfrieren) keineswegs geklärt sind (siehe u. a. TH. B. TURNER und M. KAISER). Aus der Haltbarkeit im feuchten oder getrockneten Zustand kann daher kein Schluß auf die Natur oder die biologische Sonder-

stellung der Virusarten abgeleitet werden. P. REMLINGER und J. BAILLY fanden, daß neurotrophe Virusarten (Lyssa, Pseudolyssa, equine Encephalomyelitis) ihre Infektiosität monate- und selbst jahrelang bewahren, wenn man sie in Form von Gehirn oder Rückenmark rasch und scharf trocknet. Die trockenen Pulver konnten auf Temperaturen von über 100°C erhitzt werden, ohne ihre Vermehrungsfähigkeit in geeigneten Wirten einzubüßen, und die Autoren folgern daraus, daß beispielsweise das Lyssavirus eher ein Virusprotein sein dürfte als ein Protozoon. Die Hitzeresistenz im wasserarmen oder wasserfreien Zustand ist aber eine bekannte Eigenschaft des Sporenplasmas und es gibt thermophile Bakterien, welche sich noch bei $60\text{--}70^{\circ}\text{C}$ vermehren, also bei Temperaturen, bei welchen schon die meisten Eiweißkörper gerinnen. Schließlich sind nicht alle Virusarten dadurch ausgezeichnet, daß sie ihre Vermehrungsfähigkeit in latentem Zustande lange Zeit bewahren können; viele und zwar sowohl tier- als auch pflanzenpathogene Formen erweisen sich als mehr oder weniger labil, sie werden außerhalb ihrer Wirte rasch und irreversibel inaktiviert.

Außer der auf einen Wirtsorganismus beschränkten Vermehrung kennt man nur noch *ein* Merkmal, das *allen* Virusarten eigen ist: sie bzw. ihre Elementarteilchen gehören einem bestimmten dimensionalen Bereich an, welcher — unter der Voraussetzung sphärischer Konfiguration — einem Partikeldurchmesser von $10\text{--}250\text{ m}\mu$ entspricht. Beide Aussagen besitzen nur einen sehr geringen erkenntnistheoretischen oder auch bloß klassifikatorischen Wert.

Die *ausschließliche Vermehrung in einem Wirt* findet man bei Parasiten der verschiedensten Organisationsstufen und überdies bedeutet diese Feststellung im Grunde genommen nichts anderes als das vorläufige Unvermögen, „in vitro“ jenen Komplex von Bedingungen zu reproduzieren, welche die Vermehrung „in vivo“ gestatten. Dieser Standpunkt wäre auch dann gültig, wenn die Vermehrung der Virusarten nur im Inneren lebender Wirtszellen stattfinden könnte, was in dieser generellen Form nicht nachgewiesen und höchstwahrscheinlich unrichtig ist [R. DOERR (1)].

S. EDLBACHER möchte das Verhältnis der Virusarten zu ihren Wirtszellen mit folgenden Worten charakterisieren: „Solange sie (die Virusarten) im lebenden System mitreagieren, befinden sie sich in der Lebensphase, außerhalb dieser sind sie ein merogener Teilchenhaufen.“ Das ist nicht richtig. Die Virusarten sind auch außerhalb ihrer Wirtszellen, solange sie ihre Vermehrungsfähigkeit bewahren, keine „Teilchenhaufen“, ebensowenig wie Pflanzensamen oder eine Masse ruhender Bakteriensporen; die Elementarkörperchen, aus welchen die Virusarten bestehen, sind außerhalb der Wirtszelle dieselben individuellen Gebilde wie innerhalb der Wirtszelle. So wird ja auch ein höher organisierter obligater Zellparasit nicht zu einem merogenen System im Sinne von DRIESCH, wenn wir uns die beherbergende Zelle wegdenken oder wenn sie in einer bestimmten Phase der individuellen Existenz de facto zeitweilig fehlt (vgl. hierzu die Ausführungen über Anabiose auf S. 4).

Andererseits hat die *Zugehörigkeit zu einem angebbaren Größenintervall* biologisch nicht viel zu bedeuten, weil die Extreme zu weit voneinander abstehen, so daß sich beispielsweise für die Elemente der Psittacose ($D = 250\text{ m}\mu$) ein zirka 15000mal größeres Volum ergibt als für die $10\text{ m}\mu$ im Durchmesser haltenden Einheiten des Virus der Maul- und Klauenseuche [R. DOERR (2)]. Außerdem kennt man übertragbare Gebilde wie die Erreger der Pleuropneumonie der Rinder und der Agalaktie der Ziegen sowie die sog. L-Kulturen, welche außerhalb von Wirten auf unbelebtem Nährsubstrat wachsen und deshalb sowie in Anbetracht ihrer Morphologie allgemein als lebende Organismen anerkannt sind [siehe u. a. W. M. STANLEY (3, 6)]; ihre Dimensionen sind aber kleiner als die Ausmaße der größeren Virusarten (Psittacose, Vaccine). Es bliebe somit nur *die untere Grenze*, von welcher meist nur gesagt wird, daß sie sich mit den Größenverhältnissen mancher Eiweißmoleküle (Hämocyanin) überschneidet; wahrscheinlich ist aber

die Tatsache, daß noch kleinere Viruselemente bisher nicht festgestellt werden konnten, wichtiger, obschon man die Bedeutung einer solchen Minimaldimension derzeit noch nicht zu erkennen vermag (vgl. S. 46).

Alle anderen Eigenschaften, welche man außer den bereits genannten bei den Virusarten konstatiert hat, *sind nicht allgemein, d. h. sie sind nur bei einem mehr oder minder großen Teil dieser Kategorie von Infektionsstoffen vorhanden*. Dies gilt für die Bildung von Zelleinschlüssen ebenso wie für die Merkmale eines obligaten und hochspezifizierten Cytotropismus, für die verschiedenen Formen pathogener Auswirkung, für den Charakter der spezifischen erworbenen Immunität und ihre humoralen Grundlagen, für die Gestalt der Viruselemente, welche in letzter Zeit durch das Elektronenmikroskop auch bei den kleineren Arten optisch erfaßt werden konnte, für die Stabilität bzw. die Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse und schließlich selbst für die chemische Zusammensetzung und gewisse fermentative Funktionen.

Die Elementarkörperchen der Vaccine und die gereinigten Präparate des Hühnersarkomvirus I enthalten außer Protein und Kohlehydrat (in Form von Nucleinsäure) auch *Fett (Lipoid)*, dessen vollständige Extraktion ohne Verlust der Vermehrungsfähigkeit des Virus bisher nicht möglich war, so daß es vorläufig als wesentlicher Bestandteil der genannten Virusarten gelten darf [T. P. HUGHES, PARKER und RIVERS, A. S. MCFARLANE und M. G. MACFARLANE, A. POLLARD, A. S. MCFARLANE, MACFARLANE, AMIES und EAGLES, A. CLAUDE (1), siehe auch W. M. STANLEY (5—8)]. Ferner vermochten M. G. MACFARLANE und M. H. SALAMAN sowie MACFARLANE und DOLBY in gereinigten Suspensionen von Vaccinekörperchen Phosphatasen (Phosphomono- und Di-esterase), und eine Hydrolase, welche Ribonucleinsäure zerlegte, nachzuweisen, und C. L. HOAGLAND, WARD, SMADEL und RIVERS (1, 2) fanden im gleichen Material Kupfer und ein Flavin-Adenin-Nucleotid, ein Befund, der in Anbetracht des häufigen Vorkommens flavinhaltiger Enzyme in pflanzlichen und tierischen Zellen sowie in manchen Bakterien Beachtung verdient. Quantitative Analysen mehrerer phytopathogener Virusarten ergaben dagegen stets nur Proteine und Nucleinsäuren, aber kein Fett [vgl. die Zusammenstellung der Resultate bei W. M. STANLEY und LORING (2, Tabelle II)]. Fermentative Aktivität konnte bei keiner der bisher untersuchten phytopathogenen Virusarten konstatiert werden [V. L. RISCHKOV und K. S. SOUKHOV, W. M. STANLEY (12)], so daß hier ein Gegensatz zum Vaccinevirus zutage tritt, der auf eine grundsätzliche Verschiedenheit des Stoffwechsels und eine wesentliche Differenz der Organisationsstufe hindeutet (siehe S. 49).

Auf Grund elektronenoptischer Untersuchungen konstatierten neuerdings R. H. GREEN, T. F. ANDERSON und J. E. SMADEL, daß die Elementarkörperchen der Vaccine in morphologischer Hinsicht eine bemerkenswerte Regelmäßigkeit aufweisen, daß sie von einer Art Grenzmembran umgeben sind und eine Innenstruktur zeigen; hierdurch wie auch in chemischer und biologischer Beziehung nähern sie sich nach der Ansicht der genannten Autoren den Bakterien und entfernen sich im selben Ausmaß von den phytopathogenen Virusarten. Daß eine fundamentale Differenz zwischen der Vaccine und gewissen sehr kleinen Virusformen (Pflanzenvirusarten, Bakteriophagen) bestehen dürfte, haben ferner D. E. LEA und M. H. SALAMAN durch Inaktivierungsversuche mit α -, γ - und Röntgenstrahlen in überzeugender Weise dargetan. Bei der Vaccine macht das gegen die Strahlen empfindliche Substrat nur etwa $\frac{1}{2}\%$ der Gesamtmasse der Elementarkörperchen aus, bei den kleinsten Virusarten entspricht es dagegen derselben. Hat man diese als „nackte Gene“ aufgefaßt, so müßte man die Vaccinekörperchen vom gleichen Gesichtspunkt aus als Komplexe von Genen und nichtgenetischem Material definieren und ihnen somit eine höhere Organisation zuerkennen. Wir kommen auf diese wichtigen Experimente und ihre Deutung noch später zurück (siehe S. 20).

Schließlich seien noch die Untersuchungen von C. F. ROBINOW und J. O. W. BLAND erwähnt, denenzufolge sich verschiedene tierpathogene Virusarten (Vaccine, Psittacose, Lymphogranuloma inguinale) gegen die FEULGEN-Reaktion und die CASTANEDA-Färbung verschieden verhalten; die großen Differenzen der Affinität

zum Viktoriablauf sind schon seit den ersten Mitteilungen von K. HERZBERG wohlbekannt.

Je mehr die Untersuchungen ins einzelne gehen und je zuverlässiger ihre Resultate werden, desto schärfer kommt die Mannigfaltigkeit der Agenzien, welchen man derzeit die Bezeichnung „Virus“ zuerkennt, zum Ausdruck. Im Unvermögen, die Virusarten in ein befriedigendes System einzuordnen, gleichgültig ob man ihre Beziehungen zu bestimmten Wirten oder Wirtsgeweben, die Art ihrer pathogenen Auswirkung oder, wie dies neuerdings H. RUSKA (3) versucht hat, morphologische Kriterien als klassifikatorisches Prinzip verwendet, spiegelt sich die Heterogenität dieser Wirkstoffe mit völliger Klarheit. R. DOERR (2, 3, 4, 5) ist daher wiederholt der Auffassung entgegengetreten, daß das Wort „Virus“ einer durch gemeinsame biologische Merkmale ausgezeichneten Klasse von Infektionsstoffen entspricht. Einheitlich sei das Objekt der Virusforschung lediglich durch die für seine wissenschaftliche Durchdringung erforderlichen Mittel [R. DOERR (2, 5)], also *in methodologisch-technischer Hinsicht*.

Man kann gegen diesen Standpunkt einwenden, daß auch die Arten der Bakterien sehr große Verschiedenheiten aufweisen, und daß sich der Sammelname „Bacterium“, der durch FERDINAND COHN in die Terminologie der Mikroorganismen eingeführt wurde, trotzdem zum systematischen Begriff entwickelt und, wenn auch mit einigen Änderungen, bis auf die Gegenwart behauptet hat. Dieser Vergleich ist jedoch insofern nicht zutreffend, als man eben bei dem aktuellen Stand der Virusforschung kein Kriterium und noch weniger eine Summe von Kriterien anzugeben vermag, die bei *sämtlichen* Virusarten und *nur* bei den als solche bezeichneten infektiösen Agenzien vorhanden sind. Bis zu einem gewissen Grad ist es allerdings begreiflich, wenn sich aus der steten Anwendung identischer Forschungsmittel schließlich ungewollt die Vorstellung eines nicht bloß technisch, sondern auch in anderer und namentlich in biologischer Beziehung homogenen Forschungsobjekts ergibt, eine Vorstellung, die man, wenn sie einmal Wurzel gefaßt hat, nachträglich zu rechtfertigen bestrebt ist, so gut dies eben gehen will. Es ist indes zu befürchten, daß auf diese Weise die Erkenntnis des wahren Sachverhaltes gehemmt wird und daß sich die nicht hinreichend begründete Idee vom Virus als einer biologischen Entität auch in anderer Richtung auswirkt. In der Tat bemüht man sich bereits, die *Viruskrankheiten* als eine besondere und in sich geschlossene Kategorie pathologischen Geschehens hinzustellen, obzwar solche Bestrebungen auch dann scheitern müssen, wenn man sich willkürlich auf einen einzigen Viruswirt, z. B. auf den Menschen, beschränkt [R. DOERR (5, 6)].

Die *Frage nach der Natur der Virusarten* muß naturgemäß einen anderen Sinn haben und andere Lösungen erfordern, je nachdem man a priori Verschiedenheiten dieser Infektionsstoffe zugesteht oder trotz mangelnder Beweise auf ihrer Sonderstellung und Wesenseinheit beharrt. Der erste Fall erlaubt eine einfachere und präzisere Einstellung des Problems. Man hätte bloß jene Gruppen von Virusarten ins Auge zu fassen, welche eine oder mehrere Eigenschaften aufweisen, die mit den bisherigen Vorstellungen exogener Parasiten in Widerspruch stehen, und zu prüfen, wie sich diese Eigenschaften mit der Summe der Phänomene in Einklang bringen lassen, welche auch diese Virusarten mit allen anderen Parasiten bzw. Infektionsstoffen gemein haben. Im zweiten Fall sieht man sich der Unmöglichkeit gegenüber, die Virusarten exakt zu definieren und insbesondere jene gemeinsamen Merkmale namhaft zu machen, welche der Problemstellung zugrundegelegt werden könnten. Man geht daher entweder so vor wie im ersten Fall und leitet aus den für einzelne Virusarten gültigen Überlegungen Schlüsse auf die angeblich wesensverbundene Gesamtheit ab, oder man sieht sich nach

mehr oder minder hypothetischen Merkmalen um, welche man sämtlichen Virusarten zuschreiben könnte und die als Ausgangspunkte für Betrachtungen über die Natur derselben geeignet scheinen. Das Festhalten am Virusbegriff als einer biologischen Einheit bedingt jedenfalls eine weniger bestimmte Fassung der Probleme und die Tendenz, zwecks generalisierender Aussagen von den Tatsachen abzuweichen. Die folgende Darstellung wird sich daher hauptsächlich an das zuerst genannte Vorgehen halten.

Innerhalb des so abgesteckten Rahmens kann man drei Richtungen unterscheiden, die, obwohl zum Teil voneinander abhängig, doch eine gewisse Selbständigkeit bekunden:

1. *Die Ermittlung jener Virusarten, welche von der Schar pathogener Mikroben in einer fundamentalen Beziehung abweichen.*
2. *Die Untersuchung, ob eine, sei es auch nur wahrscheinliche Aussage über die Natur der Elemente dieser Virusarten gemacht werden kann.*
3. *Das Problem der Herkunft bzw. der Phylogenese solcher Virusformen und in engstem Zusammenhang damit die Fragen der Abiogenese sowie der ersten, an die Existenz von Organismen nicht gebundenen Entstehung von höhermolekularen und nichtvermehrungsfähigen Proteinen.*

III. Welche Virusarten weichen in einer fundamentalen Beziehung von den pathogenen Mikroben ab?

A. Die Virusproteine.

Wer die Ergebnisse der Virusforschung seit dem Eingreifen von W. M. STANLEY im Jahre 1935 überblickt, wird wohl die im Titel gestellte Frage ohne Zögern dahin beantworten, daß nur jene Virusarten in Betracht kommen, welche isoliert werden konnten und die sich in gereinigtem Zustand in physikalischer, chemischer, biologischer und serologischer Hinsicht als homogene Nucleoproteine erwiesen haben. Zahlreiche Untersuchungen [siehe W. M. STANLEY (2, 4, 5, 6, 7, 8, 9)] sprechen übereinstimmend dafür, daß diese hochmolekularen Nucleoproteine nicht nur wie virusartige Infektionsstoffe wirken, sondern daß sie selbst das Virus repräsentieren, und in weiterer Folge, daß die materiellen Einheiten dieser Proteine mit den Viruselementen identisch sind, daß also ein Molekül in diesen Fällen die Eigenschaften eines infektiösen Keimes annimmt.¹ Für die Möglichkeit,

¹ G. SCHRAMM hält es nicht für zweckmäßig, daß in den Erörterungen über die Natur der Virusarten stets die Frage wiederkehrt, ob sie Organismen oder „Wirkstoffe, d. h. chemische Moleküle“ sind. Da weder in der Chemie noch in der Biologie allgemeingültige Definitionen für diese beiden Begriffe existieren, empfiehlt er, die präzisiertere Problemstellung ganz zu vermeiden (vgl. hierzu S. 1). Wenn sich überhaupt eine scharfe Grenze zwischen Organismus und Molekül ziehen läßt, meint SCHRAMM, sollte man als experimentell prüfbares Kriterium die Entscheidung wählen, ob die Einzelteilchen untereinander gleich sind, so daß es grundsätzlich möglich ist, für sie eine chemische Formel anzugeben, oder ob es sich um Individuen handelt, die in ihrer Zusammensetzung so variieren und nicht derart definiert sind, „daß die Zuordnung zu einer chemischen Formel sinnvoll erscheint“. Weder die radikale Abstinenzpolitik noch der vorgeschlagene provisorische Ausweg vermögen jedoch zu befriedigen. Zu lösen ist ja gerade die Frage, warum Gebilde, welche dem Physiker und Chemiker als Moleküle imponieren, alle Eigenschaften von relativ hoch organisierten Mikroben aufweisen können. Das von SCHRAMM ins Auge gefaßte Unterscheidungsmerkmal paßt offensichtlich nur auf Extremfälle. Ob die Elementarkörperchen eines Virusstammes untereinander gleich sind, ist mehr als zweifelhaft (siehe S. 18); invariabel sind sie sicher nicht.

daß die als Nucleoproteine qualifizierten Präparate das eigentliche Virus nur als Beimengung, etwa in adsorbiertem Zustande enthalten, ergaben sich bisher keine Anhaltspunkte.

Es sind der Hauptsache nach *phytopathogene Virusarten*, welche in Form von Nucleoproteinen dargestellt werden konnten, wie das Virus des Tabakmosaiks, des Aucubamosaiks¹ der Tomaten, des Enationmosaiks (Nicotiana-Virus 1 A), der Ringfleckenkrankheit des Tabaks (Nicotiana-Virus 12), das Bushy-stunt-Virus der Tomaten, die Stämme 3 und 4 des Gurkenmosaiks (Cucumis-Virus 2 bzw. 2 A), das Nekrosevirus des Tabaks (Nicotiana-Virus 11), das Alfalfamosaik-Virus der Luzerne (Medicago-Virus 2), das „Severe-etch“-Virus des Tabaks (Tabakvirus 13 C), das latente Kartoffelvirus (Kartoffelvirus X oder Solanumvirus 1) und ein Staphylokokkenphage (J. H. NORTHROP).

Aus dem Material, welches von Viruskrankheiten der Tiere stammte [SHOPES Kaninchenpapillom, Equine Encephalomyelitis, Maul- und Klauenseuche, Gelbfieber, Molluscum contagiosum, Hühnersarkom I, Hühnerleukose, Polyederkrankheiten der Seidenraupe (*Bombyx mori*), des Schwarmspinners (*Lymantria dispar*) und der Nonne (*Lymantria monacha*)] konnten gleichfalls mit Hilfe der Ultrazentrifuge hochmolekulare Eiweißstoffe abge sondert werden, welche im Tierexperiment spezifische Infektiosität und Pathogenität entfalteten. Doch lag hier die Situation weniger klar, indem in mehreren Fällen Proteine von gleicher chemisch-physikalischer Beschaffenheit, die aber biologisch unwirksam waren, auch aus normalen (nicht-infizierten) Geweben dargestellt wurden, so von A. CLAUDE (2) sowie von D. G. SHARP und Mitarbeitern aus Hühnerembryonen, von R. W. G. WYCKOFF (2, 4) bei Kontrollexperimenten zur Isolierung des Virus der equinen Encephalomyelitis. Einer der Gründe, welche dem aus infizierten Tabakpflanzen gewonnenen hochmolekularen Protein die Anerkennung als „Virusprotein“ verschafften, war ja gerade der Umstand, daß nur ein einziger hochmolekularer und gleichzeitig hochaktiver Stoff im Preßsaft der erkrankten Pflanzen zu finden war und daß Substanzen von ähnlicher physikalisch-chemischer Beschaffenheit in Extrakten gesunder Tabakpflanzen völlig vermißt wurden.² Ein analoges Band bestand nach den Untersuchungen von J. W. BEARD, BRYAN und WYCKOFF (2) auch bei dem Virus des SHOPESchen Kaninchenpapilloms, d. h. es waren auch in diesem Falle spezifische Viruswirkung und Vorhandensein eines schweren Proteins wechselseitig durcheinander bedingt.

In Berücksichtigung der vorstehenden Angaben empfiehlt es sich, bei prinzipiellen Erörterungen von den am gründlichsten untersuchten Virusarten auszugehen, und da steht zweifellos das *Virus des Tabakmosaiks* an erster Stelle, das auch in anderen Beziehungen als ein besonders geeignetes Objekt für experimentelle Zwecke wie für theoretische Überlegungen bezeichnet werden darf. Wie groß die Zahl der anderen Virusarten ist, für welche die aus der Untersuchung des Tabakmosaikvirus erfließenden Erkenntnisse volle Gültigkeit haben, erscheint zunächst von untergeordneter Bedeutung; festzuhalten ist nur, daß sie nicht auf alle Agenzien, welche derzeit den Namen „Virus“ tragen, angewendet werden dürfen, bevor der exakte Beweis für die Zulässigkeit einer solchen Verallgemeinerung vorliegt.

Das *Tabakmosaikvirus*, das somit hier als Vertreter einer größeren, aber unbestimmt gelassenen Zahl von Virusarten figuriert, unterscheidet sich von

¹ Zur Nomenklatur der phytopathogenen Virusarten vgl. die Liste von KENNETH M. SMITH und das Handbuch von F. O. HOLMES.

² R. W. G. WYCKOFF (2) fand allerdings bei einer Nachprüfung auch in gesunden Tabakarten geringe Mengen schwerer Proteine, die jedoch im Gegensatz zu dem aus infizierten Pflanzen isolierten Virusprotein äußerst labil waren, so daß besondere Kautelen notwendig wurden, um ihre Zersetzung während der Isolierungsprozeduren zu verhüten (vgl. hierzu S. 21).

infektiösen und pathogenen Mikroben dadurch, daß seine Einheiten („Elementarkörperchen“) *Makromoleküle* sind, d. h. Moleküle von Nucleoproteinen, die sich durch ihr hohes Molekulargewicht und dementsprechend durch ein bedeutendes Molekularvolumen (das spezifische Gewicht beträgt 1,30—1,37) auszeichnen. Diese Differenz ist insofern als fundamental zu bewerten als alle Mikroben Organismen sind und das Eiweißmolekül als vermehrungsfähiger Keim den Vorstellungen von „Organismus“ und „Organisation“ zu widersprechen scheint. Die alte Forderung von L. ERRERA (1906), daß für den Aufbau eines Elementarorganismus etwa 10000 Eiweißmoleküle notwendig seien, ist zwar später nach Bedarf — d. h. nach dem Bekanntwerden verlässlicher Daten über wesentlich kleinere Viruspartikel — erheblich ermäßigt worden, z. B. von H. BECHHOLD, und R. DOERR (3) hatte schon 1934 auseinandergesetzt, daß dieses Vorgehen schließlich zur Konzeption des „lebenden Eiweißmoleküls“ führen müsse. Zu diesem letzten Schritt konnte man sich jedoch nicht entschließen, obwohl schon zu jener Zeit gesicherte Angaben über Viruselemente von nur 8—12 m μ Durchmesser veröffentlicht waren. Durch die von W. M. STANLEY angebahnte Richtung wird aber die Existenz von infektionstüchtigen Molekülen unter Beweis gestellt, und es erhebt sich daher die Frage, wie sich das biologische Denken mit dieser Wendung abfinden kann.

1. Moleküle der Virusproteine und infektiöse Einheiten.

Zunächst wird man sich naturgemäß Rechenschaft ablegen müssen, ob die Identifizierung der infektiösen Einheit mit einem Molekül des Virusproteins in jeder Beziehung gerechtfertigt ist. W. M. STANLEY hat sich zu dieser Frage stets in sehr bestimmter Form geäußert. So heißt es an einer Stelle [W. M. STANLEY (3), S. 114]: „As a matter of fact, the chemist, after a perusal of the physical and chemical properties of tobacco mosaic virus protein, has no difficulty whatsoever in coming to the conclusion that, despite its huge size, it has all properties of a molecule and hence is a molecule.“ Und am gleichen Orte (S. 115) steht der nicht mißzuverstehende Satz: „The introduction of a few molecules or perhaps even one molecule of tobacco mosaic virus protein into the cell of a susceptible host is followed by the reproduction within a very short time of millions of molecules of the kind introduced.“

Die Anwendbarkeit des Molekülbegriffes, der von dem Verhalten einfacher chemischer Verbindungen abgeleitet wurde, auf hochpolymere organische Naturstoffe (Kautschuk, Polysaccharide und speziell auf die kolloidal löslichen Proteine) ist jedoch umstritten. MAX ULMANN kommt in seiner 1936 erschienenen Monographie über die Molekülgrößenbestimmungen solcher Substanzen zu dem Schluß (l. c., S. 20): „Nicht nur die Anschauungen der einzelnen Forscher sind widerspruchsvoll, auch die Sprache ist verschieden.“ Und an diesem Zustand hat sich bisher nichts Wesentliches geändert. Sicher ist aber, daß sich die hochpolymeren Naturprodukte aus relativ kleinen und einfach zusammengesetzten Bausteinen (die Proteine aus Aminosäuren) aufbauen, und daß ihre kleinsten materiellen Einheiten, wie sie in „molekulardispersen“ Lösungen anzunehmen sind, schon eine sehr große Zahl solcher Bausteine enthalten. Durch welche Kräfte die Bausteine im Molekularverband zusammengehalten werden, ist nicht entschieden; man weiß jedoch, daß sie sich in vielen Fällen in Form einfacher oder verzweigter Ketten aneinanderreihen, so daß langgestreckte, fadenförmige Gebilde entstehen, die sich aber verschlingen bzw. zu einem Knäuel aufrollen können, so daß sich die äußere Gestalt des Makromoleküls einer Kugel annähert.

Um die Vorstellungen zu konkretisieren, seien als Beispiel die *Serumglobuline* genannt. Ihr Molekulargewicht schwankt je nach der Provenienz des untersuchten

Serums innerhalb ziemlich weiter Grenzen, nach einer Tabelle von KAI O. PEDERSEN (siehe THE SVEDBERG und O. PEDERSEN, S. 370) zwischen 158000 und 930000. Soweit die Untersuchung mit der Ultrazentrifuge hierüber Aufschluß gibt, sind sie in ihren Lösungen gleichmäßig, d. h. als Teilchen von gleicher Masse und Form (Moleküle) verteilt; enthält ein Serum mehrere Globuline, so handelt es sich um Gemische monodisperser Lösungen, die in geeigneten Fällen in ihre Komponenten zerlegt werden können. Da das durchschnittliche Molekulargewicht der Aminosäuren 120 beträgt, würde ein Serumglobulinmolekül etwa 1300—7750 solcher Bausteine enthalten, was nach einer Berechnung von F. HAUROWITZ bei linearer Anordnung einer Kette von etwa 0,5—1,0 μ Breite und 1—2 μ Länge entspräche. Nach den Ergebnissen verschiedener Untersuchungsmethoden zu urteilen, bilden die Globuline jedoch keine gestreckten Fadenmoleküle, sondern lockere kugelförmige Knäuel, was durch die freie Drehbarkeit der Peptidketten um die Richtung der einfachen Valenzen ermöglicht wird; die Sedimentationsgeschwindigkeit ist dann, falls die Knäuel nicht allzu stark aufgelockert sind, gleich der Sedimentationsgeschwindigkeit kugelliger Teilchen von identischem Gesamtvolum, wobei die Substanz des verknäuelten Fadenmoleküls als treibende Kraft maßgebend ist (R. SIGNER in THE SVEDBERG und PEDERSEN, S. 395f.). Von einem Durchmesser der Moleküle kann unter diesen Umständen überhaupt keine Rede sein, sondern höchstens von einem Durchmesser der Knäuel, sofern man eine hinreichende Annäherung an die Kugelform annimmt; dieser Knäueldurchmesser wäre mit einigen Millimikra ($m\mu$) zu veranschlagen. Die Ermittlung des Molekulargewichtes ist übrigens, sofern es sich um monodisperse Verteilungszustände handelt, einfacher und liefert zuverlässigere Resultate als die Bestimmung der *Teilchenform*, speziell wenn nicht kompakte kugelige Partikel, sondern Fäden in mehr oder minder dichter Aufknäuelung oder als gestreckte, gerade oder gekrümmte Gebilde in Betracht kommen; es müssen in solchen Fällen andere Momente herangezogen werden wie die Abhängigkeit der Sedimentationsgeschwindigkeit von der Konzentration der Lösungen, die spezifische Viskosität, das Verhalten bei der Kataphorese und die Strömungsanisotropie (vgl. u. a. R. SIGNER, l. c.) und auch dann sind die Aussagen mit jener Unsicherheit belastet, die sich ohne optische Verifizierung des morphologischen Tatbestandes nicht eliminieren läßt.

Wie zuerst THE SVEDBERG feststellte (1929), sind die Molekulargewichte der Proteine Vielfache einer Grundzahl, die mit 34500 (Mol.-Gew. des Ovalbumins) angesetzt wurde, in neuerer Zeit auch mit der Hälfte, d. h. mit 17600, da mehrere Eiweißkörper (Laktalbumin, Myoglobin, Zytochrom C, Erythrocyrin) dieses niedrigere Molekulargewicht aufweisen. Legt man 17600 der Berechnung zugrunde, so betragen die Molekulargewichte mit kleinen Abweichungen das 2-, 4-, 8-, 16-, 24-, 48-, 96-, 192- und 576fache dieses Wertes. Obzwar die Bedeutung dieses „Gesetzes der Multipla“ noch nicht in befriedigender Weise aufgeklärt werden konnte (KAI O. PEDERSEN), darf man doch mit THE SVEDBERG (cit. nach PEDERSEN) annehmen, daß sich „die Proteïn-molekel durch sukzessive Aggregation definierter Einheiten aufbaut, daß aber nur wenige Aggregate beständig sind und daß die Möglichkeiten stabiler Aggregation mit steigendem Molekulargewicht an Zahl abnehmen, so daß die Sprünge zwischen den existenzfähigen Molekülen größer und größer werden, wenn das Gewicht zunimmt“. Zugunsten dieser Auffassung spricht die Tatsache, daß man hochmolekulare Proteine durch verschiedene Eingriffe (Änderung des p_H der Lösung, Änderung der Salzkonzentration, Beschallung usw.) dissoziieren, d. h. in Bruchstücke zerlegen kann, deren Molekulargröße $1/2$, $1/4$, $1/8$ oder $1/16$ des maximalen Molekulargewichtes beträgt, so daß das Gesetz der Multipla, welches die Synthese der Makromoleküle beherrscht, auch in solchen Fragmentierungsprozessen zum Ausdruck gelangt. Ob man bei jenen Proteinen, welche sich aus mehreren Masseneinheiten zusammensetzen, von „Riesenmolekülen“ oder von „Molekelaggregaten“ (Molekelverbänden) sprechen will, ist meines Erachtens dem freien Ermessen anheimgestellt, zumal über die Bindungen, welche die Einheiten zusammenhalten, nicht mehr bekannt ist, als daß sie ziemlich locker zu sein scheinen und leicht gesprengt werden können (PEDERSEN, l. c., S. 373). Durch die Verkettung identischer Masseneinheiten erhalten solche „Makromoleküle“ den Stempel der *Periodizität*, der gesetzmäßigen Wiederkehr gleicher Partialstrukturen innerhalb eines Verbandes, ein Merkmal,

das dem ursprünglichen Molekülbegriff fremd ist und den *Kristall* — im weiteren Wortsinn, also mit Einschluß der ein- und zweidimensionalen Regelmäßigkeit des Baues — auszeichnet. Wahrscheinlich sind schon im Rahmen der Masseneinheit trotz der Vielfalt der Aminosäuren solche Periodizitäten des Feinbaues verwirklicht. Die „eutaktische“ Feinstruktur (siehe S. 10) gehört ja, wie wir seit den Untersuchungen von H. AMBRONN wissen, zu den allgemeinen Eigenschaften hochpolymerer Naturstoffe.

Kehren wir nach diesen notwendigerweise lückenhaften Ausführungen zum eigentlichen Thema zurück. Das Molekulargewicht des Virusproteins des Tabakmosaiks wurde von M. A. LAUFFER (1) mit 42 500 000 bestimmt, wäre also noch 6—14mal größer als jenes der verschiedenen Hämocyanine. R. W. G. WYCKOFF (1) erhielt aber für Proteine, die auf chemischem Wege dargestellt waren, meist zwei Sedimentierungskonstanten, von denen nur die eine dem von LAUFFER errechneten Wert entsprach, wohingegen die andere auf das Vorhandensein von wesentlich kleineren, etwa halb so großen Elementen zurückgeführt werden mußte; Präparate, die durch die Ultrazentrifuge aus Pflanzen abgeschieden wurden, welche nicht länger als vier Wochen infiziert waren, enthielten nur die zweite leichtere Komponente. An die Angaben von WYCKOFF anknüpfend und die Rechenmethoden von THE SVEDBERG und KAI O. PEDERSEN benutzend, kommen GERHARD SCHRAMM und H. MÜLLER (2) zu dem Schluß, daß das Molekulargewicht 23 000 000 beträgt und daß die von LAUFFER angegebene Zahl für Doppelmoleküle (dimere Assoziante) gilt (vgl. hierzu S. 14). Mit dieser die gewohnten Grenzen überschreitenden Masse wächst die Möglichkeit, daß es sich um Aggregate handelt. Die Neigung dieses Virusproteins, in wässrigen Lösungen große Aggregate zu bilden, ist zuerst von F. C. BAWDEN und N. W. PIRIE (1) beobachtet, später mehrfach bestätigt und auch bei anderen Virusproteinen (Ringfleckenkrankheit des Tabaks, latentes Kartoffelvirus) festgestellt worden. H. S. LORING, LAUFFER und STANLEY vermochten zwar zu zeigen, daß die Aggregation vermieden werden kann, wenn man besonders schonende Isolierungsmethoden (Zentrifugieren des Ausgangsmaterials in der Kälte usw.) anwendet, und daß die so dargestellten Präparate hinsichtlich ihrer Infektiosität, Filtrierbarkeit und Strömungsanisotropie dem unbehandelten Preßsaft kranker Pflanzen gleichen, wenn man sie sofort untersucht und nicht erst längere Zeit stehen läßt. Daraus würde jedoch vorerst nur folgen, daß das Protein in den so gewonnenen Lösungen in einem ähnlichen Verteilungszustand wie in der Wirtspflanze vorhanden ist; ob aber dieser Zustand ohne weiteres als „molekulardispers“ bezeichnet werden darf, ist ungewiß.

Wohl aber darf man mit großer Bestimmtheit annehmen, daß die Makromoleküle der Virusproteine ebenso wie jene anderer hochmolekularer Eiweißkörper (siehe S. 10) aus einer Anzahl von gleichartigen Untereinheiten zusammengesetzt sind, deren Struktur, Größe und gegenseitiges Verhältnis allerdings von verschiedenen Autoren verschieden angegeben werden. A. F. ROSS (3), welcher im Virusprotein nur 0,68% Cystein nachzuweisen vermochte, errechnete hieraus als minimales Molekulargewicht für solche hypothetische Untereinheiten 17 800, W. TH. ASTBURY auf Grund der röntgenographischen Befunde 7000, eine Schätzung von J. D. BERNAL belief sich auf 40 000, welcher Wert auch mit dem Molekulargewicht von durch Alkali oder Harnstoff erzeugten Dissoziationsprodukten übereinstimmt [siehe W. M. STANLEY (6)]. Durch Einwirkung von Pyridin oder Natronlauge erzielten E. PFANKUCH und P. PIEPENBROCK gleich große (homodisperse) und elektrochemisch gleichartige, nucleinsäurefreie Spaltprodukte, denen sie ein Molekulargewicht von 1,3 Millionen ($= \frac{1}{16}$ von 23 000 000) zuschreiben, glauben aber nicht, daß es sich um die kleinsten Untereinheiten

handle, da Spaltungen unter eingreifenderen Bedingungen kleinere „Bausteine“ ergaben. Durch schonendere Methoden bekamen PFANKUCH und PIEPENBROCK andererseits heterodisperse Gemenge, welche sie als Gemische von $\frac{3}{4}$ -, $\frac{1}{2}$ - und $\frac{1}{4}$ -Molekülen auffassen; offenbar wird hier eine möglichst weitgehende Analogie zur Zerlegung anderer hochmolekularer Proteine (siehe S. 11) angestrebt, insbesondere zum gesetzmäßigen Zerfall des Hämocyanins (I. B. ERIKSSON-QUENSEL und THE SVEDBERG, S. BROHULT, S. BROHULT und S. CLAESSION). Andere Fraktionierungen des Tabakmosaikvirus bewerkstelligte G. SCHRAMM (4), indem er die Stabilitätsgrenze desselben ($p_H = 9$) überschritt; er erhielt neben unverändertem Ausgangsmaterial ein niedermolekulares Nucleoprotein und ein nucleinsäurefreies Protein, welche beide ungefähr das gleiche Molekulargewicht ($360000 = \frac{1}{70}$ des Virusproteins) besaßen. SCHRAMM glaubt, daß sich das Virusmolekül aus 70 Einheiten von dieser Größe aufbaut, weil der Wert mit dem von J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN (2) röntgenologisch ermittelten Molekulargewicht der das Riesemolekül zusammensetzenden Strukturen (370000) gut übereinstimmt. Die zitierten Untersuchungen von SCHRAMM sind übrigens auch in anderen Beziehungen von Interesse (siehe S. 32).

Vorläufig ist es wohl noch nicht möglich, über die Dimensionen der Unter-einheiten des Tabakmosaikvirusmoleküls eine absolut zuverlässige Aussage zu machen. Was ihren chemischen Bau anlangt, herrscht die gut begründete Ansicht vor, daß jede derartige Einheit ein Molekül einer einfachen Nucleinsäure (ein Nucleotid; beim Tabakmosaikvirus ein Ribosenucleotid) enthält, welches mit einer großen Anzahl von Aminosäureresten verbunden ist [W. T. ASTBURY, J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN (2), G. SCHRAMM (4) u. a.].

Die ursprüngliche Annahme, daß die Elemente sämtlicher Virusarten *sphärisch* seien, hat sich in der Folge bekanntlich nicht bewahrheitet. Speziell für das Virus des Tabakmosaiks hatten TAKAHASHI und RAWLINS schon 1932 eine asymmetrische Gestalt, und zwar die Form von Stäbchen als wahrscheinlich bezeichnet, weil der Saft aus infizierten, nicht aber aus gesunden Tabakpflanzen das Phänomen der Strömungsanisotropie zeigte. Nachdem die Darstellung eines Virusproteins gelungen war, konnten M. A. LAUFFER und W. M. STANLEY diese Beobachtung an gereinigten Präparaten bestätigen und auf andere phytopathogene Virusproteine ausdehnen. M. A. LAUFFER kam zu dem Schluß, daß die Virusteilchen des Tabakmosaiks bei einer Länge von $400\text{ m}\mu$ einen Querdurchmesser von zirka $12\text{ m}\mu$ besitzen dürften. Auf andere Untersuchungen, welche die Gestalt und die Größe der Elemente des Tabakmosaikvirus zu ermitteln bestrebt waren [V. L. FRAMPTON und H. NEURATH, R. W. G. WYCKOFF (2), J. D. BERNAL und FANKUCHEN u. a.], braucht hier nicht eingegangen werden, da sie im allgemeinen ziemlich ähnliche Resultate lieferten und durchwegs auf indirekten Methoden beruhten, welche durch die Anwendung des Elektronenmikroskops (siehe weiter unten) überholt sind. Dagegen muß hier erwähnt werden, daß sich keineswegs alle Präparate — auf der Ultrazentrifuge geprüft — wie homodisperse Lösungen verhielten. Manche lieferten keine scharfen Sedimentierungsgrenzen, und es konnten auch Fälle beobachtet werden, wo Lösungen eines reinen Virusproteins zwei Grenzen statt einer gaben (R. W. G. WYCKOFF, BISCOE und STANLEY). Dieselben Autoren, von welchen diese Angaben stammen, konnten ferner feststellen, daß die Variationsbreite der Sedimentationskonstante erheblich geringer war, wenn man nur Präparate aus reifen Tabakpflanzen berücksichtigte, als wenn Pflanzen beliebigen Alters zur Darstellung des Virusproteins benutzt wurden; es hatte den Anschein, daß Proteine aus jungen Pflanzen höhere Sedimentationskonstanten aufweisen können als solche aus älteren Pflanzen. Solche Verhältnisse sprechen nicht gerade dafür,

daß ein wohl definiertes Molekül der Träger der biologischen Virusfunktionen ist. Aber die Resultate der angewendeten indirekten Methoden waren nicht exakt genug und viel zu lückenhaft, um plastische Vorstellungen zu ermöglichen; erst durch die elektronenoptische Untersuchung konnte ein Fortschritt erzielt werden.

2. Teilchengröße und Teilchenform des Virusproteins des Tabakmosaiks im elektronenoptischen Bild.

Die elektronenoptischen Aufnahmen brachten zunächst insofern eine Bestätigung der aus indirekten Untersuchungsmethoden abgeleiteten Schlüsse, als die Teilchen die Form von schlanken Stäbchen hatten, deren Breiten- und Längendimension im allgemeinen ziemlich gut mit den errechneten Werten übereinstimmten. *Aber die Stäbchen waren nicht durchwegs gleich lang*, und zwar auch dann nicht, wenn man die zur Anfertigung der Präparate dienende Suspension des Virusproteins auf möglichst schonendem Wege herstellte. Sowohl die Abbildungen als auch namentlich die graphischen Darstellungen der Messungsergebnisse in den Arbeiten von W. M. STANLEY und T. F. ANDERSON, ANDERSON und STANLEY, G. A. KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (2), MELCHERS, SCHRAMM, TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA lassen keinen Zweifel aufkommen, daß die Stäbchenlänge von zirka 280—320 $m\mu$ nur ein häufigster Wert ist, der etwa bei 50—70% der Stäbchen zu konstatieren ist, während der Rest auf wesentlich kürzere, aber sonst gleichartige Gebilde entfällt, welche jede Länge zwischen 40 und 280 $m\mu$ aufweisen können.

Daß die kurzen Formen bloß auf einer optischen Täuschung, nämlich darauf beruhen, daß die Stäbchen zum Teil nicht flach in der Ebene des Präparats liegen, sondern schräg auf derselben aufstehen, konnte sowohl von STANLEY und ANDERSON als auch von H. TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA — von diesen auch durch elektronenoptische Stereoaufnahmen (nach einer Methode von M. v. ARDENNE) — ausgeschlossen werden. Wenn die kurzen Stäbchen Artefakte sein sollten, könnte dies nach TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA nur dadurch bedingt sein, daß beim Trocknen der Folie Schrumpfungen stattfinden, oder daß die Stäbchen infolge der Trocknung zerbrechen; diesen Eindruck machen aber die publizierten Aufnahmen nicht, und ein Fachmann, den ich anlässlich eines Vortrages in dieser Sache interpellierte (H. RUSKA), erklärte geradezu, daß die Formen, welche man auf den Bildern sieht, im Material, aus welchem die Präparate angefertigt werden, schon vorhanden sein müssen.

Welche Bedeutung haben also diese Formen? KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (1) hatten anfänglich den Eindruck, daß die Stäbchenlängen Vielfache von 150 $m\mu$ darstellen, daß aber die Stäbchen von 300 $m\mu$ Länge vorherrschen. Sie sprachen daher die Vermutung aus, daß das Fadenmolekül des Tabakvirusproteins 150 $m\mu$ lang sein dürfte, daß es aber leicht polymere Assoziate bildet, in welchen sich die Moleküle mit ihren Endpolen aneinanderlagern; das dimere Assoziat, das aus zwei linear aufgereihten Molekülen bestünde, wäre „ein ganz besonders bevorzugtes“ Polymerisationsprodukt, welches der von R. W. G. WYCKOFF ermittelten Sedimentationskonstante $174 \times 10^{-13} \text{ cm sec}^{-1} \text{ dyn}^{-1}$ entsprechen würde. Wie man aus einem Passus in einer der letzten Publikationen schließen muß, halten KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (2, S. 573) an der Vorstellung mono- bzw. dimerer Virusproteinmoleküle fest; das erklärt aber nicht das Vorkommen von Längen, die erheblich kleiner sind als 150 $m\mu$ und auch nicht die intermediären Längen zwischen 150 und 300 $m\mu$.

STANLEY und ANDERSON gestehen selbst zu, daß eine Aussage über das Wesen der extrem kurzen Stäbchen zur Zeit unmöglich ist. Durch quantitative Bestimmungen der Infektiosität oder durch die Analyse des Sedimentierungsvorganges in der Ultrazentrifuge konnte ihre Existenz nicht nachgewiesen

werden. Daraus folgt aber nicht, daß es sich um biologisch unwirksame Degenerationsprodukte oder um Artefakte handeln muß, da ihr Prozentsatz zu gering ist, um sie mit einer der beiden Methoden zu erfassen. Elektronenoptisch gleichen sie den vorherrschenden Formen; das gibt aber natürlich keinen Aufschluß über den wichtigsten Punkt, ob sich nämlich die kurzen Stäbchen wie das Virus verhalten, d. h. ob sie eine Tabakspflanze infizieren und sich in derselben vermehren können.

KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (2) sagen schließlich dasselbe, wenn sie die Ermittlung der „kleinsten Infektionseinheit“ bzw. die Frage, ob sich der physikalisch-chemische Molekülbegriff mit der „biologischen Elementarereinheit“ deckt, als eines der Hauptprobleme der Theorie der phytopathogenen Virusproteine hinstellen. Sie versuchten auf experimentellem Wege eine Entscheidung herbeizuführen.

a) Die Wirkung von Ultraschallwellen auf das Virusprotein des Tabakmosaiks und sein Verhalten im elektronenoptischen Bild.

Es konnte elektronenoptisch gezeigt werden, daß die längeren Stäbchen je nach der Intensität und Dauer der Beschallung in mehr oder minder großem Umfange in kleinere, aber immer noch stäbchenförmige Fragmente zerfallen, so daß bei Ausmessungen einer genügenden Anzahl von Exemplaren der häufigste Längenwert, der im Ausgangsmaterial mit $320\text{ m}\mu$ bestimmt wurde, in den beschallten Präparaten auf 80 und schließlich auf $40\text{ m}\mu$ entfiel. In einer Versuchsserie schien die Reduktion der Stäbchenlängen auf die Hälfte ($160\text{ m}\mu$) einer Dissoziation dimerer in monomere Partikel („Moleküle“) zu entsprechen. Man könnte daran denken, daß auch die weitere Fragmentierung nicht ganz regellos vor sich geht, sondern daß vorwiegend lockere Bindungen einreißen, wie sie zwischen den hypothetischen Untereinheiten (siehe S. 11) anzunehmen wären; als Modell könnte die Zerlegung der Hämocyaninmoleküle durch Ultraschallwellen in halbe und Achtelmoleküle dienen (S. BROHULT). Die wichtigste Frage ist aber natürlich, was mit der biologischen Aktivität, d. h. mit der Infektiosität des Virus bei der Beschallung geschieht, mit anderen Worten, ob die Infektiosität, die Vermehrungsfähigkeit in der Tabakpflanze überhaupt an keine bestimmte Stäbchenlänge gebunden ist oder ob sie durch die Fragmentierung aufgehoben wird und wann dies der Fall ist. Gerade hierauf geben aber die (zu jener Zeit noch nicht abgeschlossenen) Experimente von G. A. KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA keine Antwort. Wohl wurden mehr oder minder erhebliche Aktivitätsverluste festgestellt; ob aber ein „sicherer Zusammenhang zwischen dem Zerschlagungsgrad der Tabakmosaikmoleküle und der biologischen Aktivität besteht“, konnte nicht entschieden werden, und es erscheint den genannten Autoren sogar zweifelhaft, ob das Zerschlagen der Stäbchenmoleküle als alleinige Ursache der beobachteten partiellen Inaktivierung des Virus anzusehen sei. Man erhält tatsächlich nicht den Eindruck eines unkomplizierten mechanischen Vorganges, wenn man erfährt, daß in den Lösungen infolge der Beschallung ein „hoher Anteil nicht sedimentierbaren Eiweißes“ unbekannter Provenienz auftrat.

Es sei hier übrigens auf die außerordentlich widersprechenden Resultate hingewiesen, welche man mit der Beschallung von Virussuspensionen erzielt hat; sie werden allerdings durch die wechselnden Ergebnisse der Beschallung von Bakterien noch überboten (vgl. die zusammenfassende Übersicht von G. BUSCH), ein Umstand, der, da es sich hier um lichtoptisch faßbare Elemente handelt, zu äußerster Vorsicht bei der theoretischen Bewertung der Angaben über beschallte Virusarten mahnt. T. M. RIVERS, SMADEL und CHAMBERS konnten Vaccinevirus durch Beschallung mit

8900 Schwingungen/sec. inaktivieren, während F. L. HOPWOOD, SALAMAN und McFARLANE bei einer Beschallungsfrequenz von 55000 Schwingungen/sec. keine Abnahme der Infektiosität beobachten konnten; die Elementarkörperchen des Vaccinevirus ändern sich nach den Angaben von HOPWOOD und Mitarbeitern auch in morphologischer Beziehung nicht und bewahren das ursprüngliche physikalische Verhalten, wie es in der Schärfe der Sedimentierungsgrenzen und in der Sedimentationskonstante zum Ausdruck kommt. Nach A. P. KRUEGER, BROWN und SCRIBNER wieder soll die Schwingungsfrequenz von 9300/sec. genügen, um Staphylokokkenphagen irreversibel zu inaktivieren. Dagegen konstatierten H. W. SCHERP und L. A. CHAMBERS keine Abnahme der Pathogenität von Poliomyelitis- oder Influenzavirus, wenn sie die virushaltigen Lösungen Ultraschallwellen von höher Intensität und 9000 Schwingungen/sec. exponierten, Bedingungen, welche Typhusbazillen und Streptokokken zu desintegrieren vermochten. Man sollte annehmen, daß die Wirkung der Beschallung auf kugelige Elemente — um solche handelt es sich zumeist in den zitierten Untersuchungen — mit abnehmendem Durchmesser geringer wird; damit stimmen aber die Angaben, von Widersprüchen, welche das gleiche Objekt betreffen, abgesehen, nicht überein. Es ist ferner unklar, wie man die Inaktivierung sphärischer Gebilde mit dem „Zerbrechen“ der stäbchenförmigen Tabakmosaikmoleküle in Beziehung bringen könnte.

Die Ergebnisse, welche mit der Beschallung von Tabakmosaikvirus erzielt wurden, differieren ebenfalls untereinander, was zum Teil mit der Beschaffenheit des virushaltigen Materials zusammenhängen dürfte. Der rohe Preßsaft aus kranken Blättern wird jedenfalls viel leichter inaktiviert als Lösungen von gereinigtem Virus [W. N. TAKAHASHI und R. J. CHRISTENSEN, W. M. STANLEY (10)]. Maßgebend soll aber nach STANLEY (10) ein anderer Umstand sein, indem gasfreie, gereinigte Viruslösungen im Hochvakuum selbst durch Schallwellen von hoher Frequenz und großer Intensität überhaupt nicht beeinflusst werden (Ausschaltung des Cavitationseffekts); da es wahrscheinlich, wenn auch nicht direkt festgestellt ist, daß die Beschallung auch unter solchen Bedingungen eine Fragmentierung der Virusproteinstäbchen bewirkt, würde sich der Schluß ergeben, daß die Infektiosität von der Stäbchenlänge unabhängig bzw. daß die Inaktivierung, die in anderen Versuchsanordnungen beobachtet wurde, kein mechanischer Vorgang ist oder, vorsichtiger ausgedrückt, daß sie nicht als Folge der elektronenoptisch nachweisbaren morphologischen Veränderungen gelten kann. KAUSCHE und seine Mitarbeiter, welche die Arbeit von STANLEY zitieren, haben zu den Ergebnissen dieses Autors keine präzise Stellung genommen. Man muß also wohl noch warten, bis die hier bestehende Lücke durch weitere Versuche ausgefüllt wird.

KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (2) haben aber noch eine andere, sehr interessante Beobachtung mitgeteilt: wenn sie die beschallten Lösungen des Virusproteins stehen ließen, so konnten sich die Bruchstücke der Stäbchen reaggregieren. Es erinnert dies an die Tatsache, daß die Wirkungen von Ultraschallwellen auf Zellen reversibel sein können, auch wenn die beschallten Zellen sehr starke Veränderungen erlitten haben (A. DOGNON, E. BIANCINI und H. BIANCINI, E. HIEDEMANN u. a.). Aus der vorläufigen Mitteilung von KAUSCHE und seinen Mitarbeitern geht leider nicht klar hervor, ob bzw. in welchem Ausmaße die elektronenoptisch konstatierbare Reaggregation mit einer Zunahme der Aktivität (Infektiosität) verbunden ist; es heißt nur, daß eine besonders intensive Beschallung eine „scharfe Aktivitätseinbuße“ erzeugt, und daß sich die Bruchstücke beim Stehenlassen reaggregieren können, „ohne indessen die volle Aktivität zurückzuerlangen“. Auch in dieser Richtung müßten die Experimente ausgebaut und die Ergebnisse so exakt wie möglich gefaßt werden, da Entscheidungen von großer Tragweite vorläufig in Schwebe bleiben.

b) Biologische Deutung der Variabilität der Stäbchenlänge.

Bei der Beurteilung solcher Experimente, welche zu Schlüssen vom Teil aufs Ganze und umgekehrt verhelfen sollen, darf man übrigens nicht vergessen, daß es nicht dasselbe ist, ob man die Teile, in unserem Falle die Kurzformen der Stäbchen, künstlich (durch chemische oder mechanische Einwirkungen) erzeugt oder ob man sie unter Bedingungen beobachtet, welche ihre natürliche Entstehung sichern oder wahrscheinlich machen. Was sich, künstlich erzeugt, als biologisch unwirksam (inaktiv) erweist, kann, in der Wirtspflanze entstanden, ein entwicklungs- und vermehrungsfähiges Gebilde darstellen.

Durch diese Überlegung wird ein Phänomen von neuer Seite beleuchtet, das man bisher meist nur als bloße Anerkennung einer Tatsache zu registrieren gewohnt war: *die Virusvermehrung im Wirtsorganismus*. Wer sich das Viruselement als Makromolekül eines Virusproteins dachte, begnügte sich mit der Aussage, daß die Zahl dieser Moleküle im Laufe eines Infektionsprozesses wächst, oft in ganz erheblichem Ausmaß (vgl. den auf S. 10 angeführten Satz von W. M. STANLEY). Die stäbchenförmige Konfiguration einiger phytopathogener Virusarten hat jedoch im Vereine mit der elektronenoptischen Untersuchung den Vermehrungsvorgang *in das morphologische Bereich* geschoben. STANLEY und ANDERSON (l. c., S. 334) erwägen de facto, ob die Verdopplung der Proteinstäbchen durch Längenwachstum und Querteilung, durch Breitenwachstum und Längsteilung, durch Wachstum von einem Punkte aus oder durch eine Art Umwälzung („some cataclysmic event“) erfolge, und halten den an erster Stelle genannten Modus für den wahrscheinlichsten. Das sind aber nicht nur Ausdrucksweisen, sondern schon recht konkrete Vorstellungen, welche aus der Mikrobiologie, speziell aus der Bakteriologie entlehnt sind, so daß man wohl behaupten könnte, daß die Vorstellung der Viruseinheit als lebender Elementarorganismus, welcher durch chemisch-physikalische Methoden der Boden entzogen wurde, durch das Tor der Elektronenoptik bzw. der morphologischen Methodik wieder ihren Einzug gehalten hat.

Die Streuung der Teilchenlängen stäbchenförmiger phytopathogener Virusarten um einen häufigsten Mittelwert konnte von TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA (siehe unter G. MELCHERS, SCHRAMM, TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA, S. 546ff.) bestätigt werden. Die Untersuchung erstreckte sich auf zwei Stämme, von denen der eine ein Tabakmosaikvirus war, während der andere — weil aus Tomaten isoliert — als Tomatenmosaikvirus bezeichnet wurde und einige geringfügige Abweichungen vom typischen Tabakmosaik aufwies. Das arithmetische Mittel der Teilchenlängen betrug beim Tabakmosaikvirus $187,5 \pm 15 \text{ m}\mu$ (in einer neueren Mitteilung von M. v. ARDENNE, FRIEDRICH-FREKSA und SCHRAMM werden $200 \text{ m}\mu$ angegeben), beim Tomatenmosaikvirus $137,5 \pm 15 \text{ m}\mu$. Die vorherrschenden Längendimensionen waren also voneinander verschieden und vor allem wesentlich kleiner als die von STANLEY und ANDERSON sowie von KAUSCHE und seinen Mitarbeitern gefundenen; auch war das prozentuelle Überwiegen einer bestimmten Stäbchenlänge weit weniger ausgeprägt, namentlich beim Tabakmosaikvirus. Die Meinungen, wie diese Differenzen aufzufassen sind, gehen auseinander, wie denn überhaupt in der Bewertung und Deutung elektronenoptischer Bilder erheblich größere Unsicherheit und daher auch Willkür zu finden ist als bei der Interpretation lichtoptischer Befunde. TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA konnten die Stäbchen im rohen Saft von Tabak- und Tomatenpflanzen, ja sogar im chlorophyllfreien Blattoberhäutchen einer infizierten Tabakpflanze nachweisen; in nicht-infizierten Pflanzen fehlten sie stets, so daß es sich nur um Formen handeln konnte, welche dem spezifischen Infekt eigen sind. Ob aber die Streuung der Stäbchenlängen, wie sie im Elektronenmikroskop zutage tritt,

schon in der Wirtspflanze bzw. in Lösungen (rohen oder dialysierten Preßsäften, Lösungen gereinigter Viruspräparate) besteht, bezeichnen TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA als zweifelhaft. Sie halten es für wahrscheinlicher, daß die Schwankungen in den Lösungen nicht so groß sind, und daß selbst Differenzen der arithmetischen Mittel, wie sie zwischen Tabak- und Tomatenmosaikvirus (siehe oben) elektronenoptisch festgestellt werden konnten, auf dem verschiedenen Schrumpfungsvermögen bei der Anfertigung der Präparate beruhen könnten; aber selbst wenn es sich um Kunstprodukte handeln sollte, wären sie doch konstant und reproduzierbar und daher differentialdiagnostisch brauchbar — wie die „Bambusformen“ der Milzbrandfäden, würde mancher Bakteriologe hinzufügen.

Wie wohl aus den vorstehenden Ausführungen ohne weiteres erhellt, ist hier nur von der Variabilität der Dimensionen, speziell der Stäbchenlängen die Rede, welche man bei *Viruselementen desselben Stammes* feststellen kann. STANLEY und ANDERSON haben ausdrücklich betont, daß die Sedimentierungskonstanten nur für denselben Stamm des Tabakmosaikvirus, gleichgültig aus welcher Pflanze er isoliert wird, identisch sind — über Ausnahmen von dieser Regel siehe S. 13 —, daß dagegen verschiedene Stämme, selbst aus der gleichen Wirtspflanze gewonnen, verschiedene Sedimentierungskonstanten haben können [WYCKOFF, BISCOE und STANLEY, WYCKOFF (3)]; dem Verhalten der Sedimentierungskonstanten müßten auch die vorherrschenden Längen der „Virusstäbchen“ entsprechen und die Unterschiede zwischen den Stämmen würden somit, konform den elektronenoptischen Befunden von TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA (siehe oben), morphologisch zum Ausdruck kommen.

Bei den *Mikroorganismen*, insbesondere bei den langgestreckten, stäbchen- oder fadenförmigen Gebilden ist die Variabilität der Dimensionen eine sehr bekannte, wenn auch biologisch nicht genügend aufgeklärte Erscheinung, die, soweit es sich um infektiöse Keime handelt, auch im Wirtsorganismus beobachtet werden kann (Tuberkelbazillen, Syphilispirochäten, Fadenbildungen bei Bakterien der Salmonellagruppe usw.).

Im Prinzip existieren hier drei Möglichkeiten: es könnte sich um Wuchsformen (verschiedene Entwicklungsstadien), um Paravariationen oder um Degenerationen im Sinne von trophischen Störungen handeln. In der älteren Literatur wird zuweilen eine Arbeit von BARBER erwähnt, welcher aus einer Kultur von *Bact. coli* mit Hilfe eines Mikromanipulators einzelne, durch besondere Länge ausgezeichnete Exemplare herausfischte und durch Subkultur und fortgesetzte Selektion schließlich drei Stämme von langen Stäbchen erhielt, welche keine Tendenz zeigten in die Ausgangsform zurückzuschlagen. Da die „Auslese von Extremtypen und ihre Verwendung zur Nachzucht“ bekanntlich immer mißlingt, wenn man von einem Klon (bzw. von einer „reinen Linie“) ausgeht, so müßte man, falls die Versuche von BARBER reproduzierbar sind, an Mutationen oder „Dauermodifikationen“ denken. Man hätte dann ein experimentelles Modell für die Entstehung stäbchenförmiger Mikroorganismen, welche sich durch ihre Länge unterscheiden, ein Modell, welches der oben präzisierten Auffassung von STANLEY und ANDERSON über die Länge von Virusproteinstäbchen als Ausdruck der Verschiedenheit nahe verwandter Virusstämme adäquat wäre.

Angaben über verschiedene Dimensionierung der Elemente innerhalb der gleichen Virusart und des gleichen Virusstammes sind schon in der Zeit vor der Anwendung der analytischen Ultrazentrifuge und des Elektronenmikroskops gemacht und in sehr verschiedener Weise (Entstehung polymerer Assoziate, individuelle Variabilität der Elemente, Annahme von Entwicklungsstadien, Zusammensetzung anscheinend homogener Massen von Elementarkörperchen aus verschiedenen Sorten) gedeutet worden [siehe R. DOERR (4, S. 22—25)]. Ein großer Teil der Angaben über die dimensionale Variabilität biologisch gleichwertiger Viruselemente stützte sich auf indirekte und überdies nicht hinreichend

exakte Bestimmungen der Partikelgröße; auch aus neuerer Zeit liegen solche — elektronenoptisch nicht verifizierte — Mitteilungen über verschiedene Größen des Herpesvirus und des Virus der Lymphogranulomatose (C. LEVADITI und VAISMAN) oder verschiedene Stämme des Poliomyelitisvirus (C. LEVADITI) vor, wiewohl letztere schon mit Rücksicht auf die Arbeiten von A. TISELIUS und SVEN GARD sowie von SVEN GARD überprüft werden müßten. R. MARKHAM, KENNETH M. SMITH und D. LEA haben das bis Mitte 1942 aufgelaufene literarische Material über die Größenverhältnisse der Virusarten tabellarisch zusammengestellt und betont, daß trotz der verbesserten Technik noch immer stark abweichende Daten existieren; allerdings schießen die genannten Autoren doch übers Ziel und berücksichtigen auch einige neuere Arbeiten nicht, wenn sie behaupten, daß man ganz zuverlässige Kenntnisse nur über die Größe von drei Virusarten (Vaccine, Bushy-stunt Virus und Tabakmosaikvirus) besitze, weil hier nicht nur die Konkordanz der indirekten Methoden, sondern vor allem der elektronenoptische Befund die erforderliche Sicherheit bieten.

Trotz der durch die Unsicherheit der tatsächlichen Grundlagen bedingten Zurückhaltung darf man aber doch sagen, daß die bisherigen Beobachtungen über die dimensionale Variabilität gleichbenannter Viruselemente eher danach angetan waren, diesen Gebilden den Charakter von Organismen zuzuerkennen. Faßt man aber die stäbchenförmigen Elemente der Virusproteine als monomere oder dimere Moleküle auf, so würde man einheitliche Längen oder zwei (im Verhältnis von 1:2 stehende) Längenklassen erwarten. Daher sind die Bemühungen aller Anhänger der Molekülvorstellung seit der Vervollkommnung der Ultrazentrifugen darauf gerichtet, den Sedimentierungsvorgang optisch zu verfolgen, um aus der scharfen Begrenzungslinie zwischen Sediment und überstehender Flüssigkeit den Schluß auf die morphologische Homogenität der Viruselemente ziehen zu können.

Die Zuverlässigkeit, welche diesem Schluß zuerkannt wurde und auch jetzt noch zuerkannt wird, geht u. a. aus einer Mitteilung von J. W. BEARD, FINKELSTEIN und WYCKOFF über das Verhalten von Vaccinekörperchen in der Ultrazentrifuge hervor. Die Sedimentierungsgrenze war in diesem Falle zwar ziemlich scharf („reasonably sharp“), aber doch nicht so scharf wie beim Ausschleudern von Bakteriophagen und manchen Präparaten von Virusproteinen, und WYCKOFF hält daher den Schluß auf ungleiche Größe und Gestalt für gerechtfertigt, falls die Suspensionen der Körperchen in hinreichend schonender Weise hergestellt werden [siehe auch WYCKOFF (2)]. Da das Agens der Variola-Vaccine als Virus vorderhand allgemein anerkannt ist, würde sich auch hieraus wieder ergeben, daß die Virusarten nicht als biologische Einheit gelten können (siehe S. 7).

Noch weiter geht L. W. JANSSEN (3). Er stellte ein Präparat von Maul- und Klauenseuche-Virus her, das in der analytischen Zentrifuge, mit der Skalenmethode aufgenommen, nur ein einziges scharfes Maximum zeigte, das sich gemäß einer Sedimentierungskonstante von $17 - 18 \times 10^{-13}$ verschob, entsprechend einem Molekulargewicht von $5 \cdot 10^5$ bis 10^6 ; er findet dadurch seine schon 1934 ausgesprochene Meinung [JANSSEN (4)] „vollkommen bestätigt, daß das Maul- und Klauenseuche-Virus seinen Eigenschaften nach ein lebloses Eiweißteilchen ist und nicht ein kleiner Mikroorganismus“. Einen ähnlichen Schluß hat übrigens auch W. M. STANLEY in einer seiner ersten Arbeiten über das Tabakmosaikvirus [STANLEY (1a)] gezogen, als er den Satz niederschrieb: „Hence it seems reasonable to assume that the crystalline protein is a chemical compound and, therefore, inanimate“; erst später hat sich STANLEYS Standpunkt, was auch P. MANIL betont, geändert.

Das elektronenoptische Bild hat die aus den Zentrifugierungsversuchen abgeleitete morphologische Homogenität der stäbchenförmigen Virusproteine, wie die Dinge jetzt liegen, zwar nicht endgültig widerlegt, aber zweifellos erschüttert, und damit ist auch eine Unsicherheit in die Theorie hineingetragen, derzufolge

das Viruselement (die „Infektionseinheit“, wie sich KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA ausdrücken) einem Molekül oder, für den Fall der Aggregation, einem gesetzmäßig angeordneten Assoziat von gleichartigen Molekülen gleichzusetzen ist, zumindest in physikalisch-chemischer Hinsicht. Dieser Zustand wird voraussichtlich solange dauern, bis wir über den Polymorphismus im elektronenoptischen Bild befriedigende Auskunft geben können. Wann und wie sich dieser Umschwung vollziehen wird, läßt sich derzeit nicht voraussagen; am ehesten könnte eine Entscheidung durch die Vervollkommnung der elektronenoptischen Methodik herbeigeführt werden, insbesondere durch verbesserte und erweiterte Möglichkeiten in der Herstellung der Präparate. Inzwischen hat man noch einen anderen, und zwar einen indirekten Weg eingeschlagen, um über das Verhältnis der Viruselemente zum Eiweißmolekül Aufschluß zu erhalten.

c) Die Bestrahlungsversuche.

D. E. LEA (1, 2) hatte gefunden, daß zwischen der Größe submikroskopischer biologischer Elemente (Gene, Phagen, Viruspartikel) und der Dosis ionisierender Strahlungen, welche mutationsauslösend oder inaktivierend wirken, eine Beziehung existiert, welche die Ermittlung der Dimensionen der bestrahlten Gebilde gestattet. Wurden phytopathogene Virusarten (Tabakmosaikvirus, Bushy-stunt-Virus der Tomaten, Nekrosevirus des Tabaks, Virus der Ringfleckenkrankheit des Tabaks, Kartoffelvirus X) α -, γ - oder Röntgenstrahlen exponiert und die Bestrahlungsdosis variiert, so wurden für die sphärischen Formen Größenwerte erhalten bzw. errechnet, welche den mit anderen Methoden erzielten Meßresultaten im allgemeinen entsprachen, aber doch etwas niedriger waren, vielleicht aus dem Grunde, weil im Molekül auch Ionisationen gewisser Atome erfolgen könnten, welche die Aktivität (Infektiosität) nicht aufheben. Bei den stäbchenförmigen Formen (Tabakmosaikvirus) war aber die Differenz so groß, daß die Annahme wahrscheinlicher wurde, daß die Stäbchen von 15,2 $m\mu$ Breite und 280 $m\mu$ Länge nicht die kleinste infektiöse Einheit, sondern ein Aggregat von infektiösen Molekülen darstellen (D. E. LEA und KENNETH M. SMITH). Eine sichere Entscheidung konnte somit nicht gefällt werden und war angesichts der Fehlerquellen des Verfahrens auch nicht zu erwarten. Interessant, besonders auch im Hinblick auf das bereits diskutierte elektronenoptische Bild ist aber die Angabe, daß sich das Tabakmosaikvirus anders verhielt als die sphärischen Virusformen, insofern als die Ergebnisse für eine Zusammensetzung der morphologischen Einheit aus einer Mehrzahl infektiöser Einheiten sprachen (vgl. hierzu S. 15). Ferner sei hier nochmals darauf hingewiesen, daß D. E. LEA und SALAMAN bei der ionisierenden Bestrahlung von Vaccinevirus ganz andere Verhältnisse fanden wie bei den kleinsten Viruspartikeln (siehe S. 6); in diesem Falle handelt es sich aber nicht um eine gleichwertige Differenz, wie sie für sphärische und stäbchenförmige Elemente phytopathogener Virusarten ermittelt wurde, sondern um einen prinzipiellen, auf strukturellen Verschiedenheiten beruhenden Gegensatz. Daß die Inaktivierung durch ionisierende Bestrahlung Beziehungen zur chemischen Grundlage der Vermehrungsfähigkeit haben muß, liegt auf der Hand, soll aber, um Wiederholungen zu vermeiden, in einem anderen Zusammenhang erörtert werden.

3. Hochmolekulare Normalproteine und endogene Virusbildung.

Mit Hilfe der Ultrazentrifuge konnten aus verschiedenartigem Ausgangsmaterial hochmolekulare Stoffe abgesondert werden, welche weder ihrer Herkunft noch ihrer Wirksamkeit nach die fundamentalen Eigenschaften eines virusartigen Infektionsstoffes besaßen; ihrer Herkunft nach nicht, weil sie aus ge-

sunden tierischen oder pflanzlichen Geweben dargestellt wurden, ihrer Wirksamkeit zufolge nicht, weil sie eben nicht infektiös, d. h. nicht vermehrungsfähig waren.

Es sei hier auf die Arbeiten von R. W. GLASER und WYCKOFF, K. G. STERN und WYCKOFF, LORING, OSBORN und WYCKOFF, W. C. PRICE und WYCKOFF (1, 2), von A. CLAUDE (2, 3) sowie von J. B. MURPHY und CLAUDE verwiesen. Auf der Ultrazentrifuge erwiesen sich die von diesen Autoren aus gesunden Geweben gewonnenen Stoffe meist als homogen und ihr Molekulargewicht reichte an jenes der Virusproteine heran. Die aus normalen Pflanzen isolierten makromolekularen Substanzen bekundeten zum Teil eine relativ geringe Resistenz gegen Aussalzen, Einfrieren, wiederholtes Auszentrifugieren [F. C. BAWDEN und PRIE (3), R. W. G. WYCKOFF (2), W. C. PRICE und WYCKOFF (1), LORING, OSBORN und WYCKOFF]; doch war diese Labilität nicht in allen Fällen gleich ausgeprägt und kann auch aus dem Grunde nicht in prinzipiellen Gegensatz zum Verhalten der Virusproteine gebracht werden, weil sich auch unter diesen wenig widerstandsfähige Arten finden, so daß W. M. STANLEY (6, S. 532) sogar mit der Möglichkeit rechnet, daß die Isolierung eines Virusproteins an seiner Zerfallsbereitschaft scheitern könnte. Zwischen den tierpathogenen Virusproteinen und ihren apathogenen Doppelgängern konnten Differenzen der bezeichneten Art bisher überhaupt nicht festgestellt werden.

Aus diesen Befunden ergibt sich zunächst der Schluß, daß makromolekulare Stoffe weit häufiger, als man ursprünglich anzunehmen geneigt war (vgl. hierzu S. 9), in normalen Geweben aller Art vorkommen, so häufig, daß es naheliegt, ihnen eine wichtige Rolle beim Ablauf des Lebensprozesses zuzuschreiben. Soweit es sich um Pflanzen handelt, gewinnt diese Vermutung dadurch an Wahrscheinlichkeit, daß die „schweren Substanzen“ durchwegs pigmentiert waren, daß sie aus verschiedenen, im natürlichen System weit voneinander entfernten Pflanzenspezies dargestellt werden konnten und daß sie sich — mit wenigen Ausnahmen — bei der Sedimentierung in der Zentrifuge identisch verhielten [R. W. G. WYCKOFF (2), W. C. PRICE und WYCKOFF (2)].

Und das Verhältnis zu den Virusproteinen? Wer sich streng an die Tatsachen halten will, wird lediglich konstatieren, daß ein Stoff von makromolekularer Beschaffenheit noch kein Virus zu sein braucht, oder, wie man dies anders ausdrücken kann, daß der chemisch-physikalische Charakter eines schweren Proteins bei gewissen — speziell bei den phytopathogenen Virusarten — zwar eine *notwendige* materielle Bedingung der Virusfunktionen zu sein scheint, daß er aber jedenfalls keine *hinreichende* Bedingung darstellt. Die Hypothese möchte jedoch zwischen Hochmolekularen ohne und mit Viruswirkung eine genetische Beziehung konstruieren, und zwar im Sinne einer direkten Umwandlung, da ja beide Stoffformen eine Eigenschaft miteinander gemein haben, nämlich das Makromolekül als materielles Element.

Eine erkenntniskritische Analyse des Entwicklungsganges dieser Idee würde mehr Raum erfordern als hier für diesen Zweck beansprucht werden darf. Dem Kenner der Virusforschung werden einige Bemerkungen genügen.

A. CLAUDE (2, 3) sowie J. B. MURPHY und CLAUDE gewannen aus dem zellfrei übertragbaren (virusbedingten) Rous-Sarkom I, aus chemisch induzierten und nicht übertragbaren Hühnertumoren und aus normalen Hühnerembryonen Präparate, welche „Elementarkörperchen“ enthielten und in chemischer Beziehung einander sehr ähnlich waren; doch war bloß das an erster Stelle genannte aktiv, die beiden anderen vermochten keine Tumoren zu erzeugen. Ein analoges Ergebnis erzielte CLAUDE (2) mit Mäusetumoren und normalem Mäuseembryonalgewebe, nur waren in diesem Falle beide Produkte, obwohl sie durch den Gehalt

an Elementarkörperchen und chemisch den wirksamen Präparaten aus virusbedingten Hühnertumoren (Rous-Sarkom I) glichen, inaktiv. Nun entwickelte sich nach der Entdeckung des ersten tumor erzeugenden Virus allmählich die Tendenz, die Entstehung aller Neoplasmen, zumindest aber der bösartigen, auf Infektionen mit virusartigen Agenzien zurückzuführen, eine Auffassung, die gerade von PEYTON ROUS in extremer Form vertreten wurde; nur mußte ROUS, der das erste Tumovirus in Hühnersarkomen nachgewiesen hatte, selbst zugestehen, daß das natürliche Auftreten virusbedingter bzw. virushaltiger Geschwülste bei diesen Tieren keine *exogene* Infektion vermuten lasse. Dieser Widerspruch drängte dazu, die Entstehung tumor erzeugender Virusarten in den Wirtsorganismus zu verlegen und hier einen Spezialfall der Lehre von der *endogenen* Virusentstehung anzunehmen, deren hypothetische Berechtigung R. DOERR (4) 1938 auf breiterer Basis nachgewiesen hatte; soweit nur die Tumorätiologie in Frage stand, entschlossen sich auch andere Autoren in mehr oder minder verklausulierter Form zu dieser Lösung, wie z. B. C. H. ANDREWES. Wie und aus welcher Matrix sich das Tumovirus in einem höheren Organismus bildet, blieb vorerst unentschieden. Aber die Befunde von CLAUDE sowie von MURPHY und CLAUDE konnten diese Lücke zum Teil ausfüllen, indem sie in gesunden Geweben Stoffe nachwiesen, denen zum Vollvirus nichts wie die Vermehrungsfähigkeit zu fehlen schien oder vielleicht sogar nur jener Grad von Stabilität dieser Eigenschaft, wie er für die zellfreie Übertragung erforderlich ist. Gleichzeitig ließ sich so der Konflikt überbrücken, daß alle Tumoren als Viruswirkungen gelten sollten, daß aber der experimentelle Beweis für die Virusätiologie — die zellfreie Übertragung — nur in einer beschränkten Zahl von Fällen gelang: der Umformungsprozeß des substantiellen Vorläufers, des „precursors“, in das Vollvirus war, so konnte man sich dies zurechtlegen, noch nicht bis zur letzten Etappe gediehen. Man konnte sich selbst bei diesem letzten und gewagtesten Schritt noch immer auf Beobachtungen stützen, so z. B. auf die Tatsache, daß die Immunisierung mit chemisch-induzierten (zellfrei nicht übertragbaren) Tumoren Antisera liefert, welche Tumovirus neutralisieren. Daß auch normales Hühnerserum Hühnersarkomvirus *in vitro* absättigt, ließe sich ebenfalls als Argument heranziehen, wenn man den Träger dieses Effekts, einen „natürlichen“ Antikörper, nicht als das Produkt eines physiologischen Reifungsprozesses, sondern als immunisatorisches Ergebnis einer latenten (subklinischen) Infektion betrachtet (F. DURAN-REYNALS).

Gleich in der Grundidee und nur verschieden in der Art der Beweisführung sind die Arbeiten von A. P. KRUEGER und seinen Mitarbeitern (siehe die Zusammenfassung von KRUEGER und SRIBNER), denen zufolge in Staphylokokken, wenn sie sich in Gegenwart von O rasch vermehren, ein *Phagen-Vorstadium* entstehen soll, welches sich, mit Phagen in Kontakt gebracht, selbst in Phagen umsetzt, was an einem raschen Anstieg des Phagentiters im Vorläufer-Phagen-Gemisch zu erkennen ist. Da der Vorläufer von den Bakterien durch Filtration der Kulturbouillon abgesondert werden kann und die Umsetzung des Vorläufers in die aktiven Phagen nur wenige Minuten (2—5) beansprucht, konnte eine Bakterienvermehrung als Quelle der Phagenzunahme mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Nach KRUEGER ist der Phagenvorläufer („phage-precursor“) entweder ein Protein oder enthält wenigstens Eiweiß als wesentlichen Bestandteil und seine Umsetzung in Phagen könnte entweder auf einer hydrolytischen Eiweißspaltung beruhen oder als letzte Phase einer Synthese gelten, bei welcher die Vollphagen als Katalysator wirken würden; diese Aussagen stützen sich hauptsächlich auf die Untersuchungen von J. H. NORTHROP, welcher die Staphylokokkenphagen in Form eines Nucleoproteins zu isolieren vermochte, wo-

durch der Eiweißcharakter auch für ihre Matrix (den „precursor“) wahrscheinlich gemacht wird.

In letzter Zeit ist H. BLOCH (3) für die Theorie KRUEGERS von der Existenz eines Phagenvorläufers eingetreten. KRUEGER hat aber seine Arbeiten durchwegs mit ein und demselben Staphylokokkenstamm und einem zugehörigen Phagen ausgeführt und eine Nachprüfung von anderer Seite ist — wohl wegen der eigenartigen und sehr komplizierten Technik der Phägentitrierung — zunächst nicht vorgenommen worden, ebensowenig wie ein Versuch erfolgte, Vorläuferstadien bei anderen Phagenarten nachzuweisen. H. BLOCH sah ein, daß diese Lücken vor einer definitiven Stellungnahme ausgefüllt werden müßten. Experimente, welche BLOCH mit dem von KRUEGER benutzten Staphylokokkenstamm und dem zugehörigen Phagen sowie mit einem Colistamm in engster Anlehnung an die KRUEGERSCHE Methode ansetzte, verliefen aber bis zur Niederschrift dieser Abhandlung negativ (noch nicht publiziert), so daß man mit dem Urteil wohl zurückhalten muß.

Ferner wäre in diesem Zusammenhang der exakten Untersuchungen von L. F. MARTIN, A. K. BALLS und H. H. MCKINNEY zu gedenken. Die genannten

Autoren (1) hatten 1938 eine Methode beschrieben, welche es ermöglicht, das durch Trypsin verdaubare Eiweiß normaler Pflanzen von dem trypsinresistenten Nucleoprotein des Mosaikvirus zu unterscheiden. Mit Hilfe dieses Verfahrens stellten sie (2) die Zunahme des Virusproteins in infizierten Tabakpflanzen fest und prüften, ob diese Zunahme mit Schwankungen des Gehaltes an normalem Eiweiß in Beziehung gebracht werden könnte.

Wie ein Blick auf Abb. 1 lehrt, nimmt das Virusprotein in den ersten Tagen nach der Inokulation ungefähr im gleichen Ausmaße zu wie das Normalprotein abnimmt. Bevor noch die Anhäufung des Virusproteins ihren Gipfelpunkt erreicht hat, setzt eine Steigerung des Gesamtstickstoffes und des Gesamtproteins ein (etwa vom 6. Tage angefangen) und gleichzeitig treten die ersten Symptome der Erkrankung auf. Vom 10. Tage an sinkt die Konzentration des Virusproteins, zuerst in raschem, dann in gemäßigterem Tempo, und das Normalprotein zeigt wieder das inverse Verhalten. Wie MARTIN, BALLS und MCKINNEY (2) ausführen, lassen ihre Beobachtungen zwei verschiedene Interpretationen zu, nämlich eine direkte Umsetzung von Normalprotein in Virusprotein oder den Wettbewerb zweier, voneinander unabhängiger Proteinsynthesen um den verfügbaren N. Die zweite Erklärung ist zweifellos logischer, da man ja sonst auf Grund der Kurvenabschnitte zwischen dem 10. und 37. Tag zugeben müßte, daß sich Virusprotein in Normaleiweiß rückverwandeln kann. Die Unabhängigkeit der Synthese des Virusproteins geht meines Erachtens auch daraus hervor, daß in sehr resistenten Varietäten der Tabakpflanze zwar der Gesamt-N infolge der Infektion ab-

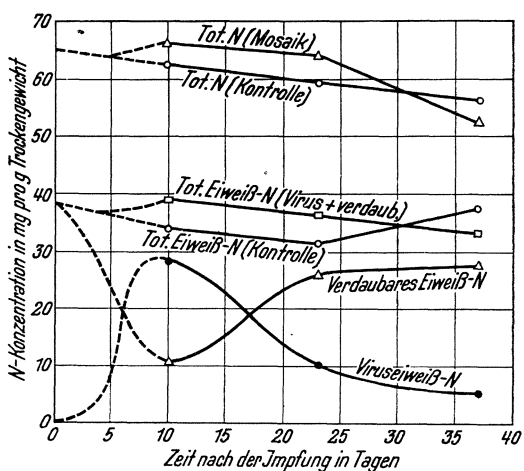


Abb. 1. Nach MARTIN, BALLS und MCKINNEY. Schwankungen der Konzentrationen des Eiweiß- und Gesamt-N in den oberen Blättern von Tabakpflanzen (Wisconsin-Havanna-Tabak) während der späteren Stadien einer Mosaikinfektion.

nimmt (Reduktion der Synthese des Normalproteins), daß aber die Bildung meßbarer Mengen von Virusprotein, soweit die Methode von MARTIN, BALLS und MCKINNEY hierüber Aufschluß gibt, ausbleibt. Die Annahme der genannten Autoren, daß die verminderte Proteinsynthese keine nennenswerte Anhäufung bzw. Produktion von Virusproteinen erlaubt, ist unwahrscheinlich. Die resistenten Pflanzen sind nämlich für andere Arten des Mosaikvirus in hohem Grade empfänglich; man müßte daher folgern, daß die Resistenz gegen das gewöhnliche Tabakmosaikvirus nicht durch die Beschaffenheit der Wirtspflanze bedingt ist, sondern dadurch, daß das Virus durch die Lahmlegung der Proteinsynthese im Wirt seine eigene Vermehrung verhindert, ein der Infektionspathologie durchaus fremder Gedenke [R. DOERR (7)]. Nach den Angaben von V. L. RISCHKOV und V. A. SMIRNOVA bilden Tomatenpflanzen, welche mit Tabakmosaikvirus infiziert und sodann stickstofffrei weiterkultiviert werden, ebensoviel Virusprotein — als Konzentration im Preßsaft bestimmt — wie normal aufgezogene und leiden weit mehr als diese unter dem Hungerzustand, da der disponible N eben für den Aufbau des Virusproteins verwendet wird. Daß das Virusprotein in den hungernden Pflanzen bei N-Mangel wieder in den normalen Stoffwechsel einbezogen wird, konnten RISCHKOV und SMIRNOVA auf Grund ihrer Befunde sicher ausschließen; sie fassen ihre Ergebnisse dahin zusammen, daß sich das Virusprotein in der Wirtspflanze wie ein Parasit verhält und damit ist die Unabhängigkeit seiner Synthese in anderer, biologisch richtiger Formulierung ausgesprochen.

Mit einer ähnlichen Fragestellung wie MARTIN und seine Mitarbeiter beschäftigten sich neuerdings auch H. J. BORN, A. LANG und G. SCHRAMM. Züchtet man junge, mit Mosaikvirus infizierte Tabakpflanzen auf Nährlösungen, welche den Phosphor in radioaktiver Form enthalten, so wird dieser aufgenommen und sowohl in die normalen Nucleoproteide der Wirtspflanzen wie in das Virusprotein eingebaut. Beide Anteile lassen sich mit Hilfe der Ultrazentrifuge voneinander trennen und auf ihren Gehalt an „markiertem“ Phosphor bzw. auf ihre Radioaktivität prüfen. Es zeigte sich, daß die Radioaktivität des Pflanzenproteins jener des Virusproteins nicht voraussetzt, sondern eher etwas zurückbleibt; die Autoren neigen daher der Ansicht zu, daß die Synthesen des Pflanzenproteins und des Virusproteins unabhängig voneinander vor sich gehen und daß beide direkt aus einfachen Bausteinen aufgebaut werden.

Immerhin hat man trotz aller hier erhobenen Einwände zu berücksichtigen, daß man dem Tumovirus und den Phagen seit jeher eine Sonderstellung unter den Virusarten eingeräumt hat und daß gerade bei diesen Agenzien mehrere und zum Teil sehr überzeugende Beobachtungen sowie Versuchsergebnisse für eine endogene, d. h. im Wirtsorganismus vor sich gehende Entstehung des Virus sprechen [R. DOERR (4)]; auch für manche phytopathogene Virusarten, z. B. für das Solanumvirus 7 („Potato paracrinkle virus“), läßt sich diese Hypothese vom wissenschaftlichen Standpunkt aus vertreten [siehe R. DOERR (7, S. 134) und F. C. BAWDEN (2, S. 259)]. Der Versuch von C. LEVADITI (siehe LEVADITI, REINIÉ, STAMATIN usw.), die Idee der endogenen Virusbildung auf das Vaccinevirus anzuwenden, dürfte aber wohl nach allgemeinem Urteil die zulässige Grenze überschreiten.

C. LEVADITI (l. c., S. 473) stellt — nebenbei bemerkt, ohne seine Vorgänger auf diesem Gebiete zu erwähnen — die Hypothese auf, daß die Elementarkörperchen der Vaccine von Nucleoproteinen abstammen, welche in den Wirtszellen normalerweise vorhanden sind. Impft man das Virus in ein empfängliches Gewebe, so wirkt es (als „énergène-virus“) in der Weise, daß es einen, in mehreren Etappen ablaufenden Prozeß der Synthese und Organisation auslöst, der von den Nucleoproteinen der Wirtszellen als Matrix ausgeht und mit der Bildung der spezifischen Viruseinheiten

endigt. Zunächst sollen „normale“ Körperchen entstehen, die, nach ihrem Verhalten auf der Ultrazentrifuge zu urteilen, schwerer bzw. größer sind als die Endstadien, dann reifende, noch nicht infektiöse, aber vermutlich schon antigene Gebilde („Pro-vaccine“) und aus diesen endlich die antigenen und infektiösen („vaccinogenen“) PASCHENSchen Körperchen. Bei Licht besehen, stellt diese Auffassung nichts anderes dar, als den Grundgedanken der endogenen Virusentstehung, wie er in verschiedener Fassung schon von anderer Seite, insbesondere von R. DOERR (4) ausgesprochen wurde; neu ist eben nur die Anwendung auf das Vaccinevirus, das sich jedoch zu solchen Spekulationen weniger eignet als jene Virusarten, für welche die Identität der Elemente mit Molekülen wahrscheinlich gemacht werden kann. Der Versuch, den Vorgang der intracellularen Virusbildung durch Zerlegung in aufeinanderfolgende Stadien anschaulicher zu machen, ist als mißlungen zu bezeichnen und verrät nur die Schwächen der Hypothese. Zwischen dem Nucleoprotein der Wirtszelle und den geformten „normalen Körperchen“, welche einen Durchmesser von 170—200 $m\mu$ besitzen müßten, gähnt eine Kluft, welche durch die Worte „Synthese“ und „Organisation“ lediglich festgestellt, aber nicht überbrückt wird, und die Vorstellung, daß diese Körperchen zunächst die Antigenfunktion und erst später das „vaccinogene“ Vermögen erwerben, kompliziert das Problem durch zwei weitere unbewiesene Hilfsannahmen. Die Basis des ganzen Hypothesengebäudes ist die Beobachtung, daß Ausstriche aus Eihäutkulturen des Vaccinevirus 24 Stunden nach der Impfung weit mehr Elementarkörperchen enthalten als nach 48, 72 oder 98 Stunden, daß aber die pathogene Aktivität (das „vaccinogene“ Vermögen) der jungen Kulturen erheblich geringer ist, als man nach der Zahl der Körperchen erwarten würde. Da jedoch LEVADITI und seine Mitarbeiter fanden, daß man ähnliche Gebilde in oft gleicher Menge in der Chorionallantois nachweisen kann, wenn man die Hühnereier 24 Stunden vorher mit Emulsionen von *normalem Kaninchenhirn* geimpft hat, ist es klar, daß die sog. „normalen“ Körperchen mit den Elementen des Vaccinevirus nichts zu tun haben; daß ihnen die spezifische Antigenfunktion und die Infektiosität mangelt, erscheint unter diesen Umständen selbstverständlich.

Bisher haben die Bemühungen, die Hypothese der endogenen Virusentstehung durch morphologische Untersuchungen zu beweisen oder zu stützen [A. CLAUDE (1), J. B. MURPHY und CLAUDE, H. MORIYAMA und S. OHASHI (1), LEVADITI, REINIÉ, STAMATIN et al., E. HEIDENREICH], keine überzeugenden Resultate geliefert, obzwar nicht bloß die Form der als Vorstufen ausgegebenen Partikel herangezogen wurde, sondern auch die Färbbarkeit, das Verhalten im Fluoreszenzlicht u. a. m. Vielleicht ist die Aufgabe, welche sich die Autoren hier gestellt haben, überhaupt unlösbar. Abgesehen davon, daß die Lehre von der endogenen Virusentstehung unrichtig sein könnte, sind auch die technischen Voraussetzungen sehr ungünstig. Die Elektronenmikroskopie gestattet vorläufig nur Momentaufnahmen; es ist nicht möglich, einen in der Zeit ablaufenden Prozeß kontinuierlich optisch zu verfolgen, selbst wenn die Geschwindigkeit dieses Vorganges kein prinzipielles Hindernis bieten würde, wie dies beispielsweise beim Wachstum der einzelnen Bakterienzelle — wohl zu unterscheiden vom Vermehrungsakt, d. h. von der Teilung! — der Fall ist. Endlich ist der Gedanke, daß ein der Wirtszelle angehörendes Teilchen durch den Einfluß eben dieser Zelle *direkt* bzw. ohne Änderung seiner Dimensionen, seiner Farbreaktionen und seiner chemischen Konstitution in ein vermehrungsfähiges, übertragbares und spezifisches Agens mit allen Qualitäten eines pathogenen Keimes umgewandelt wird, biologisch nicht tragbar und, wie sogleich gezeigt werden soll, auch mit den Tatsachen nicht vereinbar. Wie die Dinge jetzt liegen, läßt sich die Hypothese von der endogenen Virusbildung nicht morphologisch, sondern lediglich durch Argumente anderer Art begründen, welche nur bei einer beschränkten Zahl von Virusarten geltend gemacht werden können; das Vaccinevirus gehört jedenfalls nicht dazu.

4. Beziehungen zwischen Virusprotein und Zellkern.

Die Erkenntnis, daß die phytopathogenen und darüber hinaus auch andere Virusarten, soweit sie einer chemischen Untersuchung zugänglich gemacht werden konnten, hochmolekulare Nucleoproteine als gemeinsame chemische Grundlage besitzen, wurde in verschiedener Weise theoretisch verwertet. Ihre Beziehungen zur Theorie der endogenen Virusbildung haben wir soeben kennengelernt. Allgemeiner und wichtiger ist die Überlegung, daß Nucleinsäuren in verschiedener Verbindung mit Eiweiß einen wesentlichen Bestandteil der *Zellkerne* bilden, deren Bedeutung für die Zellfunktionen einschließlich der Vererbungsphänomene bekannt ist. Daß die Virusarten chemisch den Zellkernen so nahe stehen, wurde wohl zuerst von T. E. RAWLINS und W. N. TAKAHASHI (2) hervorgehoben, mit dem Zusatz, daß sie in dieser Hinsicht eher den Organismen entsprechen als den Enzymen, da diese nach den vorliegenden Untersuchungen nicht aus Nucleoproteinen aufgebaut sind.

Zur richtigen Geltung kommt jedoch die chemische Verwandtschaft zwischen den Virusarten und den Zellkernen erst im Lichte rückschauender Betrachtung. Solange man noch mit der Existenz eiweißfreier Virusarten rechnete [vgl. hierzu R. DOERR (4, S. 28)], war die Frage nach der Natur solcher infektiöser Agenzien überhaupt nicht zu beantworten. Selbst als diese Annahme widerlegt war und der Satz: „Kein Virus ohne Eiweiß“ allgemeine Anerkennung gefunden hatte, waren die Prämissen für eine biologische Beurteilung bei weitem nicht so klar und in gewisser Hinsicht eindeutig als später, nachdem sich dank der ersten Untersuchungen über diesen Gegenstand [F. C. BAWDEN, PIRIE, BERNAL und FANKUCHEN sowie F. C. BAWDEN und PIRIE (1)] die Überzeugung durchgesetzt hat, daß sich in den phytopathogenen Virusarten, speziell im Virusprotein des Tabakmosaiks außer Eiweiß auch Nucleinsäure feststellen läßt. Die Art der Nucleinsäuren und die Beschaffenheit ihrer Bindung an die Proteinkomponente konnten allerdings bisher noch nicht mit Sicherheit ermittelt werden [H. S. LORING (4, 5), A. E. MIRSKY und L. PAULING, J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN, G. SCHRAMM]. Beim Tabakmosaikvirus handelt es sich nach den Untersuchungen von F. C. BAWDEN und PIRIE (1), W. M. STANLEY (7, 11), H. S. LORING (1) um ein Ribonucleotid, dessen Molekulargewicht nach H. S. LORING (3) zirka 37000 betragen dürfte; es ist gesetzmäßig in das Makromolekül eingebaut, und zwar sollen die Ebenen der Purin- (und vermutlich auch der Pyrimidin-) Ringe der Nucleotide zueinander parallel stehen und senkrecht auf die Längsachse des ganzen Moleküls orientiert sein (A. BUTENANDT, FRIEDRICH-FREKSA, HARTWIG und SCHEIBE), während im Proteingerüst wieder die Ebenen der Indolringe des Tryptophans senkrecht auf die Längsachse der Proteinstäbchen ausgerichtet sind (A. BUTENANDT und Mitarbeiter). Ist auch hier noch das meiste hypothetisch, so beschränken sich doch die Beziehungen der Virusarten, vor allem auch jener, bei welchen eine molekulare Aufteilung wahrscheinlich gemacht werden konnte, zu den Organismen nicht mehr auf Lebensäußerungen (Vermehrung, Variabilität im Verein mit Beständigkeit der Arten); vielmehr spannt sich nunmehr auch eine chemische Brücke über die Kluft, die vielleicht nur in unserem Vorstellungsvermögen und unseren Denkgewohnheiten vorhanden ist.

In Anbetracht der Spezifität der Virusarten können die hochmolekularen Proteine, aus welchen sie bestehen, nicht identisch sein. In der Tat konnten chemische Differenzen zwischen den verschiedenen Virusarten und auch zwischen verschiedenen Stämmen derselben Virusart nachgewiesen werden, zum Teil schon durch eine quantitative Elementaranalyse [vgl. die Tabelle II bei W. M. STANLEY und LORING (2)], zum Teil durch die genauere Bestimmung der Nucleinsäure und ihres Verhältnisses zur Proteinkomponente [H. S. LORING (1, 3), F. C. BAWDEN

und PIRIE (2), W. M. STANLEY (11), A. CLAUDE (2), McFARLANE und MACFARLANE, C. F. ROBINOW und BLAND, J. H. NORTHROP]; die Zerlegung der Protein-komponente in Aminosäuren ist meines Wissens bisher nur beim Tabakmosaikvirus vorgenommen worden [A. F. ROSS und STANLEY, A. F. ROSS (3), G. SCHRAMM und H. MÜLLER (1)], so daß Vergleiche mit anderen Virusproteinen auf dieser Basis vorläufig nicht angestellt werden können. Chemische Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen des Tabakmosaikvirus haben W. M. STANLEY (12) sowie C. A. KNIGHT und STANLEY festgestellt. Ferner sei auf die Untersuchungen von E. PFANKUCH, G. A. KAUSCHE und H. STUBBE, G. SCHRAMM und L. REGENSBURG, G. BERGOLD und G. SCHRAMM verwiesen, aus welchen hervorgeht, daß man selbst nahe verwandte Virusarten [Mutanten des Tabakmosaikvirus, die Virusarten der Polyederkrankheiten verschiedener Raupenarten (siehe S. 9)] elektrochemisch durch Messung der Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld voneinander unterscheiden kann. Im Grunde genommen war man über diese Verhältnisse schon früher durch Antigen-Antikörper-Reaktionen, d. h. durch die Prüfung der serologischen Spezifität unterrichtet (K. S. CHESTER, A. GRATIA und P. MANIL, JAMES CRAIGIE u. a.).

Die endogene Virusbildung kann somit, falls sie tatsächlich existiert, nicht so gedacht werden, daß ein aus Nucleoprotein bestehendes Gebilde der Wirtszelle unmittelbar, d. h. ohne chemische Umgestaltung in ein Viruselement umgesetzt wird (siehe S. 25). Zweitens aber sehen wir, daß gerade so wie bei Organismen der verschiedensten Organisationsstufen auch bei den Virusarten Proteine von verschiedenem Bau Träger von vitalen Funktionen sein können, ein Satz, der noch an Bedeutung bei jenen Virusformen gewinnt, welche nur oder fast nur aus Verbindungen von solchen „spezifischen“ Eiweißarten mit variablen Nucleinsäuren zu bestehen scheinen. Warum sich aber alle diese Verbindungen trotz ihrer chemischen bzw. immunchemischen Differenzen in geeigneten Wirten vermehren, ist auf diesem Wege nicht zu erfahren. Man könnte höchstens die Empfänglichkeit oder natürliche Resistenz bestimmter Wirte mit dem Vorhandensein oder Fehlen von Eiweißbausteinen (Aminosäuren) in Zusammenhang bringen, welche sich im Virusprotein vorfinden; indes scheint auch diese am Zentralproblem vorbeizielende Verschiebung auf das Gebiet des Stoffwechsels gewagt, weil über den Stoffwechsel der Virusarten und seine Beziehungen zum Stoffwechsel der parasitierten Wirtsgewebe zu wenig bekannt ist.

5. Die Versuche, die chemische Grundlage der Vermehrungsfunktion zu ermitteln.

A priori aussichtsreicher erscheinen Versuche, die Vermehrungsfähigkeit von Virusproteinen in geeigneten Wirtspflanzen durch chemische Eingriffe bekannter Art aufzuheben oder, wie man sich auszudrücken pflegt, die Virusproteine zu *inaktivieren*. Leider stimmen die Ergebnisse untereinander häufig nicht überein, und, soweit sie unwidersprochen geblieben sind, erlauben sie vorderhand noch keine Schlüsse von größerer Tragweite.

So wurde von FRAMPTON und SAUM berichtet, daß Tabakmosaikvirus in 0,1 m Phosphatpuffer und 6 m Harnstoff gelöst, schwere physikalische Veränderungen ohne merkliche Einbuße an Infektiosität erleidet. W. M. STANLEY und LAUFFER bestätigten zwar die Denaturierung durch den Harnstoff, fanden aber, daß sie von einem Zerfall des hochmolekularen Nucleoproteins in niedermolekulare Spaltlinge herrührt und dementsprechend von einem Schwund der Aktivität begleitet ist; die auf der Differentialzentrifuge abgesonderten niedermolekularen Derivate erwiesen sich als ganz unwirksam, und wenn eine mit Harnstoff versetzte Viruslösung noch infiziert, ist dies — nach STANLEY und LAUFFER — nur auf die noch erhaltenen Reste von Makromolekülen zurück-

zuführen. Wie aber FRAMPTON und SAUM zu ihren Ergebnissen kamen, wird nicht aufgeklärt, sondern weiteren Experimenten zur Entscheidung überlassen [siehe auch STANLEY (7, S. 561)].

Doch war schon in den ersten Publikationen STANLEYS die Angabe aufgefallen, daß das Virus des Tabakmosaiks durch H_2O_2 , ultraviolettes Licht, salpetrige Säure, Formaldehyd anscheinend irreversibel inaktiviert werden kann, daß aber die inaktivierten Präparate wesentliche Eigenschaften des Ausgangsmaterials beibehalten: die hochmolekulare Beschaffenheit, die Fähigkeit, kristallinische Aggregate zu bilden und die spezifischen Antigenfunktionen. Diese Beobachtung konnte später auf andere phytopathogene Virusarten (Kartoffelvirus X, Cucumisvirus 2 und 2 A) ausgedehnt werden. Zwar hob STANLEY hervor, daß es trotz der großen Ähnlichkeit, die zwischen aktivem und inaktiviertem Virus bestehen kann, noch in jedem derartigen Falle möglich gewesen sei, eine oder mehrere Veränderungen als Ausdruck der erfolgten Inaktivierung festzustellen, eine Behauptung, die auch in einer der jüngsten Übersichten STANLEYS (8, 1941) aufrecht erhalten wurde. Aber die Sache liegt, allgemein formuliert, doch so, daß die Vermehrungsfähigkeit durch verschiedene und, nach ihren sonstigen Auswirkungen beurteilt, milde Eingriffe ausgelöscht werden kann, so daß man nicht den Eindruck eines bestimmten, eng begrenzten Angriffspunktes innerhalb der stofflichen Viruseinheit, einer Läsion eines „Steuerungsorgans“ (im Sinne von P. JORDAN) erhält.

Die chemische Inaktivierung kann unter Umständen wieder rückgängig gemacht werden, wenn auch nur partiell.

A. F. ROSS und STANLEY zeigten, daß die Infektiosität des Tabakmosaikvirus durch Formol auf 0,1—1,0% des Ausgangswertes herabgedrückt und durch eine folgende Dialyse bei einem $p_H = 3$ wieder auf 1—10%, also auf das Zehnfache gesteigert wird. Reversible Inaktivierungen durch Formol sollen ferner bis zu einem gewissen Grad bei Bakteriophagen möglich sein (H. MORIYAMA und O. SHUNKICHI), nach F. GALLI und VIEUCHANGE auch bei der Neurovaccine, wo jedoch C. LEVADITI und REINIÉ ein negatives Resultat hatten.

Da es bekannt ist, daß Formaldehyd mit den Aminogruppen reagiert, und da ROSS und STANLEY nachzuweisen vermochten, daß die Zahl der Aminogruppen (gemessen durch die gasometrische Methode von VAN SLYKE, die colorimetrische Bestimmung mit Ninhydrin und die Reaktion nach FOLIN) bei der Inaktivierung abnimmt, ferner daß der Amino-N und die Gruppen, welche mit FOLINS Reagens reagieren, bei der Reaktivierung wieder zunehmen, schien die Erwartung gerechtfertigt, auf diesem Wege Auskunft über die chemischen Strukturen zu erhalten, welche für die Vermehrungsfähigkeit notwendig sind [ROSS und STANLEY, W. M. STANLEY (8)]. Gegen diese durch ihre Einfachheit bestechende Lösung können indes mehrere grundsätzliche Bedenken geltend gemacht werden.

Die Reaktivierung der durch Formol inaktivierten Virusarten ist keineswegs immer möglich. Wie schon erwähnt, fielen die von LEVADITI und REINIÉ angestellten Versuche mit Neurovaccine negativ aus, und A. POLLARD hatte mit gereinigtem Virus aus dem ROUS-Sarkom I ebenfalls ein negatives Ergebnis zu verzeichnen. Wahrscheinlich werden sich die Mißerfolge häufen, wenn man eine größere Zahl von Virusarten in dieser Beziehung prüfen wird. Entweder ist also die Vermehrungsfähigkeit überhaupt nicht durch bestimmte chemische Gruppen bedingt, oder es sind, falls man an dieser Hypothese grundsätzlich festhalten will, nicht immer d. h. bei jeder Virusart die gleichen Gruppen, welche dieser Funktion als materielle Basis zugrunde liegen. Auch beim Virusprotein des Tabakmosaiks war übrigens die Reaktivierung, gemessen an der Infektiosität des Ausgangsmaterials, nur in geringem Grade (1—10%) möglich und bloß im Verhältnis zur Abschwächung, welche durch die vorausgegangene Einwirkung des Formols eingetreten war; der Prozeß der Inaktivierung mußte zeitgerecht

unterbrochen werden, um die Reversibilität überhaupt konstatieren zu können. ROSS und STANLEY nahmen an, daß zwei Reaktionen zwischen Virusprotein und Formaldehyd nebeneinander ablaufen, von welchen die eine reversibel ist, die andere nicht. Diese Annahme ist indes nicht notwendig, da es sich um zwei aufeinanderfolgende Phasen eines und desselben Prozesses handeln könnte, etwa im Sinne einer sekundären Verfestigung, wofür ja auch die Beobachtung spricht, daß der Grad der Reaktivierung vom Ausmaß der Inaktivierung abhängig ist, und daß die ganze Reaktion dem Endpunkt einer kompletten Irreversibilität zustrebt.

Partielle und reversible Inaktivierungen vermochten auch E. PFANKUCH und G. A. KAUSCHE zu erzielen, wenn sie Invertseifen auf Lösungen von Tabakmosaikvirus einwirken ließen. Es bestand ein gewisser Parallelismus zwischen der fällenden (aggregierenden) und inaktivierenden Wirkung der Invertseifen; doch war die Inaktivierung nicht als direkte Folge der Aggregation aufzufassen, da sie auch durch bestimmte Invertseifen und durch Saponine herbeigeführt werden konnte, welche den Dispersitätsgrad des Virusproteins nicht beeinflussten. Die Autoren denken vielmehr an eine einfache salzartige Anlagerung der Invertseifen an das Virusmolekül, durch welche dasselbe gewissermaßen isoliert wird, so daß es sich in der Wirtszelle nicht mehr reproduzieren kann; dementsprechend konnte die Verbindung schon durch mehrfaches Waschen mit Wasser oder Pufferlösung dissoziiert werden, wobei 70—80% des aktiven, molekulardispersen Virusproteins zurückgewonnen wurden. Die Vorstellung von PFANKUCH und KAUSCHE weicht also von der Idee von ROSS und STANLEY grundsätzlich ab, welche die Vermehrungsfähigkeit des Virusproteins durch Substitution bestimmter chemischer Gruppen im Virusmolekül zu beeinflussen versuchten (vgl. hierzu auch S. 30f.).

Jedenfalls ist die Regeneration einer ausgelöschten Vermehrungsfähigkeit kein ausschließliches Attribut der Virusproteine, sondern ein Spezialfall des Phänomens der *Anabiose*, von dem schon in anderem Zusammenhang die Rede war (siehe S. 4). So hat R. DOERR (4) wiederholt darauf hingewiesen, daß Staphylokokken, welche durch Einwirkung von Sublimat die Proliferationsfähigkeit *in vitro* und *in vivo* verloren haben, durch Behandlung mit Sulfiden „geheilt“ werden können, so daß sie sich wieder vermehren (V. GEGENBAUER); in diesem Falle sind übrigens chemisches Agens und Angriffspunkt nicht dieselben wie bei der In- und Reaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Formaldehyd.¹

Vom erkenntniskritischen Standpunkt betrachtet, ist die Reaktivierung nur eine Art Probe, ob die aus der Inaktivierung gezogenen Schlüsse richtig sind; in den Versuchen von ROSS und STANLEY und in der Interpretierung ihrer Ergebnisse tritt diese Auffassung klar zutage. Die Reaktivierung ist aber nur in einer beschränkten Zahl von Fällen möglich und auch dann noch an bestimmte Bedingungen gebunden, während die chemischen Inaktivierungen naturgemäß in ungleich größerem Umfange anwendbar sind und nach verschiedenen Richtungen hin variiert werden können.

Wie bereits erwähnt, kamen ROSS und STANLEY auf Grund ihrer Beobachtungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Formaldehyd und die partielle Reversibilität dieses Vorganges auf die Vermutung, daß die Amino-

¹ Ähnliche Versuche hat 1940 P. FILDES, ohne seine Vorgänger zu erwähnen, veröffentlicht. Er vergiftete *Bacterium coli* mit Sublimat, wodurch es seine Vermehrungsfähigkeit einbüßte, und machte die Wirkung durch Behandlung mit Thioacetat, Cystein oder Glutathion wieder rückgängig. Nach FILDES wirkt Sublimat auf die Bakterienzelle toxisch, indem es die für ihren Stoffwechsel notwendigen Sulfhydrylgruppen bindet; Glutathion heilt die Vergiftung, weil es mit Hg eine von —SH-Gruppen freie Verbindung liefert.

gruppen für die Vermehrungsfähigkeit der phytopathogenen Nucleoproteine maßgebend sein könnten. Die Versuchsergebnisse dieser Autoren stehen jedoch mit den von G. SCHRAMM und H. MÜLLER (2) erzielten Resultaten in tatsächlichem, vorläufig noch nicht aufgeklärtem Widerspruch.

SCHRAMM und MÜLLER leiteten gasförmiges Keten in 10 ccm einer 1%igen Lösung von Tabakmosaikvirus in 1 m Acetatpuffer und stellten fest, daß nach 10 Minuten alle nachweisbaren Aminogruppen (Methode von VAN SLYKE, Ninydrinreaktion) acetyliert waren. Das acetylierte Derivat hatte dieselbe Sedimentationskonstante wie das Ausgangsmaterial, konnte ebenso wie dieses in nadelförmigen Parakristallen ausgeschieden werden, und zeigte nur im Elektrophoreseapparat von TISELIUS eine erhöhte (aber noch immer einheitliche) Wanderungsgeschwindigkeit; im elektronenoptischen Bild* war die Neigung zur Bildung von linearen Assoziaten stärker ausgeprägt wie beim nicht-beeinflußten Virus. *Die Aktivität, d. h. die titrierbare Infektiosität war unverändert.* Ein ähnliches Resultat konnte durch die Behandlung einer 1%igen Viruslösung mit Phenylisocyanat bei 0° C und einem p_H von 7,5—8,0 erzielt werden. Läßt man Keten längere Zeit einwirken, so werden nach vorliegenden Angaben (Literatur siehe bei SCHRAMM und MÜLLER) auch die Sulfhydryl- und Hydroxylgruppen verestert und nunmehr sinkt die Infektiosität. SCHRAMM und MÜLLER schließen daraus, daß die an freien Aminogruppen vorgenommenen Veränderungen keinen Verlust der biologischen Wirksamkeit zur Folge haben, daß aber die „Veresterung der phenolischen Hydroxylgruppen zur Inaktivierung führt“, was aber nicht richtig sein muß, da der Schwund der Infektiosität auch durch die Kombination der Eingriffe an Amino- und Hydroxylgruppen bedingt sein könnte.

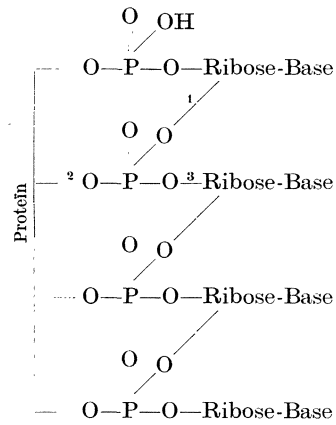
SCHRAMM und MÜLLER geben indes zu, daß es zunächst unentschieden bleibt, ob die freien Aminogruppen für die Infektion nicht wesentlich sind oder ob die substituierten Gruppen in der Wirtspflanze wieder eliminiert werden, so daß das ursprüngliche Virusmolekül wieder hergestellt wird. Dieser wichtige Punkt ist nun in einigen Fällen in dem an zweiter Stelle genannten Sinne aufgeklärt worden.

Wenn man beispielsweise die Sulfhydrylgruppen durch Jod oxydiert, so behält das Virusprotein zwar seine Infektiosität, was aber in der geimpften Pflanze produziert wird, ist das normale Virus (M. L. ANSON und W. M. STANLEY). Die Experimente von SCHRAMM und MÜLLER mit Keten und Phenylisocyanat wurden auch von G. L. MILLER und W. M. STANLEY, bevor sie Kenntnis von der Mitteilung der deutschen Autoren hatten, angestellt. Eine vollständige Substitution der Aminogruppen gelang zwar nicht; aber die Präparate, in welchen 43—63% aller Aminogruppen (durch Einwirkung von Phenylisocyanat) bzw. bis zu 70% (durch Behandlung mit Keten) verestert waren, erwiesen sich als infektiös, erzeugten die gleiche Krankheitsform wie das unveränderte Virus und aus den infizierten Pflanzen konnten nicht die Derivate zurückgewonnen werden, sondern wieder nur das gewöhnliche Virusprotein. Daß die Präparate nach der chemischen Behandlung noch Reste von unverändertem Ausgangsvirus enthielten, konnte durch ihr Verhalten bei der Elektrophorese sowie durch Kontrolluntersuchungen mit ad hoc hergestellten Gemischen ausgeschlossen werden. Wurde die Acetylierung mit Keten bis auf 75—83% der Aminogruppen gesteigert, so war eine Abnahme der Aktivität um 50—75% zu konstatieren. Die Abweichungen der Resultate von den Ergebnissen von SCHRAMM und MÜLLER konnten um so weniger aufgeklärt werden als derselbe Stamm des Tabakmosaikvirus verwendet worden war.

Aus ihren eigenen Resultaten folgern MILLER und STANLEY, daß eine erhebliche Zahl gewisser Funktionsgruppen des Virusmoleküls verändert werden kann, ohne die Grundlage der Virusvermehrung zu beeinträchtigen, was vermutlich so

zu verstehen ist, daß die Vermehrungsfähigkeit zwar an die Aminogruppen gebunden ist (ROSS und STANLEY), daß aber die Intaktheit eines Teiles dieser Gruppen genügt, um sie aufrechtzuerhalten. Es ist aber auch denkbar, daß die erzeugten chemischen Veränderungen aus dem Grunde belanglos sind, weil sie in den parasitierten Wirtszellen rückgängig gemacht werden können, eine Eventualität, welche gleich SCHRAMM und MÜLLER auch MILLER und STANLEY in Betracht ziehen. Offenbar verbirgt sich jedoch in dieser Konzeption ein neues und — soweit sich dies a priori beurteilen läßt — schwer zu bewältigendes Problem, nämlich die Frage, wie und in welchem Zeitpunkt die aufgezwungene chemische Veränderung wieder abgestreift wird. Es ist ebenso unwahrscheinlich, daß die Restitution sofort nach der Einbringung in das Gewebe der Wirtspflanze, d. h. noch vor dem Beginn der Virusvermehrung stattfindet, wie die Alternative, daß zunächst eine Vermehrung erfolgt, bei welcher der aufgeprägte chemische Charakter gewahrt wird, und daß die Wiederherstellung erst später im Laufe des abrollenden Infekts vor sich geht. Daß solche Überlegungen nicht müßig sind, scheint aus einer brieflichen Mitteilung von W. M. STANLEY hervorzugehen, derzufolge das Tabakmosaikvirus durch chemische Eingriffe derart beeinflußt werden konnte, daß sich seine Virulenz für gewisse Wirtspflanzen änderte; aber das Virus, das aus den infizierten Pflanzen isoliert wurde, glied auch in diesem Falle „eher dem normalen als dem chemisch geänderten“.

Ganz besondere Beachtung unter den Arbeiten, welche sich mit der chemischen Beeinflussung der Vermehrungsfähigkeit der Virusproteine, also mit der sog. Inaktivierung befassen, verdienen die Untersuchungen von G. SCHRAMM. SCHRAMM (1) behandelte Lösungen von Tabakmosaikvirus unter Toluolzusatz mit einer Nucleotidase, um die Nucleinsäure aus dem Virusmolekül abzuspalten; da die Proteinkomponente gegen proteolytische Fermente relativ beständig ist, bestand die Möglichkeit, dieselbe intakt zu erhalten. Mit Hilfe eines speziellen, von H. BREDERECK und G. MÜLLER angegebenen Verfahrens gelang der Versuch fast in jeder Hinsicht, d. h. die Infektiosität wurde sehr stark (bei der Auswertung auf Blatthälften von 14,1 auf 0,4 Primärläsionen) herabgesetzt; die von der Nucleinsäure abgespaltene Proteinkomponente zeigte aber noch alle Eigenschaften des nativen Virusproteins, besaß ein Molekulargewicht von 23000000, lieferte die bekannten Kristallnadeln, verhielt sich auf der Ultrazentrifuge und im Kataphoreseapparat von TISELIUS wie unbehandeltes Virus und gab mit einem Kaninchenantiserum spezifische Präzipitation. G. SCHRAMM erblickt in diesem Resultat die Bestätigung der schon von T. CASPERSSON sowie von H. FRIEDRICH-FREKSA geäußerten Vermutung, daß die Nucleinsäure für die Vermehrung von Eiweiß notwendig sei. Ob diese generelle Fassung berechtigt ist, erscheint indes doch zweifelhaft. Vielfach wird in den Arbeiten über Proteinsynthese und über Chromosomenverdoppelung gerade die Nucleinsäure als mehr nebensächlich hingestellt und das Hauptgewicht auf das Protein, das jedenfalls der Träger der biologischen Spezifität ist, gelegt. Um den Effekt zu erklären, nimmt G. SCHRAMM an, daß die Phosphatgruppen im Virusmolekül tertiär gebunden sind, und zwar mit zwei Säuregruppen esterartig mit den Nucleosiden, mit einer dritten salzartig an basische Gruppen des Proteins nach vorstehendem Schema.



Durch die Nucleotidase würden zuerst die mit „1“ bezeichneten Bindungen und sekundär die Bindungen der Phosphatreste zum Protein („2“) gelockert und gelöst werden. Das Schema läßt es als verständlich erscheinen, daß das Protein nach dem Wegdauen des Ribosenucleotids erhalten bleibt, nicht aber warum das spezifische Protein durch die angehängten Nucleotide vermehrfähig, also gewissermaßen belebt wird, derart, daß es wieder spezifisches Protein in Kombination mit Nucleinsäure zu liefern vermag.

S. S. COHEN und W. M. STANLEY unterzogen die Angaben von G. SCHRAMM einer Nachprüfung. Sie stellten nach dem von SCHRAMM beschriebenen Verfahren eine Nucleophosphatase aus der Darmschleimhaut von Kälbern her und überzeugten sich zunächst, daß dieses Präparat Nucleinsäure aus Hefe oder Nucleinsäure, die aus Virusprotein abgesondert worden war, zu hydrolysieren vermochte. Auf Tabakmosaikvirus wirkte das Enzym jedoch nicht, indem dieses seine Infektiosität beibehielt und bei der chemischen Analyse eine gute Ausbeute an Phosphor lieferte. Der Bericht von SCHRAMM, daß man durch ein solches Ferment die Nucleinsäure aus dem Virus entfernen und ein inaktives, P-freies Protein erhalten kann, das sich hinsichtlich seines Molekulargewichtes, seines Verhaltens in der Ultrazentrifuge und im Kataphoreseapparat wie intaktes Virus verhält, konnte somit von den amerikanischen Autoren nicht bestätigt werden.

Damit ist die Angelegenheit jedoch nicht endgültig entschieden. Es ist vor allem zu bedenken, daß G. SCHRAMM zwei Resultate mitgeteilt hat, nämlich erstens, daß durch das Wegdauen der Nucleinsäure die Vermehrfähigkeit aufgehoben bzw. fast bis auf Null reduziert wird, und zweitens, daß man bei dieser Operation ein Endprodukt erhält, welches dem Virusprotein des Tabakmosaikvirus in physikalischer Hinsicht vollkommen gleicht. Der zweite Satz ist vom ersten prinzipiell unabhängig und konnte später von G. SCHRAMM (4) auf einem anderen Wege bestätigt werden, was S. S. COHEN und STANLEY noch nicht bekannt war. Auf S. 13 wurde bereits erwähnt, daß G. SCHRAMM aus dem Tabakmosaikvirus zwei Spaltprodukte vom Molekulargewicht 360000 gewinnen konnte, von welchen eines nucleinsäurehaltig, das andere nucleinsäurefrei war. Reine (homodisperse) Lösungen dieser Spaltprodukte, welche sphärische Partikel mit einem Durchmesser von 7 μ bildeten, gaben nun beim Ansäuern durch Reaggregation der Partikel hochmolekulare und homodisperse Proteine, deren Lösungen Strömungsdoppelbrechung zeigten, welche in Form der bekannten parakristallinen Nadeln abgeschieden werden konnten und sich, was wohl das merkwürdigste ist, im elektronenoptischen Bild als Stäbchen von der Gestalt und Größe der Elemente des Tabakmosaikvirus präsentierten. Der Effekt, den SCHRAMM durch das Wegdauen der Nucleinsäure erzielt haben will, konnte somit auch auf andere Art erreicht werden.

SCHRAMM folgerte aus seinen Versuchen, daß die Größe und Gestalt des Tabakmosaikvirus durch die Eigenschaften der Untereinheiten bedingt und als eine „energetisch begünstigte Anordnung“ derselben aufzufassen sei, „für deren Zustandekommen die Anwesenheit eines lebenden Organismus nicht notwendig ist“. Der Tatbestand gleicht dem Zerfall und der Wiederherstellung anderer Makromoleküle, vor allem des Hämocyanins (siehe S. 13), und erinnert an die Beobachtungen von KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (2), welche die Proteinstäbchen des Tabakmosaikvirus durch Ultraschall fragmentieren und beim Stehenlassen eine spontane Wiederherstellung der Stäbchenlängen feststellen konnten; SCHRAMM hat auf diese Analogien hingewiesen. Vier wesentliche Punkte müssen nachdrücklich hervorgehoben werden: 1. daß die Spaltprodukte aus dem Virus hergestellt wurden und daß es sich nicht um eine Resynthese, sondern um eine Reaggregation gehandelt hat; 2. daß die reaggregierten Pro-

dukte nur physikalisch und morphologisch dem Virus des Tabakmosaiks glichen, daß sie aber nicht infektiös, d. h. nicht vermehrungsfähig waren. Beim Zerschlagen und Wiederausammenfügen war also gerade jene Eigenschaft verschwunden, die man als das Leben des Virus bezeichnen könnte; 3. daß die Reaggregation auch aus nucleinsäurefreien Spaltprodukten möglich war, in welchem Falle das Produkt natürlich einen ganz anderen chemischen Aufbau haben mußte als das Virus (vgl. u. a. auch A. BUTENANDT, FRIEDRICH-FREKSA, HARTWIG und SCHEIBE), und 4. daß das durch Reaggregation von nucleinsäurehaltigen Spaltprodukten gewonnene hochmolekulare Proteid ebenfalls biologisch inaktiv war, was mit der Bedeutung, welche SCHRAMM (1) der Nucleinsäure für die Vermehrungsfunktion beilegte, in Widerspruch steht.

Die gegenwärtige Situation überblickend, wird man wohl zugestehen, daß mit den chemischen Inaktivierungen ein erfolgversprechender Weg beschritten wurde, daß man aber nicht behaupten kann, daß die chemische Struktur, welche der Vermehrungsfähigkeit der Virusproteine zugrundeliegen soll, nunmehr bekannt sei oder daß ihre Ermittlung nahe bevorstehe. Die aprioristische Gewißheit, daß durch solche Methoden einfache chemische Konstellationen oder Gruppen gefunden werden können, welche die Virusvermehrung bewirken und regeln, hat man jedenfalls nicht. Es sind vielmehr manche Tatsachen und theoretische Einwände mitgeteilt worden, welche Zweifel in dieser Hinsicht erwecken.

Besonderes Gewicht darf beigelegt werden:

a) Der durch die Analyse der Röntgengitter sowie durch die Bestimmung des Molekulargewichtes von Spaltprodukten gestützten Hypothese, daß sich die Makromoleküle des Virusproteins des Tabakmosaiks aus einer großen Zahl gleichartiger Untereinheiten aufbauen (ASTBURY, BERNAL und FANKUCHEN, BERNAL, siehe auch S. 12).

b) Der Angabe von G. A. KAUSCHE (1) und von KAUSCHE und ŠTUBBE (1), daß Tabakmosaikviruslösung durch die Einwirkung von γ -Strahlen eines Mesothoriumpräparats und durch Röntgenstrahlen „aktiviert“ werden konnte, derart, daß die titrierbare Infektiosität in einem die Fehlergrenzen des Auswertungsverfahrens übersteigendem Ausmaße (z. B. von 1:12800 auf 1:163888) zunahm. Kann man die Inaktivierung hypothetisch mit der Veränderung bestimmter chemischer bzw. chemisch definierbarer Funktionsgruppen in Beziehung bringen, so sind die Hemmungen stärker, wenn es sich um die Erklärung des Gegenteiles, um eine „Aktivitätssteigerung“ handelt.

c) Der von MILLER und STANLEY aufgestellten Behauptung, daß eine sehr große Quote der Aminogruppen des Makromoleküls chemisch verändert werden kann, ohne daß die Infektiosität abnimmt, daß aber eine — unter den gewählten Versuchsbedingungen immer noch — partielle Inaktivierung eintritt, falls die Prozentzahl der substituierten Aminogruppen eine gewisse Grenze überschreitet. Dieser Satz gewinnt an Bedeutung, wenn man ihn in Zusammenhang mit Punkt a bewertet.

d) Der Tatsache, daß sich Inaktivierungen erzielen lassen, ohne die spezifischen Antigenfunktionen aufzuheben oder abzuändern (siehe S. 28). Die immunologische Spezifität der Virusproteine kann nur auf ihrem chemischen Bau beruhen, und wenn wir die gleiche Grundlage für die Vermehrungsfähigkeit postulieren, müßte man im Hinblick auf die Dissozierbarkeit beider Eigenschaften annehmen, daß die strukturellen Bedingungen verschieden und voneinander bis zu einem gewissen Grad unabhängig sind, sei es durch ihre differente Widerstandsfähigkeit gegen chemische Eingriffe, sei es durch ihre besondere Lokalisation im Makromolekül. Statt Hypothesen zu türmen, könnte man sich mit Analogien bescheiden und darauf berufen, daß Zellen und insbesondere Bakterien

abgetötet bzw. ihrer Wachstums- und Vermehrungsfähigkeit beraubt werden können, ohne daß darunter die Antigenfunktionen ihrer Leibessubstanzen leiden. Aber, wie bei allen aus der Welt der Organismen entlehnten Vergleichen, stoßen wir auch hier wieder auf das Bedenken, die Realisierung solcher Phänomene in den Raum eines Moleküls zu verlegen [R. DOERR (4, S. 38)].

F. C. BAWDEN unterscheidet in seinem Werk „Plant viruses and virus diseases“ zwei Arten der Inaktivierung, von welchen die eine die Antigenfunktionen und die Infektiosität in gleicher Weise angreift, während die andere nur die Infektiosität schädigt. Ob sich hinter dieser rein schematischen Einteilung eine prinzipielle Differenz verbirgt, ist zweifelhaft. F. C. BAWDEN, PIRIE und SPOONER immunisierten Kaninchen mit aktivem Kartoffelvirus X (= *Solanumvirus* 1) und mit einem inaktiven, durch Behandlung mit salpetriger Säure erzeugten Derivat; beide Arten von Immunserum waren voneinander nicht zu unterscheiden, sie gaben sowohl mit dem aktiven wie mit dem inaktiven Präparat Präzipitation und Komplementablenkung im gleichen quantitativen Ausmaß. Daß es nicht zu einer Änderung der serologischen Spezifität bzw. zur Entstehung einer „Nitrospezifität“ kam, ist immerhin bemerkenswert. Gerade mit Rücksicht auf diese Tatsache erscheint jedoch die Frage von besonderem Interesse, ob nicht auch der umgekehrte Fall möglich ist, d. h. ob eine Änderung des immunchemischen Verhaltens bei voller Wahrung der Aktivität erzielt werden kann. Ließe sich dieses Resultat verwirklichen und würde die modifizierte Spezifität im Wirtsorganismus nicht wieder abgestreift, so müßte eine neues Virus entstehen, sei es nun ein neuer „Stamm“ oder eine neue „Art“, also eine chemisch induzierte Mutante. Hierüber ist indes so gut wie nichts bekannt.

E. KÖHLER (3) berichtet, daß der stark pathogene Stamm Cs 36 des X-Virus der Kartoffeln leicht zur reichlichen Bildung schwächerer Varianten veranlaßt werden kann, wenn man den virushaltigen Pflanzenrohsaft bis zur Inaktivierungsgrenze erhitzt, und G. A. KAUSCHE und STUBBE (3) geben an, daß sie Mutanten bekamen, wenn sie die Blätter von *Nicotiana tabacum*, die mit normalem Mosaikvirus infiziert waren, mit Röntgenstrahlen (im Bereich von 12000—14000 r) behandelten. Das X-Virus sowohl wie auch das Tabakmosaikvirus neigen aber schon unter natürlichen Verhältnissen, d. h. bei der Vermehrung in ihren Wirtspflanzen, sehr zur beständigen Abspaltung von Stämmen [E. KÖHLER (3), L. O. KUNKEL u. a.], und selbst wenn man diesen Einwand abweist, kann man doch nicht behaupten, daß die im Versuch aufgetretene Änderung der Pathogenität auf einer chemischen Veränderung des Virusproteins beruhen mußte. Die serologische Spezifität der entstandenen Varianten wurde weder von KÖHLER noch von KAUSCHE und STUBBE untersucht, und diese im erörterten Konnex besonders fühlbare Lücke weisen auch andere experimentelle Arbeiten auf, welche über die Erhaltung der Infektiosität trotz chemischer Einwirkungen berichten (ROSS und STANLEY, SCHRAMM und MÜLLER, ANSON und STANLEY, MILLER und STANLEY u. a.). Jedenfalls könnte man sich nicht mit der Feststellung begnügen, ob die gewonnenen Derivate noch in unvermindertem oder abgeschwächtem Grade mit einem gegen das native Virusprotein gerichteten Antiserum reagieren, sondern müßte auch — wie das BAWDEN, PIRIE und SPOONER getan haben (siehe oben) — prüfen, ob die Derivate Antikörperbildung auslösen und wie sich diese Antikörper gegen das homologe und das heterologe Antigen (bzw. gegen das Derivat und das Ausgangsmaterial) verhalten.

Wenn die Infektiosität trotz chemischer Eingriffe fortbestand, entwickelte sich, wie bereits betont wurde, in der Wirtspflanze nicht das chemisch gewonnene Derivat, sondern das ursprüngliche Virusprotein. Der Fall, daß sich das Derivat als vermehrungsfähig erwies und in Wirtsketten dauernd erhalten werden konnte,

daß also eine Mutation des Virus *in vitro* zustandegebracht wurde, ist bisher noch nicht beschrieben worden, obzwar die Möglichkeit solcher Resultate nicht grundsätzlich abgelehnt werden kann. C. A. KNIGHT und W. M. STANLEY vermochten ja neuerdings chemische Differenzen zwischen verschiedenen Stämmen des Tabakmosaikvirus nachzuweisen, und es ist nicht einzusehen, warum die künstliche Nachahmung des natürlichen Vorganges ausgeschlossen sein soll. Hält man daran fest, daß bei den Virusarten wie bei allen infektiösen Keimen und parasitischen Organismen die Gast-Wirt-Beziehungen das gesamte Naturgeschehen beherrschen [R. DOERR (7)], so sind die bisherigen Mißerfolge einer befriedigenden, wenn auch nur hypothetischen Deutung zugänglich. Wahrscheinlich waren die chemischen Eingriffe, welche an den Virusproteinen vorgenommen wurden, zu massiv, so daß die Vermehrung im *ursprünglichen* Wirt zur Unmöglichkeit wurde, es sei denn, daß die chemische Veränderung im Wirt wieder rückgängig gemacht werden konnte. Andere Wirte als jene, welche für das Ausgangsmaterial empfänglich waren, hat man mit den Derivaten nicht zu infizieren gesucht, und ein Erfolg in dieser Richtung war auch nur von einer zufällig glücklichen Wahl zu erwarten. Strenge genommen hat somit die Aussage, daß die Vermehrungsfähigkeit durch einen chemischen Eingriff völlig aufgehoben wurde, keine absolute Gültigkeit, wenn man den Infektionsversuch auf den Wirt des natürlichen Ausgangsvirus beschränkt. Vielleicht eignen sich auch chemische Einwirkungen nicht besonders, wenn man auf die Erzeugung beständiger Mutanten lossteuert. Es wäre angezeigt, auch andere Methoden in größerem Umfang heranzuziehen, besonders die Bestrahlung mit monochromatischem ultraviolettem Licht, das sich als mutationsauslösender Faktor an verschiedenen Objekten bewährt hat und durch Variierung der Wellenlänge, der Energie und Einwirkungsdauer feine Abstufungen ermöglicht, welche die Einhaltung der Grenze zwischen Abtötung und Mutationsauslösung erleichtern; zudem sind die Virusproteine Nucleoproteine, und es liegt eine Reihe von Untersuchungen vor, denen zufolge die Auslöschung der Vermehrungsfähigkeit ebenso wie die Erzeugung der Mutationen bei Organismen durch die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf die Nucleinsäuren bedingt ist [P. JORDAN (2), E. KNAPP, REUSS, RISSE und SCHREIBER u. a.].

e) Bedeutung besitzt vermutlich auch die Feststellung, daß anscheinend schwere chemische Eingriffe die Infektiosität nicht reduzieren, während andere relativ geringfügigere Veränderungen die Aktivität aufheben. Aus diesem Mißverhältnis zwischen Ursache und Folge könnte man schließen, daß ganz bestimmte Punkte des Makromoleküls getroffen werden müssen, um die Inaktivierung herbeizuführen. Wie aber W. M. STANLEY (9) zugibt, muß man auch damit rechnen, daß die Vermehrungsfähigkeit an die Existenz bzw. an die Erhaltung einer bestimmten Gesamtkonfiguration des Moleküls oder an den Bestand von Kraftfeldern, die sich aus besonderen Anordnungen ergeben, gebunden ist — Kombinationen, welche ebenso wie die in diesem Kapitel besprochenen Experimente auf der Überzeugung beruhen, daß vitalistische Resignation die wissenschaftliche Forschung in keiner Weise beeinflussen darf.

Es erscheint zweckmäßig, außer den chemischen auch andere Arten der Inaktivierung, speziell durch Hitze und durch ionisierende Strahlen zu berücksichtigen, da sie manche Lücken der Resultate mit chemischen Verfahren ausfüllen und die Gefahr einseitiger Betrachtung paralysieren.

6. Die Absterbeordnungen der Viruselemente.

Organismen sterben, wenn sie schädigenden Einflüssen ausgesetzt werden, nicht gleichzeitig ab, auch wenn sie einer reinen Linie angehören, und wenn man trachtet, daß sich alle geprüften Individuen in möglichst gleichartigem Zustande

befinden. Die individuellen Tode bilden in ihrer Aufeinanderfolge gesetzmäßige „Absterbeordnungen“, welche, je nachdem es sich um vielzellige oder einzellige Organismen (z. B. Bakterien) handelt, charakteristische Verschiedenheiten erkennen lassen [O. RAHN, P. JORDAN (2) u. a.]. Die frühere Auffassung, daß solche Absterbeordnungen die (auch in einer möglichst homogenen Schar von Organismen herrschende) Variabilität der Widerstandsfähigkeit widerspiegeln, wird indes nicht mehr allgemein anerkannt. Man stellt sich vor, daß die abtötenden („inaktivierenden“) Eingriffe auf mikrophysikalischen oder mikrochemischen Vorgängen beruhen, welche sich in einem kleinen, aber die Vermehrungsfähigkeit beherrschenden Teil des einzelnen Individuums abspielen. Ob dieses Wirkungszentrum getroffen wird, wäre vom Zufall abhängig, und

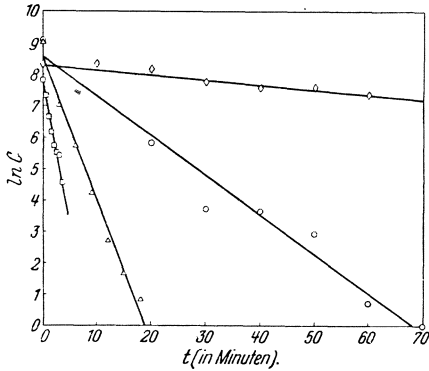


Abb. 2. Nach W. C. PRICE. Kurven, welche den Vorgang der thermischen Inaktivierung veranschaulichen: a) für das Virus der Ringfleckkrankheit des Tabaks bei 50° C ($\diamond \diamond \diamond$); b) für das Tabakmosaikvirus bei 90° C ($\circ \circ \circ$); c) für das Nekrosevirus des Tabaks bei 86° C ($\Delta \Delta \Delta$); d) für das Alfalfa-Mosaikvirus bei 62,5° C ($\square \square \square$); alle in Form von frisch ausgepresstem Saft infizierter Pflanzen. Die Geschwindigkeitskonstanten K betragen: für a) $K = .0,15 \text{ min}^{-1}$; für b) $K = .12 \text{ min}^{-1}$; für c) $K = .45 \text{ min}^{-1}$; für d) $K = .89 \text{ min}^{-1}$.

die Absterbeordnungen würden so zum statistischen Ausdruck der Gesetze, welchen die „Trefferwahrscheinlichkeiten“ im Massengeschehen unterworfen sind [vgl. hierzu P. JORDAN (2) und N. RIEHL, N. W. TIMOFÉEFF-RESOWSKY und K. G. ZIMMER]. Bei einzelligen Mikroorganismen wäre es denkbar, daß das die Vermehrung steuernde Wirkungszentrum einem einzigen Molekül entspricht; würde dieses Molekül geschädigt, so könnte sich die Zelle nicht mehr teilen, eine Bakterienzelle würde also die Fähigkeit einbüßen, Kolonien zu bilden. Die Logarithmen der Zahlen der überlebenden Individuen müßten dann, als Funktion der Einwirkungsdauer graphisch dargestellt, auf einer geraden Linie liegen, eine Forderung, welche durch die bekannte logarithmische Absterbeordnung der Bakterien tatsächlich erfüllt wird. Wie verhalten sich nun die Absterbeordnungen oder — wie man hier zu sagen pflegt — die Inaktivierungskurven der Virusarten, speziell jene der phytopathogenen Virus-

proteine, bei welchen ja das Molekül die vermehrungsfähige Einheit darstellen soll? Die genauesten Untersuchungen hierüber verdanken wir W. C. PRICE, welcher die thermische Inaktivierung (als Funktion der Einwirkungsdauer) von vier phytopathogenen Virusarten bei verschiedenen Temperaturen studierte. Die Ergebnisse sind der Abb. 2 ohne weiteres zu entnehmen, in welcher C die Viruskonzentration zur Zeit t und K die Geschwindigkeitskonstante der Inaktivierung bedeutet.

Der Verlauf der Inaktivierung entsprach somit bei allen vier Virusarten einer monomolekularen Reaktion, wie sie durch die Gleichung

$$\ln C = \ln C_0 - K t \quad \text{oder} \quad K = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C}$$

dargestellt werden kann, wobei C_0 die Ausgangskonzentration des Virus, d. h. die Konzentration zur Zeit $t = 0$ bedeutet. Zum Vergleiche diene Abb. 3 A, welche die logarithmische Absterbeordnung von *Bacterium coli* in heißem Wasser von 48,9° und 52,7° C veranschaulicht; die Ähnlichkeit mit den Inaktivierungskurven der Virusproteine ist wohl überzeugend. Die Hitzeinaktivierung von

Staphylokokkenphagen vollzieht sich übrigens nach A. P. KRÜGER in gleicher Weise wie jene der Virusproteine.

Für die Beurteilung der erörterten Beziehung ist es wohl von besonderer Bedeutung, daß die thermische Inaktivierung der Virusproteine nicht einfach als Hitzedenaturierung aufgefaßt werden darf. Die Hitzedenaturierung von koagulablen Eiweißkörpern wie Hämoglobin oder Eialbumin verläuft nach den Angaben von H. CHICK und C. J. MARTIN (1, 2) ebenfalls wie eine Reaktion erster Ordnung und gleiches gilt für den hypothetischen „Phage-Precursor“, den inaktiven Vorläufer der Staphylokokkenphagen (A. P. KRÜGER, MECRAKEN und SCRIBNER). Da es sich um eine allgemeine und von der Vermehrungsfähigkeit der untersuchten Stoffe ganz unabhängige Reaktionsform handelt, würde das Verhalten der Virusproteine keinen Anlaß zu besonderen Betrachtungen geben.

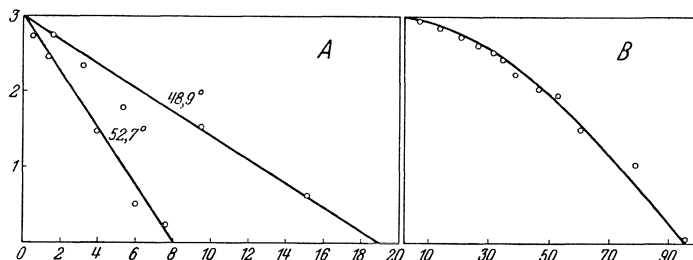


Abb. 3. Nach H. CHICK. A Die logarithmische Absterbeordnung von *Bact. coli* in heißem Wasser von $48,9^\circ\text{C}$ und $52,7^\circ\text{C}$. B Absterbeordnung von *Staphylococcus aureus* in 0,6% Phenol-Reduktion auf je 1000 Zellen ($\log 1000 = 3$).

Aber M. A. LAUFFER und PRICE fanden, daß die Inaktivierung wesentlich schneller vor sich geht als die — durch Niederschlagsbildung erkennbare — Denaturierung und halten es für wahrscheinlich, daß die Inaktivierung eines der ersten Glieder in einer Kette aufeinanderfolgender Teilreaktionen ist, welche in der Denaturierung zum Abschluß kommen. Da nun Inaktivierung und Denaturierung durch ein und dasselbe Agens — zumindest als Funktionen der Zeit — voneinander zu trennen sind, könnte man sich erneut fragen, ob logarithmische Absterbeordnungen unter allen Umständen darauf beruhen, daß das steuernde Wirkungszentrum der Vermehrung im chemisch-physikalischen Sinne einem Molekül gleichzuhalten ist (siehe oben) oder ob man nicht eben diese Vorstellung in einen niedrigeren Bereich verpflanzen und in den Molekülen der Virusproteine besondere Atomgruppen annehmen könnte, welche die Vermehrung ermöglichen und regeln, eine Idee, die offenbar auch ROSS und STANLEY, MILLER und STANLEY, SCHRAMM und MÜLLER bei ihren Versuchen vorschwebte, die für die Vermehrungsfähigkeit verantwortliche Partialstruktur der Virusmoleküle chemisch abzutasten.

Bei den Bakterien hat man beobachtet, daß faden- oder haufenbildende Arten, z. B. Staphylokokken, da sie in Aggregaten auftreten, welche aus einer Mehrzahl von Individuen bestehen, Absterbeordnungen zeigen, welche dem Vielzellertypus entsprechen (vgl. Abb. 3 B). Die stäbchenförmigen Virusproteine besitzen bekanntlich ebenfalls in hohem Grade die Neigung, zu verschiedenen Assoziaten (langen Fäden, Parakristallen) zusammenzutreten und die „echten“ Kristalle des Bushy-Stunt-Virus sowie des Nekrosevirus des Tabaks setzen sich natürlich aus zahlreichen Molekülen, die als Einheiten gelten, zusammen. Es wäre daher erwünscht zu erfahren, ob sich der Inaktivierungsprozeß mit fortschreitender Aggregation ändert und etwa in den Typus der Absterbeordnungen für Staphylokokken umschlägt. Technisch würden allerdings solche Untersuchungen bedeutende Schwierigkeiten bereiten, da sie eine Genauigkeit der Titrierung der Infektiosität voraussetzen, die bei phytopathogenen

Virusarten vorderhand nicht erreicht werden kann, und da auch die Aufrechterhaltung eines bestimmten Verteilungszustandes der Viruspartikel während des Inaktivierungsvorganges kaum möglich sein dürfte.

7. Die Inaktivierung durch ionisierende Strahlen.

α -, γ - oder Röntgenstrahlen vermögen Virusarten zu inaktivieren; dieser biologische Effekt beruht auf ihrer ionisierenden Wirkung, d. h. auf ihrer Fähigkeit, aus einzelnen Atomen Elektronen hinauszuschleßen. Sind die Viruselemente groß wie bei der Vaccine, so beträgt der für die ionisierende Strahlung empfindliche Anteil ihrer Substanz nur einen kleinen Bruchteil (zirka $\frac{1}{2}\%$) der Gesamtmasse (D. E. LEA und M. H. SALAMAN); die Verhältnisse liegen dann also ähnlich wie bei der Abtötung von Bakterien durch solche Strahlenarten [P. JORDAN (1, 2)]. Schrumpfen dagegen die Dimensionen der Virusarten auf minimale Werte und kann man aus diesem Grunde wie in Anbetracht ihrer Kristallisierbarkeit annehmen, daß die Elemente Moleküle sind, so findet man, wie dies von LEA und SALAMAN sowie LEA und K. M. SMITH festgestellt wurde, daß fast das ganze Virusteilchen auf die ionisierende Strahlung mit dem Verlust seiner Aktivität reagiert, d. h. *daß die Ionisierung jedes beliebigen Atoms im Virusmolekül die Vermehrungsfähigkeit aufhebt*. Diese Behauptung stützt sich darauf, daß man bei „molekulardispersen“ Virusarten aus der inaktivierenden Strahlungsdosis die Partikelgröße berechnen kann und daß die gefundenen Werte mit den durch andere Methoden erzielten Resultaten annähernd übereinstimmen (siehe S. 20), was nur unter der Voraussetzung möglich erscheint, daß jeder Treffer auf der Scheibe des Moleküls wirksam ist, gleichgültig auf welchem Punkt der ionisierende Schuß aufprallt. D. E. LEA und M. H. SALAMAN lassen die Frage offen, ob das unterschiedliche Verhalten großer und kleiner (molekulardisperser) Viruselemente absoluten Charakter hat oder ob nur ein stufenweises Ansteigen der Kompliziertheit des Baues mit zunehmender Teilchengröße vorliegt; sie hoffen, diese Alternative durch weitere Versuche entscheiden zu können.

P. BONET-MAURY bestrahlte verschiedene Virusarten, darunter auch Vaccinevirus, mit α -Strahlen in Form von Radon (Radiumemanation) und berechnete aus den Inaktivierungskurven die Größe, d. h. den Durchmesser der empfindlichen „Scheibe“, deren Läsion die Infektiosität (die Vermehrungsfähigkeit im empfänglichen Wirt) aufhebt. Für die Elemente des Vaccinevirus erhielt er einen Durchmesser der Scheibe von $240\text{ m}\mu$ und da dieser Wert mit den Dimensionen annähernd übereinstimmt, welche die Vaccinekörperchen im elektronenoptischen Bild zeigen, schloß er, daß diese Gebilde „keine Struktur“ besitzen und daher nicht als „Infra-Mikroben“, d. h. als organisierte Lebewesen aufgefaßt werden können, eine Aussage, die er unbedenklich auf die ganze Virusgruppe ausdehnte. BONET-MAURY hatte von der Publikation von D. E. LEA und M. H. SALAMAN, welche bei der Bestimmung des für ionisierende Strahlungen empfindlichen Anteiles der Vaccinekörperchen zu einem diametral entgegengesetzten Resultat kamen, sowie von den elektronenoptischen Befunden von R. H. GREEN, T. F. ANDERSON und J. E. SMADEL (siehe S. 6) keine Kenntnis und seine Angaben müssen daher einer gründlichen Revision unterzogen werden, sei es von ihm selbst oder von der Gegenseite.

An und für sich ist die von BONET-MAURY gefundene Übereinstimmung zwischen Teilchengröße und Treffbereich bei biologischen Einheiten von den Dimensionen der Vaccinekörperchen unwahrscheinlich. Im allgemeinen hat es sich herausgestellt, daß die Differenz zwischen beiden Werten mit dem Volumen der Gebilde wächst; sie ist schon bei den Bakterien sehr groß und die Elemente des Vaccinevirus gehören zu den größten Virusarten; selbst bei den Bakteriophagen konstatierten E. WOLLMANN und A. LACASSAGNE, daß der durch Ultrafiltration und Ultrazentrifugierung bestimmte Phagendurchmesser den aus Inaktivierungskurven berechneten Durchmesser des Treffbereiches etwas übertrifft, und zwar um so mehr, je größer die Phagenart ist,

und daß bei manchen Phagen auch erheblichere Unterschiede gefunden werden, obzwar man gerade bei den Phagen ein einheitliches Verhalten voraussetzen darf.

Alle indirekten Bestimmungen der Teilchengröße operieren mit gewissen Voraussetzungen und die Richtigkeit der Resultate hängt in erster Linie davon ab, daß diese Voraussetzungen tatsächlich zutreffen. Das gilt, wie dies von N. RIEHL, N. W. TIMOFÉEFF-RESOWSKY und K. G. ZIMMER sehr gründlich und exakt auseinandergesetzt wird, ganz besonders für die Auswertung der Wirkungen ionisierender Strahlen auf biologische Elementareinheiten. Die „Scheibe“ (der Treffbereich) wird als Durchmesser eines Kreises ermittelt, kann aber eine ganz andere Gestalt haben, und das Gebilde, für welches der Treffbereich errechnet wird, muß auch nicht die Form einer Kugel besitzen, was oft, wenn die optische Kontrolle fehlt, sozusagen als selbstverständlich angenommen wird. Das Vaccinevirus z. B. ist (in der elektronenoptischen Aufsicht!) nicht sphärisch, sondern eckig konturiert [H. RUSKA (3), GREEN, ANDERSON und SMADDEL], und die Annahme einer sphärischen Konfiguration beim Poliomyelitisvirus (P. BONET-MAURY) wäre nach den Untersuchungen von A. TISELIUS und SVEN GARD sowie von SVEN GARD total verfehlt. Dazu kommen Fehlerquellen, welche sich bei der Ermittlung der Inaktivierungskurven und bei ihrer Interpretation nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeitsrechnung geltend machen können. Wer zu eigenem Urteil über die publizierten Ergebnisse kommen will, muß jedenfalls über ein gewisses Ausmaß von mathematischer Schulung verfügen und mit den grundlegenden Arbeiten dieser Richtung vertraut sein; über das ältere und neuere Schrifttum geben die Publikationen von P. JORDAN (1, 2), BONET-MAURY, RIEHL, TIMOFÉEFF-RESOWSKY und K. G. ZIMMER u. a. Auskunft, neben welchen auch das Studium der ersten grundlegenden Arbeiten, speziell der Veröffentlichungen von A. LACASSAGNE und von F. HOLWECK angelegentlich zu empfehlen ist.

Wenn die Beobachtungen von LEA und SALAMAN sowie LEA und K. M. SMITH richtig sind, wäre schon jetzt eine Stellungnahme in folgender Art zulässig. Daß eine einzige Ionisierung eines beliebigen Atoms im Raume eines Moleküls inaktivierend wirkt, würde bedeuten, daß die Vermehrungsfähigkeit an die völlige Intaktheit aller Atome gebunden ist; da man aber chemische Eingriffe an solchen Virusarten vornehmen kann ohne daß die Infektiosität ausgelöscht wird, müßte man zugeben, daß zwar ein mannigfacher Austausch von Atomen gegen andere stattfinden kann, daß aber kein einziges Atom zertrümmert werden darf. Dieser scheinbare Widerspruch wird nicht durch die Hilfsannahme erledigt, daß nicht die Ionisierung eines Atoms als solche inaktiviert, sondern Prozesse, welche sich an diesen Vorgang anschließen bzw. durch ihn ausgelöst werden. Denn es bleibt ja noch als zweites Problem die Angabe übrig, daß das strahlungsempfindliche Material im Vaccineelement nur $\frac{1}{200}$ seines Gesamtvolums beträgt. LEA und SALAMAN stellen sich vor, daß dieses Material keine kompakte Masse bildet, sondern in Form von mehreren hundert genartigen Gebilden, die bei einem Diameter von 3μ als Moleküle aufgefaßt werden können, im Raum eines Vaccinekörperchens verteilt sind. Diese genartigen Gebilde werden den Elementen der molekulardispersen phytopathogenen Virusarten als funktionale Analoga gegenübergestellt. Man sieht jedoch nicht ein, warum bei den molekulardispersen Virusarten ein Molekül mit *intakten Atomen* genügen soll, um Vermehrung und Vererbung der spezifischen Eigenschaften zu ermöglichen, während bei der Vaccine der *intakte Bestand von mehreren hundert Molekülen* als notwendig bezeichnet wird. Daß die supponierten Genmoleküle der Vaccinekörperchen untereinander gleichwertig sind, wäre a priori unwahrscheinlich und die genannten Autoren nehmen auch an, daß sie sich voneinander unterscheiden; um so weniger versteht man aber dann, warum sie in einer Beziehung doch wieder äquiparieren, indem ein Treffer in eines von ihnen die Inaktivierung herbeiführt.

Diese Hinweise auf einige innere Widersprüche mögen genügen, um so mehr

als LEA und SALAMAN ihre experimentellen Untersuchungen nicht als abgeschlossen betrachten. Daß die bis jetzt vorliegenden Ergebnisse der Bestrahlungsversuche keinen Aufschluß über die chemisch-physikalische Grundlage der Vermehrungsfähigkeit bieten, ist klar. So interessant die Unterschiede zwischen großen und molekulardispersen Virusarten, welche bei den Bestrahlungen zutage traten, auch sein mögen, sagt uns doch die Beobachtung, daß die molekulardispersen Formen sich unter denselben Bedingungen vermehren und ihre spezifischen Eigenschaften im Vermehrungsprozeß ebenso wahren wie die offenbar komplizierter gebauten großen Viruselemente. Wie der ganze erforderliche Apparat im Rahmen eines Moleküls verwirklicht sein kann, das ist das zu lösende Problem, dem man sich nicht annähert, wenn man ein solches Gebilde mit *einem* „nackten“ Gen vergleicht und in den großen Virusarten eine Vielheit von verschiedenen Genen, die dasselbe leisten, voraussetzt. Über die Beziehungen zwischen Gen und Viruselement vgl. die Ausführungen auf S. 63 f.

Als wichtige Ergänzung zu diesem Kapitel wäre noch hervorzuheben, daß die Abnahme der Infektiosität während des Bestrahlungsvorganges wie eine monomolekulare Reaktion verläuft (D. E. LEA und K. M. SMITH), was neben anderen Argumenten zugunsten der Annahme geltend gemacht wird, daß der Inaktivierungseffekt auf einem einzelnen Ionisationsvorgang beruht und nicht auf der kumulativen Auswirkung mehrerer besonderer Prozesse. Bemerkenswert ist, daß sich große und molekulardisperse Virusarten wie Vaccine in diesem Punkt nicht unterscheiden (LEA und SALAMAN) und daß andererseits die thermische Inaktivierung dem gleichen Gesetz folgt.

8. Makromolekulare Virusproteine als Träger der Virusfunktionen.

Über allen Diskussionen steht naturgemäß die Frage, ob die hochmolekularen Virusproteine mit den infektiösen und pathogenen Agenzien, die man als „Virus“ bezeichnet, identisch seien oder ob das vermehrungsfähige Agens den schweren Proteinen nur in irgendeiner unbekanntem Form beigemischt ist. Es wurde bereits an anderer Stelle (siehe S. 8) auseinandergesetzt, daß bisher alle Argumente zugunsten der ersten Auffassung sprechen und daß kein wesentlicher Einwand gegen dieselbe erhoben werden kann. Doch gestehen auch die Vorkämpfer der Lehre von den Virusproteinen, wie u. a. W. M. STANLEY (9) und F. C. BAWDEN (2), zu, daß man die andere Möglichkeit ebenfalls in Betracht ziehen könne, nur müsse man sich einerseits die erkenntniskritischen Prämissen und andererseits die Konsequenzen eines solchen Standpunktes überlegen. Erkenntniskritisch liegt die Sache so, daß die Nucleoproteine dieselben Eigenschaften besitzen wie die als „Virus“ geltenden Wirkstoffe. Es sei daher überflüssig, *zwei* Entitäten anzunehmen, wenn *eine* die Untersuchungsergebnisse erklärt. Es kommt auf dasselbe heraus, wenn BAWDEN (l. c., S. 219) den Satz von WILHELM VON OCKHAM (1313) zitiert: „Entia non sunt multiplicanda praeter necessitatem.“ BAWDEN erwägt als zweite Kombination, daß das Virus zwar vom Nucleoprotein verschieden, aber so fest an dasselbe adsorbiert sein könnte, daß eine Dissoziation des Komplexes mit den verfügbaren Methoden undurchführbar ist. In dem einen wie in dem anderen Falle würde sich jedoch das Problem komplizieren, die Virusarten würden wieder so mysteriös werden wie vorher, und man würde überdies nicht verstehen, warum sich die Virusarten in den Pflanzen nicht nur selbst vermehren, sondern auch die Bildung von hochmolekularen und spezifischen Eiweißkörpern, und zwar gerade von Nucleoproteinen in oft ganz enormen Mengen anregen [J. CALDWELL, W. M. STANLEY (1a, 1b) u. a.].

V. PUNTONI (1) veröffentlichte 1941 Versuche, in welchen er Natriumhyposulfit oder Natriumcitrat aus Lösungen auskristallisieren ließ, welche Bakteriophagen ent-

hielten. In den abgeschiedenen Kristallen konnte er große Phagenmengen nachweisen und erwog daher die Möglichkeit, daß die kristallisierten Nucleoproteine, die aus Preßsäften infizierter Pflanzen gewonnen werden, nicht das Virus darstellen, sondern dieses bloß einschließen. Aus dieser Versuchsanordnung kann selbstverständlich überhaupt kein Schluß abgeleitet werden. PUNTONI wußte offenbar nicht, daß A. GRATIA und P. MANIL schon mehrere Jahre vorher (1937) die gleiche Frage in sinnvoller angesetzten Experimenten geprüft hatten, indem sie Tabakmosaikvirus mit Phagen vermischten und ersteres als Nucleoprotein auskristallisieren ließen; die Kristalle bzw. Parakristalle enthielten aktiven Phagen, aber der Titer desselben sank bei wiederholtem Umkristallisieren (siehe W. M. STANLEY, Handbuch, S. 522f.). PUNTONI (2) hat übrigens die Bedeutung seiner Versuche abgeschwächt; sie sollten nur zu der Überlegung anregen, daß die Vitalfunktionen, die bei den mehrzelligen Lebewesen auf einer *intercellularen* und bei den einzelligen auf einer *intermolekularen* Struktur beruhen, auch *intramolekular* begründet sein könnten, wenn es sich um so riesige Moleküle wie jene der Virusproteine handelt. Zu diesem Problem hat jedoch PUNTONI durch seine Kristallisationsversuche keinen Beitrag geliefert.

In manchen Beziehungen erinnern diese Diskussionen an den Streit um die *Natur der Antikörper* und *ihr Verhältnis zu den Eiweißkörpern der Immunsere*. Nachdem das Pendel der Meinungen wiederholt hin- und hergeschwungen hat, ist man jetzt wieder der Ansicht, daß die Antikörper selbst Serumglobuline sind, wenn auch Globuline besonderer Art, wobei sich die experimentelle Beweisführung zum Teil neuer, der Virusforschung entlehnter Methoden (Ultrazentrifuge, Elektrophorese) bediente (J. R. MARRACK, F. HAUROWITZ, E. A. KABAT, TISELIUS und KABAT, L. PAULING u. a.). Im Sinne der Ökonomie des Denkens („*entia non sunt multiplicanda praeter necessitatem*“) wäre die Identifizierung von Antikörper und Serumglobulin die bessere Lösung; ob sie aber den Tatsachen entspricht und sich dauernd behaupten wird, kann auf Grund von Erfahrungen, die man über die diaplazentare Übertragung der Anaphylaxie beim Meerschweinchen gesammelt hat, bezweifelt werden [R. DOERR (8)]. Der Zusammenhang des Antigenreizes mit der Produktion eines spezifischen „Immunglobulins“ und das Wesen dieser Globulinspezifität sind jedenfalls ebensowenig verständlich als wenn man die Existenz eines besonderen Antikörpers annimmt, der an das Serumglobulin nur fest gebunden ist, und das Verständnis des Mechanismus der Antigen-Antikörper-Reaktion ist trotz der kompliziertesten Erklärungsversuche (L. PAULING) nicht über den alten Vergleich mit dem ins Schloß passenden Schlüssel hinausgekommen.

Während der Drucklegung dieses Abschnittes konnte ich noch Einsicht in eine Mitteilung von L. PAULING und D. H. CAMPBELL nehmen, welche die Richtigkeit der vorstehenden Ausführungen zum Teil in Frage stellt. Die genannten Autoren berichten nämlich, daß ihnen die Darstellung spezifischer Antikörper *in vitro* auf überraschend einfache Weise gelungen sei. Sie vermengten γ -Globulin aus Rinderserum — auch andere Globuline oder Albumine gaben positive Resultate — mit Haptenen (hochmolekulare Azofarbstoffe, spezifisches Polysaccharid aus *Pneumococcus III*), erhitzten auf 57—65° C und kühlten langsam ab, oder alkalisierten die Gemenge und stellten allmählich die Neutralität wieder her usw. Der Vorgang wird so erklärt, daß sich die Proteinketten entfalten und an die Haptene anlegen, wobei die spezifische Konfiguration des Antikörpers, der dann durch Präzipitation und Agglutination festgestellt werden kann, entsteht. Über die Reaktion, welche diese Mitteilung ausgelöst hat, bin ich wegen des Ausbleibens der amerikanischen Zeitschriften in Unkenntnis; es hätte daher keinen Sinn, irgendwelche Betrachtungen über die geänderte Situation anzustellen, so lange der Tatbestand nicht beglaubigt ist.

9. Zur kristallinen Struktur der Virusproteine.

Daß es W. M. STANLEY 1935 gelang, aus infizierten Tabak- und Tomatenpflanzen eine kristallinische Substanz zu isolieren, welche die Übertragbarkeit

und die spezifische Pathogenität des hypothetischen Tabakmosaikvirus besaß, war, an seiner wissenschaftlichen Auswirkung gemessen, zweifellos ein Ereignis ersten Ranges. Wie sich die Teilnehmer am Zweiten internationalen Kongreß für Mikrobiologie (London 1936) erinnern werden, bedeutete gerade die kristallinische Form für alle Spezialisten auf dem Gebiete der pathogenen Mikroorganismen eine Überraschung und forderte lebhaften Widerspruch heraus; da aber dieses Teilresultat nicht widerlegt werden konnte, sondern alsbald bestätigt werden mußte (F. C. BAWDEN und PIRIE, 1936), gab es der Virusforschung einen mächtigen Impuls, der auch jetzt noch nicht abgeflaut ist. Die These, daß die aus infizierten Pflanzen gewonnenen schweren Proteine (bzw. Nucleoproteine), obwohl molekulardispers, doch mit dem Virus identisch sind, hätte, unwahrscheinlich wie sie war, schwere Kämpfe zu bestehen gehabt, wenn nicht die Kristallisierbarkeit gegen den naheliegenden Einwand der Unreinheit geltend gemacht worden wäre. In den wenigen seither verflorenen Jahren hat sich jedoch der Standpunkt in mehrfacher Beziehung verschoben.

Auskristallisieren und Umkristallisieren sind nach wie vor brauchbare Methoden, um Substanzen aus ihren Mutterlaugen in gereinigtem Zustande abzuscheiden. Nur weiß man schon seit langer Zeit, daß die Reinheit des Produkts von verschiedenen Faktoren abhängt, namentlich von der Beschaffenheit der in der Mutterlauge vorhandenen Begleitsubstanzen, welche die Kristallisationsgeschwindigkeit reduzieren, die Gestalt der Kristalle ändern und selbst in die Kristallbildung eingehen können (vgl. u. a. H. FREUNDLICH, l. c., S. 459f.); insbesondere gilt dies für hochmolekulare Verbindungen, deren Anwesenheit in den Preßsäften infizierter Pflanzen vorausgesetzt werden darf. Wir verfügen derzeit über andere Verfahren, um die Reinheit der aus Pflanzensäften abgetrennten Nucleoproteine zu prüfen (Verhalten auf der analytischen Ultrazentrifuge und im Elektrophoreseapparat, Elektronenmikroskopie, serologische Spezifität usw.), und können uns durch verschiedene Mittel überzeugen, daß die Abspaltung der Viruswirkung vom Nucleoprotein nicht durchführbar ist; diese Kriterien können auch dann angewendet werden, wenn die Überführung der Virusproteine in den kristallinen Zustand mißlingt. Insofern als bloß die Beurteilung des Reinheitsgrades in Betracht kommt, hat daher die „Kristallisierbarkeit“, ursprünglich der „Schrittmacher“ der ganzen Richtung, nur noch sekundäre Bedeutung.

Aus der Kristallisierbarkeit des Tabakmosaikvirus hat man aber noch einen anderen Schluß gezogen, der uns hier besonders interessiert, daß nämlich diesem Stoff der Charakter eines belebten Agens abgesprochen werden müsse.

Hierzu sei zunächst bemerkt, daß die „Kristallisation“ in der Folge auch bei anderen Virusarten festgestellt werden konnte, und zwar beim Tabakmosaikvirus und seinen Stämmen (Aucubamosaik = Nicotianavirus 1 C, Enationmosaik = Nicotianavirus 1 A, „Masked-symptom strain“ = Nicotianavirus 1 D), bei den Stämmen 3 und 4 des Gurkenmosaiks (= Cucumisvirus 2 und 2 A), beim Nekrosevirus des Tabaks (= Nicotianavirus 11) und beim Bushy-stunt-Virus der Tomaten. Mit Ausnahme des an letzter Stelle genannten Virus, welches Rhombendodekaeder bildet [F. C. BAWDEN und PIRIE (2)], und des in Form von dünnen, rautenförmigen Plättchen auftretenden Nekrosevirus¹⁾ (PIRIE, SMITH,

¹⁾ Das von KENNETH M. SMITH und J. C. BALD beschriebene und benannte Nekrosevirus des Tabaks (Parasitology, 29, 83, 1935), welches im Katalog von F. O. HOLMES als „Nicotianavirus 11“ figuriert, scheint insofern nicht einheitlich zu sein, als F. C. BAWDEN und N. W. PIRIE (4) mehrere infektiöse Nucleoproteine isolieren konnten, welche sich, obzwar sie die gleiche Krankheitsform der Nekrose erzeugten, zum Teil in anderer, speziell in serologischer Beziehung voneinander unterscheiden.

SPOONER und MACCLEMENT) stellen sich die Kristalle aller anderen Virusarten als schlanke, nadel- oder spindelförmige Gebilde dar. Daß die Kristallisationsversuche bei anderen phytopathogenen Virusarten bisher kein eindeutiges Resultat geliefert haben, kann theoretisch oder technisch auf verschiedene Ursachen zurückgeführt werden (geringe Stabilität und damit zusammenhängende Verunreinigung des Ausgangsmaterials mit Stoffen, welche die Ausscheidung von Kristallen hemmen, Unmöglichkeit, hinreichende Quantitäten der Virusproteine zu gewinnen, Fehlen von Kräften, welche den Zusammenschluß der Viruspartikel zu kristallähnlichen Aggregaten bewirken usw.). Vielleicht sind das auch die Gründe, warum noch kein einziges tierpathogenes Virus zur Kristallisation gebracht werden konnte. Es könnten aber auch reelle Differenzen zwischen pflanzen- und tierpathogenen Virusarten im Spiele sein, eine Vermutung, die an Wahrscheinlichkeit gewinnt, wenn man speziell jene tierpathogenen Virusarten ins Auge faßt, die sich auch in anderer Hinsicht durch besondere Eigenschaften auszeichnen, wie etwa das Psittacose- und das Vaccinevirus. Bei der Feststellung *genereller* Unterschiede zwischen phyto- und tierpathogenen Virusarten ist aber jedenfalls Vorsicht geboten. So hat man bis vor kurzem angenommen, daß bei den tierpathogenen Virusarten ausnahmslos alle Anzeichen vermißt werden, welche für eine asymmetrische (stäbchenförmige) Gestalt der Partikel sprechen [siehe F. C. BAWDEN (2, S. 179)], während diese Teilchenform bei den Pflanzenvirusarten recht häufig ist; durch die Untersuchungen von A. TISELIUS und SVEN GARD sowie von SVEN GARD scheint aber der elektronenoptische Beweis erbracht zu sein, daß das Virus der spontanen Encephalomyelitis der Mäuse und das Virus der menschlichen Poliomyelitis langgestreckte dünne Fäden bilden. Übrigens zeigen das Bushy-stunt Virus der Tomaten und das Nekrosevirus des Tabaks keine Strömungsanisotropie, besitzen daher offenbar kugelige Elemente und bilden gleichwohl Kristalle, und zwar sogar „wahre“ Kristalle.

Über den Unterschied zwischen wahren oder echten Kristallen, welche durch eine dreidimensionale Periodizität ihrer Feinstruktur (durch ein Raumgitter) ausgezeichnet sind, und den Parakristallen (auch „flüssige Kristalle“ oder „mesomorphe“ Gebilde genannt), bei welchen sich die Periodizität auf eine oder zwei Dimensionen beschränkt, unterrichtet von einem allgemeineren Standpunkt aus eine Abhandlung von F. RINNE aus dem Jahre 1933 und in spezieller Anwendung auf die phytopathogenen Virusarten eine ausführliche, die ganze Entwicklung dieser Spezialforschung berücksichtigende neuere Darstellung von J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN (2).

J. D. BERNAL, der sich schon früher mit dem Studium flüssiger Kristalle befaßt hatte (siehe u. a. BERNAL und CROWFOOT), stellte 1937 in Gemeinschaft mit FANKUCHEN [BERNAL und FANKUCHEN (1)] fest, daß die zuerst von STANLEY dargestellten und beschriebenen Kristallnadeln des Tabakmosaikvirus dem Be-

Zwei von diesen Stämmen lieferten bei der Flockung mit Ammonsulfat einen amorphen Niederschlag bzw. keine erkennbaren Kristalle, ein dritter kristallisierte in dünnen rautenförmigen Plättchen, ein vierter in hexagonalen Prismen und zwei restliche, die identisch zu sein schienen, gaben aus unbekanntem Gründen verschiedene Kristallformen, unter denen Rhombendodekaeder, Doppelpyramiden, dünne runde Lamellen und Zwillingskristalle vertreten waren. Die Inkonzanz der Kristallform bei einem und demselben, anscheinend reinen Stamm steht in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß Kristallisierbarkeit (zwei- oder dreidimensionale) von der Aktivität (Vermehrungsfähigkeit) der Virusarten, ja bis zu einem gewissen Grade von ihrer chemischen Intaktheit unabhängig ist [W. M. STANLEY, G. SCHRAMM (4) u. v. a.].

griffe von zweidimensionalen Parakristallen entsprechen, und daß dies in gleicher Weise für alle anderen, morphologisch ähnlichen kristallinen Viruspräparate gilt. Den Rhombendodekaedern des Bushy-stunt-Virus und den rhombischen Blättchen des Nekrosevirus des Tabaks wird dagegen die dreidimensionale Regelmäßigkeit des Feinbaues, also der Charakter echter Kristalle zuerkannt. Biologisch haben diese Verhältnisse kaum irgendwelche Bedeutung [vgl. hierzu W. M. STANLEY (6) und F. C. BAWDEN (2, S. 184)], schon aus dem Grunde, weil eben *beide* Arten „eutaktischen“ Feinbaues bei den phytopathogenen Virusarten beobachtet werden, weil es wahrscheinlich ist, daß die zweidimensionale Periodizität sowohl in der Pflanze als auch *in vitro* in die dreidimensionale übergehen kann und umgekehrt [H. P. BEALE, A. G. KAUSCHE (3, 4)], und weil die Kristallisation, sowohl in der zwei- als auch in der dreidimensionalen Form, auch dann erfolgen kann, wenn das Virus inaktiv, d. h. nicht mehr vermehrungsfähig ist. Es handelt sich daher um physikalische Phänomene, welche den Kristallisationen anderer hochmolekularer und nicht vermehrungsfähiger (unbelebter) Substanzen zu vergleichen sind, der tierischen Serumalbumine, des Eialbumins, des Edestins, des Hämoglobins, der Polysaccharide usw.; so wie diese zeigen auch die Kristalle der Virusproteine gewisse Sondermerkmale, vor allem die begrenzte Quellbarkeit durch Wasseraufnahme und die Schrumpfung beim Trocknen (an den Rhombendodekaedern des Bushy-stunt-Virus beobachtet und gemessen von J. D. BERNAL, FANKUCHEN und RILEY).

Andererseits ist die kristallinische Struktur keineswegs unvereinbar mit vitalen Eigenschaften und Funktionen, wie dies mehrere Analogien beweisen. Eines der bekanntesten Beispiele für „Bioparakristalle“ sind die Muskelfasern, welche im lebenden (wie übrigens auch im getrockneten) Zustande bei der Durchleuchtung mit X-Strahlen DEBYE-SCHERERSche Diagramme geben (G. BOEHM und K. F. SCHOTZKY); die Träger der Kontraktilität sind die langgestreckten Fadenmoleküle des Myosins, eines globulinartigen, stark doppeltbrechenden Eiweißkörpers, die in geeigneter Versuchsanordnung dieselben Röntgendiagramme liefern wie die Muskeln selbst (MURALT und EDSALL, G. BOEHM, H. H. WEBER, G. BOEHM und R. SIGNER). Schon in 0,3%iger Lösung zeigt das Myosin die (von H. FREUNDLICH so genannte) *Thixotropie*, d. h. die Fähigkeit, bei längerem Stehen zu einem Gel zu erstarren, das durch einfaches Schütteln wieder in ein Sol verwandelt werden kann (v. MURALT und EDSALL). Beim Stehen ordnen sich nämlich die fadenförmigen Teilchen parallel zueinander und bilden, nur durch schwache Kräfte in dieser Lage fixiert, ein orientiertes (gerichtetes) Gel; das Schütteln zerstört diese regelmäßige Anordnung, indem es die Fadenmoleküle durcheinanderwirft, und verflüssigt so die Gallerte. In analoger Weise lagern sich auch die langgestreckten und dünnen Partikel phytopathogener Virusproteine, speziell des Virusproteins des Tabakmosaiks, parallel zueinander, nur daß hierzu höhere Konzentrationen erforderlich sind als beim Myosin. Läßt man die Konzentration sukzessive anwachsen, so beobachtet man kontinuierliche Übergänge vom strukturlosen zur strukturierten Sol und von diesem wieder unter entsprechender Erhöhung der Viskosität zum strukturierten Gel [BERNAL und FANKUCHEN (1, 2), V. L. FRAMPTON u. a.]. Die Untersuchung höherer Konzentrate des Tabakmosaikproteins mit Röntgenstrahlen lehrt, daß die Partikel nicht nur parallel sind, sondern gleich weit voneinander abstehen, so daß solche Lösungen, falls noch der Charakter des Sols vorherrscht, „flüssige Kristalle“ mit äußerst regelmäßiger hexagonaler Packung der Partikel im Querschnitt repräsentieren. Erreicht oder übersteigt die Konzentration des Virusproteins 30%, so treten unter besonderen Bedingungen (isoelektrischer Punkt, hohe Salzkonzentration) die von STANLEY zuerst dargestellten Kristallnadeln auf, welche dieselbe Struktur

besitzen, nur daß sie schon die Eigenschaften eines Gels haben und sich als spindelförmige, selbständige Gebilde („Tactoide“) absondern. Bestehen sonach zwischen dem Myosin und den kristallinen Virusproteinen mehrfache und beachtenswerte Beziehungen, so gilt dies in erhöhtem Ausmaß für ein anderes biologisches Pendant, nämlich für die Köpfe der Spermatozoen, deren Substanz die Eigenschaften hat, welche die parakristalline Struktur beweisen, und aus Nucleoproteinen, wahrscheinlich in Form von Fadenmolekülen bestehen [Literatur bei RINNE (1, 2) und W. J. SCHMIDT].

B. Kristalle, infektiöse Einheiten und Elementarkörperchen.

Die zwei- und dreidimensionalen Kristalle der phytopathogenen Virusarten sind nicht die infektiösen Einheiten, sondern Aggregate derselben, welche sich durch ihren gesetzmäßigen Aufbau auszeichnen. Für die infektiösen Einheiten wurde, als sich die Virusforschung noch im ersten Stadium ihrer Entwicklung befand, die Bezeichnung „Elementarkörperchen“ eingeführt, und zwar auf Grund mikroskopischer Befunde bei der Variolavaccine, den Geflügelpocken, dem Molluscum contagiosum und einigen anderen Virusinfektionen, bei welchen die Mittel der Lichtoptik für die Erfassung solcher Gebilde noch ausreichten. Seiner Herkunft nach ein morphologischer Begriff, sollte der Ausdruck „Elementarkörperchen“ eine distinkte, in sich abgeschlossene und ohne Verlust ihrer Infektiosität nicht weiter teilbare Form bedeuten, etwa einem Monococcus vergleichbar. Es wurde aber bereits auseinandergesetzt (siehe S. 14), daß manche Autoren die Stäbchen des Tabakmosaikvirus, wenn sie eine Länge von $300\text{ m}\mu$ haben, als dimere Assoziante auffassen, also um wieder eine bakteriologische Analogie heranzuziehen, als einen Diplobacillus, dessen beide Glieder nicht sichtbar gegeneinander abgesetzt sind. Das wäre der einfachste Fall, in welchem sich die morphologische Einheit nicht mit der infektiösen deckt; die Viruskristalle und andere Aggregate würden das Extrem von Dissoziation der beiden Einheiten repräsentieren. Dem Bakteriologen ist es auch wohl vertraut, daß für manche Bakterienspezies ein bestimmter Verband von Individuen charakteristisch ist, d. h. daß sie in Verbänden auftreten, welche sich aus der gleichen Zahl von Einheiten zusammensetzen, wie z. B. die Sarcinen. Übertragen wir diese Verhältnisse auf das Gebiet der Virusarten, so wird es uns nicht befremden, daß Elementarkörperchen und infektiöse Einheiten nicht identisch zu sein brauchen, sondern daß das, was sich elektronenoptisch oder auf der Ultrazentrifuge als korpuskulare Einheit darstellt, ohne Verlust der Aktivität (Infektiosität) teilbar ist.

Bei den zwei- und dreidimensionalen Kristallen der Virusproteine sind diese Dinge vollkommen klar. Die Polyeder der Raupenkrankheiten fallen ebenfalls durch ihre kristallähnliche Form auf, und E. HEIDENREICH konnte zeigen, daß es sich um Eiweißkristalloide handelt, welche die eigentlichen Virussubstanzen einschließen. In der Tat fanden G. BERGOLD und SCHRAMM, daß man aus den Polyedern der Nonne eine Proteinsubstanz gewinnen kann, welche aus einheitlichen, sehr kleinen Elementen besteht und noch in der Menge von $2,5 \times 10^{-15}\text{ g}$ für eine Raupe infektiös ist. Die Größe der Elemente wird von den Autoren sehr niedrig eingeschätzt; der „Molekulardurchmesser“ soll $8\text{--}10\text{ m}\mu$, das „Molekulargewicht“ zirka $200\,000\text{--}300\,000$ betragen. Daß die Polyeder nicht die infektiösen Einheiten repräsentieren, erscheint verständlich; auffallend ist nur die minimale Dimension der infektiösen Einheiten, welche unter die Ausmaße des Staphylokokkenphagen von NORTHPROP hinuntergeht. G. SCHRAMM stellt weitere Untersuchungen in Aussicht, um den Sachverhalt sicherzustellen.

In einem anderen Fall (Myxomatose des Kaninchens) wurde das „Molekular-

gewicht“ der Elementarkörperchen auf 2,3 Milliarden geschätzt; auf chemischem Wege wurde aber eine Proteinfraction von G. SCHRAMM (3) isoliert, die in sehr geringer Dosis (7×10^{-16} g) infektiös war, so daß für die infektiöse Einheit ein Molekulargewicht von 420 Millionen errechnet werden konnte. Auch hier sind wohl die Ergebnisse von Nachprüfungen abzuwarten. Anundfürsich gibt eine Differenz zwischen korpuskularer und infektiöser Einheit, wie auseinandergesetzt wurde, keinen Anlaß, grundsätzliche Änderungen an den jetzt geltenden Vorstellungen vorzunehmen.

IV. Das infektiöse (vermehrungsfähige) Virusmolekül als biologische Einheit.

1. Virusmoleküle als Endglieder einer kontinuierlichen Reihe.

Überblickt man die im dritten Abschnitt diskutierten neueren Forschungsergebnisse, so erkennt man unschwer, daß die Experimente, welche die Natur der Virusarten zu ergründen suchten, von dem Bestreben beherrscht waren, die *Idee des infektiösen, d. h. in einem Wirtsorganismus vermehrungsfähigen Moleküls* auf eine wissenschaftliche Grundlage zu stellen. Eingeengt und gleichzeitig motiviert wurde diese Fragestellung 1. durch die Erkenntnis, daß die Moleküle, um welche es sich handelte, aus *Nucleoproteinen* bestanden, aus Substanzen, die als Träger der Lebensfunktionen von Zellen längst bekannt waren: 2. durch die *Existenz einer unteren Grenze der Partikelgröße*. Nach den vorliegenden mit verschiedenen Methoden ausgeführten Messungen unterschreitet der Durchmesser kugelliger Viruselemente nicht den Wert von $10 \pm 2 \mu$ und die Breite der stäbchenförmigen Viruspartikel scheint ebenfalls nicht unter diese Minimaldimension abzusinken. Nur über die Größe von Bakteriophagen wurden abweichende Angaben gemacht, und zwar noch in den letzten Jahren, wo die Technik solcher Bestimmungen schon hinreichend vervollkommen war. Nach D. M. HETLER und BRONFENBRENNER, KALMANSON und BRONFENBRENNER (siehe auch BRONFENBRENNER und KALMANSON), A. P. KRUEGER und H. T. TAMADA sowie H. BLOCH soll es aktive Phagenteilchen von weit kleinerem Durchmesser (2,4 bis 1,1 bis 0,6 μ) geben. Diese, übrigens nicht allseits anerkannte (W. J. ELFORD, ELFORD und ANDREWES) Ausnahme kann aber zunächst unberücksichtigt bleiben, da die Bakteriophagen in der Problematik der Virusforschung zweifellos eine Sonderstellung einnehmen; gerade im wichtigsten Punkte, nämlich über den Vermehrungsmechanismus kann man von den Bakteriophagen keine über ihren Spezialfall hinausgehende Aufklärung erwarten (vgl. hierzu die Ausführungen auf S. 22 und die Abhandlung von H. BLOCH über „Die Beziehungen der Bakteriophagen zu den Virusarten“); 3. durch die Erwägung, daß das infektiöse Molekül keineswegs nur in *dimensionaler* Beziehung den unteren Grenzwert einer Reihe bildet, sondern auch insofern, *als es den einfachsten chemisch-physikalischen Inhalt parasitierender Individualexistenzen darstellt*. Es ist tatsächlich nicht möglich, an irgendeinem Punkt dieser Reihe eine Trennungslinie zu ziehen, welche zwei durchaus verschiedene Reiche voneinander scheidet. LOTHAR GEITLER (1) spricht von einer Kluft zwischen kernführenden Organismen und kernlosen Protisten, die grundsätzlich anderer Art sei als die zwischen diesen und einem Virus. GEITLER anerkennt aber selbst, daß zwischen kernlosen und kernführenden Protisten zahlreiche Gemeinsamkeiten bestehen, und daß man daher nicht berechtigt sei, „etwa von zwei Organismenreichen zu sprechen“; vielmehr bestehe „aller Grund zu der Annahme, daß uns in den kernlosen Protisten Reste der Vorfahren der kernführenden entgegneten“. Insbesondere hat der Kernmangel

nicht den Charakter eines absoluten Kriteriums, da er durch den Chromidialapparat der Cyanophyceen (A. GUILLIERMOND) und durch die Existenz der Nucleoide der Bakterien (G. PIEKARSKI) überbrückt wird, Gebilde, die nicht nur morphologisch, sondern chemisch-funktionell durch ihren Aufbau aus Thymonucleinsäure den echten Zellkernen nahestehen. Andererseits existiert ein Sprung zwischen kernlosen Protisten und Virusarten nur dann, wenn man die Bakterien den phytopathogenen Virusarten gegenüberstellt und die Tatsache vernachlässigt, daß sich zwischen beide Übergangsformen einschalten. Da tritt eben wieder der prinzipielle Fehler zutage, die als „Virus“ qualifizierten Agenzien als eine einheitliche biologische Gruppe hinzustellen. Das Virus der Psittacose und das Vaccinevirus stehen nicht auf gleicher Stufe wie die phytopathogenen Virusarten, weder morphologisch noch in Beziehung auf ihren Bau oder hinsichtlich ihrer fermentativen Leistungen (siehe S. 6). Es ist noch keine zehn Jahre her, seit englische Autoren (H. DALE, F. M. BURNET und C. H. ANDREWES, J. E. BARNARD) die Ansicht vertraten, daß alle Virusarten zu den Bakterien gehören und BARNARD bezeichnete die Virusforschung geradezu als eine „Bakteriologie ohne Mikroskop“. Damals konzentrierte sich das Interesse auf die tierpathogenen Virusformen. Erst später traten die phytopathogenen Virusarten in den Vordergrund und mit zunehmender Kenntnis dieses Gebietes wurde es klar, daß die Zuteilung der Virusgruppe zu den Bakterien nicht richtig sein könne. Die Vorstellung, daß die Virusarten Beziehungen zu den Bakterien oder — richtiger und allgemeiner ausgedrückt — zu den kernlosen Protisten besitzen dürften, war aber dadurch nicht erledigt, und wir wollen nun untersuchen, was sich hierüber im gegenwärtigen Zeitpunkt sagen läßt.

Daß die Frage, ob die Virusarten belebt oder unbelebt seien, überhaupt aufgeworfen werden konnte, betrachtet LOTHAR GEITLER als Beweis, daß es sich nicht um Organismen im gewöhnlichen Sinne handeln könne. Dieser Satz, der auch von früheren Autoren wiederholt in ähnlicher Fassung ausgesprochen wurde [siehe u. a. R. DOERR (3)], wird von GEITLER in dem Sinne kommentiert, daß zwischen einem Virus und einem kernlosen Protisten eine Differenz von besonderer Art vorhanden sein müsse, die zwischen Organismen von verschiedener Organisationsstufe nicht bestehe. GEITLER beruft sich hierbei auf CASPERSSON, der diese Auffassung von der chemischen Seite her gestützt habe.

TORNBJÖRN CASPERSSON macht in der Tat einen Unterschied zwischen einem einfachen Pflanzenvirus und Bakterien- oder Hefezellen. Nach seiner Theorie besteht das einfachste Virus aus einem einheitlichen Eiweißkörper und enthält Ribosenucleotide. Bakterien und Hefen enthalten dagegen eine größere Anzahl von Elementen, zu deren Vermehrung Desoxyribosenucleinsäure erforderlich ist, und sollen im Gegensatz zum parasitisch lebenden Virus „einen eigenen Stoffwechsel mit einem Zellplasma als Unterlage desselben“ haben. In den höheren Zellen wird ein ähnlicher Mechanismus wie bei den kernlosen Protisten angenommen, nur daß hier Ribose- und Desoxyribosenucleotide in die Chromosomen einbezogen sind und dort in ihrer Art funktionieren. CASPERSSON betrachtet das einfache Pflanzenvirus, die Hefe- oder Bakterienzelle und die höher organisierten Zellen als „drei Stufen“ und betont noch überdies ausdrücklich, daß es ihm hauptsächlich darum zu tun war, zu zeigen, daß es prinzipiell möglich ist, „dieselben Anschauungen wie auf die höhere Zelle auf einfachere Systeme anzuwenden“. Eine grundsätzliche Abtrennung der Viruselemente von den Organismen war also nicht beabsichtigt, sondern vielmehr die Unterordnung unter ein gemeinsames Schema. Es ist ferner zu beachten, daß CASPERSSON nicht alle Virusarten in seine Betrachtungen einbezieht, sondern nur vom „einfachsten Virus“ oder vom „einfachen Pflanzenvirus“ spricht. Daß die Elemente solcher Virusarten

kein Zellplasma besitzen, ist allerdings richtig, daß sie aber keinen „eigenen Stoffwechsel“ haben, ist eine unbewiesene und überdies unbestimmte Aussage; die Feststellung, daß Wachstum und Vermehrung nur im Inneren von Wirtszellen beobachtet wurden, gibt keinen Aufschluß, welchen Anteil Virus und Wirtszelle an diesen Vorgängen nehmen [R. DOERR (3, 4)].

2. Die großen Virusarten (Vaccine- und Psittacosevirus).

Wie steht es nun mit den höheren oder — unpräjudizierlich gesprochen — mit den größeren Virusarten? Ein bevorzugtes Objekt derartiger Untersuchungen waren bis in die neueste Zeit die Elementarkörperchen des Vaccinevirus, wohl weil sie leicht zu beschaffen sind und in technischer Hinsicht manche Vorteile bieten. In dem hier erörterten Zusammenhang sind die Ergebnisse chemisch-physikalischer und morphologischer (licht- oder elektronenoptischer) Studien hervorzuheben. Auf Grund chemisch-physikalischer Methoden kamen A. S. MCFARLANE und seine Mitarbeiter (siehe A. S. MCFARLANE und M. G. MACFARLANE, sowie A. S. MCFARLANE, M. G. MACFARLANE, AMIES und EAGLES) zu dem Schluß, daß zwar viel Wasser an das Virus gebunden ist, daß dasselbe aber nicht in Form einer Hydratation des Partikelinhaltes, sondern als eine ionisierte, für Rohrzucker und Ovalbumin undurchlässige Atmosphäre vorhanden sei. Daß die Viruspartikel von einer semipermeablen Membran begrenzt sind, wird von den genannten Autoren als unwahrscheinlich abgelehnt; Anhaltspunkte für eine selektive Osmose bestimmter Ionen konnten nicht gewonnen werden und die Resistenz gegen Eintrocknen sowie gegen die Extraktion mit Äther oder Benzol lasse sich mit der Vorstellung einer Zellmembran, die ein flüssiges Cytoplasma umgibt, nicht vereinen. MCFARLANE und seine Mitarbeiter nahmen daher an, daß die Partikel eine starre oder halbstarre Struktur besitzen dürften und daß sie vermutlich Riesenmoleküle darstellen, deren Bausteine aus serologisch spezifischem Proteïn bestehen und durch Nucleïnsäuren und Lipide zusammengekittet sind. Es wird also, was übrigens die Autoren selbst unterstreichen, eine Gleichschaltung mit den phytopathogenen Virusarten angestrebt; daß der chemische Bau des Vaccinevirus komplizierter ist, sei kein prinzipielles Hindernis. In weiterer Verallgemeinerung dieses Gedankenganges würde man dazu gelangen, alle Virusarten als parasitische Riesenmoleküle aufzufassen und das Bindeglied wäre das Fehlen einer begrenzenden Membran im Vereine mit der geringen Hydratation der Partikelsubstanz, welche einem Vergleich mit dem gelartigen Cytoplasma tierischer Zellen im Wege steht.

Die Richtigkeit der von MCFARLANE und seinen Mitarbeitern geäußerten Ansichten ist jedoch durch neuere Untersuchungen in Frage gestellt worden. H. RUSKA (1—3) fand zunächst, daß die Elementarkörperchen der Vaccine im elektronenoptischen Präparat die Gestalt von Würfeln mit abgerundeten Ecken und Kanten zeigen, was nach H. RUSKA auf das Vorhandensein einer „inneren Ordnung“ hindeutet. Ferner glaubt RUSKA aus dieser an Pflastersteine oder Spielwürfel erinnernden äußeren Form schließen zu dürfen, daß die Substanz nicht „mehr oder weniger flüssig“, d. h. dem Cytoplasma tierischer Zellen ähnlich sein könne, weil man sonst eine sphärische Konfiguration erwarten würde; im gleichen Sinne wird die Beobachtung verwertet, daß Fragmente, welche man durch Beschallung erhält, eine bestimmte Form bewahren. R. H. GREEN, T. F. ANDERSON und J. E. SMADEL konnten die von H. RUSKA vermutete Innenstruktur im Elektronenmikroskop nachweisen und halten die Existenz einer Art von Grenzmembran für gesichert, ein Umstand, der die monomolekulare Beschaffenheit dieser Viruspartikel ausschließen würde; gegen diese Vorstellung sprechen übrigens auch andere Tatsachen, wie der Nachweis von Lipoiden, von

verschiedenartigen Fermenten, von mehreren Antigenen, die von J. E. SMADEL, PICKELS und SHEDLOVSKY konstatierte Reaktivität auf osmotische Einflüsse. Dazu gesellten sich schließlich die Angaben von D. E. LEA und M. H. SALAMAN, denen zufolge sich aus der Inaktivierung des Vaccinevirus durch ionisierende Strahlen die Folgerung ableiten läßt, daß diese Elemente aus „Genen“ und genetisch belanglosem Material aufgebaut sind und eine von den phytopathogenen (molekulardispersen) Virusarten fundamental abweichende höhere Struktur besitzen dürften (siehe hierzu S. 6).

Erkenntnistheoretisch ist der Standpunkt, wie ihn MCFARLANE und mit ihm zahlreiche Spezialisten auf dem Gebiete der Virusforschung vertreten, zweifellos interessant. Denn er charakterisiert folgenden widerspruchsvollen Wandel der Anschauungen: *Während man ursprünglich, von den pathogenen Bakterien und Protozoën ausgehend, die Lehre, daß jedes infektiöse Agens ein Elementarorganismus sein müsse, aufrechtzuerhalten suchte bis in jenen Bereich, wo sie durch die Dimensionen der Keime unwahrscheinlich oder unmöglich wird, geht man jetzt den umgekehrten Weg; das molekulardispers Pflanzenvirus wird zum Ausgangspunkt gewählt und die Idee, daß ein infektiöser Keim physikalisch-chemisch einem Molekül gleichwertig sein kann, nach aufwärts verfolgt durch die ganze Größenskala der Virusdimensionen hindurch bis in das Gebiet von lichtoptisch bereits gut erfaßbaren Elementen.*

Bei der Unsicherheit der Situation, wie sie für das Vaccinevirus besteht, liegt es nahe, die Verhältnisse bei einer anderen, auf etwa gleicher Größenstufe rangierenden Virusart zu überprüfen. In besonderem Ausmaße eignet sich hierzu der Erreger der Psittacose, der heute allgemein als Virus anerkannt ist. Daß dieser Keim von einem seiner Entdecker (W. LEVINTHAL) als „Microbacterium multifforme psittacosis“ bezeichnet, von einem anderen (R. D. LILLIE) als Rickettsie angesprochen wurde, zeigt, daß die im Lichtmikroskop sichtbaren Gebilde jedenfalls für Mikroorganismen gehalten wurden; davon war auch ich überzeugt, als mir LEVINTHAL im National Institute for medical research in London seine mit vollendeter Technik hergestellten Präparate aus dem Blute infizierter Vögel demonstrierte. Die Deutung dieser Formen als Riesenmoleküle wäre damals als absurd zurückgewiesen worden und sie ist es auch noch heute. Nicht nur die Größe der Elemente — der Durchmesser wird mit $0,2-0,3 \mu$ oder mehr angegeben — wäre mit einer solchen Auffassung unvereinbar, sondern auch der schon von W. LEVINTHAL beobachtete und später von S. P. BEDSON und BLAND, J. O. W. BLAND und CANTI u. a. bestätigte hochgradige Pleomorphismus. Schon die Größe der Viruspartikel variiert im gleichen Präparat erheblich und neben den vorherrschenden runden („kokkoiden“) Formen findet man auch bipolar gefärbte Stäbchen und ausgesprochene Ringformen, die ich selbst in LEVINTHALS Präparaten feststellen konnte. Die Figuren 1 und 2 der farbigen Tafel I in der Publikation von BEDSON und BLAND (Brit. J. exper. Path. 13, 464) illustrieren diese Verhältnisse und zeigen (in Figur 1) auch Teilungsformen, welche durchaus den eindeutigen Bildern entsprechen, wie man sie bei Gono- und Meningokokken oder bei in Vermehrung begriffenen Streptokokken kennt.

Es sind also nicht jene Lagebeziehungen gemeint, welche man so häufig als „Teilungsformen“ beschreibt, wie z. B. die Gruppierung kugelliger Elemente in Diploform oder in Gestalt von kurzen Ketten oder die sog. Hantelformen, die entstehen, wenn längliche oder länglich-runde Partikel mit ihren Enden aneinanderstoßen. R. DOERR (4, S. 43) hat gegen die voreingenommene Deutung solcher Bilder, die man bei den verschiedensten Partikeln (Malariapigment, Silberkörnchen bei Argyrie usw.) beobachten kann, Einsprache erhoben, und neuerdings hat auch R. GÖNNERT diesen Standpunkt vertreten und gezeigt, daß „Diploformen“ und

„Aneinanderreihungen in Ketten“ auch dann auftreten, wenn man kleine Schrottkügelchen möglichst gleichmäßig auf wasserbedeckte Glasplatten aufstreut. Doch muß man im Auge behalten, daß erstens die erwähnten Lagebeziehungen durch Teilung der Elemente entstehen *können*, und daß eben nur die Gewißheit fehlt, daß sie in einem bestimmten Falle, z. B. bei den Elementarkörperchen der Virusarten, auf diese Weise zustande gekommen sind; zweitens daß die eindeutigeren Bilder, wie sie bei den Gonokokken, Streptokokken usw. beobachtet werden, fehlen können, obwohl sich die Elemente durch Zweiteilung vermehren, wie das beispielsweise bei den Staphylokokken der Fall ist, wo offenbar der ganze Prozeß von der Teilung des Mutterkokkus bis zur völligen Abtrennung und Abrundung der Tochterkokken sehr rasch durchlaufen wird. Würden sich die Staphylokokken nicht auf unbelebten Medien vermehren, so wäre man auf das mikroskopische Präparat aus infizierten Geweben angewiesen und die Vermehrung durch Zweiteilung bliebe ungewiß. Wenn somit H. RUSKA (3) angibt, daß er elektronenoptisch in Präparaten von kugeligen bzw. quaderförmigen Virusarten keine Elementarkörper gefunden habe, welche *mit Sicherheit* als in Teilung begriffene Viruspartikel angesehen werden durften, so läßt dies — auch wenn man von durch die Technik bedingten Veränderungen (siehe S. 14) absieht — keinen Schluß zu; nur ist hierfür ein ganz anderer Grund maßgebend als für die Ablehnung der *zweifelhaften* Teilungsformen, welche K. HERZBERG bei den größeren Virusarten lichtoptisch festgestellt und in ungenügend gesicherter Anlehnung an bakteriologische Objekte als morphologische Beweise für einen identischen Vermehrungsmechanismus bewertet hat.

BEDSON und BLAND sowie BLAND und CANTI vertraten auf Grund ihrer Befunde in der Milz infizierter Mäuse und in Gewebekulturen die Auffassung, daß das Psittacosevirus einen Entwicklungszyklus durchmacht. Diese prinzipiell wichtige Behauptung wurde jedoch bezweifelt, von R. DOERR (3) auf Grund theoretischer Erwägungen, von J. FORTNER und R. PFAFFENBERG, weil eine Nachprüfung des Verhaltens in Gewebekulturen zu negativen Ergebnissen führte. Seither ist es um die Morphologie des Psittacosevirus still geworden. Im Handbuch der Viruskrankheiten erwähnt E. HAAGEN nur den Pleomorphismus und die beigegebene Abbildung (Vergr. 2000mal) läßt bloß kugelige Elemente von gleicher Gestalt und Größe erkennen. Elektronenoptische Aufnahmen existieren meines Wissens überhaupt nicht, obzwar gerade hier ein Vergleich der lichtoptischen mit den elektronenoptischen Bildern möglich und für die Feststellung von durch die elektronenoptische Technik bedingten Artefakten zweckmäßig wäre. Das elektronenoptische Verfahren hat sich, soweit es in den Dienst der Virusforschung gestellt wurde, bisher mehr auf die Darstellung kleinster, lichtoptisch nicht mehr faßbarer Elemente konzentriert; es wäre nun an der Zeit, sich mehr auf die großen Formen zu verlegen in der Hoffnung, Bindeglieder zu höheren infektiösen Keimen aufzufinden.

3. Die dimensionale Virusskala in biologischer Beleuchtung.

R. DOERR (2) konstatierte 1936, daß die Ordnung der Virusarten nach fallenden Partikelgrößen nicht das Bild des allmählichen Überganges zelliger Organismen in Zustandsformen ergibt, welche unseren Vorstellungen von lebenden Wesen nicht mehr entsprechen, und zog daraus die Konsequenz, daß man Verallgemeinerungen, welche über die Beweiskraft der *von jeder einzelnen Virusart* bekannten Tatsachen hinausgehen, entschieden ablehnen müsse. „Wenn sich in den letzten Jahren die Überzeugung verdichtet hat, daß die Erreger der Psittacose und der Variolavaccine pathogene Mikroorganismen sind, so folgt daraus keineswegs, daß diese Aussage in gleicher Weise für die Bakteriophagen und für das Mosaikvirus des Tabaks gilt.“ DOERR betrachtete diesen Standpunkt als praktischen Ausdruck des Grundsatzes, daß „die Bezeichnung Virus ein auf methodologischer Basis entstandener Sammelname für biologisch heterogene übertragbare Agenzien

ist“ (vgl. S. 7). Es ist wohl auch heute noch angezeigt, sich an diese Richtlinien zu halten; so müßte beispielsweise alles, was über die Beschaffenheit der Oberfläche der Vaccinekörperchen festgestellt ist oder vermutet wird, beim Psittacosevirus erneut untersucht werden. Aber die seither erzielten Forschungsergebnisse haben die uneingeschränkte Gültigkeit des ersten Satzes, der jede Vereinfachung des Baues im Zusammenhang mit der abnehmenden Partikelgröße leugnet, erschüttert. Erstens wissen wir nunmehr, daß oben an der Reihe das Psittacosevirus als eine der größten Formen steht und daß in diesem wie auch in einigen analogen Fällen (Lymphogranuloma inguinale, Bronchopneumovirus von R. GÖNNERT) eine wesentlich höhere Organisationsstufe angenommen werden muß als bei den makromolekularen phytopathogenen Virusarten, aus morphologischen nicht minder wie aus biochemischen Gründen; Lipoidgehalt und Fermenthaushalt scheidet das Vaccinevirus von den bisher untersuchten Pflanzenvirusarten und auch hier besteht eine erhebliche dimensionale (volumetrische) Differenz; und schließlich wurden die Kenntnisse über Keime außerordentlich erweitert und vertieft, welche dimensional auf der Stufe der großen und größten Virusformen stehen, die auch manche biologische Eigenschaften besitzen, welche man bei allgemein anerkannten Virusarten findet, die aber morphologisch sowie durch ihre Wachstumsbedingungen doch so stark vom durchschnittlichen Typus eines Virus abweichen, daß man sie nicht mehr in die gleiche Kategorie einreihen will: die Rickettsien, die Erreger der Pleuropneumonie der Rinder und der Agalaktie der Ziegen, die Bartonellen, die sog. L-Kulturen und die aus Abfallstoffen isolierten „saprophytischen Virusarten“.

Selbstverständlich sind diese Ausführungen nicht so aufzufassen, als ob zwischen abnehmender Dimension und Vereinfachung des Baues ein durchgängiger Parallelismus bestünde. Der Partikeldurchmesser schwankt bei den verschiedenen Bakteriophagenarten zwischen 80—120 und 8—12 $m\mu$ [siehe die Zusammenstellung von H. BLOCH (3); vgl. auch S. 46], obwohl es sich hier um eine biologisch homogene Gruppe handelt; solche Differenzen sind nicht anders zu bewerten wie beispielsweise die Größenunterschiede der Bakterien. Es sind vielmehr Beziehungen anderer Art, auf welche hingewiesen werden sollte, nämlich:

1. Daß an der oberen dimensional Virusgrenze verschiedene Lebensformen existieren, die Verbindungen mit den kernlosen Protisten einerseits und mit den allgemein als solche anerkannten Virusarten andererseits besitzen, indem sie Eigenschaften beider Gruppen in verschiedenen Kombinationen in sich vereinen.

2. Daß es innerhalb der anerkannten Virusarten verschiedene Organisationsstufen gibt.

3. Daß gegen das untere Ende der dimensional Skala zu jene Virusarten auftreten, bei welchen die Vorstellung des infektiösen Moleküls auf weitgehend gesicherter Basis ruht.

Man erhält den Eindruck stehengebliebener Reste eines Prozesses, der nicht linear in Form einer Kette, sondern in mehrfachen Verzweigungen verlaufen ist, wobei jedoch eine stetige Tendenz zur Verkleinerung und Vereinfachung maßgebend war. Die Vereinfachung betrifft alle Teile der typischen Zelle: den Kern mit seinen Chromosomen, das Cytoplasma und die Grenzschichten (Membranen) der Einzelindividuen gegen die Umwelt. Untersuchungstechnisch sind dies *morphologische* Veränderungen, die sich licht- oder elektronenoptisch erfassen lassen; was ihnen in *funktionaler* Hinsicht entspricht, ist ungleich schwieriger oder mit den vorhandenen Mitteln überhaupt nicht bestimmbar. Proteine und Nucleinsäuren bleiben aber bis zu den niedrigsten Formen, den molekular-dispersen phytopathogenen Virusarten erhalten; sie sind die ruhenden biochemi-

schen Pole im Wirbel der Entdifferenzierung. Es sind dies die gleichen Tatsachen und zum Teil auch die gleichen Erwägungen, welche H. RUSKA (3) seinem „System der Virusarten“ zugrundegelegt hat; im Grunde genommen werden einfachere und kompliziertere Virusformen, virusähnliche Organismen, Bakterien und Protozoen in eine dimensional und morphologisch aufsteigende, Folge eingeordnet, und was sich auf die Unterteilung der eigentlichen Virusgruppe bezieht, kann in Anbetracht der vom Autor selbst betonten Lückenhaftigkeit und Unsicherheit der Daten nicht den Anspruch auf den Charakter eines Systems erheben, zumal es ja durchaus nicht gewiß ist, daß das Objekt, nämlich der Virusbegriff, jenen Grad von Einheitlichkeit besitzt, welcher eine systematische Gliederung rechtfertigen würde.

Wie eben erwähnt, ordnet H. RUSKA die von ihm klassifizierten Gebilde in eine aufsteigende Reihe. Es ist aber fraglich, ob der umgekehrte Weg nicht aussichtsreicher ist. Man wird da wohl L. GEITLER zustimmen, der in seinem ausgezeichneten Referat über den Kern- und Chromosomenbau bei Protisten schreibt: „Wie immer, ist es auch bei der allgemein vergleichenden Betrachtung der Zellorganisation methodisch vorteilhaft, von den am besten bekannten Fällen auszugehen; wir werden also die Betrachtung nicht mit den sog. kernlosen Organismen beginnen lassen, sondern mit jenen, welche wesentliche Übereinstimmung mit den gut bekannten höheren Organismen zeigen.“ Das Thema, das GEITLER behandelt, steht im engsten Konnex zu den hier erörterten Problemen, und so erscheint es wohl zweckmäßiger, nicht die Entwicklung des infektiösen Moleküls zum pathogenen Bacterium oder Protozoon als Vorwurf zu wählen, sondern den Abbau der höheren Lebensformen, die noch alle Kriterien von Organismen zeigen, zur Primitivität des makromolekularen Nucleoproteins. Vielleicht ist dies auch der Weg, den die Natur gegangen ist (siehe S. 71); und wenn sich das so verhielte, könnte die gedankliche Umkehrung auf falsche Fährten leiten.

Man muß sich aber des Zieles bewußt sein, auf welches man lossteuert, wenn man eine durch den Parasitismus bedingte Rückbildung annimmt, welche schließlich beim infektiösen Makromolekül landet. Besteht eine phylogenetische Kontinuität, so müßte auch das biologische Verhalten dieser letzten Phase, das ja in so vielen Beziehungen an die Eigenschaften höher organisierter Infektionskeime erinnert, auf dem gleichen funktionellen Prinzip beruhen, und wenn wir am Ausgangspunkt der absteigenden Reihe nicht im Zweifel sind, daß es sich um Lebensformen handelt, so könnten wir folgerichtig dieses Attribut auch dem terminalen Virusmolekül nicht verweigern. Es ist hierbei vorerst von sekundärer Bedeutung, ob wir den Begriff des Lebens exakt definieren oder gar darüber Auskunft geben können, wie man sich das reduzierte, von den vitalen Funktionen einer Wirtszelle abhängige Leben eines Virusmoleküls vorzustellen hat; entscheidend ist dagegen, daß ein aktives, d. h. infektiöses Virusmolekül kein Makromolekül schlechthin ist, da es Makromoleküle gibt, welche die Fähigkeit der Vermehrung in einer Wirtszelle unter Wahrung der Spezifität nicht besitzen, und da man die Virusmoleküle dieser Fähigkeit irreversibel berauben kann, ohne an ihrem makromolekularen Charakter wesentliche Veränderungen vorzunehmen (siehe S. 28ff.). Der ganze Gedankengang führt somit dazu, das *infektiöse* Molekül als ein *lebendes* Molekül anzusprechen, und mit den bis vor kurzem gültigen Ideen von Organisation, Koordination, individueller Ganzheit, Vererbung und Anpassung insofern zu brechen, als wir zugeben, daß dies oder ein wesentlicher Teil desselben im Rahmen eines großen, aus Eiweiß und Nucleinsäuren aufgebauten Moleküls verwirklicht sein kann. Ein endgültiger Sieg des Vitalismus ist das nicht, da wir ja noch immer hoffen dürfen, jene physikalischen und chemischen

Ursachen zu ergründen, welche sich zum „Leben“ des aktiven Virusmoleküls integrieren; aber da dieses Problem bisher auch nicht annäherungsweise gelöst werden konnte, besteht andererseits kein zwingendes Motiv, jede Differenz zwischen „belebt“ und „unbelebt“ schon jetzt zu leugnen und sich einem verfrühten „Hylozoismus“ zu verschreiben.

Die Gültigkeit der vorstehenden Ausführungen ist, wie betont, zum großen Teil davon abhängig, ob die theoretische Voraussetzung richtig ist, daß die virusartigen Infektionsstoffe durch Rückbildung von Elementarorganismen zu dem geworden sind, als was sie sich heute darstellen, und ob dies für die ganze Gruppe einschließlich der molekulardispersen Kontagien angenommen werden darf. Diese Frage läßt sich naturgemäß nicht bestimmt beantworten, sondern nur einerseits auf ihren Wahrscheinlichkeitswert, andererseits auf die weltanschaulichen Konsequenzen prüfen, welche mit ihrer Bejahung verbunden wären. Doch davon soll im V. Abschnitt ausführlicher die Rede sein.

4. Die Virusvermehrung.

Im Mittelpunkt aller Hypothesen über die Natur der Virusarten im allgemeinen und der phytopathogenen (molekulardispersen) im besonderen steht das Problem ihrer Vermehrung im Wirt. In der Regel ist hier — explicite oder implicite — folgender Schluß wegleitend: Wachstum und Vermehrung unter Beibehaltung aller Eigenschaften der ursprünglichen Elemente (Individuen) wurde bisher nur bei Organismen beobachtet; die Virusarten sind keine Organismen in dem Sinne, wie die Biologie diesen Begriff seit jeher ausgelegt hat; daher muß auch die Vermehrung der Virusarten einen anderen Mechanismus haben, sie kann nicht auf dem Wachstum der Elemente auf Grund ihres eigenen Stoffwechsels und auf einer durch immanente Potenzen bedingten Teilung der herangewachsenen Elemente beruhen. Man hat daher nach einem anderen Vorgang Umschau zu halten, der aber im Endeffekt dasselbe leistet wie das Wachstum und die Vermehrung der legitimen Organismen.

Ich darf hier vielleicht eines persönlichen Erlebnisses gedenken. Einem bekannten Physiologen gegenüber äußerte ich einmal, es sei doch merkwürdig, daß man immer nur von der Vermehrung und nie vom Wachstum der Bakterien rede. Worauf mein Gesprächspartner meinte, er selbst hätte immer gedacht, daß sich Bakterien nur vermehren, aber nicht wachsen. Diese Entgleisung scheint mir mit manchem, was über Virusvermehrung geschrieben wurde, in verwandtschaftlicher Beziehung zu stehen.

Im folgenden sollen nun die wichtigsten Auffassungen über den Vorgang der Virusvermehrung erörtert werden. Es sei betont, daß die meisten Autoren, welche zu dieser Frage Stellung genommen haben, alles, was heute den Namen „Virus“ trägt, als einheitliches Objekt ihrer Spekulation behandeln; nur vereinzelt stößt man im Schrifttum auf die ausdrückliche Beschränkung der vorgebrachten Hypothesen auf die einfachsten phytopathogenen Virusformen.

Die Virusvermehrung als Autokatalyse.

Seit M. W. BELJERINCK (1898—1900) und CENTANNI (1901) auf diese Möglichkeit hingewiesen hatten, hat sich die Ansicht, daß die Virusvermehrung durch einen autokatalytischen Vorgang bewirkt wird, zahlreiche Anhänger erworben (H. H. DIXON, W. M. STANLEY, K. M. SMITH, H. H. DALE, J. ALEXANDER, J. H. NORTHROP, G. A. KAUSCHE, TH. NEUGEBAUER, H. MORIYAMA und SH. OHASHI u. v. a.). Es ist nicht sicher, daß alle Autoren, welche sich zu dieser Hypothese bekannten, mit den Begriffen Katalyse und Autokatalyse, mit ihrer Entstehungsgeschichte und ihren Wandlungen (vgl. hierzu die neueren Dar-

stellungen von A. SCHÄFFNER und H. J. JAKOWATZ, ALWIN MITTASCH, E. SCHRÖER und H. J. SCHUHMACHER sowie von W. LANGENBECK) vertraut waren. Manchem dürfte einfach ein chemischer Prozeß vorgeschwebt haben, der durch das Virus in der Wirtszelle ausgelöst und erhalten wird und als Nebenprodukt wieder Virus liefert, dessen Menge daher im Verlauf der Reaktion zunehmen muß. Andererseits stößt man auch wieder auf das Bestreben, zu bestimmteren Vorstellungen zu gelangen.

J. NORTHROP hatte festgestellt, daß das Pankreas kein aktives Trypsin, sondern eine inaktive Vorstufe desselben, das Trypsinogen erzeugt, und daß dieses durch Trypsinspuren in den fermentativen Wirkstoff umgewandelt werden kann. Ebenso konnte eine aus Magenschleimhaut isolierte Prophase des Pepsins durch Pepsin zum Vollferment aktiviert werden. Es lag nahe, diese gesicherten Beobachtungen als Modelle der Virusvermehrung aufzufassen, einmal weil man seit jeher engere Beziehungen zwischen Enzym und Virus angenommen hatte, dann aber auch, weil die Untersuchungen von A. P. KRUEGER und seinen Mitarbeitern über die Umsetzung des Staphylokokkenphagenvorläufers in aktive Phagen durch Phagenkontakt (siehe S. 22) eine tatsächliche, wenn auch nur für einen einzigen Spezialfall gültige Handhabe zu bieten schienen. H. BLOCH (noch nicht publiziert) konnte jedoch in den bisher ausgeführten Versuchen mit einem Coliphagen und dem Staphylokokkenphagen von KRUEGER die Angaben dieses Autors nicht bestätigen, und gegen eine Ausdehnung der aus der Proteinaseaktivierung abgeleiteten Theorie auf andere Virusarten oder gar auf alle Virusarten sprechen, wie u. a. auch F. C. BAWDEN klar auseinandergesetzt hat, gewichtige Einwände.

In erster Linie ist da die Tatsache anzuführen, daß ein und derselbe pflanzliche oder tierische Wirt durch zahlreiche Virusarten infiziert werden kann, welche sich voneinander dimensional, morphologisch, chemisch, serologisch und biologisch stark unterscheiden, und daß sich umgekehrt ein bestimmtes Virus in Wirten anzusiedeln vermag, welche verschiedenen, im natürlichen System entfernt stehenden Arten angehören. Es ist ebenso unwahrscheinlich, daß im gleichen Wirtsorganismus zahlreiche differente Virusvorläufer präformiert vorkommen, wie daß sich die gleiche Vorstufe in artverschiedenen Wirten vorfindet.

Zweitens verliert der Vergleich der Virusvermehrung mit der Aktivierung proteolytischer Fermente, sobald man die Verhältnisse schärfer ins Auge faßt, seine überzeugende Kraft. Man hat allerdings aus normalen pflanzlichen und tierischen Geweben hochmolekulare Proteine abgesondert (siehe S. 21 und 9), und könnte in diesen Substanzen die Matrix der Virusbildung suchen. Wenn man aber konzentrierte Lösungen solcher aus gesunden Tabakpflanzen gewonnenen Stoffe mit Tabakmosaikvirus versetzt, wird die Infektiosität des Virus nicht gesteigert, sondern im Gegenteil geringer, als wenn man das Virus mit Wasser oder einer Pufferlösung verdünnt hätte [F. C. BAWDEN und N. W. PIRIE (3)].

BAWDEN hebt ferner noch eine weitere Unstimmigkeit hervor. Fügt man Trypsin zu einer Lösung von Chymotrypsinogen hinzu, so wird dieses in Chymotrypsin und nicht in Trypsin verwandelt; Schweinepepsin, zu Hühnerpepsinogen zugesetzt, gibt Hühner- und nicht Schweinepepsin. Der spezifische Charakter des Reaktionsproduktes wird also nicht durch das aktivierende Enzym, sondern nur durch den zu aktivierenden Vorläufer bestimmt, und das ist offenbar nicht das Pendant zur Aktivierung hypothetischer Virusvorstufen, wo für das, was im infizierten Wirt entsteht, ausschließlich das Virus — in der Hypothese der Aktivator — maßgebend ist. Beständen hier die gleichen Verhältnisse wie bei der Aktivierung von Proteinase, so könnten Virusstämme mit bestimmten

Eigenschaften nicht in längeren Passagereihen unverändert fortgezüchtet werden; es wäre vielmehr zu erwarten, daß die Infektion mit einem bestimmten Stamm durch Aktivierung verschiedener, im Wirt präexistierender Vorläufer ein Gemisch aller Virusvarianten ergibt, für welche die verwendete Wirtsspezies empfänglich ist.

Die Fermentchemie bezeichnet als *Autokatalysen* chemische Reaktionen, welche durch die von ihnen gebildeten Stoffe katalytisch beschleunigt werden (MAX FRÄNKEL, W. LANGENBECK). In dieser Definition wird das Wort „katalytisch“ so verwendet, als ob ihm ein präzis umschriebener und allseits anerkannter Begriff entsprechen würde. Das ist aber nicht der Fall. Vielmehr kommen E. SCHRÖER und H. J. SCHUHMACHER in einem klar und überzeugend abgefaßten Artikel zu dem Schluß, daß es „ein Wesen der Katalyse“ überhaupt nicht gibt und daß es daher auch nicht möglich sei, „eine eindeutige Definition für die Katalyse anzugeben“. Wie man die Definition auch formulieren will, umfaßt sie stets Reaktionen, welche weder gemeinsame kinetische Merkmale haben noch solche, durch welche sie sich von anderen Reaktionen unterscheiden. Der Ausdruck „Katalyse“ wird geradezu als ein Provisorium oder Notbehelf hingestellt, dessen man sich solange bedienen kann als der Reaktionsmechanismus unbekannt oder zweifelhaft ist; wird aber der Reaktionsmechanismus bis in seine Einzelheiten aufgeklärt, so erweise es sich, daß man ohne den Begriff „Katalyse“ auskommen könne. Selbstverständlich gilt dies auch für die Autokatalysen und die Arbeiten über die Formaldehydcondensation als organische Autokatalyse (W. LANGENBECK) zeigen in eindrucksvoller Weise, daß die Forschung als Ziel nur die Sicherstellung des Reaktionsmechanismus verfolgt.

Was wissen wir aber in dieser Hinsicht von der Virusvermehrung in einer Wirtszelle? Nichts, denn wir kennen nur das Anfangs- und das Endstadium dieses Vorganges, die sich voneinander nicht qualitativ, sondern lediglich quantitativ unterscheiden, und die Vermehrungsgeschwindigkeit, welche — in den ersten Phasen der Infektion — mit der schon entstandenen Virusmenge wächst. Es ist dies die gleiche Situation, in der wir uns befänden, wenn uns vom Verhalten der Bakterien in einem beimpften Bouillonröhrchen nicht mehr bekannt wäre als daß die Zahl der Individuen nach Ablauf einer bestimmten Zeit auf das Milliardenfache des Ausgangswertes angestiegen ist, und das das Tempo der Zunahme im Beobachtungsintervall der jeweils vorhandenen Masse proportional war. W. LANGENBECK meint, daß eine „äußerliche Ähnlichkeit“ zwischen der Formaldehydcondensation und der Bildung der Virusproteine im Organismus nicht zu leugnen sei, weil hier wie dort der Zusatz von kleinen Mengen eines Reaktionsproduktes genüge, um die Synthese in großem Maßstabe in Gang zu bringen. Diese Aussage paßt jedoch auch auf das Wachstum von Bakterien in einer Kultur, denn auch in diesem Falle kommt es zu einer „Synthese in großem Maßstabe“, welche die im Verhältnis zum Ausgangsmaterial enorme Masse von spezifischer Bakteriensubstanz liefert. Nur soll es sich bei den Virusarten nicht um eine Synthese handeln, wie sie sich im Cytoplasma der Bakterien abspielt; angenommen werden vielmehr eine Reaktion oder eine Kette von Reaktionen, die außerhalb der Viruselemente ablaufen, deren Schauplatz das Protoplasma der Wirtszelle ist, welche auch die Reaktionskomponenten — Proteine oder Fragmente derselben — beisteuert, Reaktionen, an welchen sich das von außen her eingeführte Virus nur insofern beteiligt, als es die Prozesse in Gang bringt und die Beschaffenheit eines mit ihm identischen Reaktionsproduktes bestimmt. Und für die reale Existenz einer so vorgestellten Virussynthese fehlt jeder zuverlässige Beweis, oder, wie sich LANGENBECK vom chemischen Standpunkt urteilend ausdrückt, es fehlt die Kenntnis der Zwischenprodukte. Wenn man

unter diesen Umständen die Virusarten generell oder unter Beschränkung auf die phytopathogenen Spezies als Autokatalysatoren bezeichnet, so ist damit nur ein Weg angegeben, der möglicherweise eine Annäherung an die Erkenntnis des wahren Sachverhaltes bedeuten kann; mit dem Wort „Autokatalyse“ allein ist nichts gewonnen. Berechtigt erscheint es dagegen, spekulativ die Kombinationen abzutasten, welche im Rahmen virusproduzierender Umsetzungen in Wirtszellen denkbar sind, zumindest im Sinne einer heuristischen Vorarbeit. Leider ist die Virusvermehrung ein Anger geworden, auf dem sich so mancher nach Belieben herumtummelt. Es hätte keinen Zweck, alles, was da vorgebracht wurde, zu referieren. Nur auf die wichtigeren Hypothesen soll kurz hingewiesen werden.

Die Auffassung von NORTHROP, daß die Wirtszellen Virusvorstufen enthalten, welche durch den Kontakt mit Virus aktiviert werden, wurde bereits (siehe S. 54) besprochen und aus mehrfachen Gründen abgelehnt. Ergänzend sei bemerkt, daß die Aktivierung von präformierten, d. h. schon im gesunden Wirtsgewebe vorhandenen Vorstufen die oft gewaltige Virusvermehrung im Laufe einer Infektion nicht erklären könnte; man müßte vielmehr annehmen, daß die Wirtszellen fortwährend neues „Provirus“ bilden, das nach Maßgabe seiner Entstehung in aktives Virus umgesetzt wird, und stünde dann vor dem weiteren Problem, warum die Aktivierung der präexistenten Vorstufen eine Neuproduktion derselben zur Folge hat.

Gleichfalls aus der Enzymforschung herübergeholt und auf die phytopathogenen Virusarten zugeschnitten ist die Vermutung, daß die Virusarten Proteinase sein könnten, welche sich selbst synthetisieren. Die phytopathogenen Virusarten sind Eiweißkörper und daß Eiweißkörper fermentative Wirkungen entfalten oder daß sie zumindest die kolloiden Träger der eigentlichen Wirkungsgruppen sein können und es meist auch sind, darf als gesichert gelten. Früher schrieb man allerdings den proteolytischen Enzymen lediglich die Fähigkeit zu, Peptide zu spalten bzw. hydrolytisch abzubauen. Die Arbeiten von MAX BERGMANN und seinen Schülern (siehe M. BERGMANN und H. FRÄNKEL-CONRAT) haben aber gezeigt, daß es eine enzymatische Peptidsynthese gibt, eine Umkehrung, welche dann zustande kommt, wenn das Produkt der Synthese unlöslich ist und sich sofort abscheidet, so daß es immer nur in niedriger Konzentration vorhanden ist. So kann beispielsweise Benzoyl-l-leucin und Anilin durch Papain zu Benzoyl-l-leucin-anilid synthetisiert werden. Daß jede Zelle während ihrer ganzen Lebensdauer nur ein für sie spezifisches Protein enthält, ist nach M. BERGMANN und NIEMANN auf die komplizierten Wirkungen intracellulärer Proteinase zurückzuführen, welche vermutlich selbst Eiweißkörper sind und die von außen aufgenommenen Proteine hydrolysieren, um aus den Fragmenten derselben andere Proteine aufzubauen, wobei der Charakter der entstehenden Peptidketten durch die Spezifität der synthetisierenden Enzymfunktion bestimmt wird; in diesem Wechselspiel von Abbau, Aufbau und Ersatz von Teilstücken der Peptidketten durch andere erhält sich dann nur jenes hochmolekulare „Proteinmuster“, das in Gegenwart der intracellulären Proteinase beständig ist. BERGMANN und NIEMANN weisen auf die Beziehungen hin, welche zwischen diesen Prozessen und der intracellulären Vermehrung der Virusproteine bestehen, und F. C. BAWDEN bezeichnet eine auf diese Analogien basierte Theorie der Virusvermehrung zur Zeit als die wahrscheinlichste. Ob aber die intracellulären Proteasen Eiweißstoffe sind, ist ungewiß und von fermentativen, speziell von proteolytischen Wirkungen der Virusproteine ist nichts bekannt. In den von BERGMANN und seinen Mitarbeitern untersuchten Modellen der enzymatischen Peptidsynthese wird ferner nicht die Proteinase (Papain) gebildet, sondern ein anderes Eiweiß, so daß gerade die wichtigsten Beweisstücke ausstehen.

BERGMANN und NIEMANN, F. C. BAWDEN und in gewissem Sinne auch NORTHROP und A. P. KRUEGER nehmen an, daß das Material, welches für den Virusaufbau notwendig ist, aus den Eiweißkörpern der Wirtszelle oder aus Derivaten derselben, wie sie der intracelluläre Stoffwechsel liefert; besteht. Das ist natürlich möglich. Daß die Virusarten bisher auf unbelebten Medien nicht zur Vermehrung gebracht werden konnten, muß aber nicht unbedingt darauf beruhen, daß ihnen solches Material *in vitro* nicht geboten werden kann. Was bei den erfolglosen Züchtungsversuchen auf unbelebtem Nährsubstrat gefehlt hat, sind wahrscheinlich Stoffe ganz anderer Art; über ihre Beschaffenheit und Wirkungsweise kann man derzeit nicht einmal eine Vermutung äußern, ist aber gerade deshalb nicht gezwungen, die Hoffnung auf ihre Abtrennung von den Wirtszellen aufzugeben. Man sollte sich bei allen Diskussionen über Virusvermehrung drei Tatsachen vor Augen halten:

1. Pflanzen, welche mit einem Virusstamm infiziert sind, können mit einem verwandten Stamm nicht superinfiziert werden. Eine der naheliegendsten Erklärungen ist die, daß durch die primäre Infektion Stoffe verbraucht werden, welche für das Angehen der Superinfektion notwendig sind. Substanzen, welche die Wirtspflanze braucht, können das nicht sein; denn die Wirtspflanze lebt und wächst weiter, wobei die pathologische Auswirkung der primären Infektion so minimal sein kann, daß man an die praktische Verwendung solcher Infektionen zum Schutze von Kulturpflanzen gegen schwere wertvermindernde Viruserkrankheiten gedacht hat.

2. Es besteht zur Zeit kein Grund, die Abhängigkeit der Virusvermehrung von der Anwesenheit typischer Zellen als ein einheitlich bedingtes Phänomen aufzufassen; vielmehr können gegen diesen Standpunkt mehrere, ins Gewicht fallende Argumente geltend gemacht werden. Rickettsien vermehren sich *in vitro* ebenfalls nur in Gegenwart von Zellen, z. B. von Hühnerembryonalgewebe; nach den Untersuchungen von H. ZINSSER und SCHÖNBACH koinzidiert ihre Proliferation nicht mit der Zeit des stärksten Gewebswachstums, sondern setzt erst ein, bis diese Periode abgelaufen ist. Ob man die Rickettsien zu den Virusarten rechnet oder nicht, ist für die Bewertung dieser Beobachtung nicht entscheidend; wichtig ist nur, daß ein und dasselbe Phänomen bei den Rickettsien andere Ursachen zu haben scheint wie bei vielen Virusarten, wo maximale Virusvermehrung und Wachstum des „Ammengewebes“ zusammenfallen.

Auch wenn man sich in dieser Frage auf die anerkannten Virusarten beschränken wollte, kann von einer konditionalen Homogenität des Phänomens nicht gesprochen werden. Vor allem scheiden sich die phytopathogenen von den tierpathogenen Virusarten, indem die beiden Gruppen für ihre Vermehrung nicht einfach lebende oder wachsende Zellen, sondern Zellen von pflanzlicher oder tierischer Herkunft brauchen. Das klingt selbstverständlich, ist es aber nicht, wenn man an die Bemühungen denkt, die Virusarten radikal gleichzuschalten. Aus den vorliegenden Daten über die Züchtung tierpathogener Virusarten könnte man ferner schließen, daß ihre Vermehrung von der Wachstumsintensität der zugesetzten Zellen abhängig ist (siehe Punkt 3). Da bei den virusinfizierten Pflanzen nur die jungen, im Wachstum begriffenen Blätter Veränderungen zeigen und große Virusmengen enthalten, scheint auch hier eine analoge Beziehung maßgebend zu sein, die aber möglicherweise nur vorgetäuscht ist; denn wenn man ältere Blätter traumatisch (durch Abreiben der Oberfläche) infiziert, dringt das Virus leicht ein und vermehrt sich stark (cit. nach F. C. BAWDEN, S. 263).

3. Man kennt sog. „Universalmethoden“, welche sich für die Züchtung einer erstaunlich großen Zahl tierpathogener Virusarten eignen. Da die Virusvermehrung

rung in diesen Fällen durch embryonale Gewebe (embryonales Hühnergewebe, Chorionallantois des bebrüteten Hühneries) ermöglicht wird, mußte sich der Gedanke an eine gemeinsame, irgendwie mit der Zellproliferation zusammenhängende Ursache entwickeln. Der extensive Ausbau der Viruszüchtung zeigte jedoch, daß diese Annahme mit den Tatsachen nicht harmoniert. Die Virusvermehrung kann bei manchen Arten auch in Gegenwart von überlebenden, sich aber nicht mehr teilenden Zellen vor sich gehen, über die Eignung von Zellen zur Viruszüchtung entscheidet nicht ausschließlich ihre Vitalität oder ihr Proliferationszustand, sondern oft auch ihre Art- und Gewebsspezifität, die „Universalmethoden“ versagen bei bestimmten tierpathogenen Virusarten usw. Ausführlicher auf diese Verhältnisse einzugehen, erübrigt sich, da die klare und gründliche Darstellung von C. HALLAUER im 1. Band des Handbuches der Virusforschung über alle wesentlichen Punkte genaue Auskunft gibt.

Die Einstellung zu diesen Problemen wird erleichtert, wenn man als Analogien die Züchtung von Spirochäten und Trypanosomen im befruchteten und bebrüteten Hühnerie heranzieht [vgl. hierzu R. DOERR (7), S. 89f.]. Ein Beispiel aus diesem Spezialgebiet mag den Wert solcher Betrachtung erläutern. Einige Trypanosomenpezies vermehren sich in der Chorionallantois des bebrüteten Hühneries, wie z. B. *Tr. Brucei*, *Tr. rhodesiense*, *Tr. equiperdum*, *Tr. evansi*, *Tr. hippicum*, aber keineswegs alle; Impfungen mit *Tr. Lewisi* ergaben durchwegs negative Resultate (A. CHABAUD). Es erwies sich ferner als unmöglich, das *Trypanosoma Brucei* in Explantaten von embryonalem Hühnergewebe oder in befruchteten Tauben- bzw. Enteneiern zu züchten (C. HALLAUER und H. KUHN). Endlich, um nur das Wichtigste anzuführen, mußten die befruchteten Hühnerier in einem bestimmten, zum Teil ziemlich eng begrenzten Intervall der Entwicklung des Embryos infiziert werden (bei der Beimpfung mit *Tr. Brucei* zwischen dem 8. und 14. Tag der Bebrütung), da sonst die Vermehrung der Trypanosomen ausblieb. Alle diese Erfahrungen hat man auch bei der Eihautkultur der Virusarten gemacht; wenn man sie aber nur in Beziehung auf dieses Objekt betrachtet und diskutiert, besteht die Gefahr, sie als Erscheinungen zu beurteilen, die außerhalb der Virusgruppe nicht vorkommen und durch die biologische Eigenart dieser Infektionsstoffe bedingt sind. Das ist nun nicht der Fall. Daß die vielen Übereinstimmungen nicht mehr sind als zufällige und rein äußerliche Ähnlichkeiten, ist nicht wahrscheinlich; es wäre auf alle Fälle zu prüfen, ob sich dahinter mehr verbirgt und ob man nicht durch das Studium der Trypanosomen, Spirochäten und anderer gut sichtbarer Mikroben auf die für die Virusvermehrung maßgebenden Faktoren geführt wird. H. A. MÜLLER fand, daß Trypanblau, welches man mit Beginn der 3. Bebrütungswoche in Hühnerier injiziert, in einem System von Kanälen der Chorionallantois gesammelt und durch diese eigenen Sammelstellen zugeführt und dort festgehalten wird, so daß der Embryo vor der Einwirkung des giftigen Farbstoffes geschützt bleibt; bei jüngeren (weniger als 15 Tage bebrüteten) Eiern gelangt das Trypanblau ungehindert in den Embryo, der sich diffus verfärbt und Zeichen schwerer Schädigung zeigt. Da die erfolgreiche Beimpfung von Hühneriern mit Trypanosomen oder Virusarten an bestimmte Bebrütungstermine gebunden ist, kann man von derartigen Modellversuchen mit unbelebten Stoffen vielleicht manche Aufklärung über die Wachstumsbedingungen infektiöser Agenzien im bebrüteten Hühnerie erwarten.

Kehren wir nun wieder zum Thema zurück, so wäre kurz der Auffassung von H. MORIYAMA und SH. OHASHI (1, 2) zu gedenken. Diesen Autoren zufolge sollen „einige“ Virusarten den Charakter von Denaturasen haben, welche auf die Proteine des Protoplasmas ihrer Wirtszellen koagulierend einwirken. Die Gerinnung der Proteine geht unter Bildung winziger Körperchen (der von W. W. LEPESCHKIN als „Degenerationsgranula“ bezeichneten Partikel) vor sich; ist ein in der Zelle vorhandenes Virus der gerinnungserregende Reiz, so erzeugt es — nach MORIYAMA und OHASHI — in diesen Körperchen bzw. in den gerinnenden Protoplasmaproteinen eine chemische Umsetzung, durch welche die der Virus-

aktivität zugrunde liegenden Gruppen (Radikale) in Freiheit gesetzt werden. Aus der Tatsache, daß sich die Virusarten nur in Gegenwart lebender Zellen vermehren, gehe hervor, daß sich die Protoplasmaproteine in lebendem Zustande befinden müssen, wenn die zur Viruskrankheit führende Umlagerung zustande kommen soll; ist das Protoplasma bereits denaturiert, so fehle eine wesentliche Voraussetzung für die Einleitung und das Abrollen des hypothetischen Prozesses. An einer Stelle der zahlreichen Veröffentlichungen (2, S. 79) wird ausdrücklich betont, daß von den zwei in der Regel gekoppelten Partialwirkungen, der denaturierenden und der koagulierenden, nur die erste für die Virusvermehrung unbedingt erforderlich sei; wäre das Protein schon in der normalen Zelle in Form von kleinen, aber lebenden bzw. nicht-denaturierten Partikeln vorhanden, so könnten diese durch Virus in Virus umgesetzt werden. Das Virus wird also als ein Enzym aufgefaßt, welches eine chemische Reaktion der Wirtspoteine katalysiert und durch diese produziert wird, ein Vorgang, der im Sinne der üblichen Definitionen als Autokatalyse zu gelten hätte. Das Eigenartige bestünde vorerst nur darin, daß die Wirtspoteine nicht nur das Material für die Virusproduktion beisteuern, sondern auch durch ihre Gerinnung die Form desselben bestimmen, da ja die Eiweißkörper der Wirtszellen als „minute-body-forming proteids“ bezeichnet und die „minute bodies“ offensichtlich mit den Elementarkörperchen identifiziert werden. Welcher Art die chemische Veränderung ist, die aus dem Wirtseiweiß das aktive Virus macht, erfährt man nicht; warum ferner aus dem Wirtseiweiß immer nur das chemisch, serologisch, morphologisch und hinsichtlich seiner pathogenen Auswirkung spezifische Virus entsteht, welches die Reaktion steuern soll, und zwar unabhängig von der Art des Wirtes, in welchem sich die supponierten Vorgänge abspielen, bleibt ebenfalls fraglich, trotz zahlreicher Hilfsannahmen, welche die Schwächen der ganzen Konzeption maskieren sollen. MORIYAMAs Hypothese darf wohl als unfruchtbare und mit den Tatsachen nicht vereinbare Spekulation abgelehnt werden. Am Schlusse der ausführlichen Arbeit über die wahre Natur der Virusarten (2, S. 120) schreiben MORIYAMA und OHASHI: „We will now conclude our considerations on the true nature of viruses by stating that the time is now ripe for ‚virology‘¹ to become independent of bacteriology or microbiology, into which it has been hitherto included.“ Vom Standpunkt der Autoren beurteilt wäre diese Forderung nur berechtigt, wenn sie ihre Hypothese für *alle* Virusarten aufrechterhalten wollten. Das scheint aber nicht der Fall zu sein, da in einer späteren Publikation [MORIYAMA und OHASHI (1)] nur noch von „einigen“ Virusarten behauptet wird, daß sie wie Denaturasen wirken. Objektiv, d. h. von jeder speziellen Hypothese absehend, ist selbstverständlich das Gegenteil, d. h. die Wahrung des Zusammenhangs mit der „Bakteriologie“ und „Mikrobiologie“, richtiger mit der Lehre von den infektiösen Mikroben zu verlangen; denn dieser Zusammenhang steht im Gegensatz zu den vielen vorgeschlagenen Lösungen des Problems der Virusvermehrung außer Diskussion und sichert der theoretischen und praktischen Virusforschung ein für allemal ihren grundsätzlich biologischen Charakter.

Damit soll keineswegs einer zunftmäßigen Absperrung das Wort geredet werden. Es hat sich ja bereits erwiesen, welch großen Nutzen die Biologie im

¹ Es ist zu hoffen, daß sich diese Wortbildung nicht auch noch einbürgert. R. DOERR (3, S. 121) hat schon vor Jahren gegen den Unfug opponiert, der mit der Vokabel „Virus“ getrieben wird. Im klassischen Latein wurde „virus“ nur im Singular gebraucht, und wenn man dazu einen neuen Plural bilden will, kann er nur „Vira“ lauten. Diese Mahnung hat wenig gefruchtet. Im Schrifttum ist von Viren, Virusen, Virussen die Rede und in einem Referat findet sich sogar „Viri“, wozu man nur sagen kann: Der Casus macht mich lachen!

allgemeinen und die Virusforschung im besonderen aus der Physik und der Chemie ziehen können, seit sich diese Wissenschaften mit Problemen befassen, welche durch Inhalt und Behandlung dazu zwingen, die Lehre von der Eigengesetzlichkeit des Lebens zu überprüfen und zu versuchen, zu einer die ganze Natur umfassenden Anschauung zu gelangen. Dieses Ziel ist bisher nicht erreicht worden. Das kann natürlich kein Grund sein, dasselbe nicht mit allen Mitteln weiter zu verfolgen. Wenn aber ein Physiker oder ein Chemiker die Erforschung der Natur der Virusarten und des Mechanismus ihrer Vermehrung in einem über anregende Gedanken hinausgehenden Ausmaß fördern soll, kann ihm eine mangelhafte Kenntnis des Gebietes und seiner biologischen Beziehungen zur Irrtumsquelle werden. Wer über die geschichtliche Entwicklung und den aktuellen Inhalt des Virusbegriffes sowie über die Ätiologie der Infektionskrankheiten nicht orientiert ist, wird sich wohl kaum a priori zur Virusproblematik richtig einstellen; es sind aber nicht nur solche Voraussetzungen allgemeiner Natur maßgebend, vielmehr könnte unter Umständen schon ein wenig beachtetes Detail den Gesichtswinkel der Betrachtung ändern.

Es seien als Beispiel die Untersuchungen von H. R. KRAYBILL, P. H. BREWER, R. W. SAMSON und M. W. GARDNER zitiert, denen es gelang, aus den Blättern von Tomatenpflanzen, die mit Tabakmosaikvirus infiziert waren, eine nicht-infektiöse Substanz abzuscheiden, welche auf gesunde Pflanzen wie ein Toxin wirkte, indem sie gewisse Symptome der Virusinfektion (Zwergwuchs und Blattmißbildung) hervorrief. Die Substanz, welche ihre Wirksamkeit durch dreistündiges Erhitzen auf 126° C nicht einbüßte, konnte im Preßsaft gesunder Tomatenpflanzen nie festgestellt werden; durch eiweißfällende Mittel ließ sie sich aus ihren Lösungen nicht ausflocken. Die pathogene Wirkung des Stoffes war der injizierten Dosis proportional und hielt — im Gegensatz zur Infektion — nur eine gewisse Zeit an; sie kam nicht nur in der erwähnten Weise morphologisch zum Ausdruck, sondern auch dadurch, daß in den schwer erkrankten Pflanzen Stoffwechseleränderungen (Abnahme von Zucker, Stärke und Hemicellulose, Zunahme des Gesamt-N und der Nitrate) festzustellen waren, Veränderungen, wie sie auch bei der Virusinfektion auftreten (M. H. THORNTON und H. R. KRAYBILL). KRAYBILL und seine Mitarbeiter kommen auf Grund ihrer Kontrollversuche zu dem Schluß, daß sich das Agens nur in Gegenwart des Mosaikvirus bildet, lassen es aber unentschieden, ob es ein Produkt des Virus oder des Pflanzengewebes ist. Der ganzen Sachlage nach wäre die erstgenannte Möglichkeit, auch im Hinblick auf die Rickettsien-Toxine (E. GILDEMEISTER und E. HAAGEN) nicht unwahrscheinlich und würde, außer Zweifel gestellt, die Frage nach der Natur des Tabakmosaikvirus in ein neues Licht rücken. Dem Nicht-Spezialisten können solche Arbeiten leicht entgehen und, wenn er etwa durch ein Referat auf sie aufmerksam gemacht wird, fehlt ihm die Basis für ihre Bewertung.

Werfen wir nach diesen einleitenden Bemerkungen zunächst einen Blick auf die von TH. NEUGEBAUER (1) aufgestellte physikalische Theorie der Selbstreproduktion der „Viren“. NEUGEBAUER geht von der Voraussetzung aus, daß die Moleküle der Virusproteine aus der Kugelform in einen flächenhaft ausgebreiteten Zustand übergehen können und umgekehrt. Wenn sich die Virusproteine vermehren, nehmen sie die ausgebreitete Form von Kettenmolekülen an und damit wäre die Bedingung erfüllt, welche eine Angleichung der Kettenmoleküle der Wirtszellenproteine an die Virusproteine, also eine Entstehung von Virus aus Wirtseiweiß ermöglicht. Geraten nämlich die Polypeptidketten im Protoplasma der Wirtszellen zufällig in die Nähe der Kettenmoleküle des Virus, so müssen, „da das spezifische Protein des Wirtsorganismus mit dem Virusprotein immer nahe verwandt ist“, starke Anziehungskräfte nach VAN DER WAALS in Aktion treten, und die bei der Anziehung von mehreren Atompaaren freiwerdenden Energien würden genügen, um einige chemische Bindungen des Wirtspoteins, welche dieses vom Virusprotein unterscheiden, zu öffnen und in

andere, nämlich die des Virusproteins überzuführen. Nach der Ansicht von NEUGEBAUER würde seine Theorie außer der Virusvermehrung auch noch andere Tatsachen „ganz ungezwungen“ erklären, wie die Eignung der Chorionallantois zur Viruszüchtung, weil man damit rechnen darf, daß in lebhaft proliferierenden Zellen häufige Änderungen der Struktur der Proteinmoleküle stattfinden; ebenso die endogene Virusbildung (siehe S. 22), weil für einen solchen Vorgang nicht mehr erforderlich sei, als daß „einige Proteinmoleküle des Wirtsorganismus infolge einer an und für sich unbedeutenden Ursache so eine kleine Veränderung erfahren, die sie dann nach dem besprochenen Prozeß den anderen aufzwingen können“.

Die Ergebnisse der Virusforschung ermächtigen jedoch keineswegs zu der Behauptung, daß die spezifischen Proteine des Wirtsorganismus mit dem Virusprotein „immer nahe verwandt“ sind. Diese Aussage ist nicht einmal dann gerechtfertigt, wenn man nur die hochmolekularen Normalproteine der Wirte und bestimmte Virusarten ins Auge faßt (siehe S. 20ff., 9f.); von den hochmolekularen Normalproteinen der Pflanzen hebt F. C. BAWDEN ausdrücklich hervor, daß sie mit den bisher isolierten phytopathogenen Virusarten, von ihrer Größe abgesehen, wenig gemein haben, vielmehr chemisch und serologisch, wie auch hinsichtlich der Stabilität (siehe S. 21) weit abweichen. Willkürlich ist ferner die Annahme, daß das Virusprotein dem Wirtsprotein seinen Spezifitätsstempel so leicht aufdrückt, während der umgekehrte Vorgang ohne irgendwelche Motivierung gar nicht in Betracht gezogen wird. Für manche Virusarten sind mehrere, zum Teil sogar zahlreiche und im natürlichen System weit voneinander abgehende Wirtsspezies empfänglich, welche sich immunchemisch durch den Besitz differenter (spezifischer) Proteine auszeichnen; man müßte also zugeben, daß alle diese Wirtsproteine von einem und demselben Virusprotein in identischer Weise umgeformt werden. Mit der Vorstellung endlich, daß unbedeutende strukturelle Änderungen, welche einige Moleküle eines Wirtsproteins zufällig erleiden, diesen die Fähigkeit verleihen, das normal gebliebene Eiweiß der Wirtszelle zu ihresgleichen umzuprägen und so als endogenes Virus zu wirken, scheint die lebenslängliche Aufrechterhaltung der Spezifität der Wirtsproteine im Eiweißstoffwechsel der Zellen kaum vereinbar (vgl. S. 56). Daß die Theorie auch vom physikalischen Standpunkt aus anfechtbar ist, lehrt die Diskussion zwischen TH. NEUGEBAUER (2, 3) und P. JORDAN (5, 6). Im elektronenoptischen Bild erscheinen die Elemente zahlreicher Virusarten als kugelige Gebilde. Daß es sich um zusammengerollte faden- oder netzförmige Eiweißmoleküle handelt, die sich in einem Wirtsorganismus entknäueln und flächenhaft ausbreiten, ist, wie sich P. JORDAN ausdrückt, eine ad hoc gemachte Voraussetzung. Durch die Untersuchung mit Röntgenstrahlen konnte eine sehr regelmäßige Innenstruktur der Partikel phytopathogener Virusarten nachgewiesen werden, welche eher dem Bau eines Kristalls als eines Eiweißmoleküls entsprach, und trotz mancher Ähnlichkeiten doch etwas von den bisher untersuchten Eiweißstoffen Abweichendes repräsentierte [J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN (2, S. 160 und 164)]. Diese Befunde können mit der Vorstellung von zusammengerollten und entknäuelten Molekülen nicht harmonisiert werden, selbst wenn man mit TH. NEUGEBAUER annimmt, daß die Aufrollung der Peptidketten nicht unregelmäßig, sondern als „geordnete Faltung“ vor sich geht; sie sind aber auch ein Grund mehr, die von der Theorie geforderte strukturelle Verwandtschaft von Virus- und Wirtsprotein abzulehnen.

Auch P. JORDAN faßt die (intracelluläre) Virusvermehrung als Autokatalyse auf, weicht aber in seinen Vorstellungen vom Mechanismus des Vorganges von anderen Autoren ab. Das quantenmechanische Resonanzphänomen auf biologische Prozesse übertragend, nimmt JORDAN an, daß Eiweißmoleküle Moleküle von

identischem oder fast identischem Bau bzw. Bruchstücke solcher Moleküle anziehen, und daß sich die angelagerten Fragmente zu Kopien der Muttermoleküle zusammenschließen. JORDAN beschränkt sich übrigens nicht auf die Virusvermehrung, sondern sucht seiner Hypothese eine Reihe anderer biologischer Phänomene zu unterstellen, wie die Bildung der Antikörper und der Abwehrfermente, die Vermehrung der Bakteriophagen, die Verdoppelung der Gene bei der Mitose usw., eine Expansionstendenz, die dadurch begründet ist, daß es sich in allen diesen Fällen um intracelluläre Proteinsynthesen handelt, und der man infolgedessen auch bei anderen Autoren begegnet, welche Hypothesen über Virusvermehrung aufgestellt haben, z. B. bei MORIYAMA und OHASHI, wenn auch nicht im selben Ausmaß. Wesentlich neu ist bei JORDAN die Deutung als quantenmechanische Resonanzanziehung und gerade dagegen wurden Einwände erhoben. P. JORDAN selbst (5, 7) hat mehrfach darauf hingewiesen, daß die der Resonanzattraktion zugeschriebene Wirkung nur zustande kommen könnte, wenn ganz bestimmte mathematisch formulierbare Bedingungen erfüllt wären, für deren Vorhandensein man vorläufig den Beweis schuldig bleiben müsse, desgleichen wendet sich TH. NEUGEBAUER (2) gegen die „sehr speziellen Voraussetzungen“, mit welchen JORDANs Theorie belastet ist, und schließlich sind LINUS PAULING und M. DELBRÜCK auf Grund spezifizierter Argumente zu dem Schlusse gekommen, daß der von JORDAN postulierte Resonanzeffekt in wässrigen Lösungen keine spezifische Anziehung zwischen ähnlichen Molekülen hervorrufen könne und daher auch nicht imstande sei, autokatalytische Reaktionen auszulösen. Wie PAULING und DELBRÜCK hervorheben, wenden sie sich in erster Linie gegen den Mechanismus, den JORDAN der autokatalytischen Entstehung von Zellproteinen zuschreiben möchte; ob autokatalytische Prozesse tatsächlich existieren, sei eine andere, von dem hypothetischen Mechanismus unabhängige Frage. Sie sind der Auffassung, daß sich an der Synthese und Aufknäuelung komplizierter Moleküle in lebenden Zellen nicht so sehr Wechselwirkungen beteiligen, welche eine *identische* Struktur der beteiligten Moleküle voraussetzen, als solche, welche sich aus der Nachbarschaft *komplementärer* Strukturen ergeben und ihrem Wesen nach besser verständlich sind (intermolekulare Anziehungen und Abstoßungen nach VAN DER WAALS, Annäherungen positiv elektrischer Gruppen an negative, Entstehung von sog. „Wasserstoffbindungen“, enzymatische Synthesen usw.).

Die Gegensätze, die zwischen JORDAN und L. PAULING bestehen, kommen in den Theorien beider Autoren über die Struktur, die Spezifität und den Bildungsmechanismus der Antikörper besonders scharf zum Ausdruck [siehe P. JORDAN (3, 5, 7) und L. PAULING], weil sie sich auf denselben, enger begrenzten und problematisch weniger komplizierten Spezialfall von intracellulärer Proteinsynthese beziehen. In einer neueren Abhandlung über „Proteinsynthese und Wachstum“ schreibt P. RONDONI (S. 36): „Ich möchte bemerken, daß für die Frage der Proteinsynthese die Entscheidung über die wirkliche Natur und Organisationsstufe der Virusproteine nicht von grundlegender Bedeutung ist.“ Dieser Satz läßt sich umkehren und erweitern; er bedeutet in seiner allgemeinsten Fassung nur, daß zwischen den verschiedenartigen Phänomenen, denen eine Bildung von spezifischem Eiweiß im Binnenraum von Zellen zugrunde liegt, Beziehungen existieren könnten, daß wir aber diese Beziehungen vorderhand nicht anzugeben vermögen. Zur Zeit stellt jedes dieser Phänomene ein ungelöstes Problem dar und die Zurückführung aller auf ein gemeinsames Prinzip bedeutet ein Wagnis, das P. JORDAN (5, S. 100) in besonderer Berücksichtigung seiner molekularphysikalischen Deutung der Eiweiß-Autokatalysen mit folgenden Worten beurteilt: „Ob die angedeuteten Lösungsversuche auf einen richtigen

Weg führen, oder ob die wirkliche Lösung in ganz anderer Richtung gesucht werden muß, wird die Zukunft lehren.“

Man kann aber — wie dies auch JORDAN (5, S. 100, und 4, S. 133f.) selbst tut — über diese Frage hinausgehen und die Möglichkeit erwägen, daß die Mittel, welche Physik und Chemie der experimentellen Forschung wie der theoretischen Spekulation derzeit zur Verfügung stellen, ihrer Natur nach nicht geeignet sind, das Problem der Virusvermehrung und mit ihm das Geheimnis des Lebens zu entschleiern. Unter Berufung auf NIELS BOHR, der einen ähnlichen Gedanken ausgesprochen, gesteht auch JORDAN (l. c.), „daß schon im einzelnen vermehrungsfähigen Molekül grundsätzlich neuartige Naturerscheinungen mit ins Spiel kommen könnten“ (vgl. hiezu auch A. SZENT-GYÖRGYI). Das ist im Grunde genommen ein vitalistisches Provisorium, und wenn man damit rechnet, daß der Erforschung der Eiweißstrukturen „prinzipielle, nicht nur durch den augenblicklichen Stand der technischen Mittel bedingte“ Grenzen gezogen sein könnten (JORDAN, l. c.), fürchtet man, daß sich das Provisorium stabilisiert.

An anderer Stelle (S. 27ff.) wurden die Versuche besprochen, welche durch bekannte chemische Eingriffe an Virusproteinen jene chemischen Strukturen dieser infektiösen Agenzien vermitteln wollen, welche ihrer Vermehrungsfähigkeit in einer empfänglichen Wirtspflanze zugrunde liegen. Diese Fragestellung geht — zumindest implicite — von der Annahme aus, daß die Vermehrungsfähigkeit dem Virusprotein bzw. seinem chemischen Bau bereits anhaftet, in demselben präformiert ist. In den autokatalytischen Hypothesen figuriert das Virusprotein hingegen als Enzym, welches die Umsetzung der Proteine der Wirtszellen in ein mit ihm identisches Produkt einleitet und unterhält; die direkte Vermehrungsfähigkeit der Virusproteine wird durch diese Konzeption als überflüssig ausgeschaltet. Man könnte diese erkenntnistheoretische Gegensätzlichkeit einebnen, wenn man an die Stelle der direkten Vermehrungsfähigkeit der Virusproteine den Begriff der enzymatischen Aktivität treten läßt; aber es wäre dies eine nachträgliche Korrektur zugunsten einer Hypothese, die sich noch kein Anrecht auf solche Bevorzugung erworben hat, oder zugunsten des Dogmas, daß Stoffen von der Art der Virusproteine die direkte Vermehrungsfähigkeit unter keinen Umständen zuerkannt werden darf. Da es, wie oben betont, als fraglich hingestellt wird, ob man mit den verfügbaren Mitteln der Chemie und Mikrophysik die Ursache der Vermehrung oder den Mechanismus dieses Vorganges zu ergründen vermag, erscheint es berechtigt, sich nach biologischen Analogien umzusehen, die, wenn sie auch nicht in allen Punkten zutreffen, doch zu einer Lösung verhelfen könnten.

5. Viruselemente und Gene.

Seit E. WOLLMANN (1932) auf die Beziehungen hingewiesen hat, welche zwischen diesen beiden biologischen „Einheiten“ bestehen, waren viele Autoren bestrebt, die Tragkraft des Vergleiches zu untersuchen, wobei je nach der aprioristischen oder fachlichen Einstellung bald die gemeinsamen, bald die differierenden Momente in den Vordergrund gerückt wurden. Eine kurze Übersicht über diese Diskussionen findet man im 1. Band des Handbuches der Virusforschung [R. DOERR (4), S. 101f.], woselbst auch hervorgehoben wird, daß die Anhänger der Idee in der Regel nicht verallgemeinert, d. h. daß sie den Gencharakter nicht für *alle* Virusarten angenommen haben, sondern daß sie sich auf die Phagen, von denen auch WOLLMANN ausgegangen war, auf phytopathogene Virusarten und auf die übertragbaren Agenzien maligner Tumoren beschränkten, also auf eine Gruppe, in welcher die mikrobielle Natur nicht so sehr aus dimensionaligen wie aus anderen Gründen als unwahrscheinlich anzusehen war.

Die Ähnlichkeiten, welche zwischen Gen und Viruselement bestehen sollen, wurden in folgender Weise umschrieben:

1. *Dimensional*: Das Volum der Gene bei *Drosophila melanogaster* wurde von GOWEN und GAY (*Genetics* 18, 1933) auf $10^{-6} \mu^3$ geschätzt. Das würde einem Würfel mit der Seitenlänge 10μ oder einer Kugel mit dem Durchmesser von zirka 13μ entsprechen, ein Wert, der hart an der unteren dimensional Grenze der Virusarten liegt (siehe S. 46).

2. *Physikalisch*: Man hat vermutet, daß die Gene Makromoleküle sind (M. DEMEREC u. a.), welche sich aus einer Mehrzahl gleichartiger Untergruppen in periodischer kristallartiger Anordnung aufbauen (U. DEHLINGER und E. WERTZ), wie das bei den Makromolekülen der phytopathogenen Virusarten der Fall ist (siehe S. 12).

3. *Chemisch*: Wenn auch Aussagen über die chemische Natur der Gene hypothetischen Charakter haben [L. GEITLER (2, S. 264)], sei doch nicht zu bezweifeln, daß sie aus Eiweiß, wahrscheinlich aus Nucleoproteinen bestehen.

4. *Physiologisch*: a) Das Wachstum der Gene in den Zellen tritt als Vermehrung individueller Einheiten in Erscheinung; b) im Laufe dieser Vermehrung bekunden die Gene — beurteilt nach ihrer phänotypischen Auswirkung — eine erhebliche Zähigkeit im Festhalten ihrer Eigenschaften, kombiniert mit einem gewissen Grad von Veränderlichkeit, wie er in den spontanen und experimentell induzierten Mutationen zum Ausdruck kommt.

Die Einwände, welche die Gegner der Hypothese vorbringen, sind zweierlei Art. Sie richten sich einerseits gegen die Vorstellung, daß die Virusarten oder doch bestimmte Virusformen wie die Phagen oder die tumorerzeugenden Agenzien *Gene der Wirtszellen* sind, welche sich aus der Abhängigkeit von diesen befreit und als „nackte Gene“ einen gewissen Grad von Selbständigkeit erlangt haben. In dieser Form wird die Hypothese eine spezielle Variante der Lehre von der endogenen Virusentstehung, indem sie die direkte Umwandlung eines physiologischen Gens in ein pathogenes Viruselement als möglich oder wahrscheinlich bezeichnet. Andererseits fußt eine Reihe von Gegenargumenten auf der Verschiedenheit der funktionellen Beziehungen von Gen und Virus zu den Zellen, in denen sich beide vermehren. Die Gene seien physiologische Einheiten, die sich nicht nur als solche fortpflanzen, sondern Reaktionsketten einleiten und steuern, welche mit der Ausbildung hereditär bedingter Eigenschaften enden; die Virusarten dagegen reproduzieren lediglich sich selbst und wirken schädigend auf die sie beherbergenden Zellen.

Diese Einwände sollen hier nicht auf ihren Beweiswert geprüft werden. Es ist offensichtlich, daß die Kritik, mag sie sich nun in der ersten oder in der zweiten Richtung bewegen, am eigentlichen Sinn der Parallele zwischen Gen und Viruselement vorbeizieht. Wesentlich erscheint in erster Linie doch nur die Frage, ob das Gen in chemisch-physikalischer Hinsicht ein selbständiges Gebilde darstellt, welches so wie ein Viruselement gebaut ist oder — enger gefaßt — wie eines jener Viruselemente, welche als Moleküle angesprochen werden; erst nach Erledigung dieser Vorfrage könnte die biologische Ausdeutung mit Aussicht auf Erfolg einsetzen.

Leider fehlen aber die Voraussetzungen für ein solches methodisches Vorgehen, partiell schon von seiten der Viruselemente und fast ganz von seiten der Gene. Über das materielle Substrat der Gene besitzen wir keine gesicherten Kenntnisse. Auf Grund des Studiums der Riesenchromosomen in den Speicheldrüsen der Dipterenlarven glauben manche Cytologen annehmen zu sollen, daß die Gene entsprechend den älteren Angaben in Einzahl in den Chromomeren

lokalisiert sind, also in jenen Teilen des Chromosoms, deren färberische Eigenschaften durch das Vorhandensein von Thymonucleinsäure bedingt sind. Doch ist dies schließlich ebenso hypothetisch wie alle die Eigenschaften, in welchen man Analogien zu den Virusarten erblicken wollte, und — wie die Existenz der Gene selbst, wenn man unter diesem Namen in sich geschlossene, im Chromosom linear angeordnete, korpuskulare und unteilbare Elemente verstehen will.

Hinter der Konzeption so vorgestellter Gene stand ja immer das Problem, wie diese Gebilde in die Chromosomen eingebaut sind; die so oft wiederholte Aussage; sie könnten ebensogut in den Chromomeren wie in den Verbindungsstücken zwischen denselben lokalisiert sein, ließ diesen Konnex deutlich hervortreten wie auch gleichzeitig die Schwierigkeit, die Beziehung zwischen Gen und Chromosom morphologisch aufzuklären. Es standen und stehen aber zwei andere Wege zur Verfügung: die experimentelle Vererbungsforschung und die Heranziehung der neueren Anschauungen über die Struktur hochmolekularer Eiweißkörper.

Bis vor wenigen Jahren konnten die Ergebnisse der experimentellen Genetik als Bestätigungen der Ansicht aufgefaßt werden, daß die Gene unteilbare und konstante Einheiten sind, welche nur durch eine für den Vererbungseffekt belanglose Substanz zusammengehalten werden; sie konnten sich zwar spontan oder infolge willkürlicher Einwirkungen ändern (Mutation), verhielten sich aber dann im Erbgang in grundsätzlich gleicher Weise wie die ursprünglichen Gene, aus welchen sie hervorgegangen waren. Das auch cytologisch nachweisbare „Crossing over“, das Verkleben und Zerreißen homologer Chromosomen unter gleichzeitigem Austausch der Teilstücke sprach nicht gegen, sondern für die Richtigkeit der fundamentalen Voraussetzung, falls eben die Bruchstellen nie die Gene, sondern nur die Zwischensubstanz zwischen denselben durchsetzen. Wie man sich diese Verhältnisse chemisch-physikalisch zurechtlegen könnte, hat D. M. WRINCH gezeigt. WRINCH stellt sich die Chromosomen als fadenförmige micellare Aggregate vor, welche aus zwei ungleichwertigen, in linearer Anordnung miteinander alternierenden Bestandteilen aufgebaut sind: aus verschiedenartigen, die Spezifität und die genetische Auswirkung bedingenden, im gestreckten Chromosom parallel gelagerten Polypeptidketten und aus Nucleinsäuren, welche die Polypeptidketten durch salzartige Bindungen miteinander verketten und den Bruchstellen der Chromosomen entsprechen. Denkt man an die vierbasische Thymonucleinsäure, so wären es je vier benachbarte Polypeptidketten, welche von einer gemeinsamen Nucleinsäureeinlagerung zusammengehalten bzw. periodisch unterbrochen werden. R. GOLDSCHMIDT betont, daß dieses hypothetische Chromosomenmodell noch immer an der Existenz von Genen festhalte; Gen sei hier eben irgend etwas, was zwischen zwei Nucleinsäureknoten liegt. WRINCH weicht jedoch schon stark von den früheren Ideen perlschnurartig aufgereihter Gene ab, indem sie, wie dies A. FREY-WYSSLING (l. c. S. 183) hervorhebt, die Chromosomen nicht als gegliederte Ketten aus abwechselnden Eiweiß- und Nucleinsäurescheiben auffaßt, sondern als durchgehende Eiweißfäden mit eingelagerten Nucleinsäureknoten. Das Gefüge des Chromosoms, das WRINCH im Sinne hatte und durch eine Abbildung (1, S. 559) veranschaulichte, gleicht einem Gewebe, in welchem die Eiweißfäden die Kette, die Nucleinsäuremoleküle den Einschlag bilden; das Chromosom tritt uns hier schon als Ganzes, als „organisiertes Aggregat“ entgegen, und WRINCH verweist auf die Berührungspunkte ihrer Auffassung mit Ansichten, welche schon früher N. K. KOLTZOFF über den Bau der Chromosomen geäußert hatte.

Von hier bis zur völligen Aufgabe der alten Genekonzeption war nur ein kleiner Schritt zurückzulegen. R. GOLDSCHMIDT entschloß sich zu dieser radikalen

Lösung, weil neuere Ergebnisse der experimentellen Vererbungsforschung mit den bisherigen Vorstellungen nicht mehr in Einklang zu bringen waren, so vor allem die verschiedenen Formen des sog. „Position effect“, die Massenmutationen u. a. m. Nach GOLDSCHMIDT wären die ganzen Chromosomen die Einheiten, welche die normale Entwicklung steuern, aber in diesen Einheiten, die einen außerordentlich komplizierten Bau besitzen, müsse, falls sie richtig funktionieren sollen, eine ganz bestimmte innere Ordnung herrschen; jede Umstellung wirke entweder letal oder ändere die Auswirkung des Chromosoms und erzeuge das, was man eine Mutante nennt. Aus dem Gen würde so eine Ortsbezeichnung im Chromosom. Das chemische Modell, welches diesem Sachverhalt am besten entsprechen würde, wäre nach der Ansicht von R. GOLDSCHMIDT aus den Arbeiten von M. BERGMANN und seiner Schule (siehe S. 56) abzuleiten. Alles, was der Genetiker von einem solchen Modell fordern könne, sei im Typus des BERGMANNschen Kettenmoleküls der Eiweißkörper gegeben, dessen Spezifität dadurch entsteht, daß jeder Aminosäurerest nach einem bestimmten einfachen arithmetischen Gesetz wiederkehrt und daß sich alle diese Rhythmen zum Gesamtmuster des Moleküls kombinieren. So könne man sich auch die Chromosomen als riesige Kettenmoleküle vorstellen, und wenn man ihnen, auch in diesem Punkte BERGMANN folgend, die Doppelnatur von Protein und Proteinase zuerkennt, werde auch ihre Fähigkeit verständlich, sich selbst zu synthetisieren und so das Material für die Chromosomenteilung zu liefern.

Allerdings handelt es sich bei allen diesen Ausführungen über die Beziehungen von Chromosom und Gen um Hypothesen. Daß sie aber aufgestellt und bis zur Leugnung des Gens fortentwickelt werden konnten, bringt uns zum Bewußtsein, daß das Gen als körperliche Erb- und Lebenseinheit selbst eine Hypothese war und bis auf den heutigen Tag geblieben ist. „Gewiß ist, daß man die Gene nicht ‚sehen‘ kann“, schreibt L. GEITLER (3, S. 144). Unter diesen Umständen erscheint der Wert eines Vergleiches zwischen Genen und Viruselementen zweifelhaft. Die Viruselemente können wir sehen bzw. abbilden, nach Einführung des elektronenoptischen Verfahrens auch jene Formen, welche man chemisch-physikalisch als Moleküle aufgefaßt hat; und bevor sie sichtbar gemacht wurden, verfügte man schon über Methoden (Filtration, Zentrifuge, Tierexperiment), welche die Gewißheit gaben, daß es sich um korpuskulare Einheiten von konstanten Eigenschaften handle, Methoden, welche im Bereich der Gene nicht anwendbar sind. Will man diese realen Gebilde nicht mit hypothetischen Einheiten, sondern mit ebenso konkreten Schöpfungen der gestaltenden Natur vergleichen, so müßte man sie den Chromosomen gegenüberstellen und dann würden die Analogien zusammenschrumpfen 1. auf die Beteiligung von Nucleinsäuren und spezifischem Eiweiß am Aufbau der Substanz, 2. auf die Vermehrung im Inneren von Zellen, die aber phänologisch und final in beiden Fällen ganz verschieden ist und welcher man nur willkürlich den gleichen Mechanismus autokatalytischer Selbstreproduktion zuschreiben kann, und 3. die Beständigkeit der Eigenschaften im Laufe der Vermehrung, die sich aber beim Chromosom und beim Viruselement in verschiedener Weise äußert. Die dimensionale Beziehung fehlt. Die kleinsten Chromosomen sind $100\text{ m}\mu$ breit und $180\text{ m}\mu$ lang [BLACKBURN, zit. nach L. GEITLER (3, S. 5)], die größten $2\mu \times 25\mu$ [siehe L. GEITLER (2, S. 6)], und wenn sich die Ausmessungen der Viruselemente zwischen diesen Grenzen bewegen würden, wäre die Frage nach ihrer Natur nicht oder erst spät und aus anderen Gründen (Kristallisation der phytopathogenen Virusarten) aufgetaucht. Man hat, wie oben kurz ausgeführt wurde, auch in den Chromosomen, großen und kleinen, riesige Kettenmoleküle erblicken wollen; selbst wenn man sich dieser Auffassung vorläufig anschließen würde, könnte das Chromosomenmolekül kein Modell

für Virusmoleküle abgeben. Durch Ultraschall kann man stäbchenförmige Viruselemente (Tabakmosaikvirus) zerbrechen; die biologische Auswirkung ist aber kein „position effect“, sondern nur eine Abschwächung oder Aufhebung der Infektiosität.

Das Hauptargument aller Autoren, welche in Vergleichen zwischen Viruspartikeln und den Erbinheiten höherer Zellen mehr sehen wollen als in ihnen verborgen sein kann, ist der stets aufs neue betonte Umstand, daß Wachstum und Vermehrung bei beiden nur in höheren Zellen beobachtet wurde. Man bemüht sich gar nicht festzustellen, in welchem Umfange bzw. für welche Virusarten diese Aussage derzeit gültig ist, und ignoriert gerne die Tatsache, daß es Schmarotzer der verschiedensten Organisationsstufen gibt, von welchen das gleiche Verhalten bekannt ist; schließlich ist doch die Züchtung von Virusarten ohne Mitwirkung von Zellen kein grundsätzlich unlösbares Problem von der Art des Perpetuum mobile. In einer Nährlösung, welche nur Salze enthält, kann sich der *Staphylococcus aureus haemolyticus* nicht vermehren; wenn man aber nicht mehr als $0,2 \times 10^{-8}$ Molarkonzentration Nicotinsäureamid zusetzt, erhält man binnen 24 Stunden ein ebenso üppiges Wachstum wie in einer gewöhnlichen Bouillon. Solche Wuchsstoffe sind zum Teil für bestimmte Bakterienarten hochspezifisch. Die Nutzenanwendung auf die Möglichkeit zellfreier Viruszüchtung ist auch ohne weitläufigen Kommentar einleuchtend; gleichzeitig vermittelt das Beispiel die Überzeugung, daß das Chromosomenwachstum in der sich teilenden Zelle ein Phänomen anderer Ordnung sein muß, da die Isolierung und Züchtung von Chromosomen *in vitro* auch dem Unbefangenensten als eine *a priori* aussichtslose Aufgabe imponieren wird. Man darf eben nicht vergessen, daß für Virusinfektionen mit wenigen Ausnahmen nur die exogene Entstehung, d. h. das Eindringen von bereits geformten Elementen in die Wirtsgewebe in Betracht kommt, während Genom und Plasmon Bestandteile von Zellen, und zwar von höher organisierten kernhaltigen Zellen sind. Die Mitose ist das morphologische Bild der Vermehrung solcher Zellen. Es gibt aber tieferstehende Zellen wie die kernlosen Protisten, welche sich nicht mitotisch vermehren; vom Mechanismus der Vermehrung und Vererbung in diesem Bereich ist wenig bekannt, aber es ist *a priori* klar, daß sich hier entweder kontinuierliche Übergänge von der Mitose bis zur Vermehrung der makromolekularen Viruselemente finden müssen, oder daß wir irgendwo eine Trennungslinie zu ziehen haben, unterhalb welcher die Massenzunahme und das Wachsen „aus sich heraus“, wie es schon JAKOB HENLE verstanden hat, nicht mehr existiert und durch einen anderen Vorgang ersetzt wird. Die erste Lösung ist grundsätzlich die wahrscheinlichere, aber dem Inhalte nach eine bloße Aussage, da man keine genaueren Angaben über die von der Mitose nach abwärts führenden Formen des individuellen Wachstums und der individuellen Vermehrung machen kann, ebensowenig wie über den Endpunkt, dem sie zustreben; die zweite Alternative muß aus dem gleichen Grunde die Antwort schuldig bleiben, wo sie die Trennungslinie lokalisieren will. Wenn man vielfach geneigt ist, den Virusarten überhaupt oder den makromolekularen Viruselementen im besonderen die autokatalytische Vermehrung als eine eigenartige, bei anderen Mikroben nicht vorhandene Form des Wachstums zuzuerkennen, so gerät man mit sich selbst in Widerspruch, wenn man die Verdoppelung der Chromosomen auf denselben Prozeß zurückführt. Denn so wird die Grenze ausgelöscht und die Virusvermehrung auf die Produktion von Eiweißkörpern irgendwelcher Art zurückgeführt; nach der Devise von N. K. KOLTZOFF, „*Omnis molecula ex molecula*“, wäre dann jedes Eiweiß befähigt, Kopien seiner selbst durch „Ankristallisieren“ an die bereits vorhandenen Moleküle zu erzeugen. Oder doch nicht *jedes* Eiweiß? Hochmolekulare Proteine vermehren sich ja nicht

in vitro und die Plasmaglobuline wachsen im strömenden Blut nicht „aus sich heraus“, sondern sind Produkte von Zellen. Man könnte sich durch derartige Betrachtungen veranlaßt sehen, zwei Zustandsformen oder Lagebeziehungen hochmolekularer Proteine zuzugeben, von welchen nur die eine Autokopien herzustellen vermag, und würde auf einem mechanistischen Umweg wieder in bedenkliche Nähe der alten, als anrühlich geltenden vitalistischen Vorstellungen geraten.

Der Vergleich mit Erbinheiten, die verschiedenen Formen autokatalytischer Hypothesen sowie alle anderen chemisch-physikalischen Theorien vermögen die Beziehungen der Virusarten zu ihren Wirten nicht in befriedigender Weise zu erklären. Man kann natürlich annehmen, daß Empfänglichkeit und Unempfänglichkeit auf dem Vorhandensein oder Fehlen von Eiweißbausteinen beruht, welche für die autokatalytische Synthetisierung der Autokopien erforderlich sind. Um aber für dieses allgemeine Prinzip eine sichere Grundlage zu schaffen, müßte man die Bausteine — wenigstens für eine beschränkte Zahl von Spezialfällen — ausfindig machen und zeigen können, wie sie in die Synthese der Viruselemente eingehen. Bis jetzt ist dieses Postulat nicht erfüllt worden und seine Erfüllbarkeit erscheint sogar von vornherein zweifelhaft, wenn man bedenkt, daß beispielsweise die chemisch-physikalische Rekonstruktion des Gelbfiebersvirus in einer sehr beschränkten Zahl von warmblütigen Tieren und einigen Aëdesarten möglich sein soll, in einer unübersehbaren Schar von Warmblütern und Insekten dagegen nicht, des als *Chlorogenus callistephi* var. *vulgaris* bezeichneten phytopathogenen Virus in einer größeren, aber immerhin doch noch ziemlich begrenzten Zahl von Dicotyledonen (zirka 170 Arten nach F. O. HOLMES) und in bestimmten Cicadelliden, speziell in *Cicadula sexnotata* (L. M. BLACK). Solche bizarre Kombinationen möglicher Wirte sind im Bereiche der tier- und pflanzenpathogenen Virusarten keineswegs seltener als bei den infektiösen Mikroorganismen [R. DOERR (7)], und wenn wir sie hier auf eine der allgemeinsten Eigenschaften der Lebewesen, auf die Anpassungsfähigkeit bzw. auf das Angepaßtsein an bestimmte Bedingungen des Erhaltungs- und Ernährungsstoffwechsels zurückführen, besitzen Vorstellungen gleicher Art auch dort das Wahrscheinlichkeitsvorrecht. Alle diese „Gast-Wirt-Beziehungen“ funktionieren überdies, mögen sie noch so besonders und kompliziert sein, im Hinblick auf den Fortbestand der pathogenen Mikroben einschließlich der Virusarten äußerst zweckmäßig, wie dies R. E. SHORPE für das Virus der bovinen Pseudorabies und der Schweineinfluenza in eindrucksvoller Darstellung gezeigt hat.

Meines Erachtens erschließen die chemisch-physikalischen Theorien der Virusvermehrung auch kein tieferes Verständnis für die „Individuation“ der Viruselemente, d. h. für die Tatsache, daß die Massenzunahme der spezifischen Substanz immer wieder von der Ablösung eines neuen Viruselements unterbrochen wird, daß sich also die Virusarten in der Natur durch die Aufeinanderfolge gleichartiger Individuen erhalten. Der Vergleich der Viruselemente mit freien oder nackten Genen erscheint in dieser Beziehung besser zu entsprechen; vermutlich hat er sich aber nur deshalb Anhänger erworben, weil er nicht dazu verpflichtet, die Viruselemente als unbelebte Korpuskel aufzufassen, oder, anders formuliert, zwischen ihnen und allen übrigen infektiösen Mikroben einen fundamentalen Gegensatz zu konstruieren. Dieses Motiv hat schon bei E. WOLLMANN mitgespielt und tritt bei J. ALEXANDER, ALEXANDER und BRIDGES, C. C. LINDGREN u. a. ganz in den Vordergrund. ALEXANDER und BRIDGES z. B. betrachten „belebt“ und „unbelebt“ als zwei scharf geschiedene Zustandsformen, welche nicht durch irgendwelche Zwischenglieder oder Übergänge verbunden sind; es gäbe nur verschiedene Typen von Lebensformen, die sich durch die größere oder

geringere Kompliziertheit der Verbände unterscheiden, zu welchen sich die Gene im Individuum zusammenschließen. Wenn so das Gen als die ursprünglichste und einfachste Form hingestellt wird, welche lebende Substanz überhaupt annehmen kann, involviert die Auffassung der Viruselemente als freier Gene eo ipso die Anerkennung ihrer belebten Natur. Diese Folgerung ist offenbar der springende Punkt; um sie durchzusetzen, werden alle Einwände, welche sich der Identifizierung von Viruspartikel und Gen entgegenstellen, durch hemmungsloses Türmen von Hypothesen zu überbrücken gesucht.

C. C. LINDEGREN hat sich in dieser Hinsicht besonders weit vorgewagt. Er nimmt an, daß in jeder Zelle ein Antagonismus zwischen Cytoplasma und Genen besteht, der aber nicht zu voller Auswirkung gelangt, weil sich zwischen beide zwei Isolatoren einschalten: die Chromatinsubstanz der Chromosomen, welche die Gene umhüllt, und die Kernmembran. Das freie Gen dagegen stünde in direktem Kontakt mit dem Cytoplasma, kann sich daher unbeschränkt vermehren und das Cytoplasma zerstören. Unter den Bedingungen, welche die Gene möglicherweise frei machen, führt LINDEGREN die Übertragung tierpathogener Virusarten durch Insekten an. Die Insekten könnten kernhaltige Zellen aufnehmen und bis auf die Gene verdauen; diese würden das Insekt wegen ihrer schwachen Antigenfunktion nicht immunisieren, sondern als Parasiten besiedeln und dabei ihren Charakter durch Mutation ändern, so daß sie dann auch zu Parasiten für das Tier werden, von dem sie stammen.

1937 veröffentlichte H. H. DIXON unter dem Eindruck der Arbeiten von STANLEY, BAWDEN, PIRIE, BERNAL und FANKUCHEN sowie von J. CALDWELL eine kurze Notiz: „Are viruses organisms or autocatalysts?“ Titel und Inhalt ließen keinen Zweifel bestehen, daß DIXON einen scharfen Gegensatz zwischen „Organismus“ und „Autokatalysator“ als selbstverständlich voraussetzte. Dieser Standpunkt kann insofern als verlassen gelten, als ja jetzt auch die Verdoppelung der Gene bzw. der Chromosomen auf autokatalytische Prozesse zurückgeführt wird, so daß LINDEGREN schon 1938 mit einer gewissen Berechtigung schreiben durfte: „A gene is an autocatalytic living particle, which produces an enzyme. Therefore, the view that the bacteriophage is an autocatalytic enzyme, is in agreement with the view that it is living.“ Seither hat sich die Auffassung, daß die intracellulären Proteinsynthesen als Autokatalysen verlaufen, in erhöhtem Ausmaße durchgesetzt (siehe die Ausführungen auf S. 53 ff.), so daß dieser Mechanismus des Wachstums in der herrschenden Ideenwelt nicht mehr als Kriterium für die unbelebte Natur irgendwelcher Gebilde gilt — jene Richtung ausgenommen, welche den Begriff des Lebens nicht in einem Zellbestandteil, auch nicht in den Chromosomen oder den hypothetischen Genen verwirklicht sieht, sondern nur in der „Ganzheit“ der Zelle, in dem Zusammenwirken und der Unterstellung aller Teile und Partialfunktionen zur höheren, individuellen Einheit. Doch ist solcher Beschränkung der Definition des Lebens auf die bereits hochorganisierte Zelle entgegenzuhalten, daß das Prinzip der Beziehung aufs Ganze in vereinfachter Form, etwa im Rahmen eines sehr komplexen Moleküls gewahrt sein könnte; in welcher Art, entzieht sich allerdings völlig unserer Einsicht, ebenso wie jede sichere Aussage, ob sich ein solcher „Molekulobiont“ autokatalytisch vermehren könnte, oder ob dieser Vermehrungsprozeß beim Absinken auf die niedrigste Lebensstufe der einzig mögliche wäre.

Wo die sich mitotisch teilende Zelle aufhört, beginnt eben die Unsicherheit. Einen überzeugenden Beweis für diesen Satz hat J. GRAINGER, ohne dies zu wollen, erbracht, der auch die Bakterien nicht mehr als Lebewesen betrachten möchte, und ihre Vermehrung in dem Sinne deutet, daß sie den Nährboden veranlassen, autokatalytisch neue Bakterien zu bilden. Die primitiven Arten der Vermehrung gestatten nach GRAINGER keine sichere Unterscheidung von „belebt“ und „un-

belebt“; wenn DIXON, welcher in den Virusarten unbelebte Substanzen sah, die Vermehrung der STANLEYSchen Virusproteine in Extrakten gesunder Wirtszellen für möglich hielt, weil die Bedingungen für eine autokatalytische Selbstreproduktion gegeben sein könnten, so kommt das schließlich aufs gleiche hinaus wie GRAINGERS autokatalytische Bakteriogenese. Mehr als bloße Vermehrung spricht nach GRAINGER aktive Eigenbeweglichkeit für das Vorhandensein von Leben; wie er aber dieses Kriterium anwendet, erhellt daraus, daß er dem Tabakmosaikvirus Vitalität zuschreibt, weil es sich in der Tabakpflanze rasch und in entgegengesetzter Richtung zu den natürlichen Saftströmungen ausbreitet. Daß auch unbewegliche Bakterien diese Fähigkeit besitzen, ist GRAINGER offenbar nicht bekannt.

Zusammenfassend muß also festgestellt werden, daß bisher keine Gewißheit darüber erzielt wurde, ob und in welcher Richtung Wachstum und Vermehrung der Virusarten im allgemeinen und der als infektiöse Moleküle geltenden Formen im besonderen von den gleichbenannten Vorgängen in Organismen abweichen. Man erhält sogar vielfach den Eindruck, als ob eine zuverlässige Entscheidung dieser Frage nicht unbedingt geeignet sein müßte, gleichzeitig auch das Dilemma „belebt“ oder „unbelebt“ eindeutig zu beantworten.

Was hier über Virusvermehrung gesagt werden konnte, bezieht sich, wie schon an anderer Stelle angedeutet wurde, auf den weitaus überwiegenden und sowohl durch Beobachtungen wie auch durch Experimente einwandfrei gesicherten Fall, daß die Virusinfektion *exogen*, d. h. durch Eindringen eines wirtsfremden Agens von außen her zustande kommt. Dieser Fall ist nicht nur der vorherrschende, sondern auch der grundsätzlich einfachere, da er sein Analogon in der Schar der ausnahmslos exogenen Infektionen durch pathogene Mikroorganismen findet. A priori schwerer verständlich — schon wegen der fehlenden Analogie — erscheint die Vermehrung eines *endogenen*, d. h. im Wirt entstandenen Virus. Doch stellt hier die Herkunft des Virus das primäre und wichtigere Problem dar, während die Vermehrung zu einer sekundären Angelegenheit wird; demgemäß soll dieses Kapitel im nächsten Abschnitt behandelt werden.

V. Phylogenese der Virusarten und Abiogenese. Abiogenetische Entstehung der Proteine.

Bei den pathogenen Mikroorganismen halten wir an dem Grundsatz fest, daß sie sich aus autonomen, frei lebenden Keimen ähnlicher Art durch Anpassung an die Existenz in einem Wirt entwickelt haben müssen. Die Infektion kann vom biologischen Standpunkt nur als ein Spezialfall einer Gast-Wirt-Beziehung aufgefaßt werden [R. DOERR (7)], und jede Synthese einer solchen Beziehung setzt die vorgängige Existenz beider Komponenten in selbständiger, voneinander unabhängiger Lebensführung voraus. Den infektiösen Protisten steht eine Schar von nicht-parasitischen, d. h. frei lebenden Organismen gegenüber, welche auf Grund ihrer Eigenschaften in die gleichen Ordnungen und Gattungen des natürlichen Systems der Arten eingereiht werden müssen; ihr Vorhandensein gilt uns als Beweis für die Möglichkeit des Überganges zum Schmarotzertum. Anders läge die Situation, wenn uns beispielsweise nur infektiöse, d. h. parasitierende Bakterien bekannt wären; wir müßten dann die Frage zu beantworten suchen, warum die saprophytischen Doppelgänger fehlen, und hätten die Wahl zwischen zwei Aussagen, nämlich: 1. Diese autonomen Formen haben einmal existiert, sind aber ausgestorben; 2. sie haben nie existiert, weil sie nicht existenzfähig sind. Da aber keine phylogenetische Entwicklungsreihe mit einem Parasiten

beginnen kann (ſiehe oben), ſo müßten die vorhandenen infektiöſen Arten entweder Erzeugniſſe der Wirte ſein oder von Lebensformen abſtammen, die zwar noch vorhanden ſind, mit welchen ſie aber inſolge der durch den Parasitiſmus bedingten Rückbildungsvorgänge keine Ähnlichkeit haben.

Das ſind nun die Verhältnisse, wie ſie bei den Virusarten tatsächlich beſtehen. Nur kompliziert ſich hier die Problemſtellung inſofern, als man mit der Möglichkeit rechnen könnte, daß autonome Lebensformen mit den Eigenſchaften der tier- und pflanzenpathogenen Virusarten zwar in der Natur vorkommen und ſich vermehren, daß uns aber die Mittel zu ihrem Nachweis mangeln. Es iſt indes nicht wahrſcheinlich, daß Entdeckungen bevorſtehen, welche über das weſentlich hinausgehen, was wir über die filtrierbaren Abwäſſerorganismen (P. LAIDLAW und W. J. ELFORD, G. SEIFFERT) und die ſog. L-Kulturen (E. KLIENEBERGER, A. B. SABIN u. a.) wiſſen, und in dieſen ſpärlichen Fällen handelt es ſich um Mikroben, deren Größenausmeſſungen in das obere Ende der dimensionalen Liſte anerkannter Virusarten hineinragen. Von der unüberſehbaren Mannigfaltigkeit frei lebender Protozoön und Protophyten, welche den parasitierenden Arten gegenüberſtehen, kann alſo keine Rede ſein, und wenn wir in der dimensionalen Skala der Virusarten nur etwas weiter hinabſteigen, verſchwinden die frei lebenden Gegenſtücke, die „saprophytiſchen Virusarten“, wie man ſie wiſſendſinnig genannt hat, alſobald gänzlich.

Wenn man nun annehmen wollte, daß dieſe Formen einmal exiſtiert haben, aber auſgeſtorben ſind, begäbe man ſich auf den unſicheren Boden willkürlicher, ad hoc konstruierter Hypotheſen und ſollte außerdem nachweiſen, daß ihre freie Exiſtenz keine biologische Unmöglichkeit darſtellt. Dieſer Beweis konnte jedoch nicht erbracht werden, da eine Viruszüchtung auf unbelebten Medien biſher nicht geglückt iſt. So weit unſere gegenwärtigen Kenntniſſe reichen, können ſich die Virusarten außerhalb ihrer Wirte nicht vermehren und auf die Dauer auch nicht erhalten (ſiehe S. 4), ſo daß man nicht zu der Auſſage berechtigt iſt, daß Lebensformen von der Art der uns bekannten pathogenen Virusarten einmal als unabhänigige Weſen exiſtiert haben und bloß ſpäter auſgeſtorben ſind. Hingegen iſt es eine durch ungezählte Beobachtungen erhärtete Tatsache, daß der Parasitiſmus zu Rückbildungen führt, welche die Körpermaſſe, die morphologiſche Differenzierung und die Funktionen betreffen und um ſo intensiver zur Auſprägung gelangen, je mehr die Abhängigkeit vom Wirt dem Extrem der Lebensunfähigkeit außerhalb deſſelben zutreibt. Wir ſehen die Reſultate ſolcher Prozeſſe nicht nur bei großen und hochorganisierten Schmarotzern, ſondern auch bei den Protisten. So hat z. B. B. J. KRUGSMAN die fermentativen Leiſtungen deſ Trypanoſoma evaſi unſerſucht und iſt auf Grund ſeiner Ergebnisse zu dem Schluſſe gekommen, daß dieſes relativ noch hochdifferenzierte Protozoon ſeinen Stoffwechſel ſchon ſo weit abgebaut hat, daß von den Vorgängen, die man an frei lebenden Tieren beobachtet, nur mehr der Hexoſenabbau und der Proteïn-aufbau übrig geblieben ſind, und daß alles übrige dem Wirt überlaſſen wird. Es beſteht kein prinzipielles Hindernis, die Eigenſchaften, welche die Virusarten heute zeigen, als maximale Auſwirkung der Tendenz obligater Parasiten zur Reduktion ihrer Leibbeſſubſtanzen und zur Einbuße aller für die Erhaltung ihrer Art nicht mehr notwendigen Funktionen aufzufaſſen. Tut man das aber, ſo ſteht man folgerichtig vor ganz bemerkenswerten Konſequenzen, auf welche mehrere Autoren, u. a. auch R. DOERR (3, 4, 7, 9) und R. G. GREEN hingewieſen haben:

1. Zwiſchen den jetzt vorhandenen Virusarten und ihren freilebenden Vorfahren braucht nicht die geringſte Ähnlichkeit angenommen zu werden.

2. Es iſt höchſt unwahrſcheinlich, daß alle Virusarten aus einer einzigen Stammform hervorgegangen ſind; ebensowenig beſteht eine Veranlaſſung,

sämtliche Virusarten als Abkömmlinge einer der jetzt existierenden Protisten-*gruppen*, z. B. der Bakterien oder der Protozoen, zu betrachten. Die Mannigfaltigkeit der Virusarten spricht vielmehr dafür, daß es sich um eine auch phylogenetisch inhomogene Klasse von infektiösen Keimen handelt (R. GREEN), und daß die supponierte Rückbildung nicht bei allen Virusarten gleich weit fortgeschritten ist (vgl. S. 51).

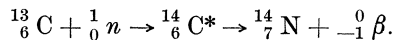
3. Sind die Virusarten Produkte eines progredienten Rückbildungsprozesses, so können sie nicht als Prototyp der einfachsten und ursprünglichsten Wesen gelten, welche zuerst auf der Erde aufgetreten sind. Aus den Eigenschaften der Virusarten kann also keine Vorstellung abgeleitet werden, wie die ersten Lebewesen beschaffen gewesen sein könnten, und andere, auch nur einigermaßen zuverlässige Anhaltspunkte stehen nicht zu Gebote. Die Vorfahren der Virusarten kommen jedenfalls nicht in Betracht, da sie, wenn man eben die Rückbildungshypothese akzeptiert, höher organisiert gewesen sein müßten und etwa den mikroskopisch sichtbaren Protisten entsprochen haben dürften; daß solche Gebilde am Beginne der gesamten Entwicklung gestanden sind, erscheint als untragbarer Gedanke. Nebenbei bemerkt ergibt sich auch aus der Theorie der endogenen Virusbildung die Unmöglichkeit, eine plausible Vermutung über den Ursprung des Lebens bzw. über die Natur der ersten Lebensformen zu äußern; denn in allen Fällen, für welche die Theorie mit größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit begründet werden konnte, wird als Geburtsstätte des Virus der Mensch oder der Organismus höherer Tiere oder Pflanzen, und selbst in dem für die Spekulation günstigsten Falle (bei den Bakteriophagen) der Körper der Bakterien angegeben.

Könnte die Rückbildungshypothese oder, präziser ausgedrückt, ihre spezielle Nutzanwendung auf die Entstehung der Virusarten falsch sein? Das muß als möglich zugegeben werden, da die Ausgangsformen unbekannt sind und da man vom Endeffekt der Rückbildung eigentlich nur behaupten kann, daß die Vermehrung an die Anwesenheit lebender Zellen gebunden erscheint, ein Phänomen, das hinsichtlich seines Mechanismus vieldeutig ist und vermutlich schon im Virusbereiche verschiedene Ursachen hat. Denkbar ist es ferner, daß sich die Verhältnisse auf der Erdoberfläche geändert haben und daß früher einmal Gebilde mit den Eigenschaften der Virusarten außerhalb von Wirten existenzfähig waren. Aber wie die Dinge jetzt liegen, darf man mit R. GREEN die Rückbildungshypothese als die beste Lösung bezeichnen, weil sie die bekannten Auswirkungen des Parasitismus heranzieht, um die gemeinsamen und differierenden Merkmale der nur als Parasiten bekannten Virusarten zu erklären.

Als durch W. M. STANLEYS Untersuchungen die Auffassung an Wahrscheinlichkeit gewonnen hatte, daß die Elemente, d. h. die biologischen Einheiten des Tabakmosaikvirus und anderer phytopathogener Virusarten den Molekülen hochmolekularer Eiweißstoffe entsprechen, waren manche Autoren überzeugt, daß man auf diesem Wege dem Problem der Urzeugung nähergerückt sei als je zuvor. Wie dies J. ALEXANDER u. a. ausführten, müsse man sich die erste Form des Lebens so einfach vorstellen als möglich, und diese Forderung erfülle eben ein Molekül (der „Molekulobiont“), welches die nötigen chemischen Prozesse katalytisch einzuleiten und zu unterhalten vermag, und das gleichzeitig eine Verdoppelung seiner selbst autokatalytisch zu bewerkstelligen imstande ist, ein „autokatalytischer Katalysator“. Die biologische Möglichkeit einer derartigen Urform sei im Prinzip durch den Nachweis von molekulardispersen Virusproteinen außer Zweifel gestellt, nur müsse sie im Gegensatz zu diesem noch erhaltenen Modell selbständiger gewesen sein und sich ohne Mithilfe von Organismen vermehrt haben, etwa nach Art der autotrophen Bakterien. Für die Existenz-

möglichkeit eines solchen freilebenden Molekulobionten besitzen wir jedoch keinen Beweis, und der Hinweis auf die autotrophen Bakterien soll nur einen Stoffwechsel auf Kosten einfachster chemischer Verbindungen verständlich machen, abstrahiert aber vom Molekül als substantieller Einheit. Die Virusproteine sind ferner hochmolekular und besitzen nach den Untersuchungen von W. T. ASTBURY, W. M. STANLEY (2, 6, 7, 8), STANLEY und C. A. KNIGHT, H. S. LORING, J. D. BERNAL und J. FANKUCHEN, G. SCHRAMM u. a. eine komplizierte innere Struktur; es ist nicht wahrscheinlich, daß Produkte von solcher Beschaffenheit den Prozeß fortschreitender Differenzierung eröffnet haben.

Statt sich in Vermutungen über die Eigenschaften der ersten Lebensformen zu ergehen, kann man als Objekt der Spekulation die Bedingungen wählen, welche für die primordialen Etappen der Urzeugung erforderlich und maßgebend gewesen sein dürften. So vertrat beispielsweise A. J. OPARIN die Ansicht, daß die für solche Vorgänge notwendigen Reaktionen nicht möglich waren, solange nur Lösungen verschiedener organischer Verbindungen von einfachem Bau die Erdoberfläche bedeckten; es mußten erst kompliziertere Stoffe sowie bestimmte Fermente und Kolloide entstehen, vor allem auch Moleküle, welche gewisse Gruppierungen von Kohlenstoff und Stickstoff enthielten. JOHN TANDBERG machte dann, OPARINS Gedanken weiter verfolgend, auf einen bisher nicht diskutierten Weg aufmerksam, der zur Bildung solcher Verbindungen von Kohlenstoff und Stickstoff führen konnte und von den gewöhnlichen chemischen Reaktionen verschieden wäre. Unter der Einwirkung der kosmischen Strahlung oder harter, von den radioaktiven Substanzen der Ozeane ausgehender γ -Strahlen, konnte das Deuterium des im Ozean vorhandenen schweren Wassers Neutronen produzieren. Diese Neutronen würden dann mit Atomkernen von im Wasser gelösten Molekülen reagieren; so könnte ein schweres C-Atom in einer schon vorhandenen Kohlenstoffkette zunächst in ein unbeständiges radioaktives isotopes C-Atom und durch Ausstoßung eines β -Teilchens in ein stabiles N-Atom umgewandelt werden nach der Formel



Wenn das Molekül, in welchem sich dieser Vorgang abspielt, nicht durch den Rückstoß oder durch das β -Teilchen zerstört wird, könnte das neu entstandene N-Atom zur Bildung eines neuartigen Moleküls führen, in welchem C—N-Bindungen vorhanden sind, und das seinerseits zu neuen Reaktionen befähigt wäre. TANDBERG gibt noch andere Beispiele für solche kernphysikalische Reaktionen, welche in frühen Perioden der Erdgeschichte vorherrschend gewesen sein können und ihrer Natur nach geeignet erscheinen, die fortschreitende Entwicklung der organischen Substanzen zu ermöglichen, vielleicht auch die Entstehung der ersten primitiven, heute nicht mehr existierenden Lebensformen. TANDBERG bezieht sich in dem zitierten Aufsatz nicht auf die Virusarten, wenigstens nicht expressis verbis. Seine Hypothese kollidiert jedenfalls nicht mit der Vorstellung, daß die Virusarten durch Rückbildung aus Protisten von mikroskopischen Dimensionen entstanden sind; sie macht ja keine Aussage über die Merkmale der ersten Lebensformen, sondern will nur über das Zustandekommen von Bindungen zwischen C und N in schon vorhandenen Kohlenstoffketten Auskunft geben, also, wenn man so will, über die Bildung von Eiweiß und eiweißartigen Stoffen außerhalb von Organismen. Daß zu diesem Zweck nicht wieder das Schlagwort der „Autokatalyse“ aufgerufen wird, sondern die Forschungsergebnisse der Atomphysik, mag als Vorteil gewertet werden, da unsere Anschauungen über den Bau und die gesetzmäßigen Bewegungen im Atom zweifellos einer mechanistischen Erfassung der Lebensvorgänge Vorschub leisten (siehe u. a. A. SZENT-GYÖRKYI).

Auf den zurückgelegten Weg rückschauend dürfen wir als bleibenden und prinzipiell wichtigen Erwerb die Erkenntnis verzeichnen, daß die einfachsten Virusarten aus Proteinen und Nucleinsäure bestehen, den Bausteinen, die uns als Träger von Leben, Vermehrung, Erbbeständigkeit und Variabilität bei allen Organismen entgegentreten. Die einfachste physikalisch-chemische Form der Viruselemente ist das Makromolekül mit periodischem Feinbau, ein Gebilde, das von der bisherigen Vorstellung eines Organismus weitgehend abweicht. Es ist zwar nicht bewiesen, aber doch wahrscheinlicher als jede andere Vermutung, die man zur Zeit äußern könnte, daß die Reduktion vom Protisten auf das Makromolekül durch einen lang dauernden, geologische Epochen beanspruchenden und durch Parasitismus bedingten Rückbildungsprozeß herbeigeführt wurde, der den Verlust aller morphologischen und funktionellen Einrichtungen bewirkte, welche durch die Ausnutzung fremder Lebensenergien überflüssig gemacht werden können. Über den morphologischen Rest sind wir unterrichtet, über den funktionellen kaum; gewahrt ist jedenfalls die Idee des Individuums und der Erhaltung seiner Art durch aufeinanderfolgende Generationen.

Über die phylogenetischen Vorläufer der Virusarten ist vorderhand keine Aussage möglich; daß sie von gleichartigen, freilebenden Formen abstammen, ist aus mehrfachen Gründen nicht anzunehmen. Diese Feststellung bedeutet einen Verzicht, von der Virusforschung aus das Problem der Urzeugung zu lösen, ein Verzicht, der allerdings nicht endgültig zu sein braucht, da er an eine hypothetische Prämisse, die Rückbildung durch Parasitismus, gebunden ist.

Man kann auch nicht behaupten, daß man durch das Studium der Virusarten im allgemeinen und der molekulardispersen im besonderen zu einer Definition des Lebens gelangt sei. Aber es ist zweifellos außerordentlich wertvoll zu wissen, daß Nucleoproteine in molekularer Aufteilung gewisse Eigenschaften zeigen können, die wir bei allen Organismen konstatieren. Der Wert dieser Einsicht wird durch die Annahme keineswegs beeinträchtigt, daß dieser Endzustand durch Parasitismus zustande gekommen ist; denn gerade diese Annahme ist das biologische und einstweilen auch das erkenntnistheoretische Bindeglied zwischen Organismus und lebendem Molekül.

Diese Einstellung zum Virusproblem ist naturgemäß geeignet, die Grenzen zwischen „belebt“ und „unbelebt“ zu vertiefen oder zumindest aufrechtzuerhalten, statt sie, wie man wohl ursprünglich erwartet und auch gewünscht hatte, einzu-ebnen. Zu einem vitalistischen „Ignorabimus“ liegt jedoch kein zwingender Grund vor. Der Naturforscher kann sich auf diesen Standpunkt nicht festlegen, und was die Virusforschung in den letzten Jahren zutage gefördert hat, ist, wenn auch keine Entscheidung, so doch eine Annäherung an weiter gesteckte Ziele und ein Unterpfeiler, weitere Etappen auf diesem schwersten Wege zurückzulegen. Daß jedem menschlichen Erkennen der Natur unüberschreitbare Grenzen gezogen sind, welche im erkennenden Subjekt ihren unveränderlichen Grund haben, ist jedem, der über diese Beziehungen nachgedacht oder sich in das Denken führender Geister über diese Dinge vertieft hat, klar und braucht nicht immer aufs neue wiederholt zu werden. Wichtig ist, daß wir auf Grund der Erfahrung zugestehen müssen, daß wir nicht sagen können, wo diese Grenze liegt und wann sie erreicht sein wird, in der Lehre vom Leben noch weniger als in anderen Gebieten naturwissenschaftlichen Fortschrittes.

Literaturübersicht.

- ALEXANDER, J.: (1) Physico-chemical determinism in life and disease. *J. Hered.* (Am.) **27**, 139 (1936).
 → (2) On the nature of filterable viruses. *J. Hered.* (Am.) **28**, 38 (1937).
 — (3) Colloidal chemistry, theoretical and applied. The chemical Catalog Co., 1928.
- ANDERSON, TH. F. and W. M. STANLEY: A study by means of the electron microscope of the reaction between tobacco mosaic virus and its antiserum. *J. biol. Chem.* (Am.) **139**, 339 (1941).
- ANDREWES, C. H.: Viruses in relation to the aetiology of tumours. *Lancet* **112/II**, 63, 117 (1934).
- ANSON, M. L. and W. M. STANLEY: Some effects of iodine and other reagents on the structure and activity of tobacco mosaic virus. *J. gen. Physiol.* (Am.) **24**, 679 (1941).
- V. ARDENNE, M.: Stereo-Übermikroskopie mit dem Universal-Elektronen-Mikroskop. *Naturw.* **1940**, 248; *Z. Physiol.* **115**, 339 (1940).
- V. ARDENNE, M., FRIEDRICH-FREKSA u. SCHRAMM: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Präzipitinreaktion von Tabakmosaikvirus mit Kaninchenantiserum. *Arch. Virusforsch.* **2**, 80 (1941).
- ASTBURY, W. T.: Cold Spring harbor symposia quant. biol. **6**, 359 (1938).
- BARBER, M. A.: On heredity in certain micro-organisms. *Kansas Univers. Sci. Bull.* **4**, 3 (1907), ref. *Zbl. Bakt. usw.* **II**, **23**, 221 (1909).
- BARNARD, J. E.: Towards the smallest living things. *J. microsc. Soc.* **III**, s. **59**, 1 (1939).
- BAWDEN, F. C.: (1) Some recent work on plant viruses. *J. exper. Agricult.* (Brit.) **7**, 25 (1939).
 — (2) Plant viruses and virus diseases. Leiden: Chronica Botanica Cie., 1939.
- BAWDEN, F. C. and N. W. PRIE: (1) The isolation and some properties of liquid crystalline substances from solanaceous plants infected with three strains of tobacco mosaic virus. *Proc. roy. Soc., Lond., Ser. B: Biol. Sci.* **123**, 274 (1937).
 — (2) Crystalline preparations of tomato bushy stunt virus. *Brit. J. exper. Path.* **19**, 251 (1938).
 — (3) A note on some protein constituents of normal tobacco and tomato leaves. *Brit. J. exper. Path.* **19**, 264 (1938).
 — (4) A preliminary description of preparations of some of the viruses causing tobacco necrosis. *Brit. J. exper. Path.* **23**, 314 (1942).
- BAWDEN, F. C., PRIE, BERNAL and FANKUCHEN: Liquid crystalline substances from virus infected plants. *Nature* (Brit.) **138**, 1051 (1936).
- BAWDEN, F. C., PRIE and SPOONER: The production of antisera with suspensions of potato virus „X“ inactivated with nitrous acid. *Brit. J. exper. Path.* **17**, 204 (1936).
- BEALE, H. P.: Relation of STANLEY's crystalline tobaccovirus protein to intracellular crystalline deposits. *Contr. Boyce Thompson Inst.* **8**, 412 (1937).
- BEARD, J. W., BRYAN and R. W. G. WYCKOFF: The isolation of the rabbit papilloma virus protein. *J. infect. Dis.* (Am.) **65**, 43 (1939).
- BEARD, J. W., FINKELSTEIN and WYCKOFF: The pH-stability of the elementary bodies of vaccinia. *J. Immunol.* (Am.) **35**, 415 (1938).
- BEARD, J. W. and R. W. G. WYCKOFF: The isolation of a homogeneous heavy protein from virus-induced rabbit papillomas. *Science* (Am.) **85**, 201 (1937).
- BECHHOLD, H.: Ferment oder Lebewesen? *Kolloid-Z.* **66**, 329; **67**, 66 (1934).
- BEDSON, S. P. and BLAND: A morphological study of psittacosis virus with the description of a developmental cycle. *Brit. J. exper. Path.* **13**, 461 (1932); **15**, 243 (1934).
- BERGMANN, M. and H. FRAENKEL-CONRAT: The rôle of specificity in the enzymatic synthesis of proteins. *Syntheses with intracellular enzymes.* *J. biol. Chem.* (Am.) **119**, 707 (1937).
- BERGMANN, M. and CARL NIEMANN: Newer biological aspects of protein chemistry. *Science* (Am.) **86**, 187 (1937).
- BERGOLD, G. u. G. SCHRAMM: Biologische Charakterisierung von Insektenviren. *Biol. Zbl.* **62**, 105 (1942).

- BERNAL, J. D. Aus: A Discussion on new aspects of virus disease. Proc. roy. Soc., Lond., Ser. B: Biol. Sci. **125**, 299 (1938).
- BERNAL, J. D. and D. CROWFOOT: Crystalline phases of some substances studied as liquid crystals. Trans. Faraday Soc. **29**, 1032 (1933).
- BERNAL, J. D. and J. FANKUCHEN: (1) Structure types of protein „crystals“ from virus-infected plants. Nature (Brit.) **139**, 923 (1937).
— (2) X-ray and crystallographic studies of plant virus preparations. J. gen. Physiol. (Am.) **25**, 111 (1941).
- BERNAL, J. D., FANKUCHEN and RILEY: Structure of the crystals of tomato bushy stunt virus preparations. Nature (Brit.) **142**, 1075 (1938).
- BERNARD, CL.: Définition de la Vie. La Science expérimentale. Paris: Ed. Baillière, 1878.
- v. BERTALANFFY: Der Organismus als physikalisches System betrachtet. Naturw. **28**, 521 (1940).
- BEST, R. J.: Virus activity as a property of some protein molecules. J. Austral. Inst. Agric. Sci. **5**, 94 (1939).
- BLACK, L. M.: Further evidence for multiplication of the asteryellows virus in the aster leaf hopper. Phytopath. (Am.) **31**, 120 (1941).
- BLAND, J. O. W. and R. G. CANTI: The growth and development of psittacosis virus in tissue cultures. J. Path. a. Bacter. **40**, 231 (1935).
- BLOCH, H.: (1) Über einen Potenzierungseffekt bei Bakteriophagen. Arch. Virusforsch. **1**, 560 (1940).
— (2) Der Einfluß der Temperatur auf den Ablauf der Bakteriophagenreaktion. Arch. Virusforsch. **2**, 268 (1942).
— (3) Die Beziehungen der Bakteriophagen zu den Virusarten, Schweiz. Z. Path. Bakt. **5**, Suppl. 1 (1942).
- BOEHM, G.: Kolloid-Z. **61**, 209 (1932).
- BOEHM, G. u. K. F. SCHOTZKY: Das Röntgendiagramm der Muskelkontraktion. Naturw. **18**, 282 (1930).
- BOEHM, G. u. R. SIGNER: Über die Strömungsdoppelbrechung von Eiweißlösungen. Helvet. chem. Acta **14**, 1370 (1931).
- BONET-MAURY, P.: Evaluation par irradiation de la taille des ultravirus. J. Chim. physique **39**, 116 (1942).
- BORN, H. J., A. LANG u. G. SCHRAMM: Markierung von Tabakmosaikvirus mit Radiophosphor. Arch. Virusforsch. **2**, 461 (1943).
- BORN, H. J., A. LANG, G. SCHRAMM u. K. G. ZIMMER: Versuche zur Markierung des Tabakmosaikvirus mit Radiophosphor. Naturw. **29**, 222 (1941).
- BROHULT, S.: Splitting of the Haemocyanin Molecule by Ultrasonic-waves. Nature (Brit.) **140**, 805 (1937).
- BROHULT, S. and S. CLAESSEON: Dissociation of the Haemocyanin Molecule. Nature (Lond.) **144**, 111 (1939).
- BRONFENBRENNER, J. J. and G. KALMANSON: A simple method for concentration and purification of bacteriophage. Proc. 3. Internat. Congr. Microbiol., S. 295. New York, 1940.
- BRUNET, F. M. and S. W. WILLIAMS: Herpes simplex: A new point of view. Med. J. Austral. **50**, 637 (1939).
- BUSCH, G.: Die Bedeutung der Ultraschallwirkung für die mikroskopische Forschung. Zbl. Bakt. usw., I. Ref. **142**, 353 (1942).
- BUTENANDT, A., FRIEDRICH-FREKSA, HARTWIG u. SCHEIBE: Beitrag zur Feinstruktur des Tabakmosaikvirus. Z. physiol. Chem. **273**, 276 (1942).
- CALDWELL, J.: Further studies on the movements of mosaic in tomato plants. Ann. appl. Biol. **18**, 279 (1931) und **21**, 191 (1934).
- CASPERSSON, T.: Studien über den Eiweißumsatz der Zelle. Naturw. **29**, 33 (1941).
- CHABAUD, A.: Infection de l'embryon de poule par Spirochaeta duttoni et Spirochaeta icterohaemorrhagiae. Bull. Soc. Path. exot. **32**, 483 (1939).
- CHESTER, K. S.: A critique of plant serology. Quart. Rev. Biol. (Am.) **12**, 19, 165, 294 (1937).

- CHICK, H.: The process of desinfection by chemical agents and hot water. (Zu Abb. 3.) *J. Hyg. (Brit.)* **10**, 237 (1910).
- CHICK, H. and C. J. MARTIN: (1) On the „heat coagulation“ of proteins. *J. Physiol. (Brit.)* **40**, 404 (1910).
 — (2) The action of hot water upon eggalbumen and the influence of acid and salts upon reaction velocity. *J. Physiol. (Brit.)* **43**, 1 (1911/12).
- CLAUDE, A.: (1) A fraction from normal chick embryo similar to the tumor producing fraction of chicken tumor I. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **39**, 398 (1938).
 — (2) Concentration and purification of chicken tumor I agent. *Science (Am.)* **87**, 467 (1938).
 — (3) Chemical composition of the tumor-producing fraction of chicken tumor I. *Science (Am.)* **90**, 213 (1939).
- COHEN, S. S.: Separation of tobacco necrosis virus and tobacco mosaic virus. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **48**, 163 (1941).
- COHEN, S. S. and W. M. STANLEY: The action of intestinal nucleophosphatase on tobacco mosaic virus. *J. biol. Chem. (Brit.)* **142**, 863 (1942).
- CONKLIN, E. G.: Cell and protoplasm concepts: historical account. *Amer. Assoc. advancem. Sc.* **14**, 6 (1940).
- COOKE, B. and R. J. BEST: The inactivating effect of salicylate on suspensions of some animal viruses. *Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci.* **19**, 93 (1941).
- CRAIGIE, J.: Die Antigenfunktionen und die serologischen Reaktionen der Virusarten in vitro. *Handbuch der Virusforschung* **2**, 1106ff. (1939).
- DANNEEL, R.: Untersuchungen über virusbedingte Kaninchenpapillome. *Biol. Zbl.* **61**, 441 (1941).
- DEHLINGER, U. u. E. WERTZ: Biologische Grundfragen in physikalischer Betrachtung. *Naturw.* **30**, 250 (1942).
- DELBRÜCK, A.: Radiation and the hereditary mechanism. *Amer. Naturalist* **74**, 350 (1940).
- DELBRÜCK, M.: A theory of autocatalytic synthesis of polypeptides and its application to the problem of chromosome reproduction. *Cold Spring Harbor Symposia on quant. Biol.* **9**, 122 (1941).
- DEMEREK, M.: What is a gene? *J. Hered. (Am.)* **24**, 369 (1933).
- Discussion on new aspects of virus disease. *Proc. roy. Soc., Lond., Ser. B: Biol. Sci.* **125**, 291 (1938).
- DIXON, H. H.: Are viruses organisms or autocatalysts? *Nature (Am.)* **139**, 153 (1937).
- DOERR, R.: (1) Die Vermehrung der Virusarten und ihre biologische Interpretation. *Handbuch der Virusforschung* **1**, 72—86 (1938).
 — (2) Allgemeine Merkmale der Virusarten. *Z. Hyg.* **118**, 738 (1936).
 — (3) Filtrierbare Virusarten. *Weichardts Erg.* **16**, 121 (1934).
 — (4) Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik. *Handbuch der Virusforschung* **1**, 1—125 (1938).
 — (5) Viruskrankheiten. *Schweizer. med. Jb.* **1942**, 31.
 — (6) Die Infektionskrankheiten in allgemeiner Darstellung. *Lehrbuch der inneren Medizin*, 5. Aufl. Berlin: Springer, 1942.
 — (7) Die Infektion als Gast-Wirt-Beziehung mit besonderer Berücksichtigung der tierpathogenen Virusarten. *Arch. Virusforsch.* **2**, 87 (1941).
 — (8) Zur Permeabilität der Plazenta. *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 1253 (1941).
 — (9) Die submikroskopischen Lebensformen. *Verh. Schweiz. naturforsch. Ges., Davos 1929*, **II**, 92.
- DOGNON, A., E. et H. BIANCANI: *Ultra-sons et Biologie*. Paris: Gauthier-Villars, 1936.
- DURAN-REYNALS, F.: Neutralization of tumor viruses by the blood of normal fowls of different ages. *Yale J. Biol. a. Med. (Am.)* **13**, 61 (1940).
- EDLBACHER, S.: *Chemische Grundprinzipien des Lebens*. Verh. naturforsch. Ges. Basel, 1941/42, 285.
- ELFORD, W. J.: Studies on purified bacteriophages. *Proc. 3. Internat. Congr. Microbiol.*, S. 294. New York, 1940.

- ELFORD, W. J. and C. H. ANDREWES: The sizes of different bacteriophages. *Brit. J. exper. Path.* **13**, 446 (1932).
- ERIKSSON-QUENSEL, J. B. and THE SVEDBERG: The molecular weights and p_H-Stability Regions of the Hemocyanins. *Biol. Bull.* **71**, 498 (1936).
- ERRERA, L.: Sur la limite de la petitesse des organismes. *Rec. Inst. bot. L. ERRERA* **6**, 73 (1906).
- EYER, H.: Ergebnisse der Virusforschung (ein Überblick). *S.ber. phys.-med. Soz. Erlangen* **70**, 35 (1939).
- FAVILLI, G.: La natura dei virus filtrabili ed il concetto di materia vivente. *Boll. Ist. sieroter. milan.* **17**, 273 (1938).
- FILDES, P.: The mechanism of the anti-bacterial action of mercury. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 67 (1940).
- FINDLAY, G. M.: Virus diseases. *Brit. med. J.* **50**, 257 (1939).
- FRAMPTON, V. L.: (1) On the molecular weight of the tobacco mosaic virusprotein. *Phytopath. (Am.)* **29**, 495 (1939).
- (2) The thixotropic character of the tobacco mosaic virus protein. *Phytopath. (Am.)* **30**, 666 (1940).
- FRAMPTON, V. L. and H. NEURATH: An estimate of the relative dimensions and diffusion constants of the tobacco mosaic virus protein. *Science (Am.)* **87**, 468 (1938).
- FRAMPTON, V. L. and A. M. SAUM: An estimate of the maximum value for the molecular weight of the tobacco mosaic virus protein. *Science (Am.)* **89**, 84 (1939).
- FRÄNKEL, MAX: Katalytisch-organische Arbeitsmethoden. *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 12* (1932).
- FREI, W.: Neuere Ergebnisse der physikalisch-chemischen Erforschung filtrabler Vira. *Z. Infekt.krkh. Haustiere* **53**, 253 (1938).
- FREUNDLICH, H.: (1) Über die Thixotropie von Gelatinelösungen. *Z. physiol. Chem.* **131**, 278 (1928).
- (2) *Kapillarchemie*, 2. Aufl. Leipzig, 1922.
- FREY-WYSSLING, A.: *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate*. Berlin: Bornträger, 1938.
- GALLI, F. et J. VIEUCHANGE: La réactivation, par la dialyse, du neurovaccin formolé. *C. r. Soc. Biol.* **131**, 473 (1939).
- GEGENBAUER, V.: Studien über die Desinfektionswirkung des Sublimates. *Arch. Hyg. (D)* **90**, 23 (1922).
- GEITLER, L.: (1) Kern- und Chromosomenbau bei Protisten im Vergleich mit dem höherer Pflanzen und Tiere. *Ergebnisse und Probleme. Naturw.* **30**, 151, 162 (1942).
- (2) Neuere Ergebnisse und Probleme auf dem Gebiete des Chromosomenbaues. *Naturw.* **28**, 649 (1940).
- (3) *Chromosomenbau. Protoplasma-Monographie*, Bd. 14. Berlin, 1939.
- (4) *Grundriß der Cytologie*. Berlin, 1934.
- GERLACH, F.: Über Versuche zur Sichtbarmachung und Züchtung spezifischer Mikroorganismen bei Virus-Infektionskrankheiten und bösartigen Geschwülsten. *Wien. tierärztl. Mschr.* **25**, 165 (1938).
- GILDEMEISTER, E. u. E. HAAGEN: Nachweis eines Toxins in Rickettsien-Ei-Kulturen (*Rickettsia mooseri*). *Dtsch. med. Wschr.* **66**, 878 (1940).
- GLASER, R. W. and WYCKOFF: Homogeneous heavy substances from healthy tissues. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **37**, 503 (1937).
- GOLDSCHMIDT, R.: The theory of the gene. *Sci. Monthly* **46**, 268 (1938).
- GÖNNERT, R.: Die Bronchopneumonie, eine neue Viruskrankheit der Maus. *Zbl. Bakt. usw. I. Orig.* **147**, 161 (1941).
- GORTNER, R. A.: Viruses living or non-living? *Science (Am.)* **87**, 529 (1938).
- GOWEN, J. W.: The size of the tobacco mosaic particle from x-ray determinations. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Am.)* **26**, 8 (1940).
- GRAFFI, A.: Betrachtungen zur Ätiologie der Geschwülste, speziell zur Natur des wirksamen Agens der zellfrei übertragbaren Hühnertumoren. *Z. Krebsforsch.* **50**, 501 (1940).
- GRAINGER, J.: Virus and vital organization. *Nature (Brit.)* **1940**, II, 539.

- GRATIA, A. et P. MANIL: (1) Recherches sur les virus des plantes. Arch. Virusforsch. **1**, 21 (1940).
 — (2) Ultracentrifugation et cristallisation d'un mélange de virus de la mosaïque du tabac et de bactériophage. C. r. Soc. Biol. **126**, 903 (1937).
- GREEN, R. G.: On the nature of filterable viruses. Science (Am.) **82**, 443 (1935).
- GREEN, R. H., T. F. ANDERSON and J. E. SMADEL: Morphological structure of the virus of vaccinia. J. exper. Med. (Am.) **75**, 651 (1942).
- GUILLIERMOND, A.: La structure des cyanophycées. C. r. Acad. Sci., Paris **197**, 182 (1933).
- HAAGEN, E.: Die Papageienkrankheit (Psittacosis). Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 1—15 (1939).
- HALLAUER, C. u. H. KUHN: Über die Dauerzüchtung von Naganatrypanosomen und Rückfallfieberspirochäten im befruchteten Hühnerei. Z. Hyg. **122**, 406 (1940).
- HARTMANN, M.: Philosophie der Naturwissenschaften. Sonderausgabe aus 25 Jahre Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft. Berlin: Springer, 1937.
- HARTMANN, M. u. W. GERLACH: Naturwissenschaftliche Erkenntnis und ihre Methoden. Berlin: Springer, 1937.
- HAUROWITZ, F.: Fortschritte der Biochemie, III. Teil. Wissensch. Forsch.-Berichte **49** (1938).
- HEIDENREICH, E.: Die Polyederkrankheit der Nonne. Arch. Virusforsch. **1**, 582 (1940).
- HERZBERG, K.: Viktoriablauf zur Färbung filtrierbarer Vira. Klin. Wschr. **13**, 381 (1934).
- HETLER, D. M. and J. BRONFENBRENNER: Detachment of bacteriophage from its carrier particles. J. gen. Physiol. (Am.) **14**, 547 (1931).
- HIEDEMANN, E.: Grundlagen und Ergebnisse der Ultraschallforschung. Berlin: De Gruyter, 1939.
- HOAGLAND, C. L., WARD, SMADEL and RIVERS: (1) Biotin in elementary bodies of vaccinia. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **45**, 669 (1940).
 — (2) Demonstration of copper in the purified virus (vaccinia). J. exper. Med. (Am.) **74**, 69 (1941).
 — (3) A flavin associated with the purified virus (of vaccinia). J. exper. Med. (Am.) **74**, 133 (1941).
- HOLMES, F. O.: Handbook of phytopathogenic viruses. Minneapolis, 1939.
- HOLWECK, F.: Le problème des quanta en radiobiologie. (Point de vue physique.) Radiophys. et radiothér. **3**, 101 (1933).
- HOPWOOD, F. L., SALAMAN and MCFARLANE: Effect of ultrasonic vibration on vaccinia virus. Nature (Am.) **144**, 377 (1939).
- HÖRING, F. O.: Die klinischen Eigenschaften der Viruskrankheiten. Dtsch. Mil.arzt **7**, 275 (1942).
- HUGHES, T. P., PARKER and RIVERS: Chemical analysis of elementary bodies of vaccine virus. J. exper. Med. (Am.) **62**, 349 (1935).
- IWANOFF, X.: (1) Über die filtrierbaren Virusarten als lebende Mikroorganismen. Acta biol. bulg. **1**, 3 (1941).
 — (2) Über das Wesen der filtrierbaren Vira. Jb. Univers. Sofia, vet.-med. Fak. **17**, 423 (1940/41).
- JANSSEN, L. W.: (1) Viruseiwitten en hun productie door de cel. Ndd. Tsch. Geneesk. **84**, 3220 (1940).
 — (2) Biosynthese als centraal biologisch probleem. Verh. 20. Ndd. Nat.-Gen. Congr. 1941, S. 165.
 — (3) Die Zentrifugierung und die Sedimentationskonstante des Maul-und-Klauenseuchevirusproteins. Naturw. **29**, 102 (1941).
- JORDAN, P.: (1) Die Stellung der Quantenphysik zu den aktuellen Problemen der Biologie. Arch. Virusforsch. **1**, 1 (1939).
 — (2) Statistische Analyse biologischer Elementarreaktionen. Arch. Virusforsch. **1**, 171 (1939).
 — (3) Zum Problem der spezifischen Immunität. Fundam. radiol. (Berl.) **5**, 43 (1939).

- JORDAN, P.: (4) Die Physik und das Geheimnis des organischen Lebens. Die Wissenschaft, Bd. 95 (1941).
- (5) Über die Spezifität von Antikörpern, Fermenten, Viren, Genen. *Naturw.* **29**, 89 (1941).
- (6) Diskussionsbemerkung: *Naturw.* **30**, 169 (1942).
- (7) Über quantenmechanische Resonanzanziehung und über das Problem der Immunitätsreaktionen. *Z. Physiol.* **113**, 431 (1939).
- (8) Zur Frage einer spezifischen Anziehung zwischen Genmolekülen. *Physik. Z.* **39**, 711 (1938).
- KABAT, E. A.: The molecular weight of antibodies. *J. exper. Med. (Am.)* **69**, 103 (1939).
- KAISER, M.: Bericht über Versuche, einen Trockenimpfstoff für den Pockenschutz herzustellen, und über den Einfluß von Kälte und Trockenheit auf das Vaccinevirus. *Arch. Virusforsch.* **2**, 426 (1942).
- KALMANSON, G. and J. BRONFENBRENNER: Studies on the purification of bacteriophage. *J. gen. Physiol. (Am.)* **23**, 203 (1939).
- KAUSCHE, G. A.: (1) Über Aktivierungseffekte mit γ -Strahlen am Tabakmosaikvirus. *Naturw.* **26**, 741 (1938).
- (2) Über die Darstellung von Kristallen und die Färbbarkeit des Aucubamosaikvirus. *Naturw.* **27**, 212 (1939).
- (3) Über die Bildung von hexagonalen Viruskristallen aus Suspensionen des Tabakmosaikvirus *in vitro*. *Naturw.* **27**, 77 (1939).
- (4) Untersuchungen zum Problem der biologischen Charakterisierung phytopathogener Virusarten. *Arch. Virusforsch.* **1**, 362 (1940).
- KAUSCHE, G. A., E. PFANKUCH u. H. RUSKA: (1) Die Sichtbarmachung von pflanzlichem Virus im Übermikroskop. *Naturw.* **27**, 292 (1939).
- (2) Beobachtungen über Schall- und Ultraschalleinwirkungen am Protein des Tabakmosaikvirus. *Naturw.* **29**, 573 (1941).
- KAUSCHE, G. A. u. H. STUBBE: (1) Über Aktivierungseffekte mit Röntgenstrahlen am Tabakmosaikvirus. *Naturw.* **26**, 740 (1938).
- (2) Zur Frage der Entstehung röntgenstrahleninduzierter Mutationen beim Tabakmosaikvirusprotein. *Naturw.* **28**, 824 (1940).
- (3) Über die Entstehung einer mit Röntgenstrahlen induzierten „Mutation“ des Tabakmosaikvirus. *Naturw.* **27**, 501 (1939).
- KLECZOWSKI, A.: Quantitative studies on the serological reactions of some plantviruses and of a pea nodule bacterium (*rhizobium leguminosarum*). *Brit. J. exper. Path.* **22**, 44 (1941).
- KNAPP, E., REUSS, RISSE u. SCHREIBER: Quantitative Analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen UV-Lichtes. *Naturw.* **27**, 304 (1939).
- KNIGHT, C. A. and STANLEY: (1) Aromatic amino acids in strains of tobacco mosaic virus and in the closely related cucumber virus 4. *J. biol. Chem. (Am.)* **140**, LXX (1941).
- (2) Preparation and properties of cucumber virus 4. *J. biol. Chem. (Am.)* **141**, 29 (1941).
- — (3) Aromatic acids in strains of tobacco mosaic virus and in the related cucumber viruses 3 and 4. *J. biol. Chem. (Am.)* **141**, 39 (1941).
- KÖHLER, E.: (1) Neuere Vorstellungen von der Natur des pflanzenpathogenen Virus. *Z. Bot.* **31**, 559 (1937).
- (2) Über die Variabilität und Mutabilität pflanzenpathogener Virusarten, dargestellt am Kartoffel-X-Virus und am Tabakmosaikvirus. *Biol. Zbl.* **61**, 298 (1941).
- (3) Über das Auftreten abweichender Varianten bei den Cs-Stämmen des Kartoffel-X-Virus. *Arch. Virusforsch.* **1**, 46 (1940).
- (4) Entstehung von spezifischen Infektionsstoffen (Vira) in der Pflanze. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **51** (1933).
- KOLTZOFF, N. K.: Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie. *Biol. Zbl.* **48**, 345 (1928).
- KOSTOFF, D.: Virus and genic reactions in morphogenetic, physiogenetic and phylogenetic aspects. *Phytopath. (Am.)* **9**, 387 (1936).

- KOTTMANN, U.: Zur Permeabilität der Blut-Liquorschranke. *Z. Hyg.* **122**, 304 (1939).
- KRAYBILL, H. R., BREWER, SAMSON and GARDNER: A noninfectious leaf-deforming principle from mosaic tomato plants. *Phytopath. (Am.)* **22**, 629 (1932).
- KRÜGER, A. P.: The heat inactivation of antistaphylococcus bacteriophage. *J. gen. Physiol. (Am.)* **15**, 363 (1931/32).
- KRÜGER, A. P., BROWN and SCRIBNER: The effect of sonic vibrations on phage precursor and the bacterial substrate. *J. gen. Physiol. (Am.)* **24**, 691 (1941).
- KRÜGER, A. P. and J. FONG: The relationship between bacterial growth and phage production. *J. gen. Physiol. (Am.)* **21**, 137 (1937).
- KRÜGER, A. P., MECRAKEN and SCRIBNER: Heat inactivation of intracellular phage precursor. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **40**, 573 (1939).
- KRÜGER, A. P. and J. H. MUNDELL: Reactivation of thermally inactivated bacteriophage. *Science (Am.)* **88**, 556 (1938).
- KRÜGER, A. P. and E. J. SCRIBNER: Intracellular phage precursor. *J. gen. Physiol. (Am.)* **22**, 699 (1939).
- KRÜGER, A. P. and H. T. TAMADA: The preparation of relatively pure bacteriophage. *J. gen. Physiol. (Am.)* **13**, 145 (1930).
- KUNKEL, L. O.: Genetics of viruses pathogenic to plants. *Amer. Assoc. advanc. Sci.* **12**, 22 (1940).
- LACASSAGNE, A.: Le problème des quanta en radiobiologie. (Point de vue biologique.) *Radiophys. et radiothér.* **3**, 81 (1933).
- LAIDLAW, P. P.: Virus diseases and viruses. Cambridge, 1938.
- LANGENBECK, W.: Die Formaldehydkondensation als organische Autokatalyse. *Naturw.* **30**, 30 (1942).
- LAUFFER, M. A.: (1) The molecular weight and shape of tobacco mosaic virus protein. *Science (Am.)* **87**, 469 (1938).
- (2) Ultracentrifugation studies on tobacco mosaic and bushy stunt viruses. *J. physiol. Chem. (Am.)* **44**, 1137 (1940).
- (3) Living molecules. Rep. New-England Assoc. Chem. Teachers, Connecticut, Aug. 1941.
- LAUFFER, M. A. and R. B. DOW: The denaturation of tobacco mosaic virus at high pressures. *J. biol. Chem. (Am.)* **140**, 509 (1941).
- LAUFFER, M. A. and W. C. PRICE: Thermal inactivation of tobacco mosaic virus. *J. biol. Chem. (Am.)* **133**, 1 (1940).
- LAUFFER, M. A. and W. M. STANLEY: Stream double refraction of virus proteins. *J. biol. Chem. (Am.)* **123**, 507 (1938).
- LEA, D. E.: (1) A radiation method for determining the number of genes in the X-chromosome of *Drosophila*. *J. Genet.* **39**, 181 (1940).
- (2) Determination of the sizes of viruses and genes by radiation methods. *Nature (Brit.)* **1940**, 137.
- LEA, D. E. and M. H. SALAMAN: The inactivation of vaccinia virus by radiations. *Brit. J. exper. Path.* **23**, 27 (1942).
- LEA, D. E. and KENNETH M. SMITH: The inactivation of plant viruses by radiations. II. The relation between inactivation dose and size of virus. *Parasitology* **34**, 227 (1942).
- V. LEEUWENHOEK, A.: Epistolae ad societatem regiam Anglicam et alios illustres viros seu continuatio mirandorum arcanorum naturae detectorum. Lugdun Batav. (1719).
- LEVADITI, C.: (1) Nouvelles données sur la nature des ultravirus. *Presse méd.* **102**, 1889 (1938).
- (2) Taille du virus poliomyélitique souche Lansing mesurée d'après les données fournies par l'ultrafiltration. *C. r. Soc. Biol.* **136**, 96 (1942).
- LEVADITI, C. et L. REINIÉ: (1) Irréversibilité de l'action virulicide exercée par le formol sur les éléments corpusculaires neurovaccinaux. *C. r. Soc. Biol.* **131**, 1140 (1939).
- (2) Association persistante, quoique réductible, du virus vaccinal et du virus de l'herpès. *C. r. Soc. Biol.* **134**, 378 (1940).
- Hdb. d. Virusforsch. (1. Erg.-Bd.).

- LEVADITI, C., REINIÉ, STAMATIN etc.: Ultravirus et fluorescence. Le virus vaccinal 2. mém. Ann. Inst. Pasteur, Par. **64**, 466 (1940).
- LEVINTHAL, W.: Die Aetiologie der Psittacosis. Med. Welt (1930) **17**, und I. Congr. internat. de Microbiologie, Paris 1930.
- LILLIE, R. D.: Psittacosis: Rickettsia-like inclusions in man and experimental animals. Publ. Health. Rep. (Am.) **45**, 773 (1930).
- LINDEGREN, C. C.: The nature and origin of filtrable viruses. J. Hered. (Am.) **29**, 409 (1938).
- LOOFBOURON, J. R.: Borderland Problems in Biology and Physics. Rev. mod. Physics **12**, 267 (1940).
- LORING, H. S.: (1) Properties and hydrolytic products of nucleic acid from tobacco mosaic virus. J. biol. Chem. (Am.) **130**, 251 (1938).
 — (2) Properties of the latent mosaic virus protein. J. biol. Chem. (Am.) **126**, 455 (1938).
 — (3) Diffusion constants and approximate molecular weights of tobacco mosaic virus nucleic acid and yeast nucleic acid. J. biol. Chem. (Am.) **128**, LXI (1939).
 — (4) Nucleic acid from tobacco mosaic virus protein. J. biol. Chem. (Am.) **123**, CXXVI (1938).
- LORING, H. S., LAUFFER and STANLEY: Aggregation of purified tobacco mosaic virus. Nature **142**, 841 (1938).
- LORING, H. S., OSBORN and WYCKOFF: Ultracentrifugal isolation of high molecular weight proteins from bean and pea plants. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 239 (1938).
- LYNEN, F.: Das Virusproblem vom chemischen Standpunkt aus. Kolloid-Z. **85**, 222 (1938).
- MACFARLANE, M. G. and D. E. DOLBY: The enzymic activity of vaccinia elementary bodies. Brit. J. exper. Path. **21**, 219 (1940).
- MACFARLANE, M. G. and M. H. SALAMAN: The enzymic activity of vaccinia elementary bodies. Brit. J. exper. Path. **19**, 184 (1938).
- MANIL, P.: Quelques aspects du problème des maladies à virus des plantes. Ann. Fermentat. **4**, 26 (1938).
- MARKHAM, R., K. M. SMITH and LEA: The sizes of viruses and the methods employed in their estimation. Parasitology **34**, 315 (1942).
- MARRACK, J. R.: The chemistry of antigens and antibodies. Med. Press. Council, Spec. Rep. Ser. **230** (1938).
- MARTIN, L. F., BALLS and MCKINNEY: (1) The protein content of mosaic tobacco. Science (Am.) **87**, 329 (1938).
 — — (2) Protein changes in mosaic diseased tobacco. J. biol. Chem. (Am.) **130**, 687 (1939).
- MCFARLANE, A. S.: (1) Chemistry of the plant viruses. Biol. Rev. **14**, 223 (1939).
 — (2) The electrical double layer and virus stability. Trans. Faraday Soc. **36**, 225 (1940).
- MCFARLANE, A. S. and M. G. MACFARLANE: Effect of lipid solvents on vaccinia virus. Nature (Brit.) **144**, 376 (1939).
- MCFARLANE, A. S., M. G. MACFARLANE, AMIES and EAGLES: A physical and chemical examination of vaccinia virus. Brit. J. exper. Path. **20**, 485 (1939).
- MCFARLANE, A. S. and M. H. SALAMAN: The enzymic activity of vaccinia elementary bodies. Brit. J. exper. Path. **19**, 184 (1938).
- MELCHERS, G.: Über einige Mutationen des Tabakmosaikvirus und eine „Parallelmutation“ des Tomatenmosaikvirus. Naturw. **30**, 48 (1942).
- MELCHERS, G., SCHRAMM, TRURNIT u. H. FRIEDRICH-FRESKA: Die biologische, chemische und elektronenmikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. Biol. Zbl. **60**, 524 (1940).
- MILLER, G. L. and W. M. STANLEY: Acetyl and phenylureido-derivatives of tobacco mosaic virus. Science **93**, 428 (1941); J. biol. Chem. (Am.) **141**, 905 (1941).
- MIRSKY, A. E. and L. PAULING: On the structure of native, denaturated, and coagulated proteins. Proc. Nat. Acad. Sci. **22**, 439 (1936).

- MITTASCH, ALWIN: Kurze Geschichte der Katalyse in Praxis und Theorie. Berlin: Springer, 1939.
- MORIYAMA, H.: Studies on Rennin as a Virus-model. Arch. Virusforsch. 1, 510 (1940); 2, 71 (1941).
- MORIYAMA, H. and S. OHASHI: (1) „Infektion“ bei der Proteindenaturierung und ihre Beziehung zur Virusvermehrung. Z. Immunit.forsch. 99, 419 (1941).
— (2) The true nature of viruses. J. Shanghai Sci. Inst. 4, 63 (1939).
- MORIYAMA, H. and O. SHUNKICHI: The mode of action of formaldehyde upon phage proteid. Arch. Virusforsch. 1, 252 (1940).
- MÜLLER, ALOYS: Naturwissenschaft und reale Außenwelt. Naturw. 28, 705 (1940).
- MÜLLER, H. A.: Über ein eigenartiges Trypanblau-Speicherungsvermögen der Chorionallantois des bebrüteten Hühnereies in der dritten Woche der Bebrütung. Arch. Virusforsch. 2, 522 (1942).
- v. MURALT and EDSALL: The anisotropy of myosin and double refraction of flow. J. biol. Chem. (Am.) 89, 289 (1930).
- MURPHY, J. B. and A. CLAUDE: The nature of chicken tumors. Third internat. Congr. Microbiol., New York, S. 335 (1940).
- NEUGEBAUER, TH.: (1) Über eine physikalische Theorie der Selbstreproduktion von Viren. Physik. Z. 40, 406 (1939).
— (2) Über die autokatalytische Entstehung der Viren und verwandte Probleme. (Diskussionsbem. von P. JORDAN u. TH. NEUGEBAUER.) Naturw. 30, 168 (1942).
— (3) Zur Frage der Selbstverdoppelung der Virusmoleküle. Z. Physik 114, 667 (1939).
- NEURATH, H., COOPER, SHARP, TAYLOR, D. BEARD and J. W. BEARD: Molecular size, shape, and homogeneity of the rabbit papilloma virus protein. J. biol. Chem. (Am.) 140, 293 (1941).
- NORTHROP, J. H.: (1) Concentration and purification of bacteriophage. J. gen. Physiol. (Am.) 21, 335 (1938).
— (2) Concentration and partial purification of bacteriophage. Science (Am.) 84, 90 (1936).
- OPARIN, A. J.: (1) Der Ursprung des Lebens auf der Erde. Moskau u. Leningrad: Staatl. Inst. f. biol. u. med. Lit., 1936.
— (2) The origin of Life. New York, 1938.
- PAULING, L.: A Theory of the structure and process of formation of antibodies. J. amer. chem. Soc. 62, 2643 (1940).
- PAULING, L. and D. H. CAMPBELL: The production of antibodies in vitro. Science (Am.) 95, 440 (1942).
- PAULING, L. and M. DELBRÜCK: The nature of the intramolecular forces operative in biological processes. Science (Am.) 92, 77 (1940).
- PAULING, L. and CARL NIEMANN: The structure of proteins. J. amer. chem. Soc. 61, 1860 (1939).
- PEDERSEN, KAI O.: Die Proteinmolekel. In THE SVEDBERG u. PEDERSEN: Die Ultrazentrifuge, S. 366ff.
- PFANKUCH, E.: Über die Spaltung von Virusproteinen der Tabakmosaikgruppe. Biochem. Z. 306, 125 (1940).
- PFANKUCH, E. u. G. A. KAUSCHE: Über die Wirkung oberflächenaktiver Verbindungen auf Virusproteine. Biochem. Z. 312, 72 (1942).
- PFANKUCH, E., G. A. KAUSCHE u. H. STUBBE: Über die Entstehung, die biologische und physikalisch-chemische Charakterisierung von Röntgen- und γ -Strahlen induzierten „Mutationen“ des Tabakmosaikvirusproteins. Biochem. Z. 304, 238 (1940).
- PFANKUCH, E. u. F. PIEPENBROCK: Zur Spaltung von Virusproteinen der Tabakmosaikgruppe. Naturwiss. 31, 94 (1943).
- PIEKARSKI, G.: Cytologische Untersuchungen an Paratyphus- und Colibakterien. Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt 72, 315 (1938).
- PIRIE, N. W.: The meaningless of the terms life and living. Perspectives in biochemistry, S. 11. London: Cambridge Univ. Press, 1937.

- PIRIE, N. W., SMITH, SPOONER and MACCLEMENT: Purified preparations of tobacco necrosis virus (*Nicotiana Virus II*). *Parasitology* **30**, 543 (1938).
- PLANCK, MAX: Naturwissenschaft und reale Außenwelt. *Naturw.* **28**, 778 (1940).
- POLLARD, A.: The chemical composition of the active agent of the Rous sarcoma No. 1 and of some unrelated products. *Brit. J. exper. Path.* **20**, 429 (1939).
- PREYER: *Naturwissenschaftliche Tatsachen und Probleme*. Berlin, 1880.
- PRICE, W. C.: Thermal inactivation rates of four plant viruses. *Arch. Virusforsch.* **1**, 373 (1940).
- PRICE, W. C. and WYCKOFF: (1) The Ultracentrifugation of the Proteins of cucumber viruses 3 and 4. *Nature (Am.)* **141**, 685 (1938).
- (2) Ultracentrifugation of juices from plants affected by tobacco necrosis. *Phytopath. (Am.)* **39**, 83 (1939).
- PUNTONI, V.: (1) L'inclusione dei batteriofagi nei cristalli in rapporto alla teoria delle virus-proteine cristallizzate. *Boll. Ist. sierot. Milan.* **20**, 403 (1941).
- (2) Virus-proteine cristallizzate e virus inclusi nei cristalli. *Boll. Acad. med. Roma* **67** (1941).
- RAHN, O.: Die durch chemische Gesetze bedingten Variationen der Lebewesen. *Biochem. Z.* **284**, 40 (1936).
- RAWLINS, T. E. and W. N. TAKAHASHI: The nature of viruses. *Science (Am.)* **87**, 255 (1938).
- REMLINGER, P. et J. BAILLY: Action de la dessiccation sur quelques ultravirus neurotropes. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **68**, 153 (1942).
- RIEHL, N., TIMOFÉEFF-RESSOVSKY u. K. G. ZIMMER: Mechanismus der Wirkung ionisierender Strahlen auf biologische Elementareinheiten. *Naturw.* **29**, 625 (1941).
- RINNE, F.: (1) Investigations and considerations concerning paracrystallinity. *Trans. Faraday Soc.* **29**, 1016 (1933).
- (2) Spermien als lebende flüssige Krystalle. *Naturw.* **18**, 837 (1930).
- RISCHKOV, V. L. and V. A. SMIRNOVA: Accumulation of virus of tobacco mosaic in plants when nitrogen is withheld from them. *C. R. (Doklady) Acad. Sci. USSR.* **23**, 95 (1939).
- RISCHKOV, V. L. and K. S. SOUKLOV: Virus of tobacco mosaic tested for its power of fermentative activity. *C. r. Acad. Sci. URSS.* **21**, 5 (1938).
- RIVERS, TH. M.: (1) Virus and virus disease. *J. Bact. (Am.)* **36**, 283 (1938).
- (2) Viruses and virus diseases. *Bull. N. Y. Acad. Med.* **14**, 383 (1938).
- (3) The infinitely small in biology. *Science (Am.)* **93**, 143 (1941).
- RIVERS, TH. M., SMADEL and CHAMBERS: Effect of intense sonic vibrations on elementary bodies of vaccinia. *J. exper. Med. (Am.)* **65**, 677 (1937).
- ROBINOW, C. F. and BLAND: Application of the Feulgen method to the study of viruses. *Nature.* **142**, 720 (1938).
- RONDONI, P.: Proteinsynthese und Wachstum. *Weichardts Erg.* **25**, 1 (1940).
- VAN ROOYEN: The chemical composition of the molluscum contagiosum inclusion body. *J. Path. a. Bacter.* **49**, 345 (1939).
- ROSS, A. F.: (1) Purification and properties of alfalfa-mosaic virus protein. *Phytopath. (Am.)* **31**, 394 (1941).
- (2) The concentration of alfalfa-mosaic virus in tobacco plants at different periods of time after inoculation. *Phytopath. (Am.)* **31**, 410 (1941).
- (3) The determination of some amino-acids in tobacco mosaic virus protein. *J. biol. Chem. (Am.)* **138**, 741 (1941).
- ROSS, A. F. and W. M. STANLEY: (1) Partial reactivation of formalized tobacco mosaic virus protein. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **38**, 260 (1938); *J. gen. Phys. (Am.)* **22**, 165 (1938).
- (2) The amino acids of tobacco mosaic virus protein. *J. biol. Chem. (Am.)* **128**, LXXXIV (1939).
- ROUS, P.: The virus tumors and the tumor problem. *Amer. J. Canc.* **28**, 233 (1936).
- RUSKA, H.: (1) Neuere Ergebnisse der Übermikroskopie. *Forsch. u. Fschr.* **15**, 371 (1940).
- (2) Über Grenzfragen aus dem Gebiet der Strukturforchung und Mikrobiologie. *Dtsch. med. Wschr.* **1942**, 281.

- RUSKA, H.: (3) Versuch zu einer Systematik der Virusarten. *Arch. Virusforsch.* **2**, 480 (1942).
- SCHÄFFNER, A. u. H. J. JAKOWATZ: Virusstoffe vom Standpunkt der Katalyse und Autokatalyse. *Handbuch der Katalyse* **3**, 506—544 (1941).
- SCHERP, H. W. and L. A. CHAMBERS: Resistance of the viruses of Poliomyelitis, Human Influenza and Swine Influenza to intense vibration. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **35**, 495 (1936).
- SCHMIDT, W. J.: Die Ergebnisse der NÄGELISCHEN Micellarlehre bei der Erforschung des Organismus. *Naturw.* **16**, 900 (1928).
- SCHRAMM, G.: (1) Über die enzymatische Abspaltung der Nucleinsäure aus dem Tabakmosaikvirus. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **74**, 532 (1941).
 — (2) Neuere Verfahren zur Reindarstellung von Proteinen. *Angew. Chemie* **54**, 7 (1941).
 — (3) Neuere Ergebnisse und Probleme in der Untersuchung der Virusarten. *Dtsch. med. Wschr.* **68**, 791 (1942).
 — (4) Über die Spaltung des Tabakmosaikvirus in niedermolekulare Proteine und die Rückbildung hochmolekularen Proteins aus den Spaltstücken. *Naturwiss.* **31**, 94 (1943).
- SCHRAMM, G. u. H. FRIEDRICH-FREKSA: Die Präzipitinreaktion des Tabakmosaikvirus mit Kaninchen- und Schweineantiserum. *Z. physiol. Chem.* **270**, 235 (1941).
- SCHRAMM, G. u. H. MÜLLER: (1) Über die Konfiguration der im Tabakmosaikvirus enthaltenen Aminosäuren. *Naturw.* **28**, 223 (1940).
 — (2) Zur Chemie des Tabakmosaikvirus. Über die Einwirkung von Keten und Phenylisocyanat auf das Virusprotein. *Z. physiol. Chem.* **266**, 43 (1940).
- SCHRAMM, G. u. L. REBENSBURG: Zur vergleichenden Charakterisierung einiger Mutanten des Tabakmosaikvirus. *Naturw.* **30**, 48 (1942).
- SCHRÖER, E. u. H. J. SCHUHMACHER: Betrachtungen zur „Katalyse“. *Naturw.* **29**, 411 (1941).
- SÉDILLOT, M.: De l'influence des découvertes de M. PASTEUR sur le progrès de la chirurgie. *C. r. Acad. Sci.* **86**, 634 (1878).
- SERGENT, E., PARROT et HOWENBERGER: De la nécessité d'unifier la terminologie microbiologique. *Arch. Inst. Pasteur, Alger* **18**, 117 (1940).
- SHARP, D. G., TAYLOR, FINKELSTEIN and BEARD: Macromolecular components of untreated and of formalized normal chick embryo tissue. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **42**, 459 (1939).
- SHOPE, R. E.: The influence of host and intermediate reservoir host in determining the epidemiologic pattern of bovine pseudorabies and swine influenza. *Arch. Virusforsch.* **2**, 397 (1942).
- SMADDEL, J. E., PICKELS and TH. SHEDLOVSKY: The influence of sucrose, glycerol, and urea solutions on the physical nature of vaccine virus. *J. exper. Med. (Am.)* **68**, 607 (1938).
- SMITH, J. H.: Some recent developments in virus research. *Ann. appl. Biol.* **25**, 227 (1938).
- SMITH, M. KENNETH: List of all Plant viruses so far described. *Handbuch der Virusforschung* **2**, 1351ff. (1939).
- SOMMERMEYER, K.: (1) Über direkte und indirekte Strahlenwirkung. *Strahlenther.* **70**, 184 (1941).
 — (2) Über die Treffertheorie der Vielzeller. *Strahlenther.* **70**, 522 (1941).
- STANLEY, W. M.: (1) The inactivation of crystalline tobacco mosaic virus protein. *Science (Am.)* **83**, 626 (1936).
 — (1a) The isolation from diseased Turkish tobacco plants of a crystalline protein possessing the properties of tobacco mosaic virus. *Phytopath. (Am.)* **26**, 305 (1936).
 — (1b) The activity and yield of virus protein from plants diseased for different periods of time. *J. biol. Chem. (Am.)* **121**, 205 (1937).
 — (1c) *J. biol. Chem. (Am.)* **115**, 673 (1936).
 — (2) The biophysics and biochemistry of viruses. *J. appl. Physics* **9**, 148 (1938).
 — (3) The reproduction of virus proteins. *Amer. Naturalist* **72**, 110 (1938).

- STANLEY, W. M.: (4) Virus-proteins — a new group of macromolecules. *J. phys. Chem. (Am.)* **42**, 55 (1938).
- (5) Properties of viruses. *Medecine (Am.)* **18**, 431 (1939).
- (6) The architecture of viruses. *Physiol. Rev. (Am.)* **19**, 524 (1939).
- (7) The biochemistry of viruses. *Ann. Rev. Biochem. (Am.)* **9**, 545 (1940).
- (8) The structure of viruses. *Amer. Assoc. Advancem. Sci. Publ.* **14**, 120 (1941).
- (8a) Chemical properties of viruses. *Sci. Monthly* **53**, 197 (1941).
- (9) Some chemical, medical and philosophical aspects of viruses. *Science (Am.)* **93**, 143 (1941).
- (10) The action of high frequency sound waves on tobacco mosaic virus. *Science (Am.)* **80**, 339 (1934).
- (11) The isolation and properties of tobacco ring spot virus. *J. biol. Chem. (Am.)* **129**, 405 (1939).
- (12) On the apparent phosphatase activity of tobacco mosaic and bushy stunt viruses. *Arch. Virusforsch.* **2**, 319 (1942).
- (13) The isolation of a crystalline protein possessing the properties of aucuba mosaic virus. *J. biol. Chem. (Am.)* **117**, 325 (1937).
- (14) Biochemistry and biophysics of viruses. *Handbuch der Virusforschung* **1**, 447 (1939).
- STANLEY, W. M. and TH. F. ANDERSON: A study of purified viruses with the electron microscope. *J. biol. Chem. (Am.)* **139**, 325 (1941).
- STANLEY, W. M. and C. A. KNIGHT: The chemical composition of strains of tobacco mosaic virus. *Cold spring harbor Sympos. quant. Biol.* **9**, 255 (1941).
- STANLEY, W. M. and M. A. LAUFFER: Desintegration of tobacco mosaic virus in urea solutions. *Science (Am.)* **89**, 345 (1939).
- STANLEY, W. M. and H. S. LORING: (1) Properties of virus proteins. *Cold Spring harbor Symposia of quantitative biology.* **6**, 341 (1938).
- (2) Properties of purified viruses. *Relaz. IV. Congr. internat. Patol. comp., I*, 45 (1939).
- STERN, K. G. and WYCKOFF: An ultracentrifugal study of catalase. *Science (Am.)* **87**, 18 (1938); *J. biol. Chem. (Am.)* **124**, 573 (1938).
- STONE, W.: New concepts of filterable viruses. *S. afr. med. J.* **12**, 45 (1938).
- SVEDBERG, THE u. K. O. PEDERSEN: *Die Ultrazentrifuge.* 1940.
- SWIFT, H. F.: Preservation of stock cultures of bacteria by freezing and drying. *J. exper. Med. (Am.)* **33**, 69 (1921).
- SZENT-GYÓRGYI, A.: Towards a new biochemistry. *Science (Am.)* **1941 I**, 609.
- TAKAHASHI, W. N. and CHRISTENSEN: The virulicidal action of high frequency sound radiation. *Science (Am.)* **79**, 415 (1934).
- TAKAHASHI, W. N. and T. E. RAWLINS: Method for determining shape of colloidal particles; application in study of tobacco mosaic virus. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **30**, 155 (1932).
- TANDBERG, J.: Neutrons and the origin of life. *Nature* **142**, 572 (1938).
- TAYLOR, A. R., SHARP, FINKELSTEIN and BEARD: Macromolecular Components of chick embryo tissue diseased with the virus of equine encephalomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **42**, 462 (1939).
- THOMSEN, O.: Die verschiedenen Virusformen, besonders im Hinblick auf ihre Natur und Herkunft. *Trans. of 7. Scand. Path. Congr.*
- THORNTON, M. H. and H. R. KRAYBILL: *Phytopath. (Am.)* **24**, 19 (1934).
- TISELIUS, A. and E. A. KABAT: An electrophoretic study of immun sera and purified antibody preparations. *J. exper. Med. (Am.)* **69**, 119 (1939).
- TISELIUS, A. u. SVEN GARD: Übermikroskopische Beobachtungen an Poliomyelitis-viruspräparaten. *Naturwiss.* **30**, 728 (1942).
- TURNER, TH. B.: The preservation of treponema pallidum and treponema pertenue in a frozen state. *J. exper. Med. (Am.)* **67**, 61 (1938).
- v. UEXKÜLL, J.: *Die Lebenslehre.* Zürich: Orell Füssli, 1930.
- ULMANN, M.: *Molekülgrößenbestimmungen hochpolymerer Naturstoffe.* Dresden: Steinkopff, 1936.

- VALLEAU, W. D.: Symptoms of yellow ring spot and longevity of the virus in tobacco seed. *Phytopath. (Am.)* **29**, 549 (1939).
- VERGE, J.: Les ultra-virus. *Rec. Méd. vétér. d'Alfort.* **113**, 11 (1937).
- WEBER, H. H.: Die Muskeleiweißkörper und der Feinbau der Skelettmuskeln. *Erg. Physiol.* **36**, 109 (1934).
- WENZL, A.: (1) *Metaphysik der Physik von heute.* Leipzig: Meiner, 1935.
— (2) Kausalität oder Freiheit als Grundlage der Wahrscheinlichkeitsrechnung in der Physik? *Naturw.* **28**, 715 (1940).
- WOGLOM, W. H. and J. WARREN: A pyogenic filterable agent in the albino rat. *J. exper. Med. (Am.)* **68**, 513 (1938).
- WOLFF, G.: *Leben und Erkennen. Vorarbeiten zu einer biologischen Philosophie.* München: E. Reinhardt, 1933.
- WOLLMANN, E. et A. LACASSAGNE: Evaluation des dimensions des bactériophages au moyen des rayons X. *Ann. Inst. Pasteur Par.* **64**, 5 (1940).
- WRINCH, D. M.: (1) On the molecular structure of chromosomes. *Protoplasma* **25**, 550 (1936).
— (2) The chromosome micelle and the banded structure of chromosomes in the salivary gland. *Nature* **136**, 68 (1935).
— (3) Chromosome behaviour in terms of protein pattern. *Nature* **134**, 978 (1934).
- WYCKOFF, R. W. G.: (1) Molecular sedimentation constants of tobacco mosaic virus proteins extracted from plants at intervals after inoculation. *J. biol. Chem. (Am.)* **121**, 219 (1937).
— (2) The ultracentrifugal study of macromolecules. *Cold spring harbor Sympos. quant. biology* **6**, 361 (1938).
— (3) An ultracentrifugal analysis of the aucuba mosaic virus protein. *J. biol. Chem. (Am.)* **124**, 585 (1938).
— (4) Purified viruses and virus proteins. *Erg. Enzymforsch.* **8**, 1 (1939).
- WYCKOFF, R. W. G., BISCOE and STANLEY: An ultracentrifugal analysis of the crystalline virus proteins isolated from plants diseased with different strains of tobacco mosaic virus. *J. biol. Chem. (Am.)* **117**, 57 (1937).
- WYCKOFF, R. W. G. and R. B. COREY: X-ray diffraction patterns of crystalline tobacco mosaic viruses. *J. biol. Chem. (Am.)* **116**, 51 (1936).
- ZINSSER, H.: On the nature of virus agents. *Amer. J. publ. health* **27**, 1160 (1937).
- ZINSSER, H. and E. B. SCHÖNBACH: Studies on the physiological conditions prevailing in tissue cultures. *J. exp. Med. (Am.)* **66**, 207 (1937).

Zweiter Abschnitt.

Mensch und Tier als Virusträger und Virusausscheider.

Von

R. DOERR, Basel.

I. Einleitung.

1. Definition.

Unter einem *Träger (carrier)* versteht man in der Lehre von den Infektionen ein Individuum, welches in seinem Organismus krankheitserregende Keime beherbergt, ohne daß dieser Zustand in pathologischen Erscheinungen zum Ausdruck kommt. In dieser weitesten Fassung deckt sich der Begriff des Trägertums mit der Definition einer latenten Infektion; die praktische Verwendung verbindet jedoch mit dem Ausdruck „Träger“ einen epidemiologischen Nebensinn. Einen Menschen mit einem abgekapselten, mit der Außenwelt weder direkt noch mittelbar kommunizierenden Herd, in welchem lebende Tuberkelbazillen eingeschlossen sind, bezeichnen wir nicht als Träger, obzwar er latent infiziert ist. Was in diesem Falle fehlt, ist die *Bedeutung als Infektionsquelle*, die Möglichkeit der Übertragung auf gesunde Individuen, die an die *Ausscheidung aus dem Wirtsorganismus* als notwendige Bedingung gebunden ist. Ob die Ausscheidung durch physiologische oder pathologische Se- und Exkrete oder durch Vermittlung blutsaugender Arthropoden erfolgt, ist im Prinzip gleichgültig: *der Träger wird für den Epidemiologen nur insofern zum Träger, als er ein Ausscheider ist.*

Im deutschen Schrifttum nennt man allerdings „*Ausscheider*“ nur jene Personen, bei denen sich die Latenz an eine vorausgegangene Krankheit anschließt; tritt dagegen der latente Infekt selbständig (ohne vorausgehende Erkrankung) auf, so spricht man von *Keimträgern*. Diese Unterscheidung hat einen Sinn, da es sich herausgestellt hat, daß die Merkmale des Zustandes je nach seiner Vorgeschichte in wichtigen Punkten differieren können; die sprachliche Bezeichnung ist aber a priori ungeeignet, das zu charakterisieren, was hier auseinandergehalten werden soll. Britische und französische Autoren tragen dieser Sachlage in der Weise Rechnung, daß sie den Ausdruck „*Ausscheider*“ überhaupt nicht verwenden, sondern nur zwei Kategorien von Keimträgern, *healthy* und *convalescent carriers* bzw. *porteurs de germes sains* und *convalescents*, anerkennen, was mit „*gesunde und rekonvaleszente Keimträger*“ zu übersetzen wäre. Ob diese Bezeichnungen glücklich gewählt sind, mag dahingestellt bleiben; sie sind jedenfalls eingebürgert und schließlich auch verständlich. Aber die Einteilung in Keimträger mit oder ohne klinische Vorgeschichte erschöpft nicht alle tatsächlich vorkommenden Möglichkeiten. Die Ausscheidung der Erreger kann nämlich der

manifesten Erkrankung vorangehen und erfolgt dann entweder in einer bestimmten Phase einer gesetzmäßigen (normierten) Inkubation oder während einer längeren und variablen Zeitdauer, so daß man den Eindruck erhält, daß die Umsetzung des latenten Trägertums in die Krankheit zufällig infolge von akzidentellen Faktoren vor sich geht.

2. Mannigfaltigkeit der Formen des Trägertums.

Es ergibt sich demnach schon dann eine gewisse Mannigfaltigkeit der Formen des Trägertums, wenn man bloß die Beziehungen zur spezifischen Erkrankung ins Auge faßt. Berücksichtigt man die variable Dauer des Trägertums und ihre Gesetzmäßigkeiten, so wächst die Zahl der Varianten, und die Einführung weiterer klassifikatorischer Momente enthüllt schließlich eine solche Fülle von Möglichkeiten, daß das Trägertum fast bei jeder Infektion besondere Merkmale aufweist. Zu dieser Aufsplitterung eines anscheinend einheitlichen Begriffes führt die rein phänologische Erfassung der Beobachtungen. Es ist aber — schon im Hinblick auf die der Analyse leichter zugänglichen manifesten Erkrankungen — wahrscheinlich, daß auch im Mechanismus des Trägertums Verschiedenheiten bestehen, von denen allerdings nur wenig bekannt ist.

3. Träger bei Viruskrankheiten.

Wie die latenten Infektionen ist auch das Trägertum, das nach den obigen Ausführungen nichts anderes ist als der *latente Infekt in seiner epidemiologischen Auswirkung*, von der systematischen Zugehörigkeit der infizierenden Keime unabhängig. Die Lehre von den pathogenen Mikroorganismen war ursprünglich eine auf medizinische Probleme angewandte „Bakteriologie“; es ist daher verständlich, daß man zunächst „Bazillenträger“ feststellte und daß die Klasse der „gesunden Bazillenträger“ zuerst bei der Diphtherie (F. LÖFFLER, 1884) und bei der Choleraepidemie in Hamburg 1891 nachgewiesen werden konnte. Daß auch noch in neueren und umfangreichen Werken expressis verbis oder meist uneingestanden die Auffassung vertreten wird, daß das Trägertum auf die bakteriellen Infektionen beschränkt sei, ist wohl noch eine Nachwirkung jener Zeit, welche nur „Bazillenträger“ kannte; de facto aber gibt es Träger von Dysenterieamöben, von parasitischen Infusorien (*Balantidium coli*), von Trypanosomen, Treponemen, Malariaplasmodien, von Spirochäten (die „gesunden Parasiten-träger“ beim Rückfallfieber), von Bartonellen, von Rickettsien usw. *Die virusartigen Infektionsstoffe machen auch in dieser Beziehung keine Ausnahme.*

F. O. HÖRING hat zwar behauptet, daß eine chronische Virusausscheidung, wie sie bei den Bazillenträgern beobachtet wird, bei den „Viruskrankheiten“ des Menschen nicht vorkommt; die Ausscheidung erfolge nur, solange die krankhaften Gewebeprozesse an Haut oder Schleimhäuten fortbestehen. Als Begründung wird angeführt, daß es nur bei Infektionen mit Bakterien oder Protozoën „zu einer Symbiose des Keims mit dem Wirtsorganismus“ kommen kann, „wie wir sie in verschiedenen Formen, teils als Infektion ohne Krankheit, teils als Bazillenausscheidung nach Krankheiten, teils als chronische, aber inaktive Krankheit kennen“. Eine solche Symbiose zwischen Wirt und Keim gibt es — meint HÖRING — bei den Viruskrankheiten nicht. Diese und zahlreiche andere Angaben von gleicher Tendenz finden sich in einem Aufsatz, in welchem der Verfasser den Beweis zu erbringen sucht, daß die Viruskrankheiten eine geschlossene, durch besondere Eigenschaften ausgezeichnete Gruppe infektiöser Prozesse darstellen. Wie R. DOERR (7, 10) auseinandergesetzt hat, sind solche Bemühungen von vorneherein aussichtslos und verleiten dazu, Differenzen zu konstruieren, die in der Realität gar nicht vorhanden sind. So auch bei HÖRING, der zunächst, um seine vorgefaßte Ansicht zu stützen, die Virusinfektionen des Menschen als eine spezielle Kategorie heraushebt, ohne diese unzulässige Begrenzung zu be-

gründen. Die von HÖRING aufgezählten Formen der „Symbiose zwischen Wirt und Keim“ [zu der Bezeichnung „Symbiose“ vgl. R. DOERR (3, S. 122)] sind jedoch auch bei den durch Virusarten hervorgerufenen Erkrankungen des Menschen wohlbekannt, wie sie andererseits bei Prozessen von differenter Ätiologie fehlen können. Der Gegensatz kommt bloß dann zustande, wenn man zwei ad hoc gewählte Beispiele gegenüberstellt, wie etwa den Dauerausscheider von Typhusbazillen und die komplette und gesetzmäßige Autosterilisation bei den Pocken.

4. Mechanismus des Trägertums. Beziehungen der latenten (subklinischen) Infektion zur Pathogenese der Symptome der Infektionskrankheiten.

Die Beantwortung der Frage, wodurch die verschiedenen Formen des Trägertums bedingt sind, deckt sich offenbar mit der Lösung des Problems, warum eine Infektion während der ganzen Dauer ihres Bestehens oder während bestimmter Phasen ihres Ablaufes latent bleibt. Die Kenntnis der Ursachen der Latenz ist aber ihrerseits zum großen Teil davon abhängig, daß wir eine gründliche Einsicht in den Mechanismus haben, durch welchen die klinisch faßbaren Erscheinungen der Infektionskrankheiten zustandekommen. Die Pathogenese der Symptome ist ja das positive Korrelat zu dem negativen Phänomen der Latenz. Leider ist diese Prämisse derzeit nur in höchst unvollkommenem Ausmaße erfüllt, und zwar, wie wir hier gleich vorwegnehmen wollen, bei den Virusarten noch weniger als bei anderen Infektionsstoffen.

Die schädigende Auswirkung parasitierender Bakterien auf die Gewebe ihrer Wirte führt man allgemein auf *Gifte* zurück, weil diese Vorstellung zwei Tatsachen leicht verständlich macht, nämlich erstens die Schwere der Störungen, welche zur Masse der Bakterien in auffallendem Mißverhältnis steht, und zweitens das Auftreten von krankhaften Veränderungen in Organen, in welchen die Keime gar nicht vorhanden sind (Fernwirkungen). Nun ist es bekanntlich gelungen, aus einer großen Zahl pathogener Bakterien toxische Substanzen zu isolieren und mit denselben anatomische oder funktionelle Veränderungen zu erzeugen, welche den beim infizierten Wirt beobachteten Erscheinungen in mehr oder minder hohem Grade — allerdings nie vollständig — gleichen, so daß man berechtigt ist, diese Gifte als Faktoren zu betrachten, welche sich am Krankheitsgeschehen beteiligen.

Spezifische Gifte der Virusarten konnten dagegen bisher nicht nachgewiesen werden, wenn man von den Rickettsientoxinen (E. GILDEMEISTER und E. HAAGEN) absieht, deren Bedeutung für die pathologischen Reaktionen des mit Fleckfieber infizierten Organismus noch durchaus ungewiß ist, sowie von den auf S. 60 dieses Ergänzungsbandes zitierten Angaben von H. R. KRAYBILL, P. H. BREWER, R. W. SAMSON und M. W. GARDNER über toxische Wirkungen thermostabiler Stoffe, die aus mit Mosaikvirus infizierten Tabakpflanzen dargestellt worden waren. Selbstverständlich folgt daraus nicht, daß Gifte als Vermittler wirtschädigender Wirkungen der Virusarten auszuschließen sind; nur nimmt dieser Gedanke hier einen fast rein hypothetischen Charakter an und es wäre wohl auch schwer, daß, was wir über die Entstehung und Beschaffenheit von bakteriellen Giften wissen, auf die Virusarten zu übertragen.

Theoretisch betrachtet, wird aber das Gift als pathogenes Bindeglied zwischen Keim und Wirtszelle überflüssig, wenn sich das Leben des Parasiten „im kleinsten Raum“, nämlich in der Wirtszelle selbst abspielt [R. DOERR (7, S. 124)]. In solchem Falle besteht ja das Mißverhältnis zwischen infizierter Lebensinheit und Masse der Erreger nicht mehr, selbst wenn diese auf die Virusdimensionen reduziert sind, und die alte „Erschöpfungshypothese“, die bei den bakteriellen Infektionen als absurd verlassen wurde, gewinnt hier Sinn und erhöhte Bedeutung. Die Viruselemente bestehen aus Eiweißkörpern (Nucleoproteinen), und

wenn sie sich in einer lebenden Wirtszelle vermehren, müssen sie diese notwendigerweise durch Entzug von Stoffen, welche sie für Leben und Funktion benötigt, und schließlich durch Aufzehrung ihrer Substanz schädigen.

Die Veränderungen eines von einem Malariaplasmodium besiedelten Erythrocyten und die bis zum völligen Schwinden fortschreitende Einschmelzung seines Plasmas geben ein anschauliches Bild von dieser trophischen, im Prinzip atoxischen Auswirkung eines intracellularen Schmarotzers. Doch zeigt gerade dieses Beispiel die Grenzen und Schwächen solcher Auffassung. Das wichtigste Symptom der Malaria, das Fieber, beruht nicht darauf, daß die Plasmodien in den roten Blutkörperchen leben und wachsen; solange sie das tun, fiebert der Patient nicht, vielmehr steigt die Temperatur erst an, wenn die Schizonten, vom umhüllenden Erythrocyten befreit, in die Merozoiten zerfallen. Da man aber den Zusammenhang dieses Vorganges mit der Auslösung des Fieberanfalles nicht kennt, nimmt man ohne weiteres ein Toxin als Ursache des pyrogenen Reizes an, obzwar man ja keine Auskunft zu erteilen vermag, warum das Gift nicht schon im Erythrocyten, aus welchem es durch Diffusion austreten könnte, produziert wird, und wie man sich das „Freiwerden“ eines Giftes denken soll, wenn sich die bereits voll ausgebildeten Merozoiten voneinander lösen. Ein Gift, und zwar ein vom Erreger geliefertes Gift muß eben als natürlichster Ausweg überall erhalten, wo andere Erklärungen nicht gleich zur Hand sind.

Welche Schlüsse man aus diesem Paradigma auf die Pathogenese der Viruskrankheiten ziehen darf, ist leicht zu verstehen. Die Basis des Vergleiches bildet die Annahme, daß die Virusarten obligate Zellschmarotzer sind, d. h. daß sie sich außerhalb von Wirtszellen nicht vermehren können. Dieser Satz wird, obzwar er in dieser allgemeinen Fassung nicht bewiesen ist [R. DOERR (4, 10, 11)], von den meisten Spezialisten auf dem Gebiete der Virusforschung als eine nicht zu bezweifelnde Tatsache hingestellt. Der Umfang seiner reellen Gültigkeit ist indes für grundsätzliche Erörterungen nicht entscheidend, indem man das Gesichtsfeld auf jene Fälle einengen kann, in welchen das postulierte Verhalten der Virusarten allgemein anerkannt ist. Soll unter solchen Umständen ein Krankheitssymptom lediglich durch den Virusbefall bestimmter Zellen erklärt werden, so müßte man nachweisen, daß gerade jene Zellen infiziert waren, deren Schädigung das Symptom ergeben muß oder doch ergeben kann. So wäre die Invasion des Poliomyelitisvirus in die motorischen Ganglienzellen der Vorderhörner des Rückenmarkes eine hinreichende Bedingung für das Auftreten der Lähmungen. Optisch konnte aber dieser Vorgang bisher nicht festgestellt werden; daß im akuten Stadium der Affenpoliomyelitis ein Parallelismus zwischen dem Virusgehalt der verschiedenen Teile des Zentralnervensystems und dem Umfang des Unterganges von Nervenzellen besteht (M. BRODIE), gibt keine unmittelbare Gewißheit. Die bloße Besiedlung der motorischen Ganglienzellen gibt übrigens keinen Aufschluß, warum die Lähmungen bald schwer und irreversibel, bald nur vorübergehend oder kaum angedeutet sind und warum sie so oft gänzlich fehlen. Schließlich kann man das Fieber, ein Frühsymptom der Poliomyelitis, nicht gut auf den Befall der Ganglienzellen zurückführen; in dieser Hinsicht sind Versuche von H. A. HOWE und R. S. ECKE von besonderem Interesse.

Die genannten Autoren durchtrennten bei Affen die Tractus olfactorii und infizierten die Tiere intranasal mit Poliomyelitisvirus. Es traten infolge der Unterbrechung der Bahn zu den motorischen Zentren keine Lähmungen auf, aber die Affen reagierten meist zu gleicher Zeit wie nichtoperierte Kontrollen mit Fieber, und die histologische Untersuchung ergab Veränderungen in den Bulbi olfactorii, auf welche sich der Prozeß wegen der fehlenden Verbindung mit dem Zentralnervensystem beschränkt hatte. Würden die Bulbi operativ entfernt, so blieben sowohl die Lähmungen

als auch die Temperatursteigerungen aus. Die Zuverlässigkeit der Beobachtung vorausgesetzt, können diese Ergebnisse nur so gedeutet werden, daß die spezifische Infektion des Nervensystems, auch wenn sie sich auf ein sehr kleines Areal beschränkt, Fieber erzeugt, wobei die Funktion des infizierten Gebietes belanglos ist; wieder drängt sich der Gedanke an einen pyrogenen Stoff auf, der im infizierten Gewebe entsteht, resorbiert wird und zu den nervösen Zentren der Wärmeregulation gelangt. Andererseits würden die Experimente gegen die Ansicht mancher Autoren (G. DRAPER und andere) sprechen, daß das Fieber, welches sowohl bei der natürlichen Erkrankung des Menschen wie bei der Affenpoliomyelitis *vor dem Auftreten der Lähmungen* einsetzt, auf eine Allgemeininfektion zu beziehen ist, welche sich erst sekundär im Zentralnervensystem lokalisiert.

Die restlose Aufklärung der pathogenetischen Zusammenhänge stößt somit bei der Poliomyelitis auf erhebliche Schwierigkeiten, obzwar hier die Verhältnisse günstiger liegen als bei anderen Virusinfektionen des Menschen und der Tiere: das Virus hat eben eine hochspezifizierte Affinität zu motorischen Ganglienzellen, deren Läsion im klinischen Bild einen sehr eindeutigen Ausdruck findet. Wenn aber Zellen oder Zellsysteme infiziert werden, deren funktionelle Schädigung oder gänzlicher Funktionsausfall symptomatologisch nicht oder nicht eindeutig ausgeprägt ist, muß die Herstellung eines ursächlichen Konnexes zwischen Zellbesiedlung und den krankhaften Vorgängen schwierig, wenn nicht unmöglich werden. Zudem läßt auch die anatomische Untersuchung im Stich, da die Methoden, welche für den Nachweis von Viruselementen in tierischen Geweben angegeben wurden, unbrauchbar sind, falls es sich um feinere Lokalisationen handelt.

Bei einigen Krankheiten des Menschen und der Tiere (Gelbfieber, Dengue, Pappataciefieber, Masern) schwindet das Virus bald nach dem Einsetzen der Krankheitserscheinungen aus dem strömenden Blut und, soweit hierüber Angaben vorliegen, auch aus dem gesamten Organismus, während die krankhaften Störungen anhalten und einen gesetzmäßigen (cyclischen) Verlauf nehmen. Gerade in diesen Fällen ist es unwahrscheinlich, daß das spezifische Virus nur im Innern von Zellen proliferiert [R. DOERR (10)]; selbst wenn man von dieser Annahme ausgehen wollte, könnte man die in gewissem Sinne postinfektionellen Symptome nicht als unmittelbare Folgen von Zellbesiedlungen deuten.

Diese, hier nur flüchtig skizzierte Sachlage läßt es als begreiflich erscheinen, daß die folgenden Ausführungen über die Latenz von Virusinfekten und ihre Ursachen einen fragmentarischen und unbefriedigenden Charakter aufweisen. Da nicht von der Latenz schlechtweg, sondern im Sinne der einleitenden Erörterungen *von der mit Virusausscheidung einhergehenden Latenz* die Rede sein soll, wird die Darstellung noch durch den Umstand erschwert, daß die Angaben über Virusausscheidung ohne manifeste Erkrankung weit spärlicher und unvollständiger sind als auf dem Gebiete der anderen, besonders der bakteriellen Infektionen. Der einwandfreie Nachweis der Virusausscheidung erfordert komplizierte und kostspielige Tierexperimente, die sich geradezu prohibitiv auswirken, wenn beispielsweise die Häufigkeit des Ausscheidertums unter verschiedenen Bedingungen oder die Dauer des Zustandes genau ermittelt werden sollen. Um die auf solche Art entstandenen Lücken wenigstens provisorisch auszufüllen, werden epidemiologische Beobachtungen herangezogen, wie z. B. das Auftreten sporadischer Erkrankungen, für welche sich keine Infektionsquellen nachweisen lassen und die man daher auf Virusträger zurückführen möchte, oder Durchseuchungen von Bevölkerungsgruppen, deren immunisatorischer Effekt in offensichtlichem Widerspruch zur geringen Zahl der Erkrankungen steht. Daß man sich damit auf unsicheren Boden begibt, leuchtet ein und wird durch manche Erfahrung bestätigt.

II. System des Trägertums tierpathogener Virusarten.

Unter diesen Vorbehalten soll nun ein *System des Trägertums tierpathogener Virusarten* aufgestellt und durch Beispiele belegt werden. Es ist schon aus räumlichen Gründen nicht beabsichtigt, alles, was über tierische Virusträger bekannt ist oder vermutet wird, in möglicher Vollständigkeit anzuführen; eine solche Zusammenstellung würde auch die Charaktere der wichtigen Typen und ihre Unterschiede nicht zur Geltung bringen, sondern durch das Übermaß der Details eher verschleiern. Die Auswahl der Virusarten wurde daher so getroffen, daß die Hauptformen des Trägertums gebührend berücksichtigt werden und daß an ihnen die methodologischen und kausalen Probleme dieser Zustände aufgezeigt werden können.

Die latenten und als Infektionsquellen fungierenden Virusinfekte der Pflanzen sind als besonderes Thema vorgesehen, das an anderer Stelle im Druck erscheinen wird.

Als übergeordnetes Klassifikationsprinzip empfiehlt sich die *Beziehung zur spezifischen Erkrankung*, schon aus dem Grunde, weil diese Einteilung, wenn auch nicht stets in völlig gleicher Form, bald nach der Erkennung derartiger Zustände vorgeschlagen wurde und auch heute noch üblich ist. Von diesem Gesichtspunkt aus kann man unterscheiden:

I. Das Trägertum, das während der ganzen Dauer seines Bestehens subklinisch bleibt.

II. Das Trägertum bzw. die Virusausscheidung als Vorläufer, und

III. als Folgezustand der spezifischen Erkrankung.

A. Das Trägertum, das während der ganzen Dauer seines Bestehens subklinisch bleibt.

Diese Kategorie ist nicht einheitlich. Zwei differente Fälle heben sich aus den hierher gehörigen Erscheinungen ab, nämlich die *Latenz als cyclischer Prozeß* und die *Latenz als Folge einer besonderen, für das typische Krankheitsbild belanglosen Lokalisation des Erregers*.

1. Die Latenz (das Trägertum) als cyclischer Prozeß.

Was man hierunter zu verstehen hat, wird sich aus der Analyse des Beispiels der Dengue ergeben, an welches dann analoge Fälle angeschlossen werden können.

a) Die Dengue.

BLANC, CAMINOPETROS und MANOUSSAKIS impften eine Versuchsperson *R.* mit 3,5 ccm Blutserum eines Denguekranken intravenös. Klinisch blieb die impfte Person gesund; ihr Blut, am 3. Tage nach der Impfung entnommen und einem dritten Individuum in der Menge von 7 ccm intravenös eingespritzt, erwies sich jedoch als infektiös, indem es eine typische Dengue zu erzeugen vermochte. Das Überstehen der latenten Infektion hinterließ eine spezifische Immunität; denn eine zweite Injektion von 9 ccm Dengueblut, dessen Infektiosität durch ein Kontrollexperiment sichergestellt worden war, löste bei *R.* weder manifeste Symptome aus, noch wurde das Blut aufs neue erregert. Daß das Blut von *R.* am 3. Tage nach der Injektion virushaltigen Materials in eine Vene infektiös war, könnte so erklärt werden, daß sich das Agens solange in der Zirkulation gehalten hatte; das Ergebnis der Immunitätsprobe bewies aber, daß sich das Virus vermehrt haben mußte, daß es also zu einer Infektion ohne Krankheitserscheinungen gekommen war.

Was soll man sich aber in diesem besonderen Falle wie auch allgemein unter dem cyclischen Ablauf eines symptomlosen Infektionsprozesses vorstellen? Das Krankheitsbild der natürlichen wie auch der experimentell induzierten Dengue ist durch eine normierte Inkubation, eine typische zweigipfelige Fieberkurve, eine bestimmte Dauer usw. ausgezeichnet, und diese zu einer nosologischen Einheit synthetisierten Gesetzmäßigkeiten sind es eben, welche wir als cyclischen Prozeßablauf bezeichnen, Kriterien, welche beim latenten Infekt definitionsgemäß fehlen. Die cyclischen Krankheitsphänomene müssen aber irgendwie durch das Verhalten des Erregers im Organismus bedingt sein. In der Tat haben zahlreiche Versuche gelehrt, daß die Konzentration des Denguevirus im Blut am 1. Krankheitstage maximal ist, daß sie dann rasch abnimmt und daß das Virus schon am 3. bis 4. Krankheitstage aus der Blutzirkulation verschwunden sein kann. Man hätte also bei einer größeren Zahl von Individuen, welche mit Denguevirus latent infiziert sind, zu untersuchen, ob sich die Autosterilisation bzw. die Eliminierung des Virus aus dem Blut in derselben Weise vollzieht wie beim Kranken. Darüber gibt der zitierte Menschenversuch keine genaue Auskunft, da die Infektiosität des Blutes des latent infizierten *R.* nur zweimal — im Abstand von 8 Tagen — geprüft wurde, allerdings erwartungsgemäß das zweite Mal mit negativem Ergebnis. Man kann aber die Meerschweinchenexperimente von BLANC, CAMINOPETROS und MANOUSSAKIS heranziehen. Impft man nämlich Meerschweinchen mit virushaltigem Serum von Denguekranken, so bleibt nach den Angaben dieser Autoren die klinische bzw. thermische Reaktion aus; die Rückübertragung des Blutes oder Serums solcher Tiere auf gesunde Menschen ruft jedoch bei diesen in einem gewissen Prozentsatz der Einzelversuche eine typische Dengue hervor, aber nur, wenn zwischen der Infektion des Meerschweinchens und der Entnahme des Blutes nicht mehr als 5 Tage verstreichen.

Damit wäre der Typus des *cyclischen latenten Infekts* fixiert, und darüber, daß Menschen oder Tiere — zumindest in der Phase, in welcher das Virus im Blut kreist — die Krankheit weiter verbreiten, als „Träger“ im erörterten Sinne funktionieren können, besteht kein Zweifel. Nicht erledigt erscheint hingegen die Frage, *warum* der Infektionszustand latent bleibt. In Ermangelung befriedigender Erklärungen pflegt man die verschiedene „Virulenz“ des Erregers verantwortlich zu machen. Das ist aber unzulässig, wenn man z. B. zwei Menschen mit der gleichen Dosis desselben Materials in identischer Weise impft und der eine typisch erkrankt, während der andere nur latent infiziert wird, wie das bei den zitierten Menschenexperimenten mit Denguevirus der Fall war (BLANC, CAMINOPETROS und MANOUSSAKIS, l. c., S. 178). Die Ursache der Latenz muß also im infizierten Organismus gesucht werden, und es liegt da wohl am nächsten, an eine rasch erwachende Immunität zu denken, welche den in Gang gesetzten Infektionsprozeß abbremst, bevor er zu pathogener Auswirkung gelangt. Für diesen Mechanismus spricht ein experimentelles Modell: Die Erkrankung maserninfizierter Kinder bleibt aus oder wird auf ein „Masernäquivalent“ (Morbilloid) reduziert, wenn man im Inkubationsstadium neutralisierendes Rekonvaleszenten-serum einspritzt; solche Kinder verbreiten erfahrungsgemäß die Krankheit unter ihrer ungemaserten und ungeimpften Umgebung, fungieren also als temporäre Träger und Ausscheider des spezifischen Virus und werden, speziell wenn das Serum erst am 3. bis 5. Tage nach der Infektion injiziert wird, nicht passiv, sondern, wie aus der Dauer des Impfschutzes hervorgeht, aktiv immun (CH. NICOLLE und H. CONSEIL, H. DEGKWITZ).

Diese vielfach bestätigten Erfahrungen, welche Kinderärzte bei der praktischen Anwendung der Masernschutzimpfung gemacht haben, sind wohl nur in dem oben präzisierten Sinne zu deuten, können aber nicht als die einzig mögliche

Erklärung für das Phänomen der cyclischen Latenz gelten. Wenn man Denguevirus in Form von erregerhaltigem Patientenblut auf niedere Affen (*Macacus*arten, *Cercopithecus*, *Papio*) verimpft, kann man zwar keine Zeichen einer Erkrankung feststellen, aber das Blut der Tiere wird vom 5. Tage angefangen für den Menschen infektiös, und bleibt es bis zum 8. Tage, um am 12. Tage seine Pathogenität wieder zu verlieren (G. BLANC, CAMINOPETROS und MANOUSSAKIS, G. BLANC, CAMINOPETROS, DUMAS und A. SAENZ, SIMMONS, H. S. JOHN und REYNOLDS). Für die richtige Erfassung dieser Experimente sind folgende ergänzende Angaben wichtig: 1. Das Blut der geimpften Affen war 24 Stunden nach der Impfung noch nicht infektiös. 2. Andere Tierarten (Hunde, Kaninchen, Hühner, Tauben, Mäuse) erwiesen sich als refraktär, d. h. ihr Blut vermochte, auf den Menschen übertragen, keine Dengue zu erzeugen; eine Ausnahme machten bloß Meer-schweinchen und weiße Ratten, welche sich in ganz vereinzelt Fällen ähnlich verhielten wie Affen (siehe S. 94). Daß manifeste Infektionen latent, werden können, wenn man sie in anderen Wirtsspezies ablaufen läßt, ist nun ein keineswegs seltenes Phänomen; die Syphilisinfektion der weißen Maus, die symptomlosen Infektionen von Ratten und Kaninchen mit Fleckfieberkeimen und die latenten Infektionen von Sigmodonratten mit bestimmten Stämmen von Polio-myelitisvirus (C. W. JUNGEBLUT und M. SANDERS) sind bekannte Beispiele. In solchen Fällen wird man die Ursache der Latenz wohl nicht auf eine „rasch erwachende“, d. h. durch den Infektionsprozeß ausgelöste Immunität zurückführen. Vielmehr wäre daran zu denken, daß die Wirte, in welchen der Prozeß latent bleibt, über eine natürliche Resistenz verfügen, welche zwar nicht absolut, aber relativ ist, so daß sie keine ausgiebige Vermehrung der infektiösen Keime gestattet, oder daß die Latenz auf einer Unempfindlichkeit gegen die pathogenen Faktoren der Erreger, z. B. gegen Gifte derselben, beruht. Für die an erster Stelle genannte Annahme hat man indes derzeit keine genügenden Beweise, ja in einzelnen Kombinationen, z. B. bei der Syphilisinfektion der weißen Maus, ist eine ungenügende Proliferation der Spirochäten als Ursache des Fehlens von Krankheitserscheinungen direkt abzulehnen. Bleibt also als wahrscheinlichere Erklärung die zweite Hypothese, gegen die kein grundsätzlicher Einwand erhoben werden kann, wenn man der Tatsache eingedenk ist, daß Infektiosität und Pathogenität eines infektiösen Agens zwei verschiedene Eigenschaften sind, die infolge ihrer partiellen Unabhängigkeit in dem Sinne dissoziieren können, daß die Pathogenität infolge der besonderen Beschaffenheit des Wirtes ausgelöscht wird, während die Infektiosität fortbesteht [R. DOERR (7)].

Versuche von BLANC, CAMINOPETROS, DUMAS und SAENZ, die Dengueinfektion in latenten Affenpassagen fortzuführen, scheiterten; das Blut der mit menschlichem Material inokulierten Affen wurde nur für Menschen infektiös, aber nicht für Affen. Wären diese Resultate konstant, so würde die latente Dengueinfektion der Affen als rein experimentell erzeugter Zustand lediglich theoretisches Interesse bieten. J. S. SIMMONS, H. S. JOHN und REYNOLDS kamen aber in sehr ausgedehnten Versuchen zu anderen Ergebnissen. Es gelang ihnen, die latente Infektion der Affen nicht nur durch die Injektion von Krankenblut, sondern auch durch die Stiche infizierter *Aedes aegypti* hervorzurufen und vom Affen auf Affen zu übertragen. Die Empfänglichkeit der Affen war verschieden und wurde nicht so sehr durch die Spezies, sondern hauptsächlich durch die Herkunft der Tiere bestimmt. So glückten direkte oder durch Stegomyien vermittelte Übertragungen auf *Macacus fuscatus* aus Japan und auf *Macacus philippinensis* aus Sagada (nördliches Luzon), aus Orten, wo die Dengue nicht grassiert, in hohem Prozentsatz der Einzelversuche, während von 7 *Macacus philippinensis* aus dem verseuchten Gebiet von Manila nur einer mit einem latenten Infekt reagierte.

Die Autoren (vgl. auch J. S. SIMMONS) zogen hieraus den Schluß, daß Affen als Virusreservoirs in den endemischen Verbreitungsbezirken der Dengue eine wichtige Rolle spielen dürften, wofür auch die Tatsache spreche, daß die Dengue nicht erlischt, wenn man die Beziehungen zwischen den kranken Menschen und den übertragenden Mücken radikal unterbricht. Wenn sich dies alles so verhält, hätten wir den Fall vor uns, daß sich ein Virus ausschließlich oder fast ausschließlich¹ in latenten Infektketten erhalten kann. Auch dafür gibt es Analogien, wie z. B. die spontane Encephalomyelitis der weißen Mäuse [P. K. OLITSKY (1), MAX THEILER und SVEN GARD, siehe auch R. DOERR (3)]; aber die epidemiologische Bedeutung der Affendengue läge in dem eigenartigen Umstände, daß die Endemizität durch *cyclisch verlaufende* latente Infektionen aufrechterhalten wird.

b) Das Pappataciefieber.

Die Dengue, das Pappataciefieber und das Gelbfieber zeigen in mehrfacher Beziehung ähnliche Eigenschaften. Sie werden durch Stechmücken übertragen, was nur unter der Voraussetzung möglich ist, daß das Virus im Blut hohe Konzentrationen erreicht [R. DOERR (5, S. 692)]; bei allen drei Krankheiten wird dieser für den Übertragungsmodus notwendige Virusspiegel nur relativ kurze Zeit festgehalten; nicht nur in der Beziehung des Agens zum Blut, sondern auch im klinischen Verhalten tritt der cyclische Charakter der Prozesse zutage und die Folge des Infektionsablaufes ist in allen Fällen eine, wenn auch nicht durchwegs gleich starke und gleich lang anhaltende spezifische Immunität. Diese Verwandtschaft prägt sich nun auch darin aus, daß das Phänomen des Trägertums in Form eines cyclisch latenten Infekts, wie es für die Dengue beschrieben wurde, auch beim Pappataciefieber und beim Gelbfieber beobachtet wird. Es liegt in der Natur der Sache, daß diese Art des „Trägertums“ von abortiven Erkrankungen nicht scharf abzugrenzen ist; auch der völligen Latenz liegt ja die gleiche gesetzmäßig ablaufende Infektion zugrunde, und das Ausmaß, in welchem dieselbe symptomatologisch zum Ausdruck kommt, kann selbstverständlich zwischen Null und dem Maximum des typischen Krankheitsbildes variieren.

Abortive Fälle von *Pappataciefieber* sind häufig; sie zeichnen sich dadurch aus, daß das Fieber sehr gering ist (einige Zehntelgrade über 37), während sich Magendarmsymptome gerade bei solchem Verlaufe oft stärker ausprägen. Daß derartige Fälle zum Pappataciefieber zu zählen sind, ergibt sich vor allem aus der Tatsache, daß sie auch experimentell (durch Injektion von Patientenblut oder durch Phlebotomenstiche) hervorgerufen werden können (R. DOERR (1), R. DOERR und V. K. RUSS, C. BIRT), weniger sicher aus der Beobachtung, daß Personen, die eine abortive Attacke überstanden haben, gegen neuerliche Infektionen geschützt sind. Nach den übereinstimmenden Angaben mehrerer Autoren (C. BIRT, K. FRANZ, R. DOERR (1), G. MEMMO, G. MENDINI u. a.) sind die abortiven Erkrankungen im Beginn der alljährlichen Fiebersaison vorherrschend und werden dann, je mehr sich die Epidemie ihrem numerischen Kulminationspunkt nähert,

¹ Nach J. E. DINGER und E. P. SNIJDERS soll die Dengueinfektion beim Affen nicht immer subklinischen Charakter haben. Von 22 mit menschlichem Material geimpften Affen (Rhesus und junge Cynomolgi) verendeten 8 und boten einen zum Teil übereinstimmenden Sektionsbefund (Veränderungen in Leber und Niere). Daß der Exitus de facto eine unmittelbare Folge der Dengueinfektion war, ist damit natürlich nicht bewiesen und die Autoren meinen auch nur, daß man diese Möglichkeit nicht ausschließen könne. Die Versuche wurden in Amsterdam angestellt; das Virus war von Medan (Sumatra) in Form von infizierten *Aedes aegypti* und *albopictus* nach Holland importiert worden und wurde durch Stiche dieser Mücken zunächst auf Menschen übertragen.

immer schwerer, bis etwa Ende Juli und im August hohes Fieber, intensive Schmerzen, schlagartiger Beginn, Blutungen, Erbrechen, Diarrhöen die Regel bilden. DOERR und RUSS wollten dieses Verhalten darauf zurückführen, daß der Erreger (das spezifische Virus) während seiner Überwinterung in der Larve der Phlebotomenmücke eine Abschwächung erfährt und daß seine volle Infektiosität und Pathogenität erst während der Fiebersaison durch wiederholte alternierende Passage durch Mensch und Phlebotomus wieder hergestellt wird. Da WITTINGHAM und ROOK nachweisen konnten, daß aus den Eiern infizierter Phlebotomen in seuchefreiem Gebiet gezüchtete Imagines durch ihre Stiche Menschen zu infizieren, d. h. Fieberanfälle hervorzurufen vermögen, hat diese Annahme sehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen. Nach WITTINGHAM und ROOK sollen ferner die von infizierten Weibchen abstammenden Phlebotomen nicht unmittelbar nach dem Ausschlüpfen aus der Puppe infektiös sein, sondern erst, nachdem sie einige Tage gelebt und Blut gesogen bzw. verdaut haben; durch die Fütterung mit Blut, und zwar mit beliebigem (nicht virushaltigem) Blut, würde also das im Insekt schon vorhandene, von der Elterngeneration übernommene Virus eine Art „Aktivierung“ erfahren, was eine weitere Annäherung an die von R. DOERR formulierte Hypothese der winterlichen Abschwächung und der sommerlichen Erstarkung des Virus bedeutet.

Im Hinblick auf den experimentellen Nachweis latenter Dengueinfektionen des Menschen (siehe S. 93f.) mußte man mit der Möglichkeit rechnen, daß auch die Infektion mit dem Virus des Pappataciefiebers völlig symptomlos verlaufen kann, insbesondere zu Beginn der Fiebersaison, wo auch die klinisch manifesten Fälle im allgemeinen einen auffallend milden Charakter zeigen [R. DOERR (1), S. 507]. Versuchsergebnisse, wie sie BLANC, CAMINOPETROS und MANOUSSAKIS als Zufallstreffer bei der Dengue erzielten, sind jedoch beim Pappataciefieber nicht bekannt geworden, und die Ermittlung von latenten Infektionen, welche auf natürlichem Wege d. h. durch die Stiche infizierter Mücken zustandekommen, ist praktisch, wie leicht einzusehen, ein Ding der Unmöglichkeit. Es gibt keine diagnostischen Hilfsmittel, um eine subklinische Infektion mit dem Virus des Pappataciefiebers festzustellen; Tiere sind nicht empfänglich und nur die Übertragung des Blutes auf Menschen, die aber, da das Virus bald aus dem Blut schwindet, sowie aus anderen Gründen kaum anwendbar ist, könnte eine Entscheidung bringen. Daß Personen, welche aus unverseuchten in verseuchte Länder einwandern, von der Krankheit verschont bleiben, muß nicht darauf beruhen, daß sie in der ersten Zeit ihres Aufenthaltes latent infiziert wurden und in der Folge immun sind; es könnte sich ebensogut um Fälle von natürlicher Resistenz handeln oder um Individuen, welche wegen ihrer Hautausdünstung von den Phlebotomen gemieden werden [R. DOERR (1)].

Beim Pappataciefieber liegt somit die Sache so, daß wir die Existenz völlig latenter Infektionen annehmen und zugeben müssen, daß sie zur Verbreitung der Krankheit beitragen. Wir wissen aber nicht, in welchem Ausmaße sie sich am epidemiologischen Geschehen beteiligen, und können sie auch nicht erkennen, so daß sämtliche Maßnahmen, soweit sie sich gegen die Infektionsquellen richten, diese Virusträger notgedrungen vernachlässigen und daher unvollständig bleiben müssen. Das Pappataciefieber und wohl auch die Dengue stellen in dieser Hinsicht Extreme dar.

c) Das Gelbfieber.

Die Gelbfieberinfektion zeigt alle Abstufungen vom schweren, oft letalen Verlauf bis zur völligen Latenz; C. MATHIS bezeichnet die symptomlosen Formen sogar als „le type le plus parfait de l'infection inapparente“. Daß abortive Erkrankungen und latente Infektionen in endemisch verseuchten Gebieten tatsäch-

lich vorkommen, und zwar in einem nicht unbedeutenden Prozentsatz der gesamten Gelbfiebermorbidity, unterliegt auf Grund älterer und neuer Berichte keinem Zweifel; es ist aber auch heute noch nicht restlos aufgeklärt, welche Faktoren für die Abschwächung der klinischen Auswirkung maßgebend sind. Als gesichert darf gelten, daß das Gelbfieber bei *Kindern*, namentlich bei Kindern der einheimischen farbigen Bevölkerung in der Regel gutartig und wohl auch oft praktisch subklinisch verläuft. Allerdings hat man bei Kindern der zugewanderten Weißen wie der autochthonen Rassen auch schwere, ja tödliche Erkrankungen beobachtet, was manche Autoren zu der Forderung veranlaßte, die Schutzimpfung in verseuchten Ländern auf die Kinder auszudehnen (A. SICÉ u. a.); das ändert indes nichts an der allgemeinen Richtigkeit der Feststellung, daß Kinder auf den Gelbfieberinfekt ungleich schwächer reagieren als Erwachsene und daß ihre Reaktionen unter die diagnostisch faßbare Grenze absinken können. Die „formes frustes“ sieht man jedoch nicht nur bei Kindern, sondern, obschon seltener, bei Personen aller Altersklassen. Da die Eingeborenen, sobald sie erwachsen sind, verschont werden, wenn das Gelbfieber in seinen endemischen Verbreitungsgebieten aufflackert, nahm man an, daß der Schutz ähnlich wie bei den Masern unserer Klimate auf einer im Kindesalter durchgemachten Infektion beruht, welche infolge ihres atypischen und abortiven oder völlig latenten Verlaufes nicht beachtet wird. Diese Auffassung wird auch heute noch anerkannt. Man stellte sich jedoch früher vor, daß die vom Kinde erworbene Immunität allmählich ablassen kann, auch wenn sie durch die Stiche infizierter Aedes gelegentlich „aufgefrischt“ wird, und daß dann erneute Infektionen wieder haften können, aber nicht zu voller klinischer Auswirkung kommen (MARCHOUX und SIMOND, SIMOND, AUBERT und NOC, MARCHOUX, SALIMBENI und SIMOND, M. OTTO u. a.). Und in dieser Hinsicht haben sich die herrschenden Meinungen geändert. Die Mehrzahl der Autoren vertritt derzeit den Standpunkt, daß das Überstehen einer Gelbfieberinfektion eine *absolute* und *lebenslängliche* spezifische Immunität hinterläßt, mag nun die immunisierende Attacke schweren oder leichten Charakter haben oder ohne klinische Erscheinungen abrollen [W. H. HOFFMANN, E. HAAGEN (1) u. v. a.]. Diese Ansicht findet ihren stärksten Rückhalt in den bekannten Untersuchungen von W. SAWYER (1931), welcher im Serum von Personen, die 30—78 Jahre vorher eine Gelbfieberinfektion durchgemacht und das verseuchte Gebiet vor sehr langer Zeit verlassen hatten, spezifische virusneutralisierende Antikörper durch den Tierversuch (siehe weiter unten) nachweisen konnte. Diese Angaben wurden von vielen Seiten bestätigt, so z. B. von J. BAUER und N. HUDSON, L. SOPER und A. DE ANDRADE. Die letztgenannten Autoren fanden übrigens, daß der Mäuseschutzversuch in Gelbfieberländern sehr oft positive Resultate gibt, und zwar bei Personen, bei denen die Anamnese nicht den geringsten Anhaltspunkt für eine überstandene Gelbfiebererkrankung liefert — ein Hinweis auf die Häufigkeit der latenten Infektionen.

Ob es nun endgültig entschieden ist, daß eine schwache Erkrankung oder eine subklinische Infektion ebenso stark und nachhaltig immunisiert wie eine schwere Attacke und daß jede Reinfektion für die ganze weitere Lebensdauer sicher ausgeschlossen ist, mag dahingestellt bleiben. Es liegen Angaben vor, denen zufolge die Beständigkeit der neutralisierenden Antikörper im Blutserum durchseuchter Menschen nicht immer so groß ist, als man auf Grund extremer Fälle annehmen könnte (L. SOPER und A. DE ANDRADE, G. M. FINDLAY). Für die Behauptung, daß *latente* Infektionen bei durchseuchten Individuen unmöglich sind, fehlen auch vorderhand zureichende experimentelle Beweise.

Übrigens hat die ganze Frage keine überragende Bedeutung. Wichtiger erscheint die Tatsache, auf welche schon MARCHOUX und SIMOND (l. c., S. 134) mit

Nachdruck hingewiesen haben, daß man bei experimentellen Infektionen von Menschen keineswegs immer das typische Syndrom beobachtet; vielmehr können auch mittelschwere Erkrankungen auftreten oder so leichte und symptomarme Reaktionen, daß die klinische Diagnose unmöglich wäre, wenn man nichts von der vorausgegangenen Inokulation wüßte. Nicht nur nach Injektionen von virulentem Serum, sondern auch nach Stichen infizierter Aëdes hat man solche abortive Erkrankungen festgestellt, und zwar, wie MARCHOUX und SIMOND berichten, in so unerwartet hohem Prozentsatz, daß man die Beweiskraft der Experimente, durch welche die Pioniere der Gelbfieberforschung die Übertragung durch Mücken darzutun versuchten, anzweifelte. Es ist daher a priori gewiß, daß derartige Verlaufsarten auch unter natürlichen Verhältnissen auftreten müssen; MARCHOUX und SIMOND zogen de facto diesen Schluß und erhärteten ihn durch eigene Beobachtungen.

Im Blut typisch erkrankter Menschen läßt sich das Gelbfiebervirus nur bis zum 3. oder 4. Krankheitstag nachweisen. C. MATHIS hält es für wahrscheinlich, daß das Blut schon vor dem Einsetzen der Symptome infektiös wird, da man das Virus im Blut experimentell infizierter Affen schon 12 Stunden nach der Impfung findet, während die ersten Krankheitserscheinungen selten schon am 2. Tage, gewöhnlich erst am 3. oder 4. Tage auftreten. Jedenfalls ist die Zeitspanne, während welcher die übertragende Mücke virushaltiges Blut aufnehmen kann, ziemlich enge begrenzt. Wie sich in dieser Beziehung abortive und vor allem latente Fälle verhalten, wurde meines Wissens nicht systematisch untersucht. Man hat aber genügende Anhaltspunkte dafür, daß das Virus auch im Blut der leicht erkrankten und der latent infizierten Menschen kreist, und zwar gleichfalls nur während der ersten Krankheitstage.

In der Literatur findet man mehrfache Angaben, daß durch Injektion des Blutes bzw. des Blutserums abortiver Fälle, welches rechtzeitig entnommen worden war, Gelbfieber erzeugt werden konnte. Es sollen hier nur zwei Beispiele angeführt werden. Das erste betrifft ein Experiment von MARCHOUX, SALIMBENI und SIMOND (l. c., S. 671), bei welchem die subcutane Injektion von 1 ccm Serum, entnommen am 3. *Krankheitstag* einer gutartigen Gelbfiebererkrankung, ein positives Ergebnis hatte. Im zweiten Fall, über welchen MAURICE MATHIS 1936 berichtet hat, stammte das Serum von einer Patientin, welche nur ganz leicht erkrankt war (der Harn blieb andauernd eiweißfrei); die Entnahme erfolgte am 2. *Krankheitstag*. 1 ccm des Serums wurde auf einen *Macacus rhesus* subcutan verimpft, je 0,05 ccm auf sechs weiße Mäuse intracerebral; sämtliche Versuchstiere reagierten typisch. Die Mitteilung von M. MATHIS verdient besondere Beachtung, weil die cerebrale Verimpfung auf weiße Mäuse eine in großem Umfang anwendbare Methode darstellt, während das Experiment am Affen oder gar die Übertragung auf Versuchspersonen praktisch nicht in Betracht kommen. Vielleicht könnte man auf diesem Wege Gewißheit über das Vorkommen völlig latenter Infektionen, das von manchen Autoren (E. HAAGEN, l. c., S. 473) in Frage gestellt wird, schaffen und ihre Verbreitung ermitteln. Die Komplementbindungsreaktion und der weit leistungsfähigere, technisch relativ einfache Mäuseschutzversuch ermöglichen nur eine retrospektive Diagnose, sie sagen nur aus, daß der Prüfling früher eine spezifische Infektion durchgemacht hat, unterrichten aber nicht über ihren klinischen Charakter. Nur wenn in einer Bevölkerung die Zahl der Individuen mit positivem Befund in offensichtlichem Mißverhältnis zu den Personen mit Gelbfieberanamnese steht, könnte man auf das gehäufte Auftreten subklinischer Infektionen schließen (siehe S. 98).

Daß man mit 0,05 ccm Serum leichter Gelbfieberfälle weiße Mäuse, mit 1,0 ccm Menschen und Affen infizieren kann, falls das Serum in den ersten

Krankheitstagen entnommen wird, beweist noch nicht, daß die übertragende Mücke unter solchen Bedingungen genügende Virusmengen aufzunehmen vermag, um regelmäßig oder doch in hinreichendem Prozentsatz die Fähigkeit der Übertragung des Virus auf Menschen zu erwerben. Diese Überlegung ist a priori berechtigt und besitzt auch in anderer Beziehung prophylaktische Bedeutung. Für die Schutzimpfung gegen Gelbfieber wurden, nachdem die Verwendung von abgetötetem Virus schon im Tierversuch versagt hatte, zunächst Mischungen von aktivem Virus und Immunserum verwendet und schließlich auch viscerotropes aktives Kulturvirus ohne Zugabe von Immunserum. Die an letzter Stelle genannte Methode wurde 1937/38 in Brasilien an 59 592 Personen angewendet, wobei sich herausstellte, daß bei manchen Impfungen zwischen dem 3. und 8. Tage Reaktionen auftraten, welche einem leichten Grippeanfall glichen (Fieber bis zu 38°, Muskelschmerzen, Unwohlsein). Im Blut konnte vom 5. Tage angefangen durch 2—3 Tage Virus nachgewiesen werden, und zwar in einem mit der Höhe der Impfdosis steigenden Prozentsatz (bis zu 66,7%). Es hatte sich also infolge der Impfung eine, klinisch allerdings sehr leichte Infektion entwickelt (H. H. SMITH, PENNA und PAOLIELLO). Daraus ergab sich unmittelbar die Frage, ob frisch geimpfte Menschen in dem Stadium, in welchem ihr Blut Virus führt, nicht zu Ansteckungszentren werden können. Die ad hoc angestellten Experimente von E. ROUBAUD, STEFANOPOULO und G. M. FINDLAY sowie von L. WHITMAN (siehe auch *Rapport de la commission de la fièvre jaune*) ergaben eine verneinende Antwort, d. h. an mit solchem Kulturvirus (Stamm D 17) geimpften Menschen oder Rhesusaffen vermochten sich *Aedes* nicht zu infizieren. Es ist aber nicht völlig klar, ob die Unmöglichkeit der Mückenübertragung durch die besondere Beschaffenheit des Kulturvirus bedingt war oder ob das Virus im Blut der geimpften Menschen und Affen nicht die erforderliche Konzentration erreichte. Auf natürlichem Wege entstandene abortive und latente Infektionen mit genuinem Virus verhalten sich wahrscheinlich anders und von den Erfahrungen mit dem Kulturvirus D 17 ist eigentlich nur die Tatsache verwertbar, daß das Virus auch bei klinisch so minimalen Infektionen im Blut erscheint und sich daselbst durch 2 Tage hält.

Die Übertragbarkeit des rudimentären und symptomlosen Gelbfiebers durch Mücken sollte jedenfalls eingehend studiert werden, wobei auch die Frage zu prüfen wäre, ob unter natürlichen Verhältnissen ein Parallelismus zwischen der Schwere der Erkrankung und der im Blut auftretenden Viruskonzentration besteht. Andere Arten der Schutzimpfung, wie die von J. LAIGRET vorgeschlagene aktive Immunisierung mit aktivem neurotrophen und mit Eigelb versetzten Mäusehirnvirus, rufen nicht nur schwache, sondern auch mittelstarke und schwere Reaktionen bzw. Infektionen hervor (J. JADIN und E. ARNALDI); wie sie sich hinsichtlich ihrer Übertragbarkeit durch Mücken verhalten, böte nicht nur theoretisches, sondern auch eminent praktisches Interesse, speziell im Hinblick auf die für die Infektionsimpfungen mit D 17 ermittelten Tatsachen. In der Literatur über die Epidemiologie des Gelbfiebers findet man ferner die durch Beobachtungen gestützte Angabe, daß die Seuche nicht zu dauernder endemischer Einnistung neigt, sondern ohne Zuwanderung nicht immuner und in erheblichem Prozentsatz schwer erkrankender Personen von selbst erlischt. Wenn sich herausstellen sollte, daß das klinisch leichte oder latente Gelbfieber der einheimischen Kinder durch die *Aedes*-mücken nicht oder nur ausnahmsweise übertragen werden kann, würde diese epidemiologische Eigentümlichkeit jedenfalls verständlicher.

Wie man erkennt, sind die Beziehungen zwischen Mensch und übertragendem Insekt beim klassischen Gelbfieber in einigen wichtigen Punkten noch nicht klargestellt. Die Entdeckung des Dschungelgelbfiebers durch F. L. SOPER und seine

Mitarbeiter (1933), welches ätiologisch und immunologisch mit dem klassischen (städtischen) Gelbfieber identisch ist, das sich aber nicht in alternierenden Infektketten von der Form Mensch—Mücke—Mensch erhält, hat die Problematik noch wesentlich kompliziert, um so mehr, da es sehr wahrscheinlich geworden ist, daß sich das Dschungelgelbfieber in städtisches umzusetzen vermag und umgekehrt (A. M. WALCOTT, CRUZ, PAOLIELLO und SERAFIM).

2. Das Trägertum als Folge einer besonderen, für das typische Krankheitsbild belanglosen Lokalisation.

Im vorausgehenden Abschnitt wurden Fälle besprochen, in welchen sich der Virusträger vom Kranken, der ja gleichfalls das spezifische Virus beherbergt und weitergibt („ausscheidet“), durch nichts anderes abgrenzt als das mehr oder minder vollständige Fehlen krankhafter Erscheinungen oder, präziser ausgedrückt, jener Erscheinungen, welche den Begriff der zugehörigen spezifischen Infektionskrankheit bestimmen [R. DOERR (7, S. 110)].

Der Träger kann sich vom Kranken aber auch dadurch unterscheiden, daß sich das Virus an einer Stätte ansiedelt und auf dieselbe beschränkt bleibt, wo seine Anwesenheit und pathologische Auswirkung nicht zur Entstehung des spezifischen Syndroms führen kann. Um diese Definition zu konkretisieren, sei ein bekanntes Paradigma aus dem Gebiet der bakteriellen Infektionen herangezogen: Wenn sich Meningokokken auf der Nasenrachenschleimhaut von Individuen nachweisen lassen, welche vorher nicht an Meningitis erkrankt waren, spricht man von Trägern, gleichgültig, ob irgendwelche Zeichen des Zustandes (Schnupfen, Pharyngitis) vorhanden sind oder nicht. Die spezifische Krankheit entsteht erst durch Übergreifen der Keime auf die Blutbahn und die weichen Hirnhäute (Meningokokkämie und Meningitis epidemica), ein Ereignis, das aber durchaus nicht die Regel darstellt, sondern im Vergleich zur großen Zahl der Träger, die sich spontan entkeimen, geradezu die Ausnahme. Wir wollen nun die latenten Virusinfektionen des Menschen und der Tiere anführen, welche diesem Modell entsprechen.

a) Die pleuropneumonieähnlichen mäusepathogenen Stämme von A. B. SABIN.

Die Erreger der Pleuropneumonie der Rinder und der Agalaktie werden jetzt nicht mehr zu den Virusarten gerechnet und man könnte daher darüber streiten, ob die im Titel bezeichneten und in die gleiche Kategorie gehörenden Mikroben an dieser Stelle besprochen werden dürfen. Für die vorliegende Darstellung sind indes solche klassifikatorische Bedenken unwesentlich, zumal die Abgrenzung der Virusarten von anderen infektiösen Keimen stets unsicher war und es auch heute noch ist (vgl. den ersten Abschnitt dieses Ergänzungsbandes).

A. B. SABIN (3) fand auf der Conjunctiva und der Nasenschleimhaut von weißen Mäusen Mikroben, welche Gradocolmembranen mit dem durchschnittlichen Porendurchmesser von 500 μ passierten und auf unbelebten Nährmedien kultiviert werden konnten. In manchen Zuchten waren 80—100% der Mäuse befallen, zeigten aber nie irgendwelche Zeichen einer Erkrankung. Nur die experimentelle Verimpfung vermochte pathologische Symptome auszulösen, die bei dem Stamm A, der eine ausgesprochene Affinität zum Kleinhirn hatte, in choreiformen Reizerscheinungen bestanden, bei 40% der geimpften Tiere auch in einer wandernden, nach 4—6 Wochen in der Regel ausheilenden Polyarthrititis; Stamm B wirkte ausschließlich auf die Gelenke, gleichgültig, ob er intravenös, intraperitoneal oder intraokular injiziert wurde, und rief eine wandernde, schließlich chronisch werdende und in Ankylosierung übergehende Arthritis hervor.

Unter natürlichen Verhältnissen vermochten somit die beschriebenen Mikroben nie zu den Angriffspunkten zu gelangen, welche mit charakteristischen Symptomen reagierten; sie beschränkten sich, obschon sie offenbar sehr contagiös waren, auf die genannten Schleimhäute, wo sie sich epiphytisch vermehrten. Ein Grund für diese Selbstbegrenzung kann nicht angegeben werden, ebensowenig die Ursache, warum eine Injektion an verschiedenen Körperstellen die potentielle Pathogenität zum Vorschein bringt. Wenn man nach dem Vorschlag von A. B. SABIN und OLITSKY annimmt, daß die Schleimhäute der Conjunctiva und der Nase eine natürliche Schranke darstellen, welche die Keime nicht durchwandern können, und weiterhin, daß diese Schranke durch eine parenterale Injektion „durchbrochen“ oder „umgangen“ wird, umschreibt man im Grunde genommen nur den Sachverhalt in hypothetischer Maskierung [R. DOERR (5, S. 757 ff.)]. Ob die Mikroben nach einiger Zeit wieder spontan von den Schleimhäuten verschwinden, hat SABIN nicht untersucht; wahrscheinlich handelt es sich um ein lebenslängliches Trägertum wie in dem folgenden Fall.

b) Das Speicheldrüsenvirus der Meerschweinchen.

L. JACKSON hatte schon 1920 in den Zellen der Ausführungsgänge der Submaxillardrüsen von Meerschweinchen Gebilde gesehen, die er für Protozoen hielt. R. COLE und A. KUTTNER bestätigten 1926 diese Befunde, konnten aber zeigen, daß sie als Kerneinschlüsse aufzufassen sind welche auf der Wirkung eines virusartigen Agens beruhen. Wenn man nämlich aus den Submaxillardrüsen eines erwachsenen Meerschweinchens eine Emulsion herstellt und diese ganz jungen Meerschweinchen filtriert oder unfiltriert ins Gehirn injiziert, reagieren diese mit Fieber und cerebralen Reizsymptomen und verenden meist in 5—7 Tagen. Bei der Sektion findet man eine diffuse subakute Meningitis und mikroskopisch die den Herpeskörperchen gleichenden Kerneinschlüsse. Subcutane, intraperitoneale, intravenöse, intratestikuläre, intrapulmonale und in die Speicheldrüse vorgenommene Impfungen mit demselben Material gaben ebenfalls positive Resultate, insofern als in den geimpften Organen typische Kerneinschlüsse auftraten; auch lokalisierte sich das Virus stets, d. h. unabhängig vom Übertragungsmodus in den Submaxillardrüsen, wo es histologisch und experimentell festgestellt werden konnte (A. G. KUTTNER). Meerschweinchenpassagen erwiesen sich als durchführbar, besonders wenn die Übertragungen von Speicheldrüse zu Speicheldrüse erfolgten oder wenn man die Tiere subcutan infizierte und ihre Speicheldrüsen 2 Wochen später für die nächste Subcutanpassage benutzte (A. G. KUTTNER).

Was nun hier interessiert, ist die Tatsache, daß die Submaxillardrüsen von erwachsenen Meerschweinchen fast immer (in 84% der Einzeluntersuchungen) die für die Infektion charakteristischen histologischen Veränderungen zeigten und daß solche Tiere gegen die cerebrale Injektion virushaltiger Drüsenemulsion refraktär waren. Dagegen waren die Befunde bei ganz jungen Meerschweinchen (unter einem Monat) bis zu 70% negativ und in diesem Falle war die Empfänglichkeit für die cerebrale Inokulation von virushaltiger Drüsenemulsion vorhanden. Die natürliche Infektion erfolgt also offenbar sehr leicht und schon in den ersten Lebenswochen; sie persistiert aber dann in völlig latentem Zustande trotz der eintretenden cerebralen Immunität während des ganzen Lebens. A. G. KUTTNER (l. c., S. 946) konnte feststellen, daß manche Meerschweinchen mehr als 3 Monate alt werden und von der Infektion trotz reichlicher Gelegenheit zu spontaner Ansteckung frei bleiben; solche Exemplare bewahren auch die cerebrale Empfänglichkeit. Ob die völlig ausgewachsenen Meerschweinchen mit negativem Drüsenbefund (16% nach COLE und KUTTNER) als derartige Fälle von natürlicher Resistenz aufzufassen sind oder als ausgeheilte Infektionen, bei denen sich die

histologischen Läsionen in den Submaxillardrüsen wieder zurückgebildet hatten, wird nicht erörtert; durch die cerebrale Probe hätte sich diese Alternative vielleicht entscheiden lassen.

Leider ist der Mechanismus der Hirnpathogenität nicht bekannt. Daß cerebrale Symptome und anatomische Veränderungen an den Meningen nur durch Injektion in das Gehirn, aber weder von der Submaxillaris noch von irgendeiner anderen Körperstelle aus hervorgerufen werden können, wäre auf Grund von Analogien nicht befremdend. Merkwürdig ist jedoch, daß der im Gehirn aufgelöste Prozeß nicht übertragen werden kann, d. h. daß Passagen von Hirn zu Hirn unmöglich sind. Widerspruchsvoll ist ferner die Tatsache, daß man in verschiedenen Organen (Lunge, Gehirn, Zunge, Hoden) durch direkte parenchymatöse Injektionen die charakteristischen Kerneinschlüsse erzeugen kann, daß die Übertragung jedoch ausschließlich mit dem einschlußhaltigen Gewebe der Speicheldrüsen gelingt, während sich Emulsionen aus anderen einschlußführenden Geweben stets als unwirksam erweisen. Abstrahiert man vorderhand von diesen nicht aufgeklärten Phänomenen, so bleibt als gesicherter Rest 1. die Existenz einer hochkontagiösen, mit der Bildung oxyphiler Kerneinschlüsse einhergehenden und das ganze Leben hindurch anhaltenden latenten Infektion der Submaxillardrüsen der Meerschweinchen; 2. die immunisierende Wirkung dieser Infektion, die sich auf den ganzen Organismus erstreckt und im Gehalt des Blutes an spezifischen virusneutralisierenden Antikörpern ihren humoralen Ausdruck findet (C. H. ANDREWES).

c) Die Encephalomyelitis der weißen Mäuse (THEILERSche Krankheit).

Das Virus, welches dieser Krankheit zugrunde liegt, zeigt in seinem Verhalten manche Ähnlichkeit mit dem Speicheldrüsenvirus der Meerschweinchen, zunächst durch seine ausgesprochene Neigung zur Latenz, dann durch seine Verbreitung und schließlich durch seine, allerdings etwas anders gearteten Beziehungen zum Zentralnervensystem.

In befallenen Zuchten weißer Mäuse wurde die Infektion bei der Mehrzahl der Tiere (nach P. K. OLITSKY bei 100%) festgestellt. Die Ansteckung erfolgt höchstwahrscheinlich per os, und zwar bald, nachdem die Jungtiere aufgehört haben, an der Mutter zu saugen; Mäuse, welche 20 Tage alt sind, können das Virus bereits beherbergen und mit den Fäces ausscheiden, und vom 30. Lebensstage an erweisen sich bereits alle Individuen als infiziert. Werden die Mäuse mehrere Monate alt (2—6 Monate oder mehr), so nimmt die Zahl der infizierten Exemplare wieder allmählich ab; es tritt also — im Gegensatz zum Speicheldrüsenvirus — eine spontane Entkeimung, eine Ausheilung des Infekts ein, jedoch erst nach einer im Verhältnis zur Lebensdauer weißer Mäuse langen Zeit (P. K. OLITSKY, M. THEILER und S. GARD). Der Sitz der Infektion ist nach den Untersuchungen von THEILER und GARD das Gewebe der Darmwand; das Virus konnte nämlich nicht nur in den Fäces, sondern auch in den Wänden des Verdauungstraktes (Magen, Dünndarm, Coecum und Dickdarm) festgestellt werden, während es in den Brust- und Bauchorganen sowie im Zentralnervensystem klinisch gesunder Mäuse nie zu finden war. Die Infektionen verlaufen fast immer latent. Nur höchst selten, nach P. K. OLITSKY (2) im Verhältnis von 1:1000 bis 4000 kommt es zu einer manifesten Erkrankung, deren Hauptsymptom in einer schlaffen Lähmung beider Hinterbeine besteht. Dementsprechend sind anatomische Läsionen in den Vorderhörnern des Rückenmarkes vorhanden und das Krankheitsbild gewinnt klinisch und anatomisch große Ähnlichkeit mit der menschlichen Poliomyelitis („Poliomyelitis of mice“), wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß bei der Maus wie auch beim Kaninchen die verschiedensten

Agenzien am Rückenmark angreifen, wie z. B. Staphylokokken, Dysenterietoxin, Herpesvirus usw., so daß Paraplegien mit korrespondierenden Läsionen im Vorderhorn in ihrem Wert als Analogien nicht überschätzt werden dürfen (R. DOERR und C. HALLAUER, l. c., S. 497).

Warum sich unter natürlichen Bedingungen aus den latenten Infektionen des Magendarmkanales nur ganz ausnahmsweise eine Encephalomyelitis entwickelt, läßt sich nur vermutungsweise beantworten. Intracerebrale Injektionen von virushaltigem Material rufen in der Regel die typischen schlaffen Lähmungen hervor, welche nach einer Inkubation von 7—30 Tagen an einem Bein auftreten und sich rasch auf alle vier Extremitäten ausdehnen; junge Mäuse sind empfindlicher als ältere und bei erwachsenen Tieren bleiben die Lähmungen oft ganz aus, aber die Infektion des Zentralnervensystems läßt sich durch den Nachweis des Virus und histologischer Veränderungen feststellen. *Andere Arten der Übertragung lieferten negative Resultate mit einer einzigen wichtigen Ausnahme, der intranasalen Instillation*, und auch diese Methode erzeugt nur bei einem geringen Prozentsatz der Mäuse Lähmungen. Nimmt man an, daß das auf die Nasenschleimhaut gebrachte Virus nicht auf dem Blutwege, sondern direkt längs der Fila olfactoria ins Gehirn gelangt, was angesichts der negativen Ergebnisse aller anderen Übertragungsarten wahrscheinlich ist, so würde die intranasale Impfung der intracerebralen im Prinzip adäquat sein. Man würde so verstehen, daß die virustragenden Mäuse im allgemeinen nicht an Encephalomyelitis erkranken, daß aber Ausnahmen möglich sind, wenn das mit den Fäces ausgeschiedene Virus zufällig mit der Nasenschleimhaut in Kontakt gerät. M. THEILER und SVEN GARD sowie P. K. OLITSKY konnten das Virus bei klinisch gesunden Mäusen nicht nur im Darmlumen und in der Darmwand, sondern auch in den mesenterialen Lymphknoten feststellen und meinen, daß dieser Umstand auf das Vorhandensein „invasiver“ Fähigkeiten hindeute; man sieht indes ein, daß sich hieraus keine befriedigende Erklärung für die Gesamtheit der natürlichen und experimentellen Phänomene ableiten läßt.

d) Die Poliomyelitis.

Besondere Versuche führten M. THEILER (1, 2) bald nach der Entdeckung des Virus der spontanen Encephalomyelitis der Mäuse zu der Überzeugung, daß dasselbe zu dem Virus der menschlichen Poliomyelitis nicht in Beziehung stehen könne. Man hat sich aber bemüht, trotz dieser eindeutigen Entscheidung Ähnlichkeiten — sehr verschiedener Art — ausfindig zu machen¹ und ist dabei auch auf epidemiologische Analogien verfallen [siehe u. a. P. K. OLITSKY (1), A. B. SABIN und R. WARD (2)]. Der Hauptsache nach wurde auf folgende, beiden

¹ Die neueste und überraschendste Wendung wurde hier durch elektronenoptische Untersuchungen von A. TISELIUS und SVEN GARD sowie von SVEN GARD herbeigeführt, denen zufolge zwischen dem THEILERSchen Virus und dem Virus der menschlichen Poliomyelitis auch eine morphologische Beziehung bestehen würde. Bei den phytopathogenen Virusarten kannte man die langgestreckte, stäbchen- oder fadenförmige Gestalt der Elemente auf Grund physikalischer Kriterien (Strömungsanisotropie) schon vor ihrer elektronenoptischen Bestätigung (s. S. 13); den menschen- und tierpathogenen Virusarten wurde dagegen ausnahmslos eine sphärische Form zugeschrieben. Nun konnten die genannten Autoren zunächst zeigen, daß das Virus der Mäuse-Encephalitis sehr dünne Fäden von variabler Länge bildet, und zwar sowohl, wenn das Material aus dem Darm als wenn es aus dem Hirn der Mäuse stammt, und in weiterer Folge, daß auch das Virus der Poliomyelitis in Form langgestreckter Gebilde auftritt. Wie weit diese Ähnlichkeit geht, läßt sich einstweilen nicht beurteilen; auch wenn sie komplett wäre, würde dies an dem Inhalt der obigen Ausführungen vorläufig nichts ändern.

Virusformen gemeinsame Momente verwiesen: 1. Die Seltenheit klinisch manifester Infektionen; 2. die Abhängigkeit der Empfänglichkeit und Empfindlichkeit vom Alter der Individuen; 3. die Ausscheidung des Virus mit den Fäces und die Verbreitung der Infektionen durch Fäkalien bzw. fäkal verunreinigte Materien. Auf solche Art werden jedoch die Verhältnisse nur oberflächlich erfaßt.

Was die Encephalomyelitis der Mäuse epidemiologisch charakterisiert, ist die fast allgemeine latente Durchseuchung der Zuchten. Der „gesunde“ Träger und Ausscheider ist die gesetzmäßige Form dieser Infektion, die „Encephalomyelitis“ eine seltene Ausnahme. Kann man dies auch für die Poliomyelitis behaupten? Nein und Ja! Nein, wenn man sichere Beweise für die Existenz zahlreicher gesunder Ausscheider in verseuchten Gebieten verlangt, Beweise, die nur darin bestehen können, daß man das Poliomyelitisvirus in den Se- und Exkreten solcher Individuen experimentell (durch den Versuch am Affen) nachweist; ja, wenn man sich mit mehr oder minder überzeugenden epidemiologischen Indizienbeweisen begnügt.

α) *Virusnachweis bei latent infizierten Kontaktfällen.*

Befunde von Poliomyelitisvirus in den Ausscheidungen gesunder Personen aus der Umgebung von Kranken (Kontaktpersonen) gehören zu den Raritäten. Unseres Wissens finden sich in der Literatur nur folgende Angaben:

1. Der Fall von S. FLEXNER, CLARK und FRASER. Die Autoren konnten bei einem Affen typische Poliomyelitis (14tägige Inkubation, Lähmungen, histologische Läsionen im Rückenmark) erzeugen, welchem sie 150 ccm Spülflüssigkeit aus dem Nasopharynx des Vaters und der Mutter eines an Kinderlähmung erkrankten Mädchens injiziert hatten.

2. Von dem Sohn, der Tochter und der Frau eines vor einigen Tagen an Poliomyelitis gestorbenen Mannes wurden Sekretproben aus dem Mund durch Ausspülen mit Wasser gewonnen, gemischt und die ganze Menge von 1 l im FAUST-HEIM'Schen Apparat auf 75 ccm eingedampft, durch Berkefeldfilter filtriert und einem *Macacus sinicus* eingepflegt (0,5 ccm cerebral und 50 ccm intraperitoneal). Nach 12 Tagen zeigte das Tier Lähmungen, die rasch zunahmten und schon nach weiteren 24 Stunden zum Exitus führten. Schwere histologische Veränderungen im Lumbalmark, erfolgreiche Übertragung des Markes auf einen weiteren Affen (C. KLING und A. PETERSSON).

3. Die Tonsillen und das adenoide Gewebe eines zweijährigen Mädchens, bei welchem keine Berührung mit Poliomyelitiskranken eruiert werden konnte, erzeugten, auf 2 Affen übertragen, typische Poliomyelitis, die bei einem Tier auch durch den histologischen Befund und die Anlegung von Affenpassagen verifiziert werden konnte [S. D. KRAMER (2)].

4. In den Stuhlentleerungen eines Mädchens fanden LÉPINE, SÉDAILLAN und SAUTTER Poliomyelitisvirus, und zwar 41, 74 und 123 Tage nachdem das Kind einen leichten, seiner Natur nach unbestimmten Fieberanfall überstanden hatte, der als „Forme fruste“ von Poliomyelitis gedeutet werden konnte; der Vater des Kindes war nämlich um diese Zeit an einem bulbären Syndrom erkrankt und gestorben und die mikroskopische Untersuchung des Markes hatte die Diagnose Poliomyelitis ergeben. Wenn das Mädchen, bei welchem eine so hartnäckige Virusausscheidung durch den Stuhl konstatiert wurde, tatsächlich vorher eine abortive Poliomyelitis durchgemacht hatte, kann man strenge genommen nicht von einem „porteur sain“ im gebräuchlichen Sinne des Wortes sprechen, sondern müßte den Fall als „porteur convalescent“ registrieren (siehe S. 88).

5. In einem Kinderheim in Detroit, in welchem sich 20 Säuglinge und Kinder in vorschulpflichtigem Alter befanden, hatten sich 5 Fälle von Poliomyelitis

ereignet. In der darauffolgenden Woche wurden die Stühle der restlichen 15 Kinder sowie von 8 erwachsenen Personen des Pflegepersonals untersucht. 6 Stuhlproben enthielten Poliomyelitisvirus; 2 stammten von einjährigen Kindern, welche während 48 Stunden gefiebert hatten, scheiden also aus dem sub 4 angegebenen Grunde aus; von den übrigen 4 positiven Befunden entfielen 3 auf Kinder von 4, 5 und 7 Monaten und 1 auf eine Pflegerin, und diese 4 Individuen hatten keine Krankheitserscheinungen gezeigt. Bei 4 Fällen wurde die Stuhluntersuchung 19 Tage nach der ersten wiederholt und fiel bei 2 Fällen abermals positiv aus (S. D. KRAMER, GILLIAM und MOLNER).

6. Ein Arzt, dessen Frau an typischer Poliomyelitis erkrankt war, bekam während der ersten Krankheitstage derselben heftigen Kopfschmerz, hatte aber kein Fieber und bot auch sonst kein Zeichen einer poliomyelitischen Infektion; 2 Wochen später empfand er Schwäche in einem Bein, die aber nur angedeutet war und rasch vorüberging. 2 Monate nach seiner ersten Erholung wurde Virus im Stuhl gefunden; nach Ablauf eines weiteren Monats war der Befund negativ. Waren die unbestimmten Symptome der klinische Ausdruck einer abortiven Poliomyelitis, so wäre auch dieser Fall als Virusausscheidung in der Rekonvaleszenz aufzufassen (siehe sub 4 und 5). Jedenfalls konnte nicht entschieden werden, ob sich der Arzt an seiner Frau infiziert hatte oder ob die Frau von ihrem Manne angesteckt worden war oder ob beide die Infektion aus einer gemeinsamen Quelle bezogen hatten (J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK).

In manchem dieser Berichte vermißt man Angaben über das weitere Schicksal der Menschen, von welchen die Sekret- oder Stuhlproben stammten. Der positive Virusbefund bei einem zur Zeit der Probeentnahme gesunden Individuum kann ja auch darauf beruhen, daß es sich gerade in der Inkubationsperiode befand, und dies wäre etwas anderes wie ein während der ganzen Zeit seines Bestehens latenter und ausscheidender Infekt. E. TAYLOR und H. L. AMOSS konnten tatsächlich das Virus im Pharynx eines Kindes 5 Tage vor dem Beginn der Symptome feststellen.

Jedenfalls kann man auf die zitierten Mitteilungen keine Theorie aufbauen, welche die Epidemiologie der Poliomyelitis befriedigend erklärt, um so weniger als zwei verschiedene Arten der Ausscheidung festgestellt wurden, nämlich die Absonderung des Virus durch das Nasenrachensekret, welche für die Tröpfcheninfektion als natürlichen Verbreitungsmodus sprechen würde, und die Ausscheidung mit den Stuhlentleerungen, welche den Gedanken an eine Ansteckung durch Schmutzstoffe oder verunreinigte Nahrungsmittel (siehe S. 156) nahelegt.

β) Die Spärlichkeit der Virusbefunde bei gesunden Kontaktpersonen als Folge einer nicht genügend leistungsfähigen Untersuchungsmethode.

Für die Auffassung der ganzen Sachlage hat die Tatsache grundsätzliche Bedeutung, daß man die beiden Arten der Ausscheidung auch bei Kranken einschließlich der Formes frustes und bei Rekonvaleszenten (siehe S. 153f.) nachweisen konnte, und zwar in einem höheren, aber keineswegs imponierenden Prozentsatz der Untersuchungen. Wenn man aber daran festhält, daß die Poliomyelitis von Mensch zu Mensch übertragen wird, so *muß* das Virus auf irgendeine Weise den infizierten Organismus verlassen; und wenn es im Nasenrachensekret oder im Stuhl von Kranken und Rekonvaleszenten nur relativ selten zu finden war, kann dafür nichts anderes verantwortlich gemacht werden, als daß die Ausscheidung auf einem anderen, bisher nicht beachteten Wege erfolgt oder daß die angewendeten Methoden nur in besonders günstig liegenden Fällen positive Resultate liefern konnten.

Was die erstgenannte Möglichkeit betrifft, hat man bekanntlich an eine Übertragung durch blutsaugende Insekten (Stomoxysarten, Fliegen, Mücken, Wanzen usw.) gedacht. Experimentelle Beweise für diese Hypothese konnten jedoch nicht erbracht werden. Die Übertragung durch blutsaugende Insekten wäre übrigens an die Voraussetzung gebunden, daß das Virus, zumindest in bestimmten Phasen der Krankheit, in hoher Konzentration im Blut kreist; der Nachweis von Poliomyelitisvirus im Blut des infizierten Menschen ist aber bisher in keinem Falle gelungen. — Im Harn von Patienten konnten A. B. SABIN und WARD (1) trotz Verarbeitung großer Mengen kein Virus finden. Sie halten indes die Frage der Infektiosität des Harnes noch nicht für endgültig abgeklärt und stellen sich den Mechanismus einer eventuellen Virusabscheidung so vor, daß die Wand der Harnblase vielleicht durch zentrifugalen Virustransport infiziert wird und von der Wand aus der Inhalt. Eine Eliminierung von im Blut zirkulierendem Virus durch die Niere kommt in Anbetracht der negativen Blutbefunde nicht in Betracht.

Nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse zu urteilen, muß also die geringe Zahl der positiven Untersuchungen der geringen Leistungsfähigkeit oder der beschränkten Anwendbarkeit der Methode des Nachweises zur Last gelegt werden. Nun besteht die klassische Methode für die Feststellung von Poliomyelitisvirus in einer vorgelegten Probe darin, daß man das Material Affen intracerebral inokuliert. Die Mängel, welche diesem Verfahren anhaften, sind leicht zu erkennen:

1. Viele Laboratorien und Kliniken verfügen nicht über die Mittel, welche für die Anschaffung, den Unterhalt und die operative Behandlung von Affen erforderlich sind. Da bis jetzt keine anderen Versuchstiere von gleicher Eignung ausfindig gemacht werden konnten, läßt sich diese Hemmung nicht ausschalten (vgl. hierzu S. 92); sie ist aber nicht maßgebend, wie die nach Hunderten zählenden negativen Resultate beweisen, welche in großen Instituten erzielt wurden, welche mit allen Einrichtungen in vollem Maße ausgestattet waren.

2. Nicht alle Affenspezies sind gleich empfänglich, die häufig verwendeten *Macacus rhesus* jedenfalls weniger als *Cynomolgus* (siehe S. 156).

3. Die intracerebrale (subdurale) Impfung gestattet keine exakte Dosierung und vor allem nur sehr kleine Volumina des Inoculums. Dieser Umstand kann sich störend auswirken, wenn das Virus in dem zu untersuchenden Se- oder Exkret nur in geringer Konzentration vorhanden ist oder wenn die Art der Entnahme eine starke Verdünnung bedingt (Spülflüssigkeiten des Nasenrachenraumes oder der Mundhöhle, Gewinnung von Darminhalt durch Klysmen). Um diesen Faktor zu kompensieren, könnte man entweder eine andere Art der Übertragung wählen (intranasal, intraperitoneal) oder die Probe auf ein geringeres Volumen einengen und so die Viruskonzentration im Substrat erhöhen oder die beiden Hilfsmittel miteinander kombinieren.

4. In den zu untersuchenden Proben sind fast immer Bakterien und — speziell wenn es sich um Fäkalien handelt — toxische Substanzen vorhanden. Die intracerebrale sowie (in volumetrisch geringem Grade) die intraperitoneale Einspritzung kann infolgedessen die Versuchstiere töten, bevor sich die spezifische Virusinfektion zu entwickeln vermag. Als Gegenmaßnahmen kämen Übertragungsarten in Betracht, bei welchen sich solche störende Beimengungen nicht geltend machen (intranasale Instillation) oder Zusätze bakterizider Stoffe, welche das Virus nicht schädigen.

Auf Grund dieser Überlegungen wurden Verbesserungen empfohlen, die sich auch zum Teil im Laboratorium bewährten und von denen hier einige (prinzipiell wichtige) angeführt werden sollen.

a) Das Verfahren von H. A. HOWE und D. BODIAN (1), welches sich für die Untersuchung von Stuhlproben besonders eignen soll. Die eben abgesetzten Stühle werden sofort in einen Eisschrank verbracht, wo sie 1—24 Stunden bis zu ihrer Verarbeitung bleiben. Sie werden sodann in einem Mörser mit destilliertem Wasser zu einer dicken Suspension verrieben und diese zwecks Entfernung größerer Klumpen durch Gaze durchgezogen. Das so erhaltene Material wird in Glasampullen verfüllt, welche versiegelt und in einen flüssigkeitsdichten Behälter gestellt werden, der in eine Mischung von Alkohol und trockenem Eis eintaucht. Vor der Verimpfung wird der Ampulleninhalt aufgetaut, mit etwas destilliertem Wasser verdünnt und zur Entfernung größerer Teilchen bei geringer Tourenzahl ausgeschleudert. Die überstehende Flüssigkeit wird auf Affen durch intranasale Instillation übertragen (3—8 Instillationen von je 1 ccm per Nasenloch unter leichtem Reiben der Schleimhaut an aufeinanderfolgenden Tagen oder unter Einschaltung mehrtägiger Intervalle). Von 14 mit dieser Technik untersuchten Stuhlproben waren 10 positiv und bei 7 von den 14 Stühlen, die aus den ersten 5 Krankheitstagen stammten, wurde überhaupt kein Versager verzeichnet.

b) Die Methode von SVEN GARD (1), für Stuhl- und Abwasserproben empfohlen, ist eine mechanische Einengung des Virusgehaltes des Ausgangsmaterials auf ein kleineres Volumen. Es konnte an Proben von bekannter Infektiosität gezeigt werden, daß das Virus durch 50%ige Sättigung mit Ammonsulfat aus wässrigen Aufschwemmungen niedergeschlagen wird, ohne seine Aktivität einzubüßen, und daß es — durch Auflösen des Präzipitats in Wasser — in höherer Konzentration erhalten werden kann. Durch die Präzipitation und die nachfolgende Dialyse des Niederschlages (Cellophanmembran) wurde auch die Toxizität für Affen im Vergleich zum Ausgangsmaterial etwas reduziert (intraperitoneale Injektion).

Im Detail ging S. GARD so vor, daß er das Abwasser oder die Stuhlaufschwemmung mit 10—15% ihres Volumens Äther versetzte und über Nacht im Eisschrank stehen ließ. Filtration durch Gaze. Versetzen des Filtrats mit 1 ccm Eiereiweiß und 40 g kristallisierten Ammonsulfats pro 100 ccm; bei Stuhlproben wurde kein Eiereiweiß zugesetzt. Zentrifugieren bei 2000 Umdrehungen durch 30 Minuten; Aufschwemmen des Präzipitats in einer geringen Menge destillierten Wassers. Die klare überstehende Flüssigkeit, welche nach dem Entfernen des Präzipitats resultierte und durch Dialyse in einem Cellophanring salzfrei gemacht wurde, enthielt kein Virus. Das Präzipitat wurde ebenfalls über Nacht bei 4° C gegen Leitungswasser dialysiert, wobei es sich zum Teil auflöste; durch Zentrifugieren konnte die lösliche von der unlöslichen Fraktion abgetrennt werden; die intraperitoneale Verimpfung auf Affen ergab, daß bald die lösliche, bald die unlösliche Fraktion Poliomyelitis erzeugte, so daß es geraten schien, das Präzipitat als ganzes oder ein Gemisch der beiden Fraktionen als Material für den Tierversuch zu verwenden. Die intraperitoneal injizierten Flüssigkeitsvolumina (5—20 ccm) entsprachen 100—250 ccm des Ausgangsmaterials, was einer 10- bis 50fachen Einengung (Konzentrationserhöhung) gleichkam. Die Tierverluste, welche bei Injektionen des Ausgangsmaterials durch akzidentelle Infektionen oder Giftwirkungen verursacht wurden und bis zu 55% betragen, beliefen sich bei den Verimpfungen der Präzipitatzfraktionen auf 12,5%.

c) Die Stuhluntersuchung nach A. B. SABIN und R. WARD (1) stellt in gewisser Beziehung eine Kombination der Methoden von HOWE und BODIAN und von S. GARD dar. Das Material wurde nämlich auf Affen — es wurden in den späteren Versuchen *Cynomolgus*- den Rhesus-Affen vorgezogen — sowohl durch intranasale Instillation als auch durch intraperitoneale Injektion übertragen. Intranasal wurde der unveränderte Stuhl unter leichtem Reiben der Schleimhaut eingeträufelt (1 ccm in jedes Nasenloch täglich durch 10 Tage hindurch, wenn genug Material vorhanden war). Für die intraperitoneale Injektion wurden die Stuhl-

massen gewogen und aus denselben mit destilliertem Wasser 10- oder 20%ige Suspensionen hergestellt; zu diesen wurden 15% ihres Volumens Äther hinzugefügt, 10 Minuten geschüttelt und die Gemische über Nacht im Kühltank gehalten. Sodann wurde bei 2000 Umdrehungen durch 10—20 Minuten zentrifugiert und die mittlere Schicht zwischen dem Bodensatz und der oben schwimmenden Ätherschicht entnommen und nochmals 30—60 Minuten ausgeschleudert. In manchen Fällen erwies es sich als nötig, den Ätherzusatz und das Ausschleudern 2- oder 3mal zu wiederholen, bevor ein Präparat resultierte, welches für die Affen nicht akut tödlich war. Auf eine Einengung wurde somit verzichtet; da die Affen größere Mengen als 20 ccm meist nicht vertrugen, wurden in der Regel zwei intraperitoneale Injektionen in einem Abstand von 24—48 Stunden ausgeführt.

d) Auch für den Virusnachweis im Speichel, im Sekret des Nasenrachenraumes und in Spülflüssigkeiten der Mund- und Rachenhöhle wurden besondere Methoden angegeben [S. FLEXNER, CLARK und FRASER, C. KLING und A. PETTERSON, P. F. CLARK, J. SCHINDLER und D. J. ROBERTS, A. B. SABIN und R. WARD (1)], welche eine Konzentrationserhöhung des Virus durch Eindampfen im Vakuum anstreben, oder die Nachteile der intracerebralen Impfung durch andere Übertragungsarten umgehen, sei es durch intranasale Instillation, für welche der Bakteriengehalt des Ausgangsmaterials wenig Bedeutung hat, sei es durch intraperitoneale Injektionen, welche die Einverleibung großer Volumina erlauben; auch die Behandlung mit Äther zwecks Abtötung von Begleitbakterien, vielleicht auch zur Eliminierung toxischer Stoffe wurde vorgeschlagen [A. B. SABIN und WARD (1)].

Es wäre möglich, daß sich mit der fortschreitenden Vervollkommnung der Methoden des Virusnachweises auch die Resultate der Fahndung auf gesunde Virusträger verbessern werden. Vorläufig ist das aber nur eine Erwartung, die ebensogut unerfüllt bleiben kann.¹ Wenn man daher schon heute annimmt, daß gesunde Träger bei der Verbreitung der Poliomyelitis die Hauptrolle übernehmen und daß sie es sind, welche die wechselnde Immunitätslage in endemischen oder epidemischen Bezirken bestimmen, kann man sich nur auf epidemiologische Beobachtungen oder auf den Nachweis von virusneutralisierenden Antikörpern im Serum von Personen berufen, welche überhaupt nicht krank waren oder zumindest keine an Poliomyelitis erinnernden Erscheinungen dargeboten hatten.

γ) Die indirekten Beweise für die Existenz einer hochgradigen latenten Durchseuchung.

1. *Epidemiologische Beobachtungen.* Die epidemiologische Beweisführung ist an sich unzuverlässig, wie jedermann weiß, der die ältere und neuere Seuchenforschung auch nur im groben Umriß kennt, und bei der Poliomyelitis verdient sie noch weniger als bei anderen Infektionen aprioristisches Vertrauen, weil diese Krankheit ihren epidemiologischen Charakter in den letzten Jahrzehnten wiederholt und in mehrfacher Beziehung geändert hat (siehe S. 158). Dazu kommt, daß der Übertragungsmodus von Mensch zu Mensch nicht sicher festgestellt ist, daß keine eindeutige Auskunft über die Lokalisation latenter Infektionen erteilt werden kann und daß sogar Zweifel geäußert wurden, ob das Poliomyelitisvirus

¹ J. D. TRASK, PAUL und VIGNEC (2) sowie J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK verwendeten bei ihren Stuhluntersuchungen bereits die neueren und leistungsfähigeren Verfahren. Die an erster Stelle genannten Autoren verzeichneten jedoch bei 36 Kontaktpersonen kein einziges positives Ergebnis, J. F. KESSEL und seine Mitarbeiter berichteten bei 18 Untersuchungen von Kontaktpersonen nur über ein positives und zudem nicht ganz eindeutiges Resultat (siehe S. 106).

als ein in jeder Hinsicht einheitliches infektiöses Agens betrachtet werden darf. Daß diese Situation zu gewagten Spekulationen verlockt, ist natürlich; auf einige Produkte dieser Art kommt die vorliegende Darstellung an anderer Stelle zu sprechen (siehe S. 158).

2. Aus der *weiten Verbreitung virusneutralisierender Antikörper* könnte man nur dann auf eine latente Durchseuchung schließen, wenn kein Zweifel bestünde, daß sich solche Antikörper nur infolge einer Infektion durch Poliomyelitisvirus oder wenigstens als Reaktion auf den Kontakt mit dem spezifischen Agens, also auf Grund einer reinen Antigenwirkung entwickeln. Wie beim „natürlichen“ Diphtherieantitoxin war jedoch diese, nach der orthodoxen Auffassung einzig mögliche Art der Entstehung schon seit längerer Zeit fraglich und jetzt läßt sie sich — zumindest in der absoluten Formulierung — nicht mehr aufrechterhalten.

Erstens wissen wir heute mit Bestimmtheit, daß man virusneutralisierende Antikörper, insbesondere solche gegen Poliomyelitisvirus, durch Injektionen von abgetötetem (inaktiviertem) Virus oder durch Immunisierung refraktärer Tierespezies gewinnen kann. Die Infektion als ein die Antikörperbildung auslösender Vorgang ist somit nicht notwendig (C. HALLAUER, l. c., S. 1190f.). Das würde natürlich nur bedeuten, daß man aus dem Nachweis solcher Antikörper nicht mit Sicherheit auf eine abgelaufene Infektion schließen darf. Es handelt sich aber darum, *ob und in welchem Umfange man diese Entstehungsgeschichte und überdies den bloßen Viruskontakt unter natürlichen Verhältnissen ausschließen kann.* Der Bearbeitung dieses Problems widmeten C. W. JUNGBLUT und seine Mitarbeiter eine Reihe von Veröffentlichungen (siehe die Zusammenstellung in dem Werk von C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES, S. 806—810); sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Antikörper nicht als Reaktionsprodukte auf das spezifische Virus aufgefaßt werden können.

JUNGBLUT verwies u. a. auf die Angaben von S. D. KRAMER und W. L. AYCOCK, denen zufolge der Antikörperbefund bei Kindern, welche eine abortive Erkrankung überstanden hatten, in gleichem Prozentsatz positiv war wie bei normalen Kontrollkindern. Ebenso konstatierten später P. H. HARMON und H. N. HARKINS, daß Erwachsene, bei welchen weder Infektionen noch Kontakte zu ermitteln waren, häufiger neutralisierende Antikörper besaßen als Rekonvaleszenten nach Poliomyelitis. Ferner konnten sich F. M. BURNET und A. V. JACKSON mit Hilfe quantitativer Methoden überzeugen, daß der Antikörpergehalt des Serums infolge von Erkrankungen oder fortgesetzten Kontakten mit Poliomyelitispatienten nicht zunimmt und daß bei Kindern nach Ablauf einer Epidemie keine Steigerung der Frequenz oder des neutralisierenden Serumtiters konstatiert werden kann. BURNET und JACKSON stellen die Entstehung des Antikörpers durch Infektion oder bloßen Viruskontakt mit aller Bestimmtheit in Abrede. Schließlich wurden Antikörper im Serum trächtiger Stuten [C. W. JUNGBLUT (1), C. W. JUNGBLUT, MEYER und ENGLE] festgestellt sowie im Serum von normalen Rhesus- und Cebus-Affen (C. W. JUNGBLUT und ENGLE, F. D. STIMPERT und J. F. KESSEL); VAN ROOYEN und RHODES (l. c., S. 807) gestehen zu, „daß es gewiß schwer fallen würde“, diese Befunde auf frühere Infektionen oder Viruskontakte zurückzuführen.

Was die *Bildung der Antikörper infolge eines bloßen Antigenkontakts* anlangt, ist es wohl von vornherein unwahrscheinlich, daß flüchtige Berührungen geringer Virusmengen mit Schleimhäuten als auslösender Antigenreiz genügen, falls sie keine Infektion hervorrufen. Durch den Versuch an Affen ist die Frage nicht leicht zu beantworten. Benutzt man für die Kontakte inaktives Virus, um die Möglichkeit einer Infektion sicher auszuschalten, so entfernt man sich von den für den Menschen in Betracht kommenden Verhältnissen; bei der Verwendung von aktivem Virus ist man

im Falle eines positiven Ergebnisses vor das Dilemma „Antigenwirkung oder Folge einer subklinischen Infektion“ gestellt. Die Autoren, welche derartige Experimente ausgeführt haben [C. W. JUNGBLUT und E. L. HAZEN, S. FLEXNER (1), S. D. KRAMER, L. H. GROSSMAN und G. C. PARKER], wählten aktives Virus, und zwar von hochinfektiösen Stämmen; der „Kontakt“ wurde durch intranasale Instillation des virus-haltigen Materials hergestellt und in den meisten Versuchen durch große Dosen und häufige Wiederholung des Eingriffes forciert, so daß man wohl nicht von einer Nachahmung der Berührungen, welchen der Mensch exponiert ist, sprechen kann. Ferner unterliegt es keinem Zweifel, daß ein Teil des in die Nasenlöcher eingeführten Virus durch Verschlucken in den Darmkanal gelangte. Die Experimente von JUNGBLUT und HAZEN sowie von S. FLEXNER ergaben negative Resultate; wenn die intranasal vorbehandelten Affen nicht infiziert wurden, produzierten sie keine neutralisierenden Antikörper und wurden auch nicht immun, d. h. sie reagierten auf intracerebrale Virusinjektionen ebenso wie nicht vorbehandelte Kontrolltiere. S. D. KRAMER und seine Mitarbeiter erzielten zwar neben vorwiegend negativen auch einige positive Ergebnisse; aber in diesen Fällen wurden die täglichen Virusinstillationen 20 bis 28 Tage lang fortgesetzt und die Schleimhaut mit Pituitrin, Adrenalin und Ephedrin behandelt, so daß sich ein Rückschluß auf den Menschen von selbst verbietet. Interessant ist, daß die Autoren 10 Affen, welche die intensive intranasale „Immunisierung“ überstanden hatten, zuerst einer *intranasalen* Probe ohne Vorschaltung von Pituitrin oder Adrenalin unterwarfen und daß vier von ihnen nach der gesetzmäßigen Inkubation an Poliomyelitis erkrankten und verendeten; die Olfactoriuschiene war also nicht immunisiert bzw. gesperrt (vgl. hierzu S. 112).

Wenn manche Autoren (E. GILDEMEISTER, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES u. a.) noch immer zögern, die Beweiskraft dieser Argumente anzuerkennen und an der alten Auffassung von J. WIDMAN und von W. WERNSTEDT festhalten möchten, daß die Verbreitung der neutralisierenden Antikörper der serologische Ausdruck einer latenten Durchseuchung sei, ist dies hauptsächlich in der allseits zugestandenen Spezifität des Antikörpers, d. h. in dem Umstande begründet, daß er ausschließlich auf Poliomyelitisvirus eingestellt ist; daß sich gerade ein derartiger Serumstoff unabhängig von seinem „Antigen“ entwickelt, ist schwer verständlich, nicht nur für den zünftigen Serologen. Zweitens wurde bereits der Tatsache gedacht, daß man durch parenterale Zufuhr von inaktivem Virus oder durch Immunisierung refraktärer Tiere denselben spezifischen Antikörper erzeugen kann; man ist daher genötigt, zwei Arten von Antikörperbildung zuzugestehen, von denen eine durch Antigenwirkung bedingt und die andere ihrem Mechanismus nach unbekannt ist. Auf diesen Standpunkt stellt sich G. HORNUS (l. c., S. 915), wenn er sich auf die Behauptung beschränkt, daß das Auftreten des Antikörpers „in gewissen Sera“ vorläufig noch nicht endgültig aufgeklärt ist. HORNUS sucht eine der Hauptursachen dieser Ungewißheit darin, daß gewohnheitsmäßig die Immunität gegen Poliomyelitis mit dem Besitz von neutralisierenden Serumstoffen identifiziert wird. Diese Kritik trifft zu, bedarf aber noch eines besonderen, auf neuere Untersuchungen basierten Kommentars, den HORNUS noch nicht zu geben vermochte.

Daß die antiinfektiöse Immunität gegen Poliomyelitis nicht streng an einen bestimmten Antikörpergehalt des Bluts erums gebunden ist, wie dies noch 1935 von J. A. KOLMER und A. M. RULE behauptet worden war, wurde alsbald klar, nachdem man die Bedingungen der intranasalen Infektion von Affen genauer zu analysieren begann. Noch im selben Jahr [E. W. SCHULTZ und L. P. GEBHARDT (1)] konnte gezeigt werden, daß die Zufuhr von spezifischem Immuneserum gegen die intranasale Instillation von Virus nicht zu schützen vermag, und man sah darin nur den selbstverständlichen Ausdruck der Tatsache, daß das Virus im Olfactorius zum Gehirn geleitet wird und sowohl an dieser Eintrittspforte wie auf seinem ganzen weiteren Weg bis zum Lendenmark vor jedem Kontakt mit

Antikörpern des Blutplasmas bewahrt bleibt [E. W. SCHULTZ und L. P. GEBHARDT (2)]. Um dieselbe Zeit hatten Untersuchungen von FL. MAGRASSI, R. DOERR und C. HALLAUER, R. DOERR und M. KON über die Herpesinfektion des Kaninchens einen tieferen Einblick in das Wesen, die Bedingungen und die Folgen von auf Nervenschienen zugeleiteten Infektionen der nervösen Zentralorgane geschaffen; insbesondere konnte festgestellt werden, daß sich die Immunität des Zentralnervensystems dort zuerst oder ausschließlich etabliert, wo das Virus auf der Nervenschiene eintrifft (R. DOERR und C. HALLAUER), daß also eine „Schienenimmunisierung“ stattfindet [R. DOERR (8, 9)]; ferner, daß die zuleitende Schiene selbst immun, d. h. leitungsunfähig wird, während andere Bahnen leitfähig bleiben (R. DOERR und M. KON). Daß diese Feststellungen nicht nur für den Herpes, sondern auch für die experimentelle Affenpoliomyelitis Gültigkeit haben, wurde später von H. A. HOWE und D. BODIAN (1941) konstatiert; auch hier existieren die Phänomene der regionären Immunität des Zentralnervensystems als Funktion des Infektionsmodus bzw. der zuleitenden Nervenbahn sowie die immunisatorische Sperre benutzter Nervenschienen bei erhaltener Leitfähigkeit der anderen. *Damit ist dem Gedanken, daß der Besitz von Antikörper (im Blutplasma) eine notwendige oder hinreichende Bedingung der antiinfektiösen Immunität gegen Herpes oder Poliomyelitis sei, der Boden entzogen.* Mag nun der Antikörper durch subklinische oder manifeste Infektion, auf physiologischem Wege durch „serologische Reifung“ (C. W. JUNGBLUT), durch ein heterologes Antigen, wie G. HORNUS u. a. vermuten, entstehen oder sich aus verschiedenen Ursachen entwickeln — auf keinen Fall gibt er uns einen Aufschluß über die Verbreitung der Immunität und ihre Schwankungen;¹ aus der Häufigkeit seines Nachweises in Bevölkerungen können wir nicht schließen, daß ebensoviele latente Infektionen (die Erkrankungen abgerechnet) stattgefunden haben, um so weniger, als wir derzeit die Antwort schuldig bleiben müßten, wie man sich den Mechanismus der latenten Poliomyelitisinfektionen, welche die hypothetische Massenimmunisierung bewirken könnten, vorzustellen hat.

Als es bekannt geworden war, daß sich Affen durch intranasale Instillation von virushaltigem Material infizieren lassen und daß man die Infektion durch Unterbrechung der Olfactoriusbahn oder chemisch verhindern kann, lag es nahe, sich die latente Infektion als epiphytisches Vegetieren des Virus auf der Nasenschleimhaut zu denken, also das Modell des gesunden Meningokokkenträgers als maßgebend zu betrachten. Die Tatsache, daß die „Ausscheidung“ von Meningokokken sowie (in einem immerhin erheblichen Prozentsatz der Untersuchungen) von Poliomyelitisvirus bei Rekonvaleszenten nachgewiesen werden konnte (vgl. S. 153), leistete dieser Auffassung, die von S. FLEXNER, später auch von anderen Forschern vertreten wurde, Vorschub. Das ist nun alles ins Wanken

¹ Die Richtigkeit dieses Satzes ist, wie leicht einzusehen, unabhängig von der Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit der Technik des Antikörpernachweises, des sog. „Neutralisationstests“. Wenn M. SCHAEFFER und R. S. MUCKENFUSS in einer neueren umfangreichen Abhandlung auseinandersetzen, daß die Unvollkommenheit und die fortgesetzte Abänderung des Neutralisationstests zu Widersprüchen und nicht reproduzierbaren Ergebnissen geführt haben, ferner daß die üblichen Methoden nur qualitative, aber keine quantitativen Resultate liefern, erscheint diese Kritik in dem hier erörterten Zusammenhang bedeutungslos, da es sich ja bloß um die prinzipielle immunbiologische Bewertung des Antikörpers handelt. Übrigens hat die Verfeinerung und quantitative Ausgestaltung des Neutralisationstests [intraokulare Injektion der Virusserumgemische nach F. M. BURNET, JACKSON und ROBERTSON (2)] erst recht dazu geführt, den Antikörperbefund als Indikator latenter Durchseuchung abzulehnen (BURNET und JACKSON, siehe S. 110).

geraten. Die Poliomyelitis gilt manchen Autoren (G. DRAPER, JEAN LEVADITI, J. P. MARTIN, P. LÉPINE, A. S. MACNALTU u. a.) als eine Allgemeininfektion oder als eine Infektion mesodermaler Gewebe, welche sich nur in einer Minderzahl der Erkrankungen in klinisch manifester Form im Zentralnervensystem lokalisiert, eine Wandlung der Auffassungen über den Mechanismus der Pathogenese, der in ähnlicher Art auch bei der Meningokokken-Meningitis eingetreten ist; die Eintrittspforte verlegen J. A. TOOMEY sowie C. KLING und ihre Anhänger in den Darm und nehmen demgemäß die Infektion per os als den häufigsten Übertragungsmodus an; und der Befund von Poliomyelitisvirus im Stuhl von Kranken wird nicht mehr so gedeutet, daß das von der Nasenschleimhaut abgegebene Agens einfach verschluckt wird und den Darmkanal unverändert passiert (S. D. KRAMER, HOSKWITH und GROSSMAN), sondern als Ausscheidung durch die primär infizierte Darmwand (siehe S. 155). Es ist klar, daß man unter diesen Umständen für die Formes inapparentes der poliomyelitischen Infektion einen anderen Zustand annehmen kann als den eines gesunden Meningokokkenträgers; es könnte sich um eine latente Infektion des Darmes handeln und damit wäre nun, worauf ja auch schon P. K. OLITSKY (1) aufmerksam gemacht hat, eine evidente Beziehung zur spontanen Encephalomyelitis der Mäuse hergestellt.

Allerdings ist vorderhand keine dieser Ansichten einwandfrei bewiesen, aber doch wieder nicht so schlecht begründet, daß man sie theoretisch und praktisch übergehen könnte. Das wirkt sich in zweifacher Richtung aus. Auf der einen Seite konstatiert man in vielen zusammenfassenden Darstellungen aus berufener Feder eine Unsicherheit der Stellungnahme, eine Tendenz, die wichtigen Probleme bis auf weiteres offen zu lassen (E. GILDEMEISTER, C. LEVADITI, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES). Andererseits haben sich hier, wie dies in den in Umwälzung begriffenen Forschungsgebieten oft der Fall ist, kühne Hypothesen vorgewagt. Dazu gehört die Theorie von C. W. JUNGBLUT (2), derzufolge die Unempfänglichkeit für die poliomyelitische Infektion ein normales Attribut des Menschen darstellt; Erkrankungen kommen nach JUNGBLUT nur zustande, wenn diese physiologische Resistenz durch gewisse Einflüsse, vor allem durch Vitaminmangel oder hormonale Störungen lahmgelegt wird. Damit wären natürlich subklinische oder abortive Infektionen als gestaltende Faktoren des epidemiologischen Geschehens überflüssig und C. W. JUNGBLUT bestreitet folgerichtig ihre Existenz. Auf einen ähnlichen Standpunkt stellte sich W. L. AYCOCK (1, 2) insofern, als auch er eine physiologische Grundlage der Resistenz gegen Poliomyelitis annimmt (die er „Autarcesis“ nennt) und den experimentellen Beweis zu erbringen trachtet (3, 4), daß hormonale Störungen (Kastration) die Empfindlichkeit von Affen gegen intranasale Infektionen erhöhen; aber er ist weniger konsequent als JUNGBLUT, indem er nebenbei eine Immunisierung durch Viruskontakt zugesteht.

Die Theorie von JUNGBLUT ist schon aus dem Grunde nicht annehmbar, weil ja aus der noch vor relativ kurzer Zeit sporadischen Krankheit eine epidemisch bzw. pandemisch auftretende Seuche geworden ist; daß sich der Mangel an Vitaminen in der Nahrung und die hormonale Störungen in der Zwischenzeit so gesteigert haben, läßt sich nicht beweisen. Außerdem wurden einige Angaben von JUNGBLUT, speziell jene über die Bedeutung des C-Vitamins für die Aufrechterhaltung der Resistenz gegen Poliomyelitis, bestritten [A. B. SABIN (1), M. KASAHARA und J. GAMMO]. Daß aber solche Ansichten geäußert und experimentell wie auch epidemiologisch begründet werden konnten, charakterisiert eben die augenblickliche Situation. Trotz des — durch die praktische Bedeutung dieser Fragen bedingten — außerordentlich großen Arbeitsaufwandes, *kann man heute nicht behaupten, daß gesunde Träger des Poliomyelitisvirus in einer epidemiologisch*

relevanten Zahl existieren; die wenigen festgestellten Fälle geben keinen sicheren Aufschluß über das Wesen solcher Zustände und man kann auch nicht mit Bestimmtheit sagen, daß sie eine immunisierende Wirkung haben.

B. Das Trägertum (die Virusausscheidung) als Vorläufer der spezifischen Erkrankung.

Es besteht keine Notwendigkeit, daß sich die Ausscheidung infektiöser Keime und damit die Möglichkeit der Übertragung von den infizierten auf gesunde Wirte mit der Epoche decken, welche mit dem Einsetzen klinisch faßbarer Symptome beginnt und mit der Rückkehr zur Norm ihren Abschluß findet, also mit jenem Zeitabschnitt, den die pathologische Physiologie als Krankheit bezeichnet. Die Erfahrung lehrt vielmehr, daß die Ausscheidung früher oder später beginnen und auch früher oder später aufhören kann als die pathologischen Manifestationen der Infektionsprozesse. Nur in einer Beziehung wird diese gegenseitige zeitliche Unabhängigkeit eingeschränkt: die Ausscheidung beginnt erst in der letzten Phase der Inkubationsperiode.

1. Masern, Röteln, Varicellen, Pocken.

Als Beispiel können die Inkubationszeiten der kontagiösen exanthematischen Viruskrankheiten (Masern, Varicellen, Variola, Röteln) gelten. Charakteristisch ist für diese Gruppe ein gemeinsamer Durchschnittswert von 10—14 Tagen. Allerdings differieren die Inkubationen der genannten Krankheiten untereinander, indem beispielsweise die Inkubation der Varicellen 2—3 Wochen beträgt, somit meist länger ist als bei den Masern, den Röteln und den Pocken; das mag aber besondere Gründe haben, da die experimentell (durch cutane Inokulation) erzeugten Varicellen schon 6—10 Tage p. i. beginnen. Selbstverständlich schwankt auch bei jeder einzelnen Krankheit die Inkubation innerhalb gewisser Grenzen; die Streuung um den häufigsten Wert ist jedoch gering, so gering, daß man von einem „gesetzmäßigen“ Verhalten [R. DOERR (7)] sprechen darf. Die Konstanz der Inkubation bei den Masern und den Blattern, sowie der Umstand, daß man auch bei der Serumkrankheit der Erstinjizierten eine normierte Inkubation von ungefähr gleicher Dauer beobachtet, veranlaßten bekanntlich CL. V. PIRQUET zur Aufstellung und näheren Begründung seiner Theorie, daß die krankhaften Erscheinungen in allen diesen Fällen nicht oder nicht unmittelbar durch die Vermehrung der Erreger hervorgerufen werden, sondern durch die Reaktion der Erreger-Antigene mit den vom Wirtsorganismus produzierten Antikörpern. Ob diese Hypothese richtig ist oder nicht, soll hier nicht erörtert werden; aber sie enthält, und dies tangiert unser Thema, implicite den Gedanken, daß der Ablauf des Infektionsprozesses und das Krankheitsgeschehen bis zu einem gewissen Grad selbständige Vorgänge sind, daß also auch die Kontagiosität nicht streng an die pathologische Auswirkung der Infektion gebunden sein muß.

Zahlreiche epidemiologische Beobachtungen stimmen nun in dem Punkt überein, daß die Virusausscheidung einige, zirka 2—3 Tage vor dem eigentlichen Krankheitsbeginn einsetzen muß, da von Individuen, welche sich in diesem Stadium befinden, Ansteckungen ausgehen. Es wäre natürlich sehr wertvoll, wenn man diese epidemiologischen Tatsachen durch den Nachweis des Virus in den Ausscheidungen kontrollieren könnte. Von der Variola abgesehen, ist dies vorderhand aus technischen Gründen unmöglich, und bei der Variola wie bei den anderen Virusexanthemen fehlt uns die sichere und praktisch verwertbare Kenntnis der „Austrittspforten“, präziser ausgedrückt jener Austrittspforten, welche für die Zeit vor dem Erscheinen des Exanthems in Betracht zu ziehen

wären. Ist es unter diesen Umständen möglich, den Gründen nachzugehen, warum die Virusausscheidung — ausgedrückt durch die Kontagiosität des Infizierten — erst gegen das Ende der Inkubationsperiode zu konstatieren ist?

Generell läßt sich diese Frage derzeit wohl nicht erledigen und es ist ja auch a priori fraglich, ob sie in einer für die ganze Gruppe gültigen Form überhaupt entschieden werden kann. Bei den Masern lassen sich aber Anhaltspunkte zu einer Lösung ausfindig machen, auf die wir näher eingehen wollen.

Bei den Masern beginnt die Kontagiosität mit dem Auftreten der katarrhalischen Prodrome, d. h. am 9.—11. Tage nach der Infektion. Wählen wir den kürzeren Termin, den 9. Tag, so ergibt sich eine Zeitspanne von 9 Tagen p. i., während welcher das infizierte Individuum noch nicht kontagiös, somit allem Anschein nach kein Ausscheider von infektionstüchtigem Virus ist. Die Kontagiosität muß sich also gegen das Ende des 9. Tages herum entwickeln, und zwar in raschem Tempo. Daß es so lange dauert, bis sich die in den Organismus eingedrungenen Masernkeime zur Vermehrung anschicken, darf man von vornherein ausschließen; es existiert zwar in Kulturen wie im Wirt eine *initiale Hemmungsperiode*, aber nicht in dem gesetzmäßigen Zeitausmaß, das man hier annehmen müßte. Man hat übrigens einen direkten Beweis, daß die Virusvermehrung bald nach der Invasion einsetzt. Injiziert man nämlich Masernrekonvaleszentenserum kurze Zeit nach der Infektion in ausreichender Menge, so wird zwar der Ausbruch der Krankheit verhindert, aber die folgende Immunität erlischt schon nach 3—4 Wochen, wie dies einer *homolog passiven antitoxischen Immunität* entspricht. Wird das Serum später einverleibt, so kann die Krankheit ebenfalls ganz ausbleiben oder es kommt nur zu vorübergehenden leichten Störungen; aber die Kinder sind für Jahre hinaus geschützt, sie sind *aktiv* immunisiert durch eine latente oder abortive Infektion, die sich unter der Herrschaft des Rekonvaleszentensersums bzw. der in demselben enthaltenen virusneutralisierenden Antikörper nicht voll entfalten konnte. Schließlich kommt ein Moment, wo die Serumphylaxe, selbst wenn man sehr große Serumdosen anwendet, ganz versagt. Im allgemeinen wird angegeben, daß die Unterdrückung des Krankheitsausbruches bis zum 3. oder 4. Tage post infectionem mit mäßigen Serumgaben (3,5—6 ccm) ziemlich sicher gelingt, daß man am 5.—6. Tage die Serumdosis verdoppeln muß, um wenigstens eine Abschwächung des Krankheitsverlaufes zu einem „Masernäquivalent“ (Morbilloid) zu erzielen, daß der Erfolg am 7. Tage schon recht ungewiß ist und daß man am 8. Tage überhaupt nichts mehr erreichen kann. In dem sehr umfangreichen Schrifttum über die Prophylaxe der Masern mit Rekonvaleszentenserum stößt man auf Daten, welche mit den hier angeführten nicht übereinstimmen; das ist ganz natürlich, da der Zeitpunkt der Infektion nicht immer genau ermittelt werden konnte und die Titrierung der Antikörper im Serum nach der Methode von DEGWITZ kaum mehr als rohe Schätzungen ermöglicht; abgesehen davon stellt ja die gegenseitige Interferenz von virusneutralisierendem Antikörper und Virusvermehrung einen in der Zeit ablaufenden Vorgang dar, der auch bei gleichen Mengenverhältnissen der Ausgangsstoffe zu verschiedenen Ergebnissen führen kann. Trotz dieser Unsicherheit der tatsächlichen Unterlagen besteht jedoch kein Zweifel, daß das Unwirksamwerden der Serophylaxe in kurzem, wahrscheinlich 24stündigem Abstand vor dem Beginn der Kontagiosität erfolgt und daß sich daher in diesem Zeitraum die Ereignisse zusammendrängen müssen, welche zur Virusausscheidung und damit zur natürlichen Übertragung durch Tröpfcheninfektion führen.

So erscheint der Beginn der Kontagiosität nicht nur zeitlich fixiert, sondern auch zu bestimmten Phänomenen des Infektionsablaufes in Beziehung gebracht, allerdings auch wieder nur zeitlich und nicht kausal. Wichtig ist, daß die Virus-

ausscheidung, als Kontagiosität zum Ausdruck gelangend, ebenso rasch aufhört wie sie eingesetzt hat; sie hält nur die zwei oder drei ersten Tage des Exanthemstadiums an und ist nicht mehr vorhanden, sobald der Ausschlag am ganzen Körper aufgetreten ist (FR. v. GROER). Daß sich das Masernvirus unter diesen Umständen in rein menschlichen Infektketten erhalten kann, ist wohl in der Hauptsache seiner außerordentlich hohen Kontagiosität zuzuschreiben. Ob abortive Infektionen von durchmaserten Individuen gelegentlich als Ansteckungsquellen fungieren und ob die Kontagiosität von Ersterkrankten durch Komplikationen (Otitis, Empyeme) verlängert wird, ist fraglich; die Epidemiologie der Masern wird jedenfalls durch solche Vorkommnisse nicht merklich beeinflußt.

Ergänzend und die Bemerkungen auf S. 114, soweit die Masern in Betracht kommen, korrigierend, sei bemerkt, daß das Masernvirus in den Sekreten der Mundhöhle und des Nasenrachenraumes von mehreren Autoren nachgewiesen wurde, und zwar sowohl vor wie kurz (bis zu 2 Tagen) nach dem Auftreten des Exanthems [GOLDBERGER und ANDERSON, ANDERSON und GOLDBERGER (2), R. DEGKWITZ, T. TANIGUCHI, HOSOKAWA, KUGA und TEREDA, F. G. BLAKE und J. D. TRASK, R. TUNNICLIFF und W. B. MOODY]. Der Nachweis erfolgte meist durch Übertragung auf Affen, zum Teil auch auf Kaninchen oder Meerschweinchen. Der Wert dieser Untersuchungen wird jedoch dadurch eingeschränkt, daß die Experimentatoren zum Teil den Beweis schuldig blieben, daß die Reaktionen ihrer Versuchstiere auf einer Infektion mit dem spezifischen Masernvirus beruhten. Nach neueren Untersuchungen von H. GORDON und T. K. HOLMES, bei welchen als Kriterium des Impferfolges auch die WARTHIN-FINKELDEYSche Riesenzellenreaktion verwendet wurde, sind Kaninchen und Meerschweinchen überhaupt nicht empfänglich; Affen schienen insofern auf die Infektion mit dem Blute von masernkranken Menschen spezifisch zu reagieren, als in ihren Lymphdrüsen die gleichen Riesenzellen wie bei Masernpatienten festgestellt werden konnten. Aber zu jener Zeit, wo die oben zitierten Virusbefunde im Mund- und Nasensekret erhoben wurden, waren die histologischen Veränderungen in den Lymphgeweben noch nicht bekannt, und die klinischen Symptome sind nicht eindeutig genug, was ja auch daraus hervorgeht, daß man bisher die Anerkennung gelungener Züchtungen des Masernvirus in letzter Instanz immer von Rückübertragungen auf Menschen abhängig gemacht hat (P. RITOSSA und F. MULÉ, N. SHAFFER, RAKE, STOKES und O'NEIL u. a.). Ferner hat man die Sekretproben gerade zu jenen Zeiten entnommen, wo man sich auf Grund der epidemiologischen Erfahrungen ein positives Resultat versprechen konnte, und auf eine systematische Ermittlung des Beginnes und des Endes der Virusausscheidung ganz verzichtet.

Von den zeitlichen Verhältnissen auf das Problem übergehend, durch welchen Vorgang die Virusausscheidung verursacht wird, sei hier auf die Arbeiten von H. A. GINS, HACKENTHAL und KAMENTZEWA hingewiesen, welche bereits im Handbuch besprochen wurden (S. 843) und die geeignet erscheinen, um sie als Ausgangspunkt der Betrachtung zu wählen. GINS und seine Mitarbeiter konnten bei Erstimpfungen sowie bei cutan und intracutan geimpften Versuchstieren (Kaninchen und Meerschweinchen) Vaccinevirus auf der Nasenschleimhaut nachweisen, und zwar 2–3 Tage nach der Inokulation, also noch vor dem Auftreten von Veränderungen am Ort der Impfung, vergleichsweise gesprochen im „präexanthematischen Stadium“. Da zu derselben Zeit auch die inneren Organe von geimpften Versuchstieren (Leber, Milz, Niere) reichlich Virus enthielten, nahm GINS an, daß sich das Virus im Körper ohne Reaktionserscheinungen vermehrt („symptomlose Generalisation“); der Ausscheidung würde somit eine Anreicherung im Blut bzw. in den Organen vorausgehen. Dieses Modell scheint allerdings

den Phänomenen, die es erklären soll, nicht zu entsprechen, da die Ausscheidung schon 48—72 Stunden nach der Invasion beginnt. Es ist aber zu berücksichtigen, daß die Impfung mit Vaccinevirus nicht dem natürlichen Infektionsmodus entspricht, sondern daß das spezifische Agens willkürlich, und zwar in die Haut mit Hilfe eines Traumas inseriert wird. Diese Art der Übertragung hat bei allen Krankheiten dieser Gruppe eine „Linksverschiebung“ des Infektionsablaufes zur Folge, die in einer Verkürzung der Inkubation und einem früheren Beginn der Kontagiosität zum Ausdruck kommt.

So beträgt die Inkubation der Varicellen nach cutaner Infektion nicht 2—3 Wochen wie bei der natürlichen Ansteckung, sondern nur noch 6—10 Tage, und bei Individuen, welche cutan mit Masernvirus inokuliert werden, beobachtet man KOPLIKSche Flecke sowie einen steilen Temperaturanstieg schon am 9. Tage und am 10. Tage ist bereits das Exanthem zu sehen (F. HOME, R. DEGWITZ). Es ist nur die cutane Inokulation des Masernvirus, welche diese Wirkung hat, nicht aber die künstliche Infektion von der Respirationsschleimhaut aus. Das gleiche Verhalten kennt man bei der Variolation gegenüber der natürlichen Übertragung des Pockenvirus; R. DEGWITZ wies 1927 mit Recht darauf hin, daß zwischen der Morbillisation gegen Masern und der Variolation gegen Blattern eine Analogie festzustellen sei.

Wenn man daher das von GINS und seinen Mitarbeitern untersuchte Modell der Ausscheidung nach cutaner Impfung mit Vaccinevirus verwerten will, darf man sich nicht an den zeitlichen Differenzen stoßen, sondern hat vielmehr zu prüfen, ob der Vergleich mit der Virusausscheidung bei den exanthematischen Krankheiten in der andern, wichtigeren Beziehung gerechtfertigt ist, nämlich, *ob auch bei diesen Prozessen die Ausscheidung mit der hämatogenen Generalisation zusammenfällt.*

Nun ist das Blut von Masernkranken von zahlreichen Autoren auf seinen Gehalt an spezifischem Virus untersucht worden. Leider sind aber die Angaben zu einem großen Teil unzuverlässig, geradeso und aus denselben Gründen, wie dies für den Virusnachweis in Sekretproben (siehe S. 116) auseinandergesetzt wurde; insbesondere wurden oft Versuchstiere benutzt, deren Empfänglichkeit für das Masernvirus fraglich war oder strikte abgelehnt wurde. Diesen Literaturballast unentwegt mitzuschleppen, hat keinen Sinn. Es erscheint vielmehr rationell, sich nur auf jene Resultate zu stützen, welche mit einer anerkannten Methodik erzielt wurden, und da stehen die Übertragungen der Blutproben auf sicher empfängliche (nicht durchmaserte) Menschen [L. HEKTOEN, R. DEGWITZ (1), H. BAUGUESS, PETÉNYI, K. PAPP] an erster Stelle, an zweiter die Überimpfungen auf Affen (*Macacus rhesus*), die aber nach dem Zeugnis von R. DEGWITZ in einem hohen Prozentsatz auf die Impfung mit großen Mengen sicher infektiösen Materials nicht reagieren. Durch eine so scharfe Auslese wird selbstverständlich das Material stark reduziert, gewinnt aber erheblich an Beweiskraft.

Unter den eben präzierten Voraussetzungen kann mit Bestimmtheit behauptet werden:

1. Daß das Virus im Beginne der Eruptionsperiode *stets* im strömenden Blut vorhanden ist, und zwar in erheblicher Konzentration; L. DEGWITZ konnte typische Masernerkrankungen bei empfänglichen Individuen hervorrufen, wenn er ihnen 0,2—0,5 ccm siebenfach verdünnten Blutes (= 0,03—0,07 ccm) intradermal injizierte oder auf die Nasenschleimhaut brachte, und K. PAPP erzielte durch 0,01 ccm, subcutan oder intravenös injiziert, positive Resultate.

2. Daß das Blut bald nach der völligen Entwicklung des Exanthems seine Infektiosität verliert. Mit Blutproben, welche 30—36 Stunden nach dem Erscheinen des Ausschlages entnommen worden waren, gelingen zwar noch Übertragungen auf Versuchspersonen (L. HEKTOEN, R. DEGWITZ, K. PAPP); R. DEGWITZ verzeichnete aber gelegentlich schon Versager, wenn zwischen dem Aufblühen der Effloreszenzen und der Blutentnahme nur 24 Stunden verstrichen waren.

3. Daß das Blut schon Virus enthalten kann, bevor sich der Ausschlag zeigt.

R. DEGWITZ entnahm Proben 12—24 Stunden vor der Eruption und stellte fest, daß das Blut in einigen solchen Fällen „noch nicht infektiös war“. Man kann jedoch naturgemäß nur sagen, daß die Übertragung auf Versuchspersonen um diese Zeit inkonstante Ergebnisse lieferte, was auch quantitativ bedingt sein konnte, sei es durch die niedrige Viruskonzentration im Blut, sei es durch die zu geringe Quantität des Inoculums. Es ist a priori unwahrscheinlich, daß die Virämie schlagartig mit der maximalen Viruskonzentration einsetzt; man wird eher annehmen, daß die Viruskonzentration im Blut zunächst niedrig ist und dann allmählich zunimmt, vielleicht nur innerhalb eines relativ kurzen, aber doch einige Tage betragenden Zeitraumes. Gleiche Blutmengen, die aus verschiedenen, während dieser Epoche entnommenen Proben stammen, können unter dieser Voraussetzung im Übertragungsversuch verschiedenartig wirken. Es existieren nun Beobachtungen, welche für die Richtigkeit dieser Überlegungen sprechen.

H. BAUGUES hat über Fälle berichtet, in welchen eine Maserninfektion durch Bluttransfusion zustande kam, weil sich der Spender im Prodromalstadium der Masern befand. Die durch Transfusion übertragenen Blutmengen sind natürlich weit größer als bei absichtlichen Infektionsversuchen und man achtet wohl immer darauf, daß der Blutspender frei von Krankheitserscheinungen ist. Beides würde bedeuten, daß man das Virus im Blut schon in der eigentlichen Inkubation (vor den Prodromalerscheinungen) nachzuweisen vermag, wenn man genügende Blutquanten verimpft.

PETÉNYI inokulierte Citratblut von Kindern, die sich in verschiedenen Stadien der Inkubation befanden, in der stets gleichen Dosis von 3 ccm; die Inkubation der inokulierten Kinder war um so kürzer, je vorgerückter die Inkubation bei den Blutspendern war, und PETÉNYI zog daraus den Schluß, daß sich das Virus im Blut sukzessive und vermutlich etappenweise anreichere.

Zu einem analogen Ergebnis kam K. PAPP, welche sich jedoch einer besonderen Technik bediente. K. PAPP (1, 2) hatte sich in früheren Arbeiten überzeugt, daß das Virus während der Eruptionsperiode in den Leukocyten enthalten sein müsse, und verimpfte nun nicht nur Vollblut, sondern auch Plasma, Plasma plus Leukocyten und gewaschene Leukocyten, um sich über Vorhandensein und Grad der Virämie in der Inkubationsperiode Aufschluß zu verschaffen. Nur drei mit gewaschenen Leukocyten ausgeführte Übertragungen hatten ein positives Resultat; es schien als ob um so mehr Leukocyten notwendig waren, um eine Maserninfektion zu erzeugen, je weiter man sich mit der Blutentnahme vom Termin der Eruption entfernte und dem Moment der Infektion — der bekannt war, weil die Blutproben von experimentell infizierten Kindern stammten — annäherte; die Inkubationsperiode schwankte nämlich bei diesen Kindern zwischen 9 und 15 Tagen, so daß PAPP den Zeitpunkt der Blutentnahme in jedem Falle doppelt bestimmte, nämlich als Abstand von der Infektion und von der später erfolgenden Eruption. Abgesehen von der geringen Zahl der positiven Resultate wird die Verwertbarkeit der Untersuchungen von K. PAPP dadurch eingeschränkt, daß das Blut von Kindern herrührte, welche sich nicht auf natürlichem Wege angesteckt hatten, sondern subcutan oder gar intravenös infiziert worden waren, ein Umstand, der die Beziehungen der Virämie zum Infektionsablauf einschneidend ändern konnte. Wenn daher PAPP schon 132, 88, ja 65 Stunden nach der Infektion Virus in den gewaschenen Leukocyten (gewonnen aus 3—10 ccm Blut) durch den Menschenversuch nachzuweisen vermochte, können hieraus vorderhand noch keine verbindlichen Schlüsse auf die mit der Virämie zusammenhängenden Probleme gezogen werden.

Die Virämie zeigt also dieselbe zeitliche Begrenzung innerhalb des gesamten Infektionsablaufes wie die Periode der Kontagiosität und ihre Ursache, die Virusausscheidung; was den Höhepunkt und das Ende betrifft, erscheint diese Aussage gesichert, während in Beziehung auf den Beginn (siehe oben) die Sachlage noch nicht hinreichend geklärt ist. Daß es sich um eine rein zufällige Koinzidenz handelt, läßt sich allerdings nicht ausschließen, ist aber nicht wahrscheinlich. Es drängt sich vielmehr die Vermutung auf, daß die Virusausscheidung durch die Virämie bedingt ist. Die primitive Vorstellung, daß das Virus gewissermaßen infolge des „Konzentrationsdruckes“ aus dem zirkulierenden Blut austritt oder abfiltriert, wird man wohl mit R. DOERE (12) ablehnen. GINS und seine Mitarbeiter nahmen an, daß der Austritt des Vaccinevirus bei cutan geimpften Menschen und Tieren aus den lymphatischen Geweben des Rachenringes (den Tonsillen) stattfindet und durch auswandernde weiße Blutzellen (Leukocyten oder Lymphocyten) vermittelt werde, deren Affinität zum Vaccinevirus von mehreren Autoren (H. HACKENTHAL, DOUGLAS und SMITH, A. B. SABIN, W. SMITH, YOFFEY und SULLIVAN) festgestellt werden konnte. Da K. PAPP auch für das Masernvirus die Bindung an Blut-Leukocyten nachzuweisen vermochte [K. PAPP (3)], könnte man für die Ausscheidung dieser Virusart und in weiterer Folge für die Agenzien der ganzen Gruppe denselben Mechanismus postulieren, um so mehr als der Nachweis des Masernvirus im Speichel und im Nasenrachensekret lehrt, daß dasselbe am gleichen Ort wie das Vaccinevirus die Gewebe des Wirtes verläßt.

Doch ist dies alles zur Zeit bloß hypothetisches Flickwerk und bezieht sich eben nur auf eine kleine Gruppe von virusbedingten Infektionskrankheiten, welche durch gesetzmäßige Inkubationen ausgezeichnet sind. Es kann aber gezeigt werden, daß die Beschränkung der Virusausscheidung auf die letzten Stadien der Inkubation auch dann festgestellt werden kann, wenn die Bedingungen fast in jedem Punkte von den bisher erörterten verschieden sind. Für diesen Zweck eignet sich als Paradigma die Lyssa des Hundes.

2. Die Lyssa des Hundes.

Die Lyssa hat — unabhängig von der Eigenart ihrer vielen Wirte — bekanntlich eine sehr variable Inkubation. Die Extremwerte liegen weit auseinander und die Streuung um die schwer zu bestimmenden Mittelwerte ist sehr groß. Das gilt auch für den Hund; das Intervall zwischen dem infizierenden Biß und dem Ausbruch der Tollwut beträgt hier nach W. ERNST und H. HAHN 7—150 Tage, kann aber in Ausnahmefällen auch noch länger dauern (siehe R. KRAUS, GERLACH, SCHWEINBURG, S. 88). Da der Gegensatz zu den im vorhergehenden Kapitel abgehandelten Viruskrankheiten mit kurzen und gesetzmäßigen Inkubationen herausgestellt werden soll, muß sich die Betrachtung auf die mittleren und langen Inkubationen der Lyssa canina konzentrieren. Da konstatieren wir zunächst, daß das Virus der Lyssa nicht etwa während dieser ganzen, mehrere Wochen bis Monate umfassenden Epoche im Speichel und in den Speicheldrüsen vorhanden ist, sondern erst in den letzten Tagen, frühestens und wahrscheinlich nur ausnahmsweise 8—15 Tage vor dem Auftreten typischer Wutsymptome (siehe S. 170).

Infiziert man Hunde experimentell, so läßt sich das Virus im Hirngewebe meist erst 4—8 Tage vor Krankheitsausbruch nachweisen. Das ist auch dann der Fall, wenn man den Tieren große Virusdosen intracerebral injiziert; das Virus verschwindet dann scheinbar für volle 8 Tage aus dem Gewebe der inoculierten Hirnpartie, um erst nach dieser Frist wieder aufzutauchen [P. REMLINGER und J. BAILLY (3)]. Dieses „Phänomen der Eclipse“ konnten J. W. CORNWALL und W. A. BEER in anderer Weise demonstrieren, in dem sie feststellten, daß serienweise intracerebrale Kaninchenpassagen nicht möglich sind, wenn man

die Hirnsubstanz jeweils 3 Tage nach der Infektion auf ein neues Tier überträgt. Darf man es nun als allgemein gültige Regel betrachten, daß das Virus im Gehirn erst 4—8 Tage vor Krankheitsbeginn zu finden ist, im Speichel aber schon 15 Tage vor Ausbruch der Wut, so würde sich die Aussage ergeben, daß der Speichel früher virushaltig werden kann als das Gehirn, worin F. SCHWEINBURG (l. c., S. 44) „eine einigermaßen seltsame Tatsache“ erblickt, „für die bisher niemand eine Erklärung geben konnte“. Man kann aber selbstverständlich nicht behaupten, daß das Virus im Speichel vorhanden ist, während es in der Hirnsubstanz noch fehlt, sondern nur, daß es im Speichel möglicherweise etwas früher nachweisbar werden kann als im Gewebe des Großhirnes, und das sind zwei verschiedene Dinge. In den Versuchen von REMLINGER und BAILLY wurde ja das Virus direkt in das Hirnparenchym injiziert und dieser Eingriff mußte, wie Kontrollen bewiesen, eine Erkrankung an Lyssa bewirken; das Virus mußte somit zu jeder Zeit im Hirngewebe gegenwärtig sein, und wenn es sich tatsächlich zeitweilig dem Nachweis entzog, was übrigens nicht allgemein anerkannt wurde, so war dies auf besondere, vielleicht nur im Experiment gegebene Faktoren zurückzuführen.

Bei dem natürlichen Übertragungsmodus durch peripher angreifende Traumen gelangt das Lyssavirus jedenfalls sehr rasch in das Zentralnervensystem, gleichgültig ob die Inkubation kurz oder ungewöhnlich lang ist. Die Länge der Inkubation ist keineswegs der adäquate Ausdruck für die Wegstrecke, welche das Virus vom Ort der Verletzung auf nervöser Schiene bis zu den nervösen Zentren zurückzulegen hat; sie entspricht vielmehr der Latenz des Virus in den Zentren, d. h. am Ort der Bestimmung. Die Wanderungszeit muß natürlich mit der Entfernung der Eintrittspforte von den nervösen Zentralorganen zunehmen; für einen bestimmten Sitz der infizierenden Verletzung ist sie aber konstant und beteiligt sich an der Gesamtinkubation in um so geringerem Grad, je länger diese wird.

Die Wanderungsgeschwindigkeit des Lyssavirus im peripheren Nerven ist bisher nicht so genau bestimmt worden wie jene des Herpesvirus in der Trigemusbahn bei der Keratoconjunctivitis herpetica des Kaninchens (E. KOPPISCH) oder die Fortpflanzungsgeschwindigkeit des Poliomyelitisvirus im Ischiadicus von Rhesus-Affen (D. BODIAN und H. A. HOWE). Die alten Versuche, die Wanderungsgeschwindigkeit des Lyssavirus in verschiedenen Nerven durch postinfektielle Unterbrechung der leitenden Bahn zu messen [vgl. R. DOERR (5, 9), F. SCHWEINBURG u. a.], lehren aber, obgleich sie nicht ganz einwandfrei waren, doch unzweideutig, daß das peripher eingepfote Virus die Zentren schon in kurzer Zeit erreicht, und die neueren exakten Experimente von K. HABEL beweisen, daß die Distanz von der Muskulatur einer hinteren Extremität bis zum Rückenmark bei Mäusen und Meerschweinchen binnen 24—48 Stunden zurückgelegt wird.

Eine lange Inkubation der auf natürlichem Wege entstandenen Lyssa ist somit der Hauptsache nach eine lange Latenz des Virus im Zentralnervensystem, wo es sich im infektionstüchtigen (aktiven) Zustande ohne pathologische Auswirkung zu erhalten vermag. R. PALTAUF konnte das Gehirn von 4 Menschen untersuchen, welche von sicher tollwütigen Tieren gebissen worden und während der Schutzimpfung an interkurrenten Krankheiten (Delirium tremens, Embolie der Arteria pulmonalis, Apoplexie) gestorben waren. Mit Partikeln der Medulla oblongata infizierte Kaninchen gingen ausnahmslos an paralytischer Wut ein. Diese viel umstrittenen Angaben beweisen, wie F. SCHWEINBURG mit Recht betont, eindeutig, „daß im Gehirn Wutvirus vorhanden sein kann, ohne daß das betreffende Individuum an Wut erkrankt sein oder sich im Inkubationsstadium der Wut befinden muß“. Unter den Einwänden, welche gegen PALTAUF geltend gemacht

wurden, spielte die Behauptung eine große Rolle, er habe nicht, wie er selbst meinte, Straßenvirus, sondern Virus fixe nachgewiesen. Das ist indes bedeutungslos. R. und A. PALTAUF haben eine größere Zahl von Beobachtungen zusammengestellt, welche Personen betrafen, bei denen keine Schutzimpfung vorgenommen worden war, und die nach zum Teil sehr langen Inkubationen im Anschluß an Traumen, Schläge, Mißhandlungen an Lyssa erkrankten, und ähnliche Berichte über unspezifisch erzeugte Umwandlungen latenter Straßenvirusinfektionen in letal ablaufende Erkrankungen wurden auch von anderen Autoren veröffentlicht. Die rekurrende Wut der Hunde bietet sogar ein unwiderlegbares Beispiel, daß sich die zentrale Latenz nicht nur in das typische Krankheitsbild umsetzen kann, sondern daß umgekehrt auch der Übergang der Krankheit in eine komplette, wenn auch meist nur temporäre Latenz möglich ist (siehe S. 170).

Es erkranken nur zirka 30—40% der Hunde, die von sicher wutkranken Tieren gebissen wurden. Daß bei den restlichen 70—60% das Zentralnervensystem vom Virus nicht erreicht wird, daß es also in allen diesen Fällen überhaupt zu keiner zentralen Latenz kommt, oder, wie man dies anders formulieren kann, daß die zentrale Latenz ausnahmslos der Vorläufer einer pathogenen Phase des Infektionsprozesses ist, muß als höchst unwahrscheinlich bezeichnet werden. Man darf annehmen, daß latente Infektionen des Gehirns und des Rückenmarkes durch irreversible Inaktivierung („Abtötung“) des Virus endigen können;¹ unter welchen Bedingungen und nach welcher Zeit ihres Bestehens bleibt — speziell im Hinblick auf die extrem langen Inkubationen — eine offene Frage.

Sicher ist, und damit kommen wir auf den für unser Thema wichtigsten Punkt zu sprechen, daß das Virus im Speichel erst wenige Tage vor Ausbruch der Krankheit auftritt, also nicht in der latenten Phase schlechtweg, sondern in jenem kurzen Abschnitt der Latenz, der unmittelbar zur Krankheit führt. In diesem Zeitabschnitt müssen sich Vorgänge besonderer Art abspielen und diese Vorgänge müssen in engstem zeitlichem und vermutlich auch kausalem Konnex mit der Infektion der Speicheldrüsen bzw. mit der Ausscheidung des Virus durch den Speichel stehen. In Ermanglung besserer Einsicht wird die Umsetzung der Inkubation in die Krankheit fast allgemein mit einer Steigerung der Virusvermehrung in Zusammenhang gebracht; es ist aber nicht einzusehen, warum die in Gang gebrachte Virusproliferation eine Infektion der Speicheldrüse bewirkt, und zwar gesetzmäßig bewirkt, nicht etwa als zufällige oder häufige Komplikation. Daß hier eine Lücke klafft, erkannten P. REMLINGER und J. BAILLY (2). Von der Voraussetzung ausgehend, daß die Speicheldrüse (die Gl. submaxillaris) zentrifugal vom Facialiskern aus durch die Chorda tympani infiziert wird, impften sie Hunde intracerebral mit Straßenvirus, töteten vom 5. Tage angefangen je einen Hund und übertrugen das Gehirn subdural auf Kaninchen, und

¹ Man könnte diesen Vorgang auch als „Autosterilisation“ bezeichnen. Wenn dieser Ausdruck vermieden wurde, geschah dies, um einer Verwechslung mit den „Neuro-infections auto-stérilisables“ der französischen Autoren aus dem Wege zu gehen. Er wurde in der Terminologie eingeführt, um den Fall zu charakterisieren, daß experimentell mit Herpesvirus, Lyssavirus oder anderen neurotrophen Virusarten infizierte Versuchstiere unter spezifischen Symptomen und mit typischem anatomischem Befund verenden, obwohl das Virus im Zentralnervensystem nicht nachgewiesen werden kann (C. LEVADITI, V. SANCHIS-BAYARRI und R. SCHOEN). C. LEVADITI nimmt an, daß die Abwehrreaktion des Wirtes, die sich in den klinischen Erscheinungen äußert, intensiv genug ist, um das Virus zu zerstören; er bringt diese Prozesse in Gegensatz zu den latenten Infektionen, den infections inapparentes von CH. NICOLLE, was insofern richtig ist, als diese symptomlos ablaufen und, wie oben auseinandergesetzt wurde, auch symptomlos durch „stille Entkeimung“ endigen.

zwar a) das Gewebe der Insertionsstelle des Virus und b) die Gewebspartie, in welcher die Facialiskerne enthalten waren. Bis zum 8. Tage inklusive erwiesen sich beiderlei Proben als nicht-infektiös (Phänomen der Eclipse, siehe S. 119); vom 9. Tage an erkrankten die Kaninchen an Lyssa, aber die Inkubationen der mit den Kernen geimpften Kaninchen waren durchwegs kürzer und der Exitus trat früher ein. In einem Falle überlebte sogar das mit a) geimpfte Kaninchen, während das mit b) infizierte an Wut einging. REMLINGER und BAILLY erwogen die Möglichkeit, daß die Speicheldrüsen das Virus infolge einer spezifischen Affinität anlocken, was kaum vorstellbar ist, wenn man eine Zuleitung durch die Chorda tympani annimmt.

Es ist, wie die Dinge jetzt liegen, nicht nur zu erklären, warum das Virus in den Speicheldrüsen in den letzten Tagen vor dem Ausbruch der Wut erscheint, sondern auch warum das nicht schon in früheren Stadien der Inkubation der Fall ist, obwohl das Agens während dieser Zeit im Zentralnervensystem vorhanden sein muß. Bloß als Phänomen betrachtet, muß es als höchst zweckmäßig bezeichnet werden, daß der Speichel knapp vor der Zeit virushaltig wird, wo die Hunde zu schnappen und zu beißen anfangen; nur dadurch wird es ermöglicht, daß sich der Erreger der Lyssa in Infektketten erhalten kann, deren Glieder durch das Zufallsereignis eines infizierenden Traumas miteinander verbunden sind. Von diesem Standpunkt aus begreift man auch den biologischen Sinn der langen durchschnittlichen und extremen Inkubation der Lyssa, während welcher der Speichel nicht virushaltig und der Hund nicht beißsüchtig ist, so daß keine neuen Übertragungen stattfinden können; sie verlängern die Intervalle, welche die Übertragungen trennen, und sind solchergestalt ebenfalls dem Prinzip der Erhaltung des Erregers unterstellt. Wie jedoch der Mechanismus dieser hochgetriebenen und komplizierten Anpassung funktioniert, wird durch solche Betrachtungen nicht klarer.

Einen interessanten Versuch zu einer umfassenden Lösung dieses alten Problems verdankt man YERVANTE MANOUÉLIAN. MANOUÉLIAN hatte in isolierten oder in Häufchen (Mikroganglien) angeordneten Nervenzellen der Mundschleimhaut und der Zungenbasis, der Speicheldrüsen und der Wand ihrer Ausführungsgänge oxyphile Einschlüsse nachgewiesen, welche wie die NEGRISCHEN Körperchen im Protoplasma lagen, aber nicht die Größe derselben erreichten, sondern maximal 1—2 μ maßen. Sie fanden sich sowohl bei tollwütigen Hunden wie bei an Lyssa erkrankten Kaninchen und sind nach MANOUÉLIAN ein Beweis, daß die Nervenzellen, in denen sie zu sehen sind, den Erreger der Lyssa in großer Menge beherbergen. Da aber diese Nervenzellen und Mikroganglien zum Teil nahe der Oberfläche der Schleimhäute oder der Innenfläche der Ausführungsgänge der Speicheldrüsen sitzen, fast an die sehr dünne Epithelschicht heranreichend, so müßten minimale Verletzungen die Viruselemente in Freiheit setzen, die sich so dem Speichel beimengen; vielleicht wäre sogar die Passage durch die dünne Epithelschranke auch möglich, ohne daß die Kontinuität derselben unterbrochen wird, wenn die parasitierten Ganglienzellen zugrundegehen und dem Virus den Austritt gestatten. Auf dieselbe Art könnte sich der Speichel schon innerhalb der Speicheldrüse mit Virus beladen, wenn er durch die Ausführungsgänge der Drüsen strömt; denn auch hier findet man in nächster Nachbarschaft der Acini und des Epithels der Ausführungsgänge Ganglienzellen mit NEGRISCHEN Körperchen, so daß das Virus, wenn es einmal diese Zellen verlassen hat, nur durch eine Gewebsschicht von einigen Mikra Dicke hindurchtreten müßte, um Zugang zum Speichel zu gewinnen.

Nach MANOUÉLIAN stammt somit das im Speichel auftretende Virus nicht aus der Speicheldrüse, d. h. es wird nicht von den Drüsenzellen abgesondert,

sondern entsteht, auch wenn es im abgesonderten Sekret vorhanden ist, in Ganglienzellen und wird dem Speichel nur sekundär beigemischt. Durch diese Hypothese wird der streng neurocytotrope Charakter, den manche Autoren dem Lyssavirus zuschreiben, gewahrt; aber die Erklärung, wie das in den Ganglienzellen proliferierende Virus in den Speichel bzw. in das Mundsekret kommt, kann nicht befriedigen, da hier unbewiesene Hilfsannahmen — Minimaltraumen, Passage durch unverletztes Epithel — herangezogen werden, und zwar in inkonsequenter Weise, indem das Trauma bald als wesentlich, bald als überflüssig hingestellt wird. Zudem erscheint es fraglich, ob die von MANOUËLLIAN beschriebenen und als Mikrosporidien des Lyssaerregers („Encephalitozoon rabiei“) aufgefaßten cytoplasmatischen Einschlüsse tatsächlich die ihnen zugeschriebene Bedeutung besitzen. Bei tollwütigen Hunden stellen sie keinen konstanten, sondern einen unregelmäßigen Befund dar, und wenn sie vorhanden sind, finden sie sich in allen möglichen Neuronen, auch in Neuronen von Organen, welche von den nervösen Zentralorganen weit entfernt sind. Es fehlt also der Nachweis, daß diese Gebilde immer dann und nur dann auftreten, wenn das Virus im Speichel erscheint, und selbst nach Erfüllung dieser Forderung bliebe die Frage zu beantworten, warum ihre Entstehung an die letzten Tage vor dem Ausbruch der Wut gebunden ist. Das Problem beschränkt sich übrigens nicht auf die Provenienz des Speicheldrüsenvirus, obzwar auch diesem Punkte große Bedeutung zuzumessen ist, sondern verkörpert sich in dem merkwürdigen Zusammentreffen von Speichelfluß, Auftreten des Virus im Speichel, den schweren Sensibilitätsstörungen im Bereiche der Mundschleimhaut und dem Einsetzen der Beißsucht, kurz in dem Kooperieren der Faktoren, welche die Übertragung auf einen neuen Wirt veranlassen und sichern.

C. Das Trägertum als Folge eines Infektionsprozesses.

Wie bei Infektionsprozessen anderer Ätiologie gibt es auch bei den virusbedingten zwei Arten des Ausklingens: die mit der klinischen Heilung zusammenfallende Autosterilisation, durch welche der cyclische Charakter des Vorganges auch im gesetzmäßigen Untergang des Erregers Ausdruck findet, und die Persistenz der pathogenen Keime im Organismus, die wir hier unter dem Gesichtswinkel des „Trägertums“ betrachten wollen. In den extremen Fällen zu scharfem Gegensatz durchgebildet sind die beiden Formen des Verhaltens durch mannigfache Übergänge miteinander verbunden.

C. HALLAUER hat sich im Handbuch mit den Ursachen dieser Differenz beschäftigt, und zwar mit besonderer Berücksichtigung der Virusinfektionen. Nach HALLAUER wäre die cyclische (gesetzmäßige) Autosterilisation die Folge einer Immunitätsreaktion der befallenen Gewebe, welche kräftig einsetzt und vor allem ungehemmt fortschreitet, während das Verbleiben des Virus im klinisch geheilten Organismus als „Immunitätsschwäche“ gedeutet wird in dem Sinne, daß die Immunitätsreaktion verzögert abläuft und gewissermaßen in ihrer ersten Phase stecken bleibt. Verantwortlich für die Immunitätsschwäche wäre die Eigenart des Virus, seine geringe „Virulenz“ bzw. Pathogenität oder seine minderwertige Dynamik als Antigen, in zweiter Linie auch die mangelhafte immunologische Reaktivität bestimmter Gewebe. An das Überstehen einer Infektion kann sich eine Immunität gegen erneute Infektionen gleicher Art anschließen, gleichgültig ob die Heilung von einem Schwund der pathogenen Keime aus dem Organismus begleitet war oder ob aus dem Kranken ein Ausscheider, ein „convalescent carrier“ wird. Man hat diese zwei Formen der Immunität als grundsätzlich verschiedene Zustände aufgefaßt und der „Heilungsimmunität“ die „infektionsgebundene

Immunität“ („immunity of the non-sterile type“, „prémunion“) gegenübergestellt. Aus den Ausführungen von HALLAUER ergibt sich indes als logische Konsequenz, daß der Unterschied nicht prinzipiellen, sondern bloß graduellen Charakter hat, ein Schluß, den HALLAUER auch gezogen und durch Hinweise auf die speziellen Verhältnisse virusbedingter Prozesse in sehr suggestiver Weise begründet hat. Die Annahme, daß die Persistenz des Erregers eine notwendige Bedingung der infektionsgebundenen Immunität oder, wie man das anders ausdrücken kann, der Unempfänglichkeit gegen Superinfektionen darstellt, hält HALLAUER für unbewiesen und daher für willkürlich.

Letzten Endes geht die von HALLAUER eingeschlagene Richtung auf die Lehre zurück, daß jede Infektionskrankheit als ein Kampf zwischen dem Erreger und seinem Wirt aufzufassen sei, als ein Kampf, der, wenn der angegriffene Organismus seine physiopathologische Pflicht ganz erfüllt, mit dem Untergang des Gegners endigen muß [vgl. R. DOERR (7)]. Würde diese Vorstellung dem realen Sachverhalt entsprechen, so wäre das Schicksal der pathogenen Keime ausschließlich von der Intensität der Abwehrreaktion ihrer Wirte bestimmt. Das trifft jedoch nicht zu.

Eine Reihe infektiöser Mikroben, insbesondere Bakterien, können auf un- belebten Nährsubstraten, also unter Ausschluß aller von ihren Wirten ausgehenden Einflüsse kultiviert werden. In den Gesetzmäßigkeiten, welche die anfänglich stürmische Vermehrung, die sich anschließende progressive Abnahme der lebenden Individuen und die terminale spontane Autosterilisation beherrschen, spiegeln sich, wenn auch nicht in völlig identischer Form, so doch in erkennbarem Umriß die Vorgänge wieder, die wir im infizierten Wirt beobachten, und da konstatieren wir, daß speziell die Autosterilisation und ihr äußerlicher Gegensatz, die Persistenz, ein *sehr verschiedenes, von der Natur der Mikroben abhängiges Verhalten* zeigen. Meningokokkenkulturen, die auf den gewöhnlichen Nährböden gehalten werden, sterben rasch ab, oft schon binnen 48 Stunden; wenn sie im Exsudat der Leptomeningen des Menschen gleichfalls und ausnahmslos der Autosterilisation verfallen, darf man wohl die Ursache nicht in einer kräftigen Immunitätsreaktion der Hüllen des Zentralnervensystems suchen, sondern in biologischen Faktoren, die im Keime selbst begründet sind. Im Nasenrachenraum von Rekonvaleszenten können sich die Meningokokken wochen-, monate- und sogar jahrelang halten; der Gedanke, daß eine Immunitätsschwäche dieser Schleimhäute den Untergang der Keime verhindert, wird hinfällig, wenn man sich daran erinnert, daß auch für diese Persistenz ein Vitro-Modell existiert, die UNGERMANNsche Konservierung in Kaninchenserum, in welchem die Meningokokken jahrelang lebensfähig bleiben. Die Meningokokken verhalten sich somit hinsichtlich ihrer Lebenszähigkeit verschieden je nach dem Milieu, in welchem sie existieren; die kulturellen Analogien sprechen aber dagegen, daß die lokale Gewebsreaktion über Autosterilisation oder Persistenz entscheidet. Wir werden auf dieses Paradigma der Meningokokkeninfektion später zurückkommen.

Der Vergleich zwischen der „saprophytischen“ Vermehrung auf un- belebtem Medium und der parasitischen Existenz im natürlichen oder experimentellen Wirt kann, obwohl aus solcher Betrachtungsweise mancher Nutzen zu ziehen ist, Bedenken erwecken. Man kann jedoch auch ohne diesen Behelf zu anderen Gesichtspunkten wie C. HALLAUER gelangen. Beim Abdominaltyphus ist das hartnäckige, zuweilen lebenslängliche Träger- bzw. Ausscheidertum im Anschluß an den Krankheitsprozeß relativ häufig, bei der Cholera verschwinden die Vibri- onen aus dem Darmkanal in der Regel binnen 14 Tagen, positive Stuhlbefunde bis zu 40—60 Tagen nach der Infektion gehören zu den Ausnahmen und „Dauer- ausscheider“ im üblichen Wortsinn sind überhaupt nicht bekannt. Diese epi- de-

miologisch so wichtige Differenz läßt sich nicht darauf zurückführen, daß der menschliche Organismus auf die Invasion der Cholera vibrionen mit einer besonders intensiven immunologischen Reaktion antwortet und dem Typhusbazillus gegenüber versagt. In manchen Lehr- und Handbüchern ist zwar zu lesen, daß das Überstehen einer Choleraerkrankung eine langdauernde, ja lebenslängliche Immunität verleiht; Autoren, welche ausreichende Erfahrungen in endemisch verseuchten Gebieten sammeln konnten, wie H. VIOLLE, bezeichnen jedoch diese Angabe als falsch und schätzen die Dauer der Immunität weit geringer ein; es liegen sogar Berichte über zweimalige Erkrankungen während ein und derselben Epidemie vor.

Auch bei den Viruskrankheiten läßt sich kein Parallelismus zwischen Auto-sterilisation und erwachender Immunität nachweisen. In der bereits eingehender besprochenen Gruppe, welche die Dengue, das Pappataciefieber und das Gelbfieber umfaßt, verschwindet das spezifische Virus schon in den ersten Krankheits-tagen, und die Autosterilisation findet — was für die Dengue experimentell be-wiesen werden konnte — zur gleichen Zeit statt, ob es sich nun um eine typische Erkrankung oder um eine subklinische Infektion handelt; bei den Pocken geht das Virus ebenfalls zugrunde, aber erst mit der Abheilung der Haut- und Schleim-hauteffloreszenzen, also erheblich später als bei der Dengue und den mit ihr ver-wandten Virusinfektionen, und das Vaccinevirus kann sich im Körper des immunen Kaninchens, wie neuere Untersuchungen lehren, sehr lange halten, wobei allerdings bestimmte Organe bevorzugt werden, was aber in gleicher Weise für Staphylokokken gilt, die man normalen oder immunen Kaninchen intravenös injiziert hat (J. FORSSMAN). Die Immunität, welche der Mensch durch das Über-stehen der Dengue erwirbt, hat einen geringeren Schutzwert und vor allem eine individuell stark variierende Dauer (J. F. SILER, HALL und HITCHENS), die Pockenimmunität der weißen Rasse ist absolut und lebenslänglich und die In-fektion durch Vaccinevirus gehört auch jetzt noch zu den besten Schutz-impfungen gegen Viruskrankheiten. Es ist wohl, selbst unter Heranziehung mehrfacher Hilfsannahmen, nicht möglich, alle diese Tatsachen auf den gemein-samen Nenner zu bringen, daß restlose Vernichtung oder Persistenz des Virus ausschließlich durch die Reaktion des Wirtes bestimmt wird und daß diese wieder von keinem anderen Faktor abhängt als von der Intensität der pathologischen Auswirkung des Infekts. Es müssen vielmehr Einflüsse beteiligt sein, welche in den biologischen Eigenschaften des infizierenden Keimes begründet sind und unmittelbar zur Geltung kommen, also nicht bloß indirekt durch das Ausmaß, in welchem er die Abwehr des Wirtsorganismus provoziert.

Was die Frage der Existenz und der Sonderstellung der von R. DOERR (7) so genannten „infektionsgebundenen Immunität“ anlangt, muß man, soll die Diskussion ein Ergebnis haben, zunächst über die Kriterien ins reine kommen, welche man mit diesem Ausdruck verbinden will. R. DOERR hat schon 1930 betont, daß nicht so sehr die Koexistenz, sondern das gleichzeitige Erlöschen von Infektion und Immunität charakteristisch ist. Kann man nachweisen, daß das spezifisch refraktäre Verhalten gegen erneute Infektionen nur so lange anhält, als noch lebende Erreger im Organismus vorhanden sind, daß aber mit der kompletten Autosterilisation die Empfänglichkeit zurückkehrt, so ist der Schluß wohl gerechtfertigt, daß die Persistenz des Erregers eine notwendige Bedingung des refraktären Verhaltens gegen Superinfektionen darstellt. Daß Zustände dieser Art als gesetzmäßige Erscheinungen vorkommen, unterliegt keinem Zweifel; es genügt, auf die Syphilis (vgl. C. BRUCK), die Vogelmalaria (siehe die zusammen-fassende Darstellung von W. H. TALIAFERRO) und auf die Virusinfektionen der Pflanzen hinzuweisen. Eine befriedigende und alle speziellen Fälle um-

fassende Erklärung für das merkwürdige Phänomen konnte bisher nicht gefunden werden; doch ist dies selbstverständlich kein Grund, die Tatsachen zu bestreiten. Dagegen kann man nicht von einer „infektionsgebundenen“ Immunität sprechen, wenn die Widerstandsfähigkeit gegen erneute Infektionen schon zu einer Zeit in Erscheinung tritt, wo der primäre Infektionsprozeß noch fortschreitet oder wo die Erreger noch im lebenden Zustande im Organismus verharren, falls das andere Kriterium nicht erfüllt ist, d. h. falls die Immunität die schließliche Autosterilisation, die ätiologische Heilung überdauert. Bei den Pocken z. B. wird die Haut frühzeitig gegen Inokulationen von Variola- oder Vaccinevirus unempfindlich, obwohl Infektion und Krankheit erheblich länger anhalten; die Immunität erlischt aber nicht, wenn das Pockenvirus verschwunden oder nicht mehr nachzuweisen ist, sondern erweist sich als außerordentlich beständig. Daß diese Pockenimmunität mit der Syphilisimmunität auf die gleiche Linie gerückt werden darf, wird wohl niemand behaupten. Nicht alle Fälle liegen jedoch so klar. Es ist oft — wie etwa bei der Malaria des Menschen im Gegensatz zur Vogel malaria (W. H. TALIAFERRO, l. c., S. 267) — schwer, den exakten Beweis für die strenge Bindung der Immunität an die Persistenz des Erregers zu erbringen und nachzuweisen, daß die Empfänglichkeit mit der Vernichtung des Erregers wieder erscheint, sei es, daß die Autosterilisation bei bestimmten Infektionsprozessen nicht erfolgt oder daß der sichere Nachweis derselben mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft ist oder daß schließlich eine absichtliche Super- oder Reinfektion aus naheliegenden Gründen nicht vorgenommen werden darf. Das mag dazu beigetragen haben, daß man zwei, zumindest in typischen Fällen gut unterscheidbare Formen der Immunität miteinander konfundiert hat; mitbeteiligt waren die irreführenden Bezeichnungen „Infektionsimmunität“, „immunity of the non-sterile type“ u. a., weil sie eben ihrem Wortsinn nach nur die Möglichkeit einer Immunität bei persistierendem Erreger zum Ausdruck brachten, während der von R. DOERR vorgeschlagene Terminus „infektionsgebundene Immunität“ besagt, daß das Fortbestehen des Infektionszustandes die Immunität bedingt und bewirkt.

Vom seuchenprophylaktischen bzw. epidemiologischen Standpunkt ist die Persistenz des Erregers das zentrale Problem ohne Rücksicht darauf, ob sie die Immunität bedingt oder nur begleitet, und nur insoweit, als die Lokalisation des infektiösen Agens zu seiner Ausscheidung führen muß oder führen kann. Es wurde auseinandergesetzt, daß sich die Persistenz des Erregers nicht einheitlich auf das Prinzip der Immunitätsschwäche zurückführen läßt. Hält man nach anderen, im Erreger begründeten Erklärungsmöglichkeiten Umschau, so fällt es zunächst auf, daß die infektiösen Keime bestimmte und je nach ihrer Art verschiedene „Verweilorgane“ bevorzugen, wobei die Wirtsspezies für die Wahl offensichtlich nicht maßgebend ist. Bald sind es die Speicheldrüsen (Speicheldrüsenvirus der Meerschweinchen), bald wieder die Nasenrachenschleimhaut, vielleicht auch der Darm (Poliomyelitis), die Nieren (Psittacosis verschiedener Vogelarten), die Urethral- und Vaginalschleimhaut (Lymphogranuloma inguinale), die Haut (Papillomvirus der wilden Kaninchen), der Darm (spontane Encephalomyelitis der weißen Mäuse), das Blut, die ausscheidenden Organe und die Se- und Exkrete (Maul- und Klauenseuche des Rindes und Meerschweinchen, infektiöse Anämie der Einhufer), Hoden und Ovarien (Vaccineinfektion des Kaninchens) oder das Zentralnervensystem (neurotrope Virusarten), in denen sich das spezifische Virus oft noch lange nach der Infektion hält.

Schon in Anbetracht der Zahl und der funktionalen Mannigfaltigkeit der Verweilorgane — die vorstehende Aufzählung umfaßt nicht alle beobachteten, sondern nur die besser bekannten und typischen Fälle — kann eine Immunitäts-

schwäche als Ursache der Persistenz ausgeschlossen werden. Dies um so mehr, als sich das infektiöse Agens nicht gleichmäßig über das Verweilorgan verteilen muß. S. NICOLAU und KOPCIOWSKA (2), NICOLAU und P. POINCLEUX, NICOLAU, CRUVEILHIER und KOPCIOWSKA konnten zeigen, daß neurotrope Virusarten (Virus des Herpes, der Lyssa und der Pseudolyssa) zuweilen in bestimmten Partien des Zentralnervensystems infizierter Kaninchen (im Gehirn oder in einzelnen Segmenten des Rückenmarksstranges) länger nachweisbar bleiben als in anderen. Wahrscheinlich ist dieser Übergang einer zunächst diffusen Infektion eines Gewebskontinuums in begrenzte Virusherde weit häufiger als man nach den vorliegenden Angaben annehmen würde; nur ist der Nachweis der Herdbildung aus technisch-topographischen Gründen im Zentralnervensystem leichter zu erbringen als in anderen Organparenchymen, wenn es sich um ein Virus handelt. NICOLAU und KOPCIOWSKA bezeichnen solche Zustände als „partielle Auto-sterilisationen“ und man weiß in der Tat nicht mehr, als daß das Virus an einer Stelle eines Parenchyms nachweisbar bleibt, während der Nachweis in anderen Partien nicht mehr gelingt. Meines Erachtens verdient jedoch die Vorstellung besondere Beachtung, daß der ursprünglich diffuse Prozeß bis zu zirkumskripten Persistenzzentren rückgebildet wird. Denn dafür gibt es eine sehr einleuchtende und gerade in diesem Zusammenhang bedeutungsvolle Analogie: die Umwandlung der dem Krankheitsbild zugrundeliegenden generalisierten Typhusinfektion in die für das Ausscheidertum charakteristischen Bazillenherde in den Wänden der Gallenblase, im Knochenmark, in der Niere. Wir konstatieren, daß der Sitz der Herde keineswegs rein zufällig ist, sondern daß er durch Tropismen der Erreger bestimmt wird, Tropismen, deren Zahl wesentlich kleiner ist als die Schar der Affinitäten, welche den generalisierten Prozeß beherrschen.

Einen Einblick in den Mechanismus dieser — sit venia verbo — „Persistenz-tropismen“ besitzen wir derzeit nicht. Ihr Verständnis wird aber durch die bereits erwähnten Untersuchungen von J. FORSSMAN erleichtert, denen zufolge sich Staphylokokken, die man Kaninchen intravenös injiziert hat, im Myocard und in der Niere halten, während die anderen Organe, in welchen man die Kokken unmittelbar nach der Injektion *in diffuser Verteilung* nachzuweisen vermag, in kurzer Frist entkeimt werden. Nur im Herzfleisch und in der Niere kommt es, wie sich FORSSMAN treffend ausdrückt, zur Bildung von „Staphylokokkenzentren“, welche sich in Abszesse umwandeln. Wir sehen also auch hier, wenn auch nicht ganz im Sinne einer kompletten Analogie, den Gegensatz zwischen diffuser Allgemeininfektion und persistierender Herdbildung im bevorzugten Organ. Was aber dem bakteriologischen Modell besonderen Wert verleiht, ist die von J. FORSSMAN festgestellte Tatsache, daß sich die beschriebenen Verhältnisse im immunen Kaninchen genau in gleicher Weise gestalten; die Immunität bewirkt zwar, daß die Tiere die Injektion von Staphylokokkendosen überleben, welche normale Kaninchen in 12—17 Stunden töten, *aber die Persistenz im bevorzugten Organ ändert sich nicht*. Noch eine andere Angabe FORSSMANS verdient Beachtung. Injiziert man normalen Kaninchen gleiche Dosen derselben Staphylokokkenaufschwemmung intravenös und prüft den Keimgehalt der Organe nach abgestuften Zeitintervallen, so erweisen sich Milz und Leber anfänglich sehr keimreich, doch setzt die Entkeimung, die „Autosterilisation“ schon in wenigen Stunden ein und schreitet so rapid fort, daß sich nach 1—1½ Tagen nur noch wenige Kokken nachweisen lassen oder daß der Befund um diese Zeit negativ ist. Die Prädispositionsstellen der Persistenz und Herdbildung zeigen das umgekehrte Verhalten; die vorerst geringen Keimzahlen schnellen in die Höhe und erreichen am Ende der genannten Frist exzessive Werte. Die Entkeimung der Leber und Milz kann, wenn man sie als Funktion der Zeit betrachtet, nicht auf die er-

wachende Immunität bezogen werden, und daß sie sich im Herzfleisch und in der Niere ins Gegenteil verkehrt, kann nicht auf einer Immunitätsschwäche dieser Organe beruhen.

Biologisch ist die Deutung der Persistenz der Erreger, sofern sie mit einer Ausscheidung einhergeht, einfach. Man hat sich nur daran zu erinnern, daß jede Infektion als ein Spezialfall des Parasitismus, somit als eine Gast-Wirt-Beziehung aufzufassen ist [R. DOERR (3, 7)] und daher nicht ausschließlich vom „Interessenstandpunkt“ des infizierten Organismus betrachtet werden darf. Für den Erreger und seine Erhaltung in Wirtsketten ist das Trägertum eine zweckmäßige Einrichtung, weil es die Auswirkung des Wirtes als Ansteckungsquelle verlängert, oft in sehr erheblichem Ausmaß, und so das Zustandekommen von Übertragungen ermöglicht, welche während der Dauer der Erkrankung nicht oder nicht in gleicher Zahl stattfinden konnten. Da die Erreger wie alle Parasiten durch Anpassung, möglicherweise auch durch Selektion [R. DOERR (3)] Eigenschaften erwerben können, welche die Erhaltung ihrer Art von den Zufälligkeiten eines beständigen Wirtswechsels partiell unabhängig machen, sind auch die mit Ausscheidung kombinierten Persistenztropismen nicht als unvollständiger Wirtsschutz, sondern als Selbstschutz des Erregers zu interpretieren. Auch die Virusarten besitzen die Fähigkeit der Anpassung, was sich zum Teil schon im Experiment trotz seiner begrenzten Leistungsfähigkeit feststellen läßt; wir dürfen daher auf sie die gleichen Gesichtspunkte anwenden wie auf andere infektiöse Keime. In der Tat findet man in der Liste auf S. 126 zahlreiche Spezialfälle, in welchen die Persistenz so lokalisiert ist, daß sie zur Ausscheidung und zu weiteren Übertragungen führen und dem Fortbestehen des Virus in der Natur dienen muß (Speicheldrüsenvirus der Meerschweinchen, Virus der Poliomyelitis, der Psittacose, des Lymphogranuloma inguinale, der spontanen Encephalomyelitis der Mäuse, der infektiösen Anämie der Einhufer u. a.). Bei den Virusarten sowohl wie bei den pathogenen Bakterien und anderen infektiösen Mikroben gibt es allerdings eine Form des Trägertums, die man als „geschlossene Persistenz“ oder als „Persistenz ohne Ausscheidung“ bezeichnen kann und welche — vom Erreger aus betrachtet — keine Bedeutung für die Erhaltung seiner Art zu haben scheint. Es ist jedoch nicht auffallend, wenn sich unter einer größeren Zahl von Tropismen auch jene gegen eine bestehende oder fortschreitende Immunität durchsetzen, d. h. zur lokalen Persistenz führen, welche dem genannten Zweck nicht unterstellt sind; steht es doch fest, daß nicht nur ein Überleben, sondern eine Vermehrung verschiedener infektiöser Keime einschließlich der Virusarten in Geweben eines aktiv immunen Wirtes möglich ist. Übrigens wäre zu berücksichtigen, daß von verbleibenden Herden der Erreger Rezidive ausgehen können, welche die unterbrochene Ausscheidung wieder in Gang setzen, und vor allem, daß es gar nicht so leicht ist, ein zuverlässiges Urteil über den „geschlossenen“ Charakter einer Persistenz in inneren Organen abzugeben. Poliomyelitisvirus z. B. findet sich während der Erkrankung im Zentralnervensystem, beim intracerebral geimpften Affen kann es aber in der Nasenrachenschleimhaut nachgewiesen werden, und wenn es auch keineswegs sicher ist, daß das hier zum Vorschein kommende Virus aus dem Zentralnervensystem stammt [R. DOERR (6, S. 839f.)], kann man doch diese Provenienz nicht sicher ausschließen. Von „geschlossenen“ Herden kann ferner ein Übertritt in die Blutzirkulation stattfinden und von dort können verschiedene Wege in die Außenwelt führen (hämatophage Insekten, Sekrete).

Die folgende, nach Virusarten geordnete Darstellung ist vorwiegend phänologisch orientiert. Es soll das die Infektionskrankheit überdauernde Ausscheidertum auf die Häufigkeit seines Vorkommens, den Sitz der zur Ausscheidung führenden Herde und seine epidemiologische Bedeutung untersucht werden,

schließlich, wo eine solche Betrachtung angezeigt ist, auf seine Abhängigkeit von der infizierten Wirtsspezies. Theoretische Auseinandersetzungen werden nur insoweit Platz finden, als sie für das Verständnis der Erfahrungstatsachen erforderlich sind.

1. Lymphogranuloma inguinale.¹

Wir wollen von einem bakteriologischen Paradigma ausgehen, das auch für andere, in die gleiche Kategorie gehörende Fälle des Trägertums begleitend sein kann, nämlich von den Typhusausscheidern. Bekanntlich gibt es nur zwei Wege, welche für die Feststellung dieses Zustandes praktisch in Betracht kommen, die kulturelle Untersuchung des Stuhles und in zweiter Linie die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Harn. Die Untersuchung des Bluteserums auf seinen Gehalt an spezifischen Agglutininen kann in doppelter Hinsicht irreführen: die Reaktion fällt bei Ausscheidern häufig negativ aus oder sie liefert bei Individuen, bei welchen die Autosterilisation schon vor längerer Zeit erfolgt ist, positive Resultate. Die Ermittlung der Typhusausscheider hat sich in der Seuchenbekämpfung ausgezeichnet bewährt aus folgenden Gründen: 1. weiß man, welches Material zu untersuchen ist; 2. die Entnahme der Proben ist einfach; 3. die Technik der Untersuchung bereitet keine besonderen Schwierigkeiten und verursacht nur geringe Kosten; 4. die Zahl der Untersuchungen läßt sich, zumindest im Betriebe gut eingerichteter Infektionsspitäler, so weit steigern, daß man in jedem einzelnen Falle entscheiden kann, ob und in welchem zeitlichen Ausmaß die Ausscheidung die klinischen Symptome überdauert; 5. die ausgedehnten Erfahrungen, welche durch diese günstigen Verhältnisse ermöglicht wurden, haben dazu geführt, ein einmaliges negatives Ergebnis nicht als maßgebend bzw. endgültig zu betrachten, sondern die Unzulänglichkeiten der Untersuchung durch Wiederholung auszugleichen.

Wie stellen sich nun diese Verhältnisse beim Lymphogranuloma inguinale dar? Zunächst ist es klar, daß die von W. FREI angegebene Hautprobe ihrer Natur nach ungeeignet ist, die Ausscheidung von Virus in einem gegebenen Falle nachzuweisen. Für die Richtigkeit dieser Behauptung ist es belanglos, daß die Probe in sicheren Fällen von Lymphogranuloma inguinale gelegentlich einmal negativ ausfallen kann, daß verschiedene, aus spezifischem Material gewonnene Allergene sehr verschiedene wirken können (L. LÖHE und H. SCHLOSSBERGER, A. G. WEISS und J. KUNTZMANN, G. W. BINKLEY und W. R. LOVE, SHAFFER und E. ARNOLD, R. WAWERSIG u. a.), daß das Virus möglicherweise nicht einheitlich ist, sondern daß verschiedene, durch die besondere Spezifität ihrer Antigene ausgezeichnete Typen existieren (L. LÖHE und H. SCHLOSSBERGER, W. MENK und W. MÖHR, C. P. LI); solche und ähnliche Einwände betreffen die Technik und die diagnostische Zuverlässigkeit des FREISCHEN Tests, der sich übrigens im allgemeinen so bewährt hat, daß C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES ihn als das „sine qua non“ der Diagnose der Lymphogranuloma inguinale bezeichnen. In seiner ursprünglichen Form zeigt jedoch der Test nur das

¹ Man sollte an dieser Bezeichnung festhalten und als Synonym höchstens noch „Krankheit von NICOLAS und FAVRE“ zulassen. Alle anderen Ausdrücke, wie Lymphogranulomatosis inguinalis, Poradenitis, 4. oder 6. Geschlechtskrankheit, Lymphogranuloma venereum, Lymphopathia venerea, Climatic bubo usw., wären auszumerzen, da sie zu Verwechslungen Anlaß geben können. Unzulässig ist ferner der Name „Granuloma inguinale“, da man darunter eine andere ätiologische Entität versteht; wenn die interessante Veröffentlichung von R. B. GREENBLATT, DIENST, PUND und TORPIN, „Experimental and clinical granuloma inguinale“ unter dem Schlagwort „Lymphogranuloma inguinale“ referiert wird [Zbl. Bakt. usw., 1. Abt., Ref.-Bd. 136, 385 (1940)], kann der Leser, sofern er nicht das Original studiert, irreführt werden.

Bestehen einer Infektion an, sagt aber nichts darüber aus, ob und auf welchem Wege das spezifische Agens ausgeschieden wird; er gleicht in dieser Beziehung durchaus der Tuberkulinreaktion, durch welche man ja auch nicht erfährt, ob das reagierende Individuum ein Bazillenhuster ist. Daß die FREISCHE Reaktion *regelmäßig* negativ wird, wenn das Virus, sei es durch spontane Auto-sterilisation, sei es infolge der Therapie, völlig aus dem Organismus schwindet (E. WASSÉN, C. SIMON, BRALEZ und DRUGENOT), ist nicht sicher erwiesen; wenn dem so wäre, könnte man aus dem Negativwerden einer vorher positiven Reaktion nur schließen, daß die Ausscheidung, falls sie früher bestanden haben sollte, aufgehört haben muß.

Kraft der zwischen Antigen und Antikörper bestehenden spezifischen Beziehung ermöglichen alle Immunitätsreaktionen im Prinzip eine zweifache Anwendung; schematisch ausgedrückt kann man mit einem bekannten Antigen den zugehörigen Antikörper oder mit einem bekannten Antikörper das spezifische Antigen nachweisen. W. FREI machte selbst darauf aufmerksam, daß die von ihm angegebene Reaktion umkehrbar sei und faßte die *diagnostische* Verwendbarkeit dieser „Umkehrprobe“ ins Auge. Man stellt aus erkranktem Gewebe mit der gleichen Technik, welche zur Bereitung des FREISCHEN Antigens dient, Präparate her und prüft, ob dieselben, sicheren Fällen von Lymphogranuloma inguinale intradermal injiziert, eine typische und spezifische Reaktion auslösen. Der Vorschlag fand jedoch wenig Beachtung, bis A. WIEDMANN erneut darauf hinwies, daß die Umkehrprobe zu einer Diagnose verhelfen kann, wenn andere Mittel im Stiche lassen. So gewannen z. B. P. VIGNE und J. BERNET aus Drüsen verdächtiger Patienten Antigene und prüften sie auf ihre Wirksamkeit an Lymphogranulomkranken; die Methode soll schon zu einer Zeit positive Resultate geben, wenn die FREISCHE Reaktion bei dem suspekten Fall noch negativ ist. Man könnte aber auf diese Art auch die Frage des ausscheidenden Trägertums untersuchen. Das Lymphogranuloma inguinale wird durch den Geschlechtsakt übertragen und es liegt daher nahe; bei Männern das Harnröhrensekret, bei Frauen Vaginal- und Mastdarmsekret auf ihren Gehalt an spezifischem Allergen zu prüfen. T. HASHIMOTO und S. KOYAMA konnten bei drei Prostituierten positive Ergebnisse erzielen. Man muß sich jedoch darüber klar sein, daß man durch dieses Verfahren nicht das Virus als solches nachweist, sondern eben nur einen spezifischen Bestandteil desselben, welcher auch dann wirkt, wenn man das Virus abgetötet (inaktiviert) hat, und der, was hier besonders wichtig erscheint, löslich ist und von den Viruselementen abgetrennt werden kann (G. RAKE, SHAFFER, JONES und MCKEE). Das FREISCHE Antigen konnte auf die beschriebene Art im Blutserum von Lymphogranulompatienten der 2. oder 3. Krankheitswoche festgestellt werden (F. REISS), öfters auch in den Fäces (M. PAULSON, M. PAULSON und B. KRAVETZ), wie schon erwähnt im Vaginal- und Mastdarmsekret (T. HASHIMOTO und S. KOYAMA), und wäre wohl auch in Proben anderer Provenienz gefunden worden, wenn man danach gesucht hätte. Schwere Allgemeinerscheinungen und extragenitale Veränderungen lassen darauf schließen, daß die Infektion nicht immer streng auf das Einzugsgebiet des Virus beschränkt bleibt, sondern daß sie sich wenigstens in Ausnahmefällen generalisiert (E. VON HAAM und R. D'AUNOY, W. E. COUTTS u. a.), wofür auch Beobachtungen über das gelegentliche Auftreten spezifischer Hautausschläge (N. MELCZER und K. SIPOS) sprechen würden sowie die zwar noch nicht ganz exakt bewiesene, aber kaum zu bezweifelnde Möglichkeit der diaplacentaren Übertragung des Virus von der infizierten Mutter auf die Frucht (W. DICK, W. E. COUTTS). Dazu kommen die oft ziemlich ausgedehnten und auf dem Lymphwege fortschreitenden regionären Veränderungen, so daß man bei dem ausgesprochen chronischen

Charakter des Prozesses mit einem ausgiebigen Absterben von Viruselementen und mit dem Freiwerden großer Mengen des spezifischen Antigens rechnen darf. Es ist daher auch aus diesem Grunde nicht zulässig, die Feststellung des Antigens in irgendeinem Substrat einfach mit dem Nachweis von infektionstüchtigem Virus zu identifizieren.

Mikroskopische Methoden kommen, wie die Dinge jetzt liegen, nicht in Betracht. Es sind wohl verschiedene Färbungen als besonders geeignet für die Darstellung der Elementarkörperchen des Lymphogranulomvirus empfohlen worden, so die Färbung nach GIEMSA (A. C. COLES), die Färbung nach MANN (W. E. COUTTS, MARTINI und GACITUA) und neuerdings die Silberimprägnation (M. FAVRE, R. SCHOEN). Welchen Täuschungen man bei der Deutung solcher Gebilde ausgesetzt ist, hat C. P. LI (2) gezeigt, und die verschiedenen Angaben über große und kleine Formen (G. M. FINDLAY, MACKENZIE und MACCALLUM, C. LEVADITI, PAIC und KRASNOFF), über hypothetische Entwicklungszyklen [G. M. FINDLAY und Mitarbeiter, C. LEVADITI (2)], über große, aber mikroskopisch nicht darstellbare Viruselemente [C. LEVADITI (2)], über Infektiosität von Geweben ohne Elementarkörperchenbefund [R. SCHOEN (2)] usw. lassen es als vollkommen ausgeschlossen erscheinen, etwa das Vorhandensein von aktivem Virus im Scheidensekret durch ein gefärbtes Ausstrichpräparat feststellen zu wollen. Bleibt also noch der Tierversuch.

Der tierexperimentelle Nachweis ist an sich kompliziert und an das Laboratorium gebunden; überdies sind die Ergebnisse, auch wenn man sicher virushaltiges Material verimpft, nicht konstant. Um gelegentliche Versager — zu welchen man wohl auch die bei Affen von C. LEVADITI und seinen Mitarbeitern, von S. HELLERSTRÖM und E. WASSÉN festgestellten latenten Impfinfektionen rechnen muß — auszugleichen, wird empfohlen, mit jeder Probe 1—2 Affen, wenigstens 6 Mäuse und 4 Meerschweinchen zu infizieren (C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES), Affen und Mäuse intracerebral, die Meerschweinchen in die Leistenbeuge. Nach den Berichten verschiedener Autoren, die über ausgedehnte experimentelle Erfahrungen verfügen, scheint die intracerebrale Impfung von Affen die höchste Zahl positiver Resultate zu liefern, aber nur, wenn man die geeigneten Spezies verwendet; am empfänglichsten sollen nach C. LEVADITI, MOLLARET und REINIÉ Schimpansen sein, von anderen Arten wird *Cercopithecus callithrix* empfohlen, wohl auch *Cynocephalus* und *Cynomolgus*, während der leichter beschaffbare *Macacus rhesus* hinsichtlich der Infizierbarkeit nach übereinstimmendem Urteil an letzter Stelle steht. Affen scheiden indes für Untersuchungsstellen als Laboratoriumstiere wegen ihres Preises und ihrer schweren Manipulierbarkeit aus, wenn es sich nicht mehr um grundlegende Feststellungen handelt, sondern um das Problem des ausscheidenden Trägertums, und zwar schon bei den theoretischen Vorarbeiten, ganz besonders aber, wenn die Ergebnisse der praktischen Seuchenbekämpfung dienstbar gemacht werden sollen, etwa in dem Sinne, wie bei der Diphtherie, beim Typhus und vor der Einführung des Dageñans bei der Beurteilung der Infektiosität eines Individuums nach abgelaufener Gonorrhoe. Diesen Überlegungen entspricht nun auch der literarische Tatbestand.

C. LEVADITI, RAVAUT und J. LEVADITI führten bei einer 14jährigen Patientin, welche 15 Tage nach dem ersten Geschlechtsakt unter den Erscheinungen der Leistendrüsenanschwellung erkrankt war, eine Ausschabung der anscheinend gesunden Vaginalschleimhaut aus und impften mit dem so gewonnenen Material zunächst Meerschweinchen, dann Affen (*Macacus cynomolgus* und *Cercopithecus callithrix*) und Mäuse. Es konnte auf diesem Wege ein vollkommen typischer Virusstamm isoliert werden. Aus den mir zugänglichen Angaben ist leider nicht

zu ersehen, wann, d. h. zu welcher Zeit nach dem Auftreten der Drüsenschwellungen die Abschabung der Schleimhaut vorgenommen wurde, und da nicht Vaginalsekret, sondern die Substanz der Schleimhaut zur Verimpfung gelangte, kann man nur schließen, daß auch eine unveränderte Vaginalschleimhaut das Virus enthalten kann. J. CAMINOPETROS (4) untersuchte in Syra Prostituierte, von welchen nach den gepflogenen Erhebungen angenommen werden durfte, daß von ihnen zahlreiche Ansteckungen ausgegangen waren. Das Material wurde auch in diesen Fällen durch Curettage von Schleimhäuten gewonnen (Urethra und Collum uteri) und weißen Mäusen intracerebral inokuliert. Alle Mäuse überlebten. 11 Tiere, welche mit den Proben von vier verdächtigen Frauen geimpft worden waren, zeigten jedoch, als sie am 16.—25. Tage nach der Übertragung getötet wurden, eine Meningoencephalitis und aus ihren Gehirnen konnte ein typisch wirkendes FREI-Antigen hergestellt werden; 9 Mäuse, welche die Proben von drei anderen Frauen mit negativer FREI-Reaktion erhalten hatten, gaben einen negativen Sektionsbefund. Diese experimentellen Ergebnisse sind wohl nicht ganz überzeugend. Sowohl in der eben zitierten wie in anderen Publikationen [J. CAMINOPETROS (1, 4)] empfahl CAMINOPETROS, das Virus durch intrapulmonale Impfungen von Kaninchen und Meerschweinchen nachzuweisen, und gab an, daß diese Methode sicher zum Ziel führe und vor intracerebralen Injektionen von Affen oder Mäusen den Vorzug habe, daß sie auch mit sekundär verunreinigten Proben ausgeführt werden kann (siehe auch J. CAMINOPETROS und B. PHOTAKIS). Die Veränderungen in den Lungen sollen spezifischen Charakter haben und histologisch das Bild einer interstitiellen Pneumonie mit Wucherungen der reticulo-endothelialen Zellen zeigen. Es ist jedoch auffallend, daß CAMINOPETROS in Gemeinschaft mit PHYLACTOS und PHOTAKIS seinerzeit behauptet hatte, das Kaninchen sei ebenso wie das Meerschweinchen gegen alle Arten der Übertragung von virushaltigem Material — auch gegen die intrapulmonale Injektion — völlig refraktär. Zu den neuen positiven Angaben von CAMINOPETROS und seinen Mitarbeitern nehmen C. und J. LEVADITI insofern eine ablehnende Stellung ein, als sie es für notwendig halten, die prinzipielle Frage der Empfänglichkeit des Kaninchens für das Virus des Lymphogranuloma inguinale erneut zu überprüfen; sie selbst konnten die Ergebnisse von CAMINOPETROS nicht bestätigen, weder mit Passagevirus noch mit Virus, welches unmittelbar von infizierten Menschen stammte (l. c., S. 935).

Man muß somit feststellen, daß einwandfreie Untersuchungsergebnisse bisher nicht veröffentlicht wurden. Für die Richtigkeit der Ansicht von J. CAMINOPETROS (1), daß sich das Virus nicht nur in den Drüsen vorfindet, sondern daß es beim Manne in der Urethral Schleimhaut und ihrem Sekret, bei der Frau in der Scheide und im Vaginalsekret vorhanden sein muß, und zwar auch dann, wenn sich an diesen Stellen keine krankhaften Veränderungen konstatieren lassen, sprechen jedoch epidemiologische Beobachtungen, vor allem die Leichtigkeit der Übertragung durch den Geschlechtsakt.

So berichten MARGAROT und P. RIMBAUD über eine Frau, welche vier Partner infizierte, einen mit Ulcus molle, einen zweiten mit Gonorrhoe, zwei weitere mit Syphilis und alle vier mit Lymphogranulom; die Frau selbst zeigte keine für Lymphogranulom sprechenden Symptome. Da die Frau sowie die vier Männer in derselben dermatologischen Klinik in Behandlung standen, sind die Angaben als verlässlich zu betrachten.

Es ist jedoch leicht einzusehen, daß lange Zeit hindurch bestehende Läsionen, wie sezernierende Geschwüre der Vulva oder die so häufigen strikturierenden oder papillomatös wuchernden Entzündungen der Mastdarmschleimhaut, die Infektiosität steigern müssen, die Prozesse im Rectum auch deshalb, weil sie zu

blutig-schleimigen Entleerungen und in späteren Stadien auch zu Fisteln führen können, die nach der Vagina zu durchbrechen. Der rectale Sitz der Veränderungen kann die Infektion auch bei normaler Ausübung des Geschlechtsaktes vermitteln. Umgekehrt ist die Annahme von J. CAMINOPETROS, daß die Rectalschleimhaut stets direkt durch Sodomie infiziert wird, nicht zutreffend. Man findet Strikturen auch bei Männern, und zwar nach C. MATHEWSON so häufig, daß ihre ausnahmslose Entstehung durch Päderastie unwahrscheinlich wird, und beobachtet sie auch bei kleinen Kindern (H. LEVY, C. E. SONCK, W. DICK, M. WINGE, G. GULOWSON, J. ELITZAK und B. KORNBLITH, A. BANCIU und A. CARATZALI), wo man nicht immer unhygienische Verhältnisse in der Familie (Schlafen in einem Bett, Verwendung gleicher Waschgeräte usw.) beschuldigen kann (G. M. ANTONIOLI u. a.). In der Tat stehen die meisten Autoren, u. a. auch R. JAFFÉ, auf Grund anatomischer Untersuchungen auf dem Standpunkt, daß der Prozeß im Mastdarm zwar auf einer primären Infektion desselben beruhen kann, aber keineswegs beruhen muß, sondern daß die lymphogene Fortleitung genitaler Primäraffekte bis zur Rectalwand die Regel darstellt. Die Bevorzugung des weiblichen Geschlechtes läßt sich damit zwanglos erklären, daß der anatomische Bau des lymphatischen Apparats des Mastdarms bei beiden Geschlechtern verschieden ist; R. JAFFÉ hebt ferner hervor, daß sich Männer im allgemeinen rascher der ärztlichen Behandlung unterziehen als Frauen, bei welchen der verborgene Sitz der Primärinfektion bewirkt, daß das Leiden oft lange Zeit unbehandelt bleibt, so daß der Zeitfaktor die sekundäre Ausbreitung begünstigt.

Wie die Spirochaeta pallida ist auch das Virus des Lymphogranuloma inguinale nicht an eine bestimmte Eintrittspforte gebunden. Die primären Läsionen können an der Zunge sitzen, wenn die Übertragung durch Cunnilingus erfolgt (H. BUSCHKE und W. COURTH, D. BLOOM, F. SKORPIL, R. BEZENCY und F. SAGHER), bei Pflegerinnen oder Ärzten an den Fingern (V. C. DAVID und M. LORING, D. BLOOM, H. HOMMA und H. T. CHAGLIASSIAN, F. SKORPIL u. a.) usw. Von dieser Seite betrachtet scheinen keine bevorzugten Organe zu existieren. Das schließt jedoch nicht aus, daß besondere „Verweilorgane“ vorhanden sind, in welchen sich das Virus — sei es nun mit oder ohne pathologisch-anatomische Auswirkung — hält, und zwar durch sehr lange Zeiträume. Diese ausgezeichneten Verweilorgane sind die Lymphdrüsen, speziell die inguinalen, die Wand des Rectums und in zweiter Linie auch die Gewebe, welche die Vulva begrenzen. Eine Reihe casuistischer Mitteilungen sowie eine Anzahl von Fällen, in welchen typische Virusstämme aus den genannten Geweben noch jahrelang nach dem Beginn der Infektion isoliert werden konnten, geben hierüber Auskunft. Die einschlägigen Veröffentlichungen können hier wegen Raummangel nicht zitiert werden. Es sei auf die zusammenfassenden Darstellungen von E. WASSÉN, C. und J. LEVADITI, H. LÖHE und H. SCHLOSSBERGER, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES, P. CERUTTI und E. PAVANATI, H. SCHLOSSBERGER verwiesen. Aus der neueren Literatur sei nur eine besonders interessante Beobachtung von W. BRACK angeführt.

Ein Mann hatte sich in Marokko ein Lymphogranulom der linken Leistengegend zugezogen, welches ihm Jahre hindurch Beschwerden machte, bis schließlich die Haut wieder glatt wurde und die Lymphdrüsen nur noch klein und hart anzufühlen waren. Der Mann kam in die Schweiz (nach Basel) und dort trat im Anschluß an ein Trauma (Fußtritt in die gleiche Leistengegend) ein Rezidiv auf; die früher nicht erkannte Natur des Prozesses konnte nun mit Hilfe der FREISCHEN Reaktion sichergestellt werden.

Das mit dem Lymphogranulom behaftete Individuum ist gegen cutane oder intradermale Superinfektionen mit sicher virushaltigem Material refraktär. Es kommt wohl an der Insertionsstelle zu einer örtlichen Reaktion, welche der durch

abgetötetes Virus (FREISches Antigen) auslösbaren gleichwertig ist; eine Infektion der Haut mit Beteiligung der regionären Lymphdrüsen findet jedoch nicht statt und ebenso bleiben die Allgemeinerscheinungen aus, die man bei spontanen oder experimentell induzierten Erkrankungen des Menschen beobachtet. Diese Immunität gegen Superinfektionen entwickelt sich ziemlich rasch; nach den von J. CAMINOPETROS (3) angestellten Versuchen ist sie am 20. bis 30. Krankheitstage bereits vorhanden und hält dann in unverminderter Stärke an, auch wenn sich die Erscheinungen der Adenitis und der strikturierenden Rectitis über viele Jahre hinziehen. Ob die Immunität den völligen Schwund des Virus aus dem Organismus überdauert oder ob es sich um eine infektionsgebundene Immunität im strengen Wortsinn (siehe S. 125) handelt, ist bisher noch nicht entschieden worden; das Verhalten der FREISchen Reaktion, d. h. ihr Erlöschen oder Fortbestehen, gibt, soweit man zur Zeit darüber informiert ist, keinen verlässlichen Aufschluß. Sicher ist aber, daß sich das Virus trotz der bestehenden Immunität gegen Superinfektionen in den Verweilorganen (siehe oben) hält und daß der Prozeß, zumindest in der Wand des Mastdarmes, fortschreitet. In den Inguinaldrüsen soll die Persistenz des Virus weniger hartnäckig und die spontane Ausheilung nach 6—8 Monaten die Regel sein [J. CAMINOPETROS (2)]; mit den Erfahrungen anderer Autoren stimmt diese Angabe jedoch nicht überein. Es ist allerdings richtig, daß die Adenitis in manchen Fällen auffallend gutartig und auch rasch, in mehreren Wochen abläuft; oft genug kommt es aber zum Übergreifen auf die iliacalen Lymphdrüsen, zur Metastasierung in den Gelenken und auch der lokale Prozeß in inguine flackert nach Intervallen relativen Stillstandes immer wieder auf, durch viele Jahre hindurch, wie das bei dem von W. BRACK behandelten Patienten geschah. C. und J. LEVADITI (l. c., S. 975) weisen auf die zahlreichen Analogien hin, welche zwischen dem Lymphogranuloma inguinale und der Tuberkulose bestehen (Primäraffekt, begleitende Drüsenaffektion, Art der Ausbreitung im Organismus, Charakter der Allergie); nun, zu diesen Beziehungen gehört auch die Tatsache, daß das Krankheitsgeschehen durch eine individuelle, in der Verfassung des Wirtes begründete Komponente bestimmt wird. Man darf daher nicht allzusehr schematisieren und mit J. CAMINOPETROS (2) annehmen, daß jedes Gewebe, sofern es für die Infektion überhaupt empfänglich ist, seine eigene Reaktionsfähigkeit besitzt, und daß man beim Lymphogranuloma inguinale drei Typen dieser histiospezifischen Reaktivität unterscheiden kann: Die Adenitis, die in 6—8 Wochen ausheilt, die Rectitis, die erheblich länger andauert und die Tendenz zu weiterem Fortschreiten zeigt, und die Infektion der Genitalorgane der Frau, welche durch die Seltenheit anatomischer Läsionen und die damit kontrastierende lange Persistenz des Virus ausgezeichnet ist. Der Satz, daß jedes empfängliche Gewebe seine spezielle Reaktionsart besitzt, muß nach CAMINOPETROS für alle Infektionen ohne Ausnahme gültig sein. Das ist im allgemeinen wohl richtig. Man wird nicht erwarten, daß jedes beliebige Gewebe den Reiz einer bestimmten Infektion in identischer Weise beantwortet oder, wie sich R. RÖSSLE ausdrücken würde, daß die Pathergie von der Struktur und Funktion des betroffenen Gewebes unabhängig ist. Darum handelt es sich aber beim Lymphogranuloma inguinale gar nicht. Das Virus hat, wo es sich auch primär oder sekundär ansiedelt, eine einheitliche Affinität zum lymphatischen System und zu den Elementen des Reticuloendothels. Daß im Gefolge der häufigsten Art der Übertragung bei beiden Geschlechtern verschiedene Typen vorherrschen bzw. daß bei der Frau meist die Lymphdrüsen des Beckens, beim Manne die Leistendrüsen ergriffen werden, erklärt sich aus dem Sitz der primären Läsion und ihrer Verbindungen mit den nächstgelegenen Ansiedlungsbezirken. Der hartnäckigere Charakter der Rectitis ist darauf zurückzuführen, daß diese

Lokalisation, mag sie nun primär oder sekundär entstehen, häufig eine Zeitlang unerkant bleibt, und daß der Prozeß seiner Lage wegen schwerer zu behandeln ist als Lymphome der Leistengegend. Die Angabe, daß die Genitalorgane der Frau nur selten anatomische Läsionen zeigen, kann nicht stimmen. Sofern es sich um Übertragungen durch einen normalen Geschlechtsakt handelt, muß der Primäraffekt am Orificium urethrae, an der Vulva oder in der Vagina bzw. am Cervix uteri sitzen; aber er bleibt, wie das ja auch für den syphilitischen Primäraffekt der Frau zutrifft, oft unbemerkt und heilt anatomisch ebenso wie die Primäraffekte an der Glans und am Präputium des Mannes rasch aus, im Gegensatz zu den sekundären und tertiären Lokalisationen mit ihrer Tendenz zu einem exquisit chronischen Verlauf. Man könnte sich also nur fragen, warum die Kasuistik so viel über Ansteckungen von Männern durch Frauen zu berichten weiß, bei welchen keine Veränderungen, weder in den Genitalorganen noch im Mastdarm nachzuweisen waren. Die bereits zitierten Untersuchungen von HASHIMOTO und KOYAMA, J. CAMINOPETROS (4), C. LEVADITI, RAVAUT und J. LEVADITI sprechen dafür, daß es anatomisch latente Infektionen der Urethral- und Vaginalschleimhaut gibt, welche vielleicht zur Ausscheidung von Polio-myelitisvirus durch die Nasenschleimhaut in Parallele gesetzt werden dürfen. Zu einem analogen Schluß kam S. NICOLAU auf Grund epidemiologischer Beobachtungen. Daß Frauen die Ansteckung vermitteln, bei welchen auch die sorgfältigste Untersuchung keine sichtbaren pathologischen Veränderungen nachzuweisen vermag, könne nur durch einen „latenten Mikrobismus“ erklärt werden, und dieser sei entweder als ein Überbleibsel einer vorausgegangenen und unbemerkt gebliebenen Erkrankung aufzufassen oder so zu deuten, daß das Virus, das mit einem infizierenden Coitus in die Scheide gelangt, dort von Anfang an saprophytisch (epiphytisch wäre richtiger) vegetiert. Da die FREISCHE Reaktion bei solchen Frauen häufig positiv ausfällt, hält NICOLAU die an erster Stelle genannte Möglichkeit für wahrscheinlicher, da man nicht gut annehmen könne, daß die Sensibilisierung ohne Infektion („sans un conflit préalable entre le germe et leur organisme“) zustandekommt, eine Folgerung, die allerdings nicht zwingend erscheint.¹

Wie sich dies aus den vorstehenden Ausführungen ergibt, fehlt vorderhand noch eine tragfähige experimentelle Basis, welche ein sicheres Urteil über die Bedeutung latenter Infektionen sowie des an den eigentlichen Krankheitsprozeß anschließenden Ausscheidertums ermöglichen würde. C. L. WILMOTH möchte die statistische Tatsache, daß das Lymphogranuloma inguinale in den Vereinigten Staaten Amerikas wie in vielen anderen Ländern der gemäßigten Zone soviel seltener ist als andere Geschlechtskrankheiten (Gonorrhoe, Syphilis) auf die kurze Dauer des infektiösen Stadiums zurückführen, für welche auch die Schwierigkeiten der Übertragung auf Versuchstiere sprechen sollen, wenn das Leiden längere Zeit gedauert hat. Bei der Gonorrhoe hat es sich seit der Einführung einer leistungsfähigen Chemotherapie gezeigt, daß die Abkürzung des infektiösen Stadiums de facto eine gewaltige epidemiologische Auswirkung hat. Wie sich aber die Dinge beim Lymphogranulom verhalten, ist eine offene Frage. Die statistischen Angaben über die Verbreitung des Lymphogranuloms in den verschiedenen Ländern, über autochthone und importierte Fälle, über die Rolle

¹ Daß bei Frauen symptomlose Infektionen vorkommen, welche nur durch die bestehende Allergie gegen das FREISCHE Antigen zu erkennen sind, und daß gerade solche Virusträgerinnen viel zur Verbreitung der Krankheit beitragen, wird nicht allseits anerkannt. Der Prozentsatz der Prostituierten mit positiver Reaktion ist jedenfalls auffallend niedrig; S. NICOLAU verzeichnete bei 60 Prostituierten nur 7, LACASSAGNE und LEBOEUF sogar bei 87 nur 4 positive Resultate.

der kontrollierten und geheimen Prostitution, die Verteilung auf Stadt und Land, die Abhängigkeit von der Jahreszeit u. v. a. sind zu spärlich und unvollständig, vielfach auch nicht eindeutig; so kann man beispielsweise aus der stärkeren Beteiligung des männlichen Geschlechtes an der Morbidität keinen Schluß ziehen, weil okkulte Infektionen bei Frauen häufiger vorkommen und weil man schon im Kindesalter den stärkeren Befall der Knaben konstatiert. Die Behauptung von C. L. WILMOTH, daß sich das Virus in veralteten Fällen nur schwer durch das Tierexperiment nachweisen läßt, ist jedenfalls mit den Untersuchungsergebnissen von J. CAMINOPETROS (1, 4) unvereinbar, welcher ohne Schwierigkeiten positive Resultate jahrelang nach dem Beginn der Krankheit erzielte, wobei zu bemerken ist, daß CAMINOPETROS in diesen Versuchsserien nicht nur kleine Laboratoriumstiere, sondern auch Affen verwendete.

2. Psittacosis.

a) Menschen als Virusträger.

J. FORTNER (2) hat sich wie schon andere Autoren vor ihm mit der Frage beschäftigt, ob nicht beim Menschen eine natürliche oder durch subklinische Infektion erworbene Immunität gegen Infektionen mit Psittacosevirus vorkommt. Anlaß zu solchen Vermutungen gaben Berichte, denen zufolge die Erkrankung unter Personen, welche mit Papageien und anderen oft in hohem Prozentsatz verseuchten Vogelarten (siehe S. 146) handeln, seltener auftritt als man erwarten würde, und daß zweitens die Menschen in Gegenden, in welchen die Psittacose als Enzootie herrscht (Südamerika, Australien), eine erheblich geringere Psittacosemorbidität aufweisen als Individuen, welche sich in Europa mit dem Kauf und Verkauf der aus solchen Gegenden importierten Vögel befassen. Ein latent infizierter Mensch könnte kürzere oder längere Zeit als gesunder Keimträger fungieren und die Krankheit unabhängig von den natürlichen Wirten weiterverbreiten; ebenso besteht a priori die Möglichkeit, daß Menschen, welche eine klinisch manifeste Infektion überstanden haben, Virusausscheider werden. Untersuchungen an Tieren, und zwar sowohl an experimentell wie auf natürlichem Wege infizierten beweisen, daß beide Arten des Trägertums existieren, worauf wir noch später zurückkommen werden (siehe S. 143 ff.); das genügt aber selbstverständlich nicht, vielmehr muß in verlässlicher Weise gezeigt werden, daß analoge Zustände beim Menschen bestehen. Leider können wir uns nur auf eine einzige Mitteilung von F. GERLACH stützen, und der von E. HAAGEN (2, S. 8) geäußerte Wunsch nach einer Nachprüfung und Verbreiterung dieser schmalen Basis erscheint in Anbetracht der epidemiologischen und seuchenprophylaktischen Bedeutung der Angelegenheit durchaus gerechtfertigt.

F. GERLACH konnte Psittacosevirus bei fünf Personen nachweisen, von welchen vier keine Symptome zeigten, welche für Psittacose gesprochen hätten, während bei der fünften eine milde Form der Erkrankung angenommen werden konnte. Der Virusnachweis erfolgte in dem nach der Vorschrift von K. F. MEYER vorbehandelten Auswurf, bei einem der latenten (symptomlosen) Fälle auch im Blutserum durch intraperitoneale Verimpfung der Proben auf weiße Mäuse; als typischer Befund wurden starke Milz- und Leberschwellungen, helle, weite Därme und reichliches fadenziehendes Exsudat in der Bauchhöhle und im Pericard angesehen. Ferner wurden Ausstrichpräparate aus dem Peritonealexsudat nach GIEMSA oder CASTANEDA gefärbt, um das Vorhandensein freier und intracellulärer Viruselemente festzustellen; diese morphologischen Befunde sind durch mehrere, zum Teil farbige Abbildungen illustriert. Es sei hervorgehoben, daß der mikroskopische Nachweis von Viruselementen — von einer

Ausnahme abgesehen — in der ersten, direkt mit Sputum oder Blut geimpften Mauspassage nicht gelang, sondern daß eine oder mehrere weitere Passagen notwendig waren, um auch in dieser Hinsicht zu einem positiven Resultat zu gelangen. In einem Falle waren die Untersuchungen mehrmals wiederholt worden, wobei sich herausstellte, daß sich das Virus im Blut noch 72 Tage und im Sputum noch 75 Tage nach der ersten Feststellung vorfand.

Infizierte Vögel kamen nach der Angabe des Autors als Infektionsquellen nicht in Betracht. Aber alle fünf Personen waren in Wiener Krankenanstalten untergebracht, in denen sich zur Zeit auch Psittacosepatienten befanden. Zwei der Virusausscheider waren Bettnachbarn von solchen Kranken und zwei lagen in dem gleichen Bett, welches der fünfte Fall (die milde Psittacoseerkrankung) vorher benutzt hatte, was damit begründet bzw. entschuldigt wird, daß es gerade in diesem Falle längere Zeit dauerte, bevor die ätiologische Diagnose gestellt werden konnte. GERLACH zweifelt somit, wie dies aus seinen Ausführungen klar hervorgeht, gar nicht daran, daß es sich bei seinen Beobachtungen um Übertragungen von Mensch zu Mensch gehandelt haben muß. Das ist indes nicht wahrscheinlich. Wenn Infektionen, welche sich unter natürlichen Verhältnissen in tierischen Wirtsketten fortpflanzen und erhalten, gelegentlich auf den Menschen übergreifen, enden solche Abzweigungen in der Regel bald, meist schon im ersten Glied blind [R. DOERE (7)]. Die Psittacose und die mit ihr ätiologisch identische Viruskrankheit der Sturmvögel (E. HAAGEN und G. MAUER) folgen diesem biologisch verständlichen Gesetz. Es sind zwar Ansteckungen durch kranke Menschen wiederholt beobachtet worden [C. HEGLER, K. F. MEYER und B. EDDIE (3), V. L. ELLICOT und CH. H. HALLIDAY u. a. m.], aber es waren doch meist besondere Verhältnisse maßgebend, wie die wiederholten und innigen Kontakte, in welche Pflegepersonen mit den hustenden Kranken geraten. Wenn dagegen die Auffassung von GERLACH zutreffen würde, müßte man eine Kontagiosität des kranken Menschen für seine Umgebung für möglich halten, welche derjenigen der Variola oder der Masern gleichkäme. Man versteht ferner nicht, daß sich die von GERLACH als Virusausscheider bezeichneten Individuen so leicht latent infizieren konnten, während von klinisch manifesten Spitalsinfektionen während der kritischen Periode nichts erwähnt wird. Epidemiologisch ist also der Sachverhalt durchaus unklar, auch in der Hinsicht, daß jeder Beweis für die Gefährlichkeit der ermittelten Virusausscheider fehlt; von ihnen sind offenbar keine weiteren Infektionen ausgegangen, weder latente noch manifeste, sonst hätte GERLACH wohl diesen, seine Befunde bekräftigenden Umstand erwähnt.

R. PFAFFENBERG charakterisiert das Verhalten der Psittacose in der hier erörterten Beziehung zutreffend mit folgenden Worten (l. c., S. 267): „Während es an und für sich schon selten ist, daß sich ein Mensch an einem anderen infiziert, ist noch niemals sicher beobachtet worden, daß solche Personen die Quelle von Neuerkrankungen geworden sind.“ Wenn es also Virusausscheider gibt, was PFAFFENBERG 1935 als unwahrscheinlich hinstellte, so haben sie doch für die Verbreitung der Psittacose keine oder eine ganz untergeordnete Bedeutung; wenn dem anders wäre, müßte die Epidemiologie der Psittacose und der Sturmvögelkrankheit ein ganz anderes Gepräge zeigen.

In der zitierten Arbeit unterscheidet F. GERLACH scharf zwischen der Virusausscheidung als Begleiterscheinung einer „stummen“ Infektion und als Folgezustand einer Erkrankung. Von seinen fünf Fällen gehören vier zur ersten und einer zur zweiten Kategorie. Daß man das Virus beim Rekonvaleszenten im Auswurf sucht, erscheint insofern begründet, als der Keim beim Menschen exquisit pneumotropen Charakter bekundet und daher schon während der fast immer in der Lunge lokalisierten Erkrankung im Sputum zu finden ist. Ob aber

die Virusausscheidung durch das Sputum die Erkrankung in einem erheblichen Prozentsatz der Fälle überdauert oder ob eine mit der klinischen Genesung zusammenfallende Autosterilisation die Regel ist, konnte bisher nicht eindeutig entschieden werden. Vorliegende verlässliche Untersuchungen, besonders an Forschern, welche sich die Psittacose im Laboratorium zugezogen hatten, sprechen eher für die zweite Alternative. So gelang der Virusnachweis im Sputum bei K. F. MEYER am 8. Krankheitstag, während von vier mit einer zweiten Sputumprobe geimpften Mäusen nur mehr zwei erkrankten, so daß man den Eindruck erhielt, daß die Infektiosität des Virus im menschlichen Körper bereits zu einer Zeit abnimmt, wo der Krankheitsprozeß noch nicht abgelaufen ist (zit. nach R. PFAFFENBERG, S. 275). Bei J. FORTNER wurden binnen 23 Krankheitstagen 13 Sputumproben untersucht, davon 12 mit positivem Ergebnis; 19 nach dem 23. Tage ausgeführte Sputumuntersuchungen gaben durchwegs negative Resultate. 1935, ein Jahr vor der Veröffentlichung von F. GERLACH, stellte R. PFAFFENBERG fest, daß ein „Virusträgertum über den Verlauf der Erkrankung hinaus bei Menschen bisher nicht beobachtet und wohl auch unwahrscheinlich“ sei. Diese Situation hat sich insofern nicht geändert als neuere zusammenfassende Darstellungen (E. HAAGEN, J. VIEUCHANGE, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES) entweder nur die Angaben von F. GERLACH zitieren oder zur Existenz menschlicher Virusträger überhaupt nicht Stellung nehmen; auch die sonstige Literatur im Zeitraum von 1936 bis auf die Gegenwart enthält keine Berichte über positive Virusbefunde bei latent Infizierten oder Rekonvaleszenten, obwohl die Frage nicht nur große praktische Bedeutung, sondern auch theoretisches Interesse hat.

Die Immunität, welche der Mensch durch das Überstehen einer Erkrankung erwirbt, ist weder besonders hochgradig noch auch von langer Dauer. Berichte über Reinfektionen liegen vor, so der von R. PFAFFENBERG zitierte Fall eines Beamten des Gesundheitsdienstes der USA., bei welchem das Intervall zwischen erster und zweiter Erkrankung 7 Jahre betrug, und eine Reinfektion eines Laboranten, welche 6 Jahre nach der ersten erfolgte (G. K. WENCKEBACH). Daß sich solche Reinfektionen, nach der Literatur zu schließen, relativ selten ereignen, ist darauf zurückzuführen, daß die Krankheit überhaupt nicht häufig ist, und daß Personen, welche die Infektion überstanden und die Quelle derselben kennengelernt haben, die durch den Verkehr mit Sittichen gegebenen Übertragungsmöglichkeiten, wie R. PFAFFENBERG mit Recht annimmt, in der Regel meiden werden. Die Vermutung von K. F. MEYER, daß Reinfektionen nur vorgetäuscht sein könnten und vielleicht Relapse sind, welche von persistierendem Virus ausgehen, ist nicht begründet, in Anbetracht der mehrjährigen Intervalle unwahrscheinlich und steht in offenbarem Widerspruch zu der Neigung einiger Autoren, der erworbenen Immunität bei der Psittacose infektionsgebundenen Charakter zuzuschreiben, d. h. die Persistenz des Virus als Ursache des refraktären Verhaltens gegen Superinfektionen zu betrachten [J. FORTNER und R. PFAFFENBERG, K. F. MEYER (1)]. Die „Immunitätsschwäche“ kommt übrigens nicht bloß in der Möglichkeit von Reinfektionen zum Ausdruck, sondern auch im häufigen Fehlen virusneutralisierender Antikörper im Serum der Rekonvaleszenten [S. P. BEDSON, T. M. RIVERS und G. P. BERRY, S. P. BEDSON und G. T. WESTERN, E. SACQUÉPÉE und L. FERRABOUC, J. FORTNER und R. PFAFFENBERG (2)]; wenn Antikörper vorhanden sind, ist ihr Titer niedrig und es bedarf daher besonders empfindlicher Methoden zu ihrem Nachweis [T. M. RIVERS und F. F. SCHWENTKER, S. P. BEDSON (3)]. Die Behauptung, „daß die Psittacoseimmunität wie auch jene bei anderen Viruskrankheiten wenigstens zu einem erheblichen Teil auf dem Auftreten von humoralen Antikörpern beruht“ [E. HAAGEN (2)], ist

jedenfalls durch die bis jetzt veröffentlichten Untersuchungsergebnisse nicht gerechtfertigt.

In Anbetracht dieser Verhältnisse würde man im Sinne der auf S. 123 auseinandergesetzten Theorie erwarten, daß sich die Immunitätsschwäche des mit Psittacosevirus infizierten menschlichen Organismus in einer häufigen Persistenz des Virus nach latenten oder manifesten Prozessen ausdrückt. Was wir aber hierüber wissen, beschränkt sich auf die fünf Befunde von F. GERLACH,¹ die, wie gezeigt werden konnte, in mancher Beziehung Bedenken erwecken können. Zu den bereits präzisierten epidemiologischen Einwänden kommt noch der Umstand hinzu, daß der Mechanismus der angeblichen latenten Infekte unklar ist, d. h. daß man keine Auskunft geben kann, wo der Prozeß in einem derartigen Falle lokalisiert ist und warum er mit einer Virusausscheidung durch das Sputum einhergeht. Auffallend ist auch, daß das Blut noch 72 Tage nach dem infizierenden Kontakt Virus enthalten haben soll. Man muß somit, wie dies auch E. HAAGEN verlangt, die Resultate weiterer Untersuchungen abwarten. Sollten sie keine Bestätigung ergeben, was als möglich bezeichnet werden muß, so würde der Mensch zu den empfänglichen Vogelarten, aber auch zu einigen Säugetierspezies in Gegensatz treten, da das Virus bei diesen eine ausgesprochene Neigung zur Persistenz zeigt, wie im folgenden Abschnitt erörtert werden wird. Die Immunitätsverhältnisse würden für die Differenz keine Erklärung bieten. Dagegen wäre eine teleologische Deutung insofern motiviert, als der Mensch für die Erhaltung des Erregers in der Natur nicht in Betracht kommt, wohl aber die Vögel, in erster Linie die Sittiche und bei der Sturmvögelkrankheit *Fulmarus glacialis*. Da aber Säugetiere, insbesondere weiße Mäuse, gleichfalls latent infiziert werden (siehe weiter unten), scheint die rein teleologische Auffassung, die ja auch nur eine Feststellung, nicht aber eine Erklärung sein könnte, zunächst nicht annehmbar. Wir kommen auf diese Überlegungen nochmals zurück.

Vorderhand sollen hier einige Angaben über den Nachweis von Psittacosevirus im Sputum zitiert werden.

Im allgemeinen verwendet man als Versuchstiere weiße Mäuse, seit sie von M. H. GORDON, S. P. BEDSON sowie von C. KRUMWIEDE, McGRATH und OLDENBUSCH ungefähr gleichzeitig für diesen Zweck empfohlen wurden. Mäuse sind jedenfalls weniger gefährlich als Sittiche; sie können zwar ebenfalls latent infiziert werden und das Virus lange Zeit hindurch in der Milz und Leber beherbergen [K. F. MEYER und B. EDDIE (2)]; wahrscheinlich sind aber die latenten Infektionen der Mäuse „geschlossen“ und eine Ausscheidung von Virus findet nicht statt. Vor anderen empfänglichen Säugetieren (Affen, Kaninchen, Meer-schweinchen, Taschenratten) verdienen Mäuse wegen ihres geringen Preises, ihrer leichten Beschaffbarkeit und der Möglichkeit, mit jeder Probe mehrere Tiere zu impfen, den Vorzug.

¹ Der von E. HAAGEN und G. MAUER mitgeteilte Fall ist wohl nicht mitzurechnen. Es handelte sich um einen 60jährigen Vogelhändler, der nachweislich mit infizierten Sittichen zu tun hatte. Er erkrankte unter Erscheinungen, welche nicht für Psittacose, sondern für eine abszedierende Bronchopneumonie sprachen, eine Diagnose, mit welcher der Obduktionsbefund übereinstimmte. Im Sputum wurde jedoch Psittacosevirus festgestellt. Ob der Mann früher eine Psittacose durchgemacht hatte, konnte nicht ermittelt werden. Wegen des Gegensatzes zwischen dem Sputumbefund und dem klinisch-anatomischen Bild nehmen HAAGEN und MAUER Virusausscheidung an im Anschluß an eine vorausgegangene, vielleicht abortive oder latente Infektion. Es ist jedoch wahrscheinlicher, daß eine Mischinfektion oder Sekundärinfektion vorlag, möglicherweise in dem Sinne, daß sich die Psittacoseinfektion auf der Basis eines bakteriellen Prozesses entwickelte.

Sputa können Mikroorganismen enthalten, speziell Pneumokokken oder hämolytische Streptokokken, welche für weiße Mäuse infektiös sind und den Nachweis des Psittacosevirus vereiteln, indem sie den vorzeitigen Tod durch akzidentelle Infektionen herbeiführen. Die Mäuse werden intraperitoneal injiziert, ein Übertragungsmodus, welcher die Einspritzung größerer Volumina gestattet, wodurch die Gefahr einer akzidentellen Infektion naturgemäß gesteigert wird. Um solche störende Ereignisse auszuschalten, wurden verschiedene Verfahren vorgeschlagen.

K. F. MEYER und B. EDDIE empfahlen die Homogenisierung und das Auszentrifugieren der Sputa. Filtrationen durch bakterienreiche Hartfilter lehnen die genannten Autoren ab, weil sie sich überzeugen konnten, daß die meist benutzten REICHEL-Kerzen auch das Virus zurückhalten, daß es bei durchlässigen Filtern auf die Verdünnung des Materials ankommt und daß selbst bei geeigneter Versuchsanordnung eine Verarmung an Virus eintritt. J. FORTNER und R. PFAFFENBERG (2) verwendeten die Zentrifugiermethode von MEYER und EDDIE in nachstehender Form:

Das Sputum wird mit Nährbouillon verdünnt (1:5), einige Minuten mit Glasperlen geschüttelt, über Nacht in den Eisschrank gestellt, dann $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 3500 Umdrehungen pro Minute ausgeschleudert. Von der überstehenden Flüssigkeit erhält jede Maus 0,5 ccm intraperitoneal.

F. GERLACH hat sich bei seinen Versuchen ebenfalls an die von MEYER und EDDIE gegebene Vorschrift gehalten. T. M. RIVERS und G. P. BERRY stießen dagegen auf Fälle, in welchen die im Sputum vorhandenen Bakterien in solchem Grade infektiös waren, daß der Virusnachweis ohne Eliminierung dieser Keime durch Filtration zur Unmöglichkeit wurde. Für solche Ausnahmen bewährte sich ein Emulgieren des Sputums mit der 20—50fachen Menge Fleischbrühe vom $pH = 7,8$, 10 Minuten langes Zentrifugieren bei 3000 Touren pro Minute und Filtration der überstehenden Flüssigkeit durch Berkefeld V bei einem Überdruck von 15—30 mm Hg. Vom Filtrat erhält jede Maus an drei aufeinanderfolgenden Tagen 2 ccm intraperitoneal.

Auf den Gedanken, die Pneumokokkeninfektion durch Zusatz von Optochin hydrochloricum (1:1000) zu den Sputumproben antagonistisch zu beeinflussen bzw. auszuschalten, ist man erst in letzter Zeit verfallen (E. HAAGEN und G. MAUER, J. H. TORNACK). Schließlich sei noch die Methode von A. SORDELLI und A. ZUCCARINI erwähnt. Das 20fach verdünnte Sputum wird hier ebenfalls (durch Schütteln mit Stahlperlen) homogenisiert, zwecks Entfernung der größeren Partikel 25 Minuten bei 2000 Umdrehungen ausgeschleudert und die überstehende Flüssigkeit 8 Mäusen von 20 g Körpergewicht in der Menge von je 1 ccm intraperitoneal eingespritzt. 2 Stunden vorher sowie nach 6, 24 und 48 Stunden erhalten die Tiere Pyridinsulfonamid (Dagénan) in 25% öliger Suspension subcutan (120, 60, 120 und 120 mg). Mit der Untersuchung der ersten Maus kann man schon nach 24 Stunden beginnen, indem man Klatschpräparate vom peritonealen Überzug des Magens und der Milz anfertigt und nach GLEMSA zwecks Darstellung der charakteristischen Zelleinschlüsse färbt; an den folgenden Tagen wird erforderlichenfalls wieder je eine Maus in gleicher Weise untersucht. Fallen diese Proben negativ aus, d. h. sind die Zelleinschlüsse nicht vorhanden, so werden die restlichen Mäuse 30 Tage weiter beobachtet und nach Ablauf dieser Frist der Immunitätsprobe unterworfen. Nach den Angaben von A. SORDELLI und E. SAVINO hat sich das Verfahren bei einer Epidemie in Buenos-Aires bewährt.

Mit jeder Probe sind mindestens 3—4, besser 6—8 Mäuse zu impfen. Die Kriterien für ein positives Ergebnis, d. h. für den erbrachten Nachweis von

Psittacosevirus in der untersuchten Probe wurden von T. M. RIVERS und G. P. BERRY in folgender Weise formuliert:

1. Bei einigen oder allen Mäusen sollten sich Zeichen einer Erkrankung einstellen, welche binnen 5—14 Tagen, gelegentlich aber auch erst später (bis zum 30. Tage) letal endet. Wird eine Maus nach dem 4. oder 5. Tage krank, so empfiehlt es sich, das Tier zwecks weiterer Untersuchung zu töten und nicht den spontanen Exitus abzuwarten.

2. Aerobe und anaerobe Kulturen aus dem Material, welches man bei der Sektion der verendeten oder getöteten Mäuse gewinnt, müssen steril bleiben.

3. In der Leber und Milz ist der charakteristische pathologische Befund festzustellen (nekrotische, von polymorphkernigen und mononuclearen Zellen umgebene Herde).

4. Nachweis von Elementarkörperchen in Ausstrichpräparaten aus der Leber und der Milz mit der von CASTANEDA angegebenen Doppelfärbung (Methylenblau-Safranin).

5. Anlegung von weiteren Mauspassagen mit Emulsionen der Leber oder Milz der getöteten bzw. verendeten (mit Sputum geimpften) Mäuse.

6. Immunitätsprobe mit einem hochinfektiösen Virusstamm bei denjenigen Mäusen, welche den 30. Tag überleben; der späte Termin der Immunitätsprobe wird damit begründet, daß sich die aktive Immunität bei der Maus nur langsam entwickelt.

RIVERS und BERRY betonen, daß im Einzelfalle nicht alle aufgezählten Bedingungen befriedigt werden müssen, sondern daß man sich auch mit einer passenden Auswahl begnügen kann.

Bleiben alle Mäuse einer Serie am Leben, so verlangt E. HAAGEN, daß mindestens eine getötet und untersucht wird. Ferner weist E. HAAGEN, wie schon früher andere Autoren (KRUMWIEDE und Mitarbeiter, S. P. BEDSON und G. T. WESTERN, T. M. RIVERS und G. P. BERRY u. a.), darauf hin, daß die mit Material humaner Provenienz geimpften Mäuse bisweilen nicht mit Krankheitserscheinungen reagieren und daß auch der Nachweis von Elementarkörperchen im Peritonealsaft oder in den Organen mißlingen kann, daß aber die Anlegung von Mauspassagen in Intervallen von 8—10 Tagen ein in beiden Beziehungen positives Ergebnis zu liefern vermag (siehe Punkt 5 der Liste von RIVERS und BERRY).

Für die Frage menschlicher Virusausscheider scheint mir der Umstand besondere Bedeutung zu besitzen, daß die Untersuchung des Sputums auch bei Individuen, *welche sicher an Psittacose erkrankt sind*, keineswegs immer positive Resultate gibt. In einem Jahresbericht über die im Institut Robert Koch durchgeführten Untersuchungen geben E. HAAGEN und G. MAUER an, daß das Virus nur in 20 von 58 Sputumproben, die sämtlich von klinisch gesicherten Psittacosefällen stammten, nachgewiesen werden konnte, und J. H. TORNACK, der am gleichen Institut arbeitete, veranstaltete im Herbst 1940 eine Umfrage bei den Einsendern, aus welcher hervorging, daß die tierexperimentelle Diagnose aus dem Sputum nur in 7 von 18 klinisch sicheren Erkrankungen positiv ausgefallen war. Durch die Methode allein können die Versager nicht bedingt sein; sie werden auch in den Publikationen anderer Autoren, welche sich einer abweichenden Technik bedienten, erwähnt (T. M. RIVERS und G. P. BERRY, A. SORDELLI und E. SAVINO u. a.). Welcher Faktor jedoch verantwortlich zu machen wäre, ist noch nicht aufgeklärt. Sieht man von den Störungen durch bakterielle Infektionen ab, die eigentlich nicht als Versager gelten können, so scheint die Zeit der Entnahme eine Rolle zu spielen, sei es, daß das Sputum aus den ersten Krankheitstagen stammt (A. SORDELLI und E. SAVINO) oder daß es umgekehrt erst in

den späten Stadien der Krankheit oder gar in der Rekonvaleszenz entleert wird (R. PFAFFENBERG, T. M. RIVERS und BERRY). Da es vorkommt, daß negative und positive Sputumbefunde bei dem gleichen Patienten wechseln, nehmen E. HAAGEN und G. MAUER an, daß das Virus nicht kontinuierlich, sondern nur zeitweise im Sputum ausgeschieden wird.

T. M. RIVERS und G. P. BERRY erhielten in einem Falle ein negatives Ergebnis, obzwar der Kranke zweifellos an Psittacose litt und das Virus später aus dem Sektionsmaterial isoliert werden konnte; da nicht Sputum, sondern Speichel zur Untersuchung eingeschickt worden war, wird dieser Umstand, also die Provenienz der Probe für den Mißerfolg verantwortlich gemacht. Jeder, der sich persönlich viel mit bakteriologischen Sputumdiagnosen befaßt hat, wird diese Erklärung sehr plausibel finden und aus eigener Erfahrung bestätigen, wie oft die Arbeit im Laboratorium daran scheitert, daß man sich im klinischen Betrieb um die Beschaffenheit des „Auswurfes“ so wenig kümmert. An Psittacose erkrankte Menschen entleeren zuweilen nur wenig Sputum oder werfen, wenn sie hochgradig benommen sind, überhaupt nicht aus; E. HAAGEN und G. MAUER schlagen vor, in solchen Fällen das Material für die Untersuchung durch Rachenspülung bzw. durch Gurgeln mit steriler NaCl-Lösung zu beschaffen, und verzeichnen unter vier derartigen Untersuchungen ein positives Resultat, wobei das Sputum merkwürdigerweise ein negatives Ergebnis lieferte. Es kommt jedoch auch vor, daß das Virus nur im Sputum und nicht in der Spülflüssigkeit nachweisbar ist (T. M. RIVERS und G. P. BERRY). Bei der Untersuchung von Ausscheidern müssen sich diese Verhältnisse naturgemäß in erheblich verstärktem Ausmaße geltend machen, speziell wenn das untersuchte Individuum gesund ist oder an einer nicht in den Atemwegen lokalisierten Krankheit leidet.

Im filtrierten Urin und im Stuhl eines Patienten mit positivem Sputumbefund konnten T. M. RIVERS und BERRY kein Virus nachweisen; im Schrifttum finden sich auch sonst unseres Wissens keine Mitteilungen über die Ausscheidung durch die Niere oder durch den Darm, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß eben nur Sputum oder Blut eingeschickt werden, weil man von vornherein nur bei diesen Proben mit der Möglichkeit eines positiven Ergebnisses rechnet. Wahrscheinlich erfolgt jedoch die Ausscheidung — beim Kranken — tatsächlich nur durch das Sputum. Eine Eliminierung durch andere Se- und Exkrete wäre im Hinblick auf manche Analogien zu erwarten, wenn die Infektion des Menschen mit einer hochgradigen Virämie einhergehen würde. Das ist aber nicht der Fall. T. M. RIVERS und G. P. BERRY fanden im Blut von fünf Patienten kein Virus, obzwar das zur selben Zeit entnommene Sputum ein positives Resultat gab. E. HAAGEN und G. MAUER berichten sogar über 59 im Laufe von 2 Jahren durchgeführte Blutuntersuchungen, welche ausnahmslos negativ verliefen. J. H. TORNACK meint hierzu, daß ein virämisches Stadium vermutlich nur in den ersten Krankheitstagen bestehe; in der Tat konnten K. F. MEYER und B. EDDIE (3) mit dem Citratblut von drei Patienten weiße Mäuse nur dann infizieren, wenn das Blut am 1., 2. oder 4. Krankheitstag entnommen wurde, dagegen nicht mehr am 9., 16. und 17. Tage. Auch scheint die Verimpfung von Blutproben nur dann Erfolg zu haben, wenn sie unmittelbar nach der Entnahme vorgenommen wird, während eingeschickte Blutproben nicht mehr infektiös sind. Vielleicht wird das Resultat auch durch die Wahl des Versuchstieres beeinflusst. RIVERS und BERRY, HAAGEN und MAUER, TORNACK übertrugen das Blut auf weiße Mäuse; S. P. BEDSON, WESTERN und SIMPSON dagegen impften Wellensittiche mit Citratblut (2% Citrat in NaCl-Lösung) oder Blutserum von 8 Kranken und hatten Erfolg. In den Versuchen von F. GERLACH hat sich aber augenscheinlich keiner der bezeichneten Faktoren störend ausgewirkt; denn er experimentierte an weißen

Mäusen, verarbeitete eingesandte Blutproben und konnte das Virus nachweisen, in einem Falle noch 72 Tage, nachdem es im Sputum festgestellt worden war.

Ein wahres Labyrinth von Widersprüchen, aus dem es nur einen Ausweg gibt: die systematische Bearbeitung des Themas durch ein Institut, welches in der Lage ist, die Mittel und den Willen zur Entscheidung eines enger begrenzten Problems aufzubringen.

b) Tiere als Träger und Ausscheider des Psittacosevirus.

Mäuse. Anlässlich der ausgedehnten Versuche, welche K. F. MEYER und B. EDDIE (2) an weißen Mäusen ausführten, konnten sie feststellen, daß diese Tiere auf die intraperitoneale Injektion von sicher virushaltigem Material nicht immer mit Krankheitserscheinungen reagieren, sondern zum Teil gesund bleiben; bei der Sektion solcher Exemplare, welche 41—132 Tage nach dem infizierenden Eingriff vorgenommen wurde, fand sich aber eine Vergrößerung der Milz und die weitere Verimpfung der Milz oder der Leber auf andere Mäuse ergab die Anwesenheit von Psittacosevirus. Solange eine solche latente Infektion besteht, sind die Mäuse gegen Superinfektionen refraktär; wie MEYER und EDDIE bereits in der zitierten Mitteilung angaben, überdauert die Immunität jedoch eine Zeitlang die Autosterilisation, so daß man nicht von einer infektionsgebundenen Immunität im strengen Sinne des Wortes (siehe S. 126) sprechen kann. Diese Ergebnisse wurden in der Folge mehrfach bestätigt, so von S. P. BEDSON (3) sowie von J. FORTNER und R. PFAFFENBERG (2) und dahin erweitert, daß die Persistenz des Virus bei der Maus noch viel länger anhalten kann (bis zu 7 Monaten nach S. P. BEDSON) und daß sie, was ja a priori anzunehmen war, auch bei Mäusen beobachtet wird, welche infolge der Impfung zwar erkranken, sich aber wieder erholen und längere Zeit überleben.

Hinsichtlich der Beziehung der Immunität zur Viruspersistenz vertritt S. P. BEDSON (3) ungefähr denselben Standpunkt wie MEYER und EDDIE, hauptsächlich aus dem Grunde, weil er eine Immunisierung weißer Mäuse unter Ausschluß der Infektion (durch Behandlung mit sicher inaktivem Formolvirus) erzielen konnte. R. PFAFFENBERG dagegen ist, von der Existenz einer soliden und anhaltenden Immunität ohne Viruspersistenz nicht überzeugt. Wichtiger als diese, experimentell noch nicht genügend aufgeklärten Meinungsverschiedenheiten sind die Vorstellungen, welche sich auf der Basis des Dogmas von der obligaten Bindung sämtlicher Virusarten an den Binnenraum ihrer Wirtszellen über den *Mechanismus der Viruspersistenz* entwickelt haben.

Das persistierende Virus kann hauptsächlich in der Leber und in der Milz nachgewiesen werden, also in Organparenchymen mit einem reichen Bestand an Reticuloendothelien. Man denkt sich daher, daß die Viruselemente von diesen Zellen beherbergt und vor der Einwirkung virusneutralisierender Antikörper geschützt werden. Von Zeit zu Zeit würden einige von diesen infiziert bleibenden Zellen zerfallen und die eingeschlossenen Keime freigeben, von denen wieder eine kleine Quote in Reticuloendothelien Unterschlupf findet usw. [S. P. BEDSON (3)]. In der Natur erhalten sich die pathogenen Mikroben und die virusartigen Agenzien so wie alle Parasiten dadurch, daß sie von Wirt zu Wirt übertragen werden, sie pflanzen sich in „Wirtsketten“ fort. Wie leicht einzusehen, wird die Viruspersistenz von S. P. BEDSON ebenfalls als Infektionskette aufgefaßt; nur ist hier der Wirt nicht ein selbständiger Makroorganismus, sondern eine Gewebszelle, und die Persistenz wäre eine Aufeinanderfolge von Zellinfektionen im gleichen Organ bzw. im gleichen Gewebe, welche durch die steigende Immunität gehemmt wird. Der Anteil der freiwerdenden Viruselemente, welcher nicht schnell genug in neue Zellen eindringen kann, wirkt nämlich — nach BEDSON — als Antigen

und regt die Bildung von virusneutralisierenden Antikörpern (siehe S. 138) an; wird dieser antagonistische Prozeß infolge der wiederholten Virusausstreuungen übermächtig, so kann schließlich die Neuinfektion von Zellen unterdrückt werden, die Antigenreize fallen aus und das Individuum wird entweder wieder empfänglich, falls die Immunität streng infektionsgebundenen Charakter hat, oder die infektionsgebundene Immunität geht in die „sterile“ Form über. BEDSON betont, daß er durch die Aufstellung seiner Theorie keineswegs behaupten wolle, daß die Immunität gegen Psittacosevirus durch einen besonderen Mechanismus ausgezeichnet ist; es sei vielmehr sehr wahrscheinlich, daß der gleiche Typus der Immunität in allen Fällen besteht, in welchen der Erreger an das Leben im Inneren von Wirtszellen angepaßt ist.

Mäuse können somit *Träger* des Psittacosevirus sein. Sind sie aber auch *Ausscheider*?

Versuche an Sittichen haben bekanntlich zu zahlreichen Laboratoriumsinfektionen Veranlassung gegeben, während das Experimentieren an Mäusen von sämtlichen Autoren, die über ausgedehnte eigene Erfahrungen verfügen, bei Einhaltung der selbstverständlichen Kautelen als ungefährlich bezeichnet wird. Es muß also jedenfalls eine ausschlaggebende Differenz im Verhalten der beiden Tierarten bestehen, die aber nicht unbedingt so gedeutet werden muß, daß kranke oder latent infizierte Mäuse überhaupt kein infektionstüchtiges Virus nach außen abgeben können.

J. FORTNER und R. PFAFFENBERG (1) setzten nämlich in 44 Einzelversuchen je eine gesunde Maus zu je zwei intraperitoneal infizierten in das gleiche Glas; die infizierten Mäuse verendeten nach 4—6 Tagen und die gesunden blieben während der Krankheitsdauer der infizierten Exemplare und wochenlang darüber hinaus im gleichen Behälter. Zehn verschiedene Virusstämme (2 von Menschen, 8 von Vögeln) wurden verwendet. Es starben zwei von den nichtgeimpften Mäusen an Psittacose und zeigten bei der Sektion eine braune Hepatisation der Lungen, deren spezifische Pathogenese durch den Nachweis des Virus sichergestellt werden konnte. Nach einigen Wochen wurden vier der übrigen, äußerlich gesunden Mäuse getötet, ihre Milzen zu einer Emulsion verarbeitet und mit dieser eine Maus injiziert, die an Psittacose erkrankte; von den 4 Mäusen, von welchen die Milzen stammten, mußte somit mindestens eine latent infiziert gewesen sein. Die Frage, ob sich „Mäuse spontan anstecken können“, bejahen FORTNER und PFAFFENBERG auf Grund dieser Beobachtungen mit dem einschränkenden Zusatz, daß dies nur dann geschieht, wenn man kranke und gesunde Tiere in das gleiche Glas sperrt. Daß sich dagegen gesunde Mäuse infizieren, wenn sie in besonderen Gläsern, aber im gleichen Stallraum gehalten werden, in welchem sich Gläser mit kranken Mäusen befinden, konnten FORTNER und PFAFFENBERG nicht konstatieren.

Wie die Kontaktinfektionen zustandekamen und warum sie sich selbst unter extremen Bedingungen relativ selten ereigneten, ist schwer zu sagen. Die zwei Mäuse, welche infolge der Kontaktinfektion erkrankten und starben, hatten schwere und durch die lokale Auswirkung des Virus verursachte Veränderungen in den Lungen, und es liegt daher nahe, an eine aerogene Übertragung durch verspraytes oder verstäubtes virushaltiges Material zu denken. Das ist jedoch aus zwei Gründen nicht wahrscheinlich. Erstens weil die Mäuse, welche als Ansteckungsquellen fungierten, intraperitoneal infiziert worden waren und gerade dieser experimentelle Übertragungsmodus bei der Maus nur in sehr seltenen Fällen zu einer Lungenerkrankung führt; eine Infektion von Lunge zu Lunge, etwa durch verspritzte und eingeatmete Tröpfchen ist somit kaum anzunehmen. Zweitens, weil die pulmonale Lokalisation nach Infektionen durch Verfütterung

häufig beobachtet wird; J. FORTNER und R. PFAFFENBERG fanden bei 46 infolge einer infizierenden Mahlzeit verendeten Mäusen 7mal Pneumonien und 17mal Pneumonien in Kombination mit Leber- und Milzveränderungen. Aus dem Zusammenhang beider Argumente ergibt sich eine Infektion *ex ingestis* als die plausibelste Kombination; die Seltenheit der Kontaktinfektionen fände zum Teil eine Erklärung in dem Umstande, daß in den Versuchen von FORTNER und PFAFFENBERG 100% der Mäuse nach 3—8maliger Fütterung, aber nur 70% nach einmaliger, übrigens sehr massiver Fütterung erkrankten. Vielleicht erschwert auch noch ein anderer Faktor die spontane Verbreitung der Infektion durch intraperitoneal geimpfte Mäuse, nämlich die Art der Virusausscheidung durch solche Tiere; bestimmtes läßt sich hierüber nicht sagen, aber man darf aus der Ungefährlichkeit der Mäuseversuche wohl schließen, daß von einer derartigen Virusausstreuung, wie sie bei manifest oder latent infizierten Sittichen die Regel ist, nicht die Rede sein kann. Schließlich ist zu bedenken, daß ausgeschiedenes Psittacosevirus vermutlich rasch seine Infektiosität einbüßt (siehe S. 147); findet die Ausscheidung nicht kontinuierlich statt, sondern nur gelegentlich und in kleinen Mengen, so können spontane Kontaktinfektionen auch aus diesem Grunde ausbleiben.

Andere Säugetiere. Experimentell können mit Psittacosevirus auch Affen (*Macacus rhesus*), Kaninchen, Meerschweinchen und Taschenratten (*Thomomys bottae bottae*) infiziert werden. Den Versuchen und ihrer Analyse wurden Fragestellungen zugrundegelegt, welche mit dem hier erörterten Thema nicht in direkter Beziehung stehen. Ob latente Infektionen als selbständige Prozesse oder als Viruspersistenz nach überstandener Krankheit vorkommen, läßt sich daher aus dem Schrifttum nicht mit Sicherheit entnehmen. Man gewinnt aber, speziell aus den Berichten über die Infektionen von Kaninchen und von Affen [T. M. RIVERS und G. P. BERRY (2, 3)], den Eindruck, daß die Infektion bei diesen Tieren cyclisch abläuft und mit einer Autosterilisation endigt, an welche sich eine aktive Immunität gegen Reinfektionen nach kurzer Frist anschließt. Es muß aber noch eine genauere Untersuchung verlangt werden, um zu entscheiden, ob die Maus eine Sonderstellung unter den empfänglichen Säugetierpezies einnimmt. Könnte dies bejaht werden, so bestünde keine Veranlassung, beim Menschen hinsichtlich der latenten Infektion, der Viruspersistenz und des Ausscheidertums ein Verhalten zu vermuten bzw. vorauszusetzen (R. PFAFFENBERG, K. F. MEYER, F. GERLACH u. a.), das außer bei der Maus bei keiner Säugetierart vorkommt.

Vögel. Die Liste der empfänglichen Vogelarten ist im Laufe weniger Jahre sehr umfangreich geworden und wird noch stetig durch Aufnahme neuer Spezies ergänzt. Sie umfaßt nicht nur Papageien (Psittaci), sondern auch zahlreiche Vertreter der Ordnung Passeres (Finken), Hühnervögel (Galli), Sturmvögel (*Fulmarus glacialis*), Tauben (Columbae); alle diese Vogelarten können auch spontan erkranken und ihre Infektion auf den Menschen übertragen. K. F. MEYER (2) hat deshalb in letzter Zeit vorgeschlagen [siehe auch K. F. MEYER und B. EDDIE (6) sowie K. F. MEYER, EDDIE und YANAMURA], in Hinkunft nur jene Erkrankungen des Menschen als „Psittacose“ zu bezeichnen, welche mit Sicherheit auf den Umgang mit Papageienarten zurückgeführt werden können, und jene, welche auf dem Kontakt mit Sturmvögeln, Tauben oder Hühnern beruhen, unter dem Namen „Ornithosis“ zusammenzufassen bzw. von der Psittacosis *sensu strictiori* abzutrennen. Die Erreger der Psittacose und der Ornithose zeigen keine morphologischen oder tinktoriellen Unterschiede und die Untersuchungen von K. F. MEYER und seinen Mitarbeitern ergaben bisher auch keine Differenzen der Antigenfunktionen. Hingegen konnten gewisse Verschieden-

heiten der Infektiosität und Pathogenität festgestellt werden. Das ornithotische Virus tötet Mäuse, denen es intraperitoneal injiziert wird, nur ausnahmsweise und fortgesetzte Mauspassagen sind in der Regel nicht imstande, die Pathogenität zu steigern; gewisse Taubenarten reagieren auf das ornithotische Virus ziemlich regelmäßig mit einer letal verlaufenden Meningitis, während Stämme von Psittacosevirus, gleichgültig, ob sie aus infizierten Vögeln oder Menschen isoliert wurden, nur selten diese Wirkung haben. Man wird hier lebhaft an die Verhältnisse erinnert, wie sie für die von verschiedenen Wirten stammenden Brucellaarten (*Br. bovina*, *caprina*, *porcina*) festgestellt wurden. Ob der Ausdruck „Ornithosis“ glücklich gewählt und ob die Zusammenfassung aller Virusformen nicht-psittacinen Ursprungs unter diesem Namen gerechtfertigt ist, ist fraglich — gerade auch im Hinblick auf die Analogie mit den Brucellosen.

Nachdem M. H. GORDON zuerst (1930) Psittacosevirus in der Milz eines Wellensittichs, den er vom zoologischen Garten in London erhielt, nachgewiesen hatte, war der ursächliche Konnex zwischen den Infektionen solcher Vögel und Erkrankungen der Menschen zur Diskussion gestellt. K. F. MEYER und B. EDDIE (2) wollten, um eine zuverlässige Basis für behördliche Schutzmaßnahmen zu gewinnen, zunächst die Verbreitung der Infektion unter den Wellensittichen (*Melopsittacus undulatus*) eines großen Bezirkes (Südkalifornien) feststellen und untersuchten zu diesem Zweck 1953 Wellensittiche aus 66 Vogelhäusern, indem sie die Milz, zum Teil auch die Leber, die Nasenschleimhaut und den filtrierten Kloakeninhalt auf Mäuse verimpften. Das Resultat war erstaunlich genug. 43 (66%) der Vogelhäuser enthielten infizierte Sittiche, wobei der Verseuchungszustand zwischen 10 und 90% variierte. Die überwiegende Mehrzahl der Vögel, in welchen das Virus nachgewiesen werden konnte, hatten *intra vitam* keine Zeichen einer Erkrankung dargeboten, sondern waren äußerlich gesund und in gutem Ernährungszustand; auch die Autopsie ergab in solchen Fällen nicht mehr als eine Vergrößerung der Milz, die allerdings so konstant war, daß man aus der Dimension der Milz (Diameter ≤ 4 mm) das Resultat der Untersuchung mit großer Sicherheit voraussagen konnte. Mit dieser außerordentlich starken Verbreitung der Infektion unter den Wellensittichen stand die relativ niedrige Morbidität der Menschen in Widerspruch, welche mit solchen Vögeln zu tun haben; es mußte daher ermittelt werden, wie der Erreger von den Vögeln auf den Menschen übertragen wird, ein Problem, das von MEYER und EDDIE (2) schon in der zitierten Publikation über die latenten Infektionen der Wellensittiche in Angriff genommen wurde.

Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse läßt sich — in teilweiser Anlehnung an K. F. MEYER und B. EDDIE (3) — am übersichtlichsten darstellen, wenn man von den Verhältnissen ausgeht, wie sie *bei sichtlich kranken Sittichen* bestehen. Hier konnte das Virus im Blut, im Gehirn, in der Leber, der Milz und den Nieren, ferner im Nasenschleim und im Kloakeninhalt nachgewiesen werden. Die Ausscheidung erfolgt also durch die gesteigerte Sekretion der Nasenschleimhaut und durch die Darmentleerungen, durch letztere besonders, wenn Diarrhoe bzw. Polyurie zu konstatieren sind. Das im Kloakeninhalt vorhandene und mit demselben austretende Virus könnte aus verschlucktem Nasenschleim, aus der Darmwand oder aus den Nieren stammen. Die beiden erstgenannten Möglichkeiten konnten mit genügender Sicherheit ausgeschlossen werden. Der Nasenschleim erwies sich nämlich auch in Fällen als infektiös, in welchem der Kloakeninhalt, ja sogar die Leber und Milz kein nachweisbares Virus enthielten, was nicht mit der Annahme stimmt, daß der virushaltige Nasenschleim verschluckt wird und daß die Darmentleerungen aus dieser Quelle das in ihnen feststellbare Virus beziehen. Auf der anderen Seite verliefen Versuche, den Erreger in der Darm-

wand nachzuweisen, negativ, während die Nieren für Mäuse regelmäßig hochinfektiös waren. Die beiden Arten der Virusausscheidung wären demnach voneinander unabhängig; welche von ihnen für die Übertragungen von kranken Vögeln auf gesunde Vögel oder auf Menschen zahlenmäßig wichtiger ist, läßt sich kaum beantworten, da nach den Angaben von K. F. MEYER und B. EDDIE (3) sowohl isolierte Ausscheidungen durch die Nase wie auch durch den Harn (Kloakeninhalt) oder Kombinationen von beiden oder schließlich Fälle vorkommen, in welchen sich die Ausscheidung auf keinem von den zwei in Betracht kommenden Wegen konstatieren läßt.¹

Kranke Sittiche können jedenfalls das Virus durch ihre Absonderungen ausgiebig verstreuen. Wenn die dadurch bedingten Ansteckungen Vögel betreffen (andere Sittiche, Finken, Kanarienvögel, Reisivögel, Zeisige, Taubenarten, Hühner), welche im gleichen Käfig gehalten werden, wird man nicht im Zweifel sein, daß die Übertragungen durch direkte Kontakte oder durch mittelbare Berührungen mit kurzem Infektionsweg zustandekommen. Aerogene Infektionen durch verstäubtes Material anzunehmen, ist weder notwendig noch wahrscheinlich; gaben doch seinerzeit K. F. MEYER und B. EDDIE (2) an, daß gesunde Sittiche verschont bleiben, wenn ihr Käfig nur durch ein Drahtnetz von einem benachbarten verseuchten Käfig getrennt ist. Bei Menschen wurden dagegen Infektionen beobachtet, obzwar keine unmittelbare Berührung mit kranken Vögeln bestanden hatte, und solche Fälle — meint R. PFAFFENBERG — könne man nur dadurch erklären, „daß durch die Flatterbewegungen der Vögel virushaltige Staubteilchen zerstreut werden, die sich eine gewisse Zeit in der Luft schwebend erhalten und sogar durch Luftströmungen in andere Räume getragen werden können“. Die Entstehung von feinem infektiösem Staub hängt jedoch von der Widerstandsfähigkeit des Virus gegen Austrocknung ab, und ob bzw. in welchem Ausmaß diese Bedingung erfüllt ist, erscheint vorderhand fraglich.

K. F. MEYER und B. EDDIE trockneten virushaltiges Kloakenmaterial an Filterpapier oder in Petrischalen über CaCl_2 und fanden, daß die Infektiosität bei Zimmertemperatur schon nach 24 Stunden erloschen war. Bouillonauszüge aus dem Kehrlicht von Käfigen, in denen sich kranke Sittiche aufgehalten hatten oder verendet waren, vermochten keine Psittacose zu erzeugen. Die Autoren heben selbst hervor, daß diese Ergebnisse mit der hohen Infektiosität der Sittiche für Menschen, wie sie bei manchen Hausepidemien zutage tritt, nicht gut übereinstimmen. Zu anderen Schlüssen würde der Bericht von F. GERLACH (1) über eine Epidemie berechtigen, welche in Wien in einer Kanarienvogelzucht ausgebrochen war und sich bei der genaueren Untersuchung als Psittacose entpuppte. Die Nachforschungen nach der Infektionsquelle ergaben, daß der Kanarienzüchter das Futter für seine Vögel seit langer Zeit aus einer Vogelhandlung, welche vor 2 Monaten wegen Psittacose gesperrt und deren Vogelbestand vernichtet worden war, bezogen hatte. Das Futter wurde nun einer größeren Zahl von Mäusen vorgesetzt, die dasselbe verzehrten und ausnahmslos innerhalb von 7—9 Tagen an typischer Psittacose eingingen; Wiederholungen des Fütterungsexperiments lieferten das gleiche Resultat, so daß GERLACH den Beweis für erbracht hielt, daß Infektionen mit Psittacose auch durch unbelebte, mit Virus verunreinigte Gegenstände vermittelt werden können und daß das Vogelfutter im vorliegenden Fall Virus in besonders starker Konzentration enthalten hatte.

¹ Daß das Virus im Kloakeninhalt fehlen kann, steht im Widerspruch mit der Angabe, daß die Nieren kranker Vögel für Mäuse regelmäßig infektiös sind; aus dem infizierten Nierenparenchym muß das Virus allerdings nicht unbedingt in den Harn übertreten, sondern vielleicht nur unter bestimmten, noch nicht bekannten Bedingungen.

Es ist nicht leicht einzusehen, wie man sich diesen Zusammenhang zurechtlegen soll, ohne dem Virus eine hochgradige Resistenz gegen Austrocknung zuzuerkennen. Eine Vermutung, wie das infektiöse Material von den Sittichen anscheinend kontinuierlich in das Vogelfutter gelangt sein konnte, hat GERLACH nicht geäußert. Also wieder eine Unstimmigkeit der Untersuchungsergebnisse, die neue Untersuchungen erfordert. Bemerkenswert sei, daß K. F. MEYER und B. EDDIE (3) trotz ihrer oben zitierten Erfahrungen über die geringe Resistenz des Psittacosevirus gegen Austrocknung eine Stäubcheninfektion für möglich halten (l. c., S. 867). Um ferner zu erklären, warum Virus im Nasenschleim von Sittichen gefunden wurde, die äußerlich gesund waren, zum Teil keine Milzvergrößerung aufwiesen und deren innere Organe keine Infektiosität besaßen, nehmen sie an, daß solche Tiere subklinisch infiziert waren und nachträglich noch Virus durch die Nasenschleimhaut abzusondern vermochten oder daß sie kurz vor der Untersuchung das Virus, möglicherweise in Stäubchenform, durch die Atmung aufgenommen hatten.

Welche Form nimmt nun die Infektion bei Vögeln, speziell bei Sittichen an, welche zwar erkranken, sich aber wieder erholen? Um auf diese Frage eine präzise Antwort erteilen zu können, sollte man einzelne Tiere, welche eine Erkrankung überstanden haben, fortlaufend untersuchen, wobei sich der Experimentator auf die Entnahme von Nasenschleim und Kloakeninhalt beschränken müßte, oder man könnte eine größere Zahl rekonvaleszenter Vögel in abgestuften Intervallen töten und könnte dann außer den genannten Exkreten auch die inneren Organe auf ihren Virusgehalt prüfen. So wurde jedoch in der Regel nicht vorgegangen. K. F. MEYER und B. EDDIE (3, 4), denen wir die ausgedehntesten experimentellen Analysen verdanken, wählten als Objekt ganze Zuchten oder größere Käfiggemeinschaften und mußten daher notwendigerweise Gemenge erhalten, in welchen gesunde, noch nicht infizierte Exemplare vertreten waren, kranke Vögel mit verschiedener klinischer Auswirkung des ablaufenden Infekts, latent infizierte und eventuell auch bereits entkeimte Individuen. Dies war nun in der Tat der Fall. Eine Auflösung dieser Gemenge in ihre Komponenten war nur auf zweifachem Wege möglich: 1. Durch Untersuchung derselben Zucht (Käfiggemeinschaft) zu verschiedenen Zeiten oder 2. indem die bei verschiedenen Individuen zur gleichen Zeit festgestellten Zustandsformen des Infekts miteinander in hypothetische Beziehung gebracht wurden.

Die erste Methode lieferte das bemerkenswerte Ergebnis, daß sich *verseuchte Zuchten spontan entseuchen*. So wurde ein Käfig mit 133 jüngeren Sittichen wiederholt untersucht. Innerhalb von 160 Tagen sank die Prozentzahl der latent infizierten Vögel von 75 auf 10%, obgleich der Milzindex (die Zahl der Vögel mit vergrößerten Milzen) noch 60% betrug. Unter den 10% wurde nur ein einziger Ausscheider (Virus im Kloakeninhalt) festgestellt, die übrigen waren „geschlossene“ Virusträger. Am 234. Tage nach Beginn der Beobachtung wurden die noch verbliebenen 34 Sittiche getötet; sie hatten vergrößerte Milzen, die aber nur in zwei Fällen ein schwach wirksames Virus enthielten. Im Laufe von 8 Monaten war somit die Entseuchung schon weit vorgeschritten. MEYER und EDDIE (3, 4) zogen aus diesen Erfahrungen den Schluß, daß 12—14 Monate alte Sittiche, falls sie aus verseuchten Beständen stammen, nicht mehr infektiös sind.

Aus diesen Angaben geht implizite hervor, daß sich Ausscheider in „geschlossene“ Virusträger, welche nicht mehr infektiös sind, verwandeln können. In Versuchen mit Reissvögeln (*Padda sive Munia oryzivora*) waren hierzu 30 bis 50 Tage erforderlich. Es stellte sich ferner ein eigenartiges Verhältnis zwischen den Dimensionen der Milz latent infizierter Sittiche und dem Gehalt des Organs an aktivem Virus heraus. Der Durchmesser der normalen Sittichmilz beträgt

1—2 mm. In Milzen von 3—5 mm ist das Virus häufig vorhanden, häufiger als wenn der Durchmesser erheblich größer (9—10 mm) ist. Der zweiten Methode folgend, wurde es wahrscheinlich, daß die großen, aber nicht mehr infektiösen Milzen Residuen überstandener Infektionen sind und daß das Fehlen des Virus in solchen Organen als Wirkung einer spontanen Autosterilisation aufzufassen ist. Damit stimmte es überein, daß MEYER und EDDIE in Käfigen mit ausgewachsenen Sittichen bei der ersten Untersuchung überwiegend mittelgroße Milzen feststellten, während nach einigen Monaten die großen Milzen, die nicht infektiös waren, überwogen und nur die kleineren Milzen noch nachweisbares Virus enthielten.

Natürlich sind die angeführten Daten als Durchschnittswerte bzw. als Maximalwerte zu betrachten. Zuchten oder Käfiggemeinschaften können auch innerhalb kürzerer Fristen virusfrei werden, wofür MEYER und EDDIE (3) mehrere Beispiele angeben, und in noch weit höherem Grade ist die individuelle Dauer des Trägertums Schwankungen unterworfen. Zunächst ist wohl der Zeitpunkt maßgebend, in welchem die Beobachtung beginnt, bzw. die seit der Verseuchung einer Gemeinschaft oder der Infektion eines Individuums bereits verstrichene Frist. Dann spielen aber auch andere Faktoren eine bedeutende Rolle, die Spezies der Vögel, innerhalb der Spezies das Alter und in Scharen gleichaltriger Tiere das Vorkommen von resistenten Exemplaren, für deren refraktäres Verhalten vorläufig noch keine zureichende Erklärung ermittelt werden konnte (erworbene Immunität infolge einer vorausgegangenen subklinischen Infektion, hereditäre Immunität?).

Herrscht die Infektion in einer Zucht bzw. in einer Käfiggemeinschaft, so erkranken einzelne Vögel typisch und schwer, andere nur abortiv und die Mehrzahl wird nur latent infiziert. Wodurch diese Differenzen bedingt sind, ist nicht bekannt; wenn man sie der gerade bestehenden Reaktionslage (der wechselnden individuellen Empfänglichkeit) zur Last legt, ist dies bei Licht besehen nicht mehr als eine unbewiesene Behauptung oder vielleicht auch nur eine Umschreibung des Tatbestandes. Sicher ist aber, daß sowohl erkrankte bzw. wiedergenesene als auch latent infizierte Sittiche und andere empfängliche Vogelspezies Virus durch Nase und Kloake austreten können, daß es ein für die Umgebung ungefährliches Stadium der geschlossenen Virusträger gibt und daß schließlich die Autosterilisation d. h. ein Zustand eintritt, in welchem das Virus im Vogelorganismus nicht mehr experimentell nachweisbar ist. Wie sich aber diese Phasen in zeitlicher und genetischer Hinsicht zueinander verhalten und ob insbesondere auf eine progrediente Infektion regelmäßig Etappen des ausscheidenden Trägertums, des geschlossenen Trägertums und des terminalen Virusschwundes folgen, ist zweifelhaft. Nach den Angaben von K. F. MEYER und seinen Mitarbeitern kann sich die Reihenfolge insofern umkehren, als Rückfälle, d. h. Umsetzungen des latent gewordenen Infekts in Erkrankung eintreten, wie es auch als möglich hingestellt wird, daß geschlossene Träger zeitweilig wieder Virus austreten. Es sind dies Verhältnisse, die uns von Infektionen anderer Ätiologie her gut bekannt sind. Als weitere Komplikation ist die Inkubation zu nennen. K. F. MEYER und EDDIE (3) konnten bei intramuskulär infizierten Wellensittichen Inkubationszeiten von längerer Dauer (41, 61 und 98 Tagen) feststellen und in einem Falle von spontaner Ansteckung durch Exposition erkrankte ein Vogel am 95. Tage und verendete am 106. Tage. Es ist keineswegs ausgeschlossen, daß die Tiere schon während dieser initialen Latenz Virus ausscheiden.

Wenn somit, verseuchte Zuchten nach 6—8 Monaten soweit entseucht sind, daß nur 1—2% nicht-infektiöse Träger übrigbleiben, kann man wohl dieses End-

resultat registrieren, muß aber, wie das in der Epidemiologie so oft der Fall ist, darauf verzichten, das Massengeschehen in individuelle Vorgänge zu zerlegen und nachzuweisen, wie sich diese zur Totalität integrieren. Übrigens ist der präzisierte Stillstand ein Gleichgewicht, das gestört wird, wenn die Vögel brüten und Junge bekommen; es treten dann wieder Erkrankungen auf, und zwar nicht nur bei jungen, sondern, was schwerer zu verstehen ist, auch bei alten Sittichen [K. F. MEYER und B. EDDIE (4)].

Wo die Infektion endemisch ist, infizieren sich die Vögel, falls sie sich nicht schon aus infizierten Eiern entwickelt haben, in der ersten Zeit ihres Lebens oder doch in ihrer Jugend. Gehen sie nicht zugrunde, so bekunden sie in der Folge eine relative Immunität, die aber, wenn sie mit Viruspersistenz verbunden ist, durch ungünstige äußere Einflüsse durchbrochen und in progrediente, klinisch manifeste Infektionen umgewandelt werden kann. Das gilt sowohl für die Psittacose im engeren Sinne als für die mit ihr verwandte Ornithose der Tauben. Von 400 Tauben, welche mit einer B₁-freien Nahrung gefüttert wurden, erkrankten zirka 5% (die genaue Zahl wurde nicht festgestellt) unter Parese der Beine und Opisthonus und starben binnen 1—2 Tagen; die Sektion ergab fibrinöse Pericarditis und Peritonitis, zum Teil auch hämorrhagische Leberschwellung und als Ursache eine Infektion mit einem Virus, das morphologisch mit Psittacosevirus identisch und sonach als ornithotisches Virus im Sinne von K. F. MEYER zu klassifizieren war. Da alle Hühner gesund schienen, solange noch normales Futter gereicht wurde, und sämtliche Virustode auf das Intervall zwischen dem 8. bis 12. Tag der vitaminfreien Diät entfielen, durfte die Provokation einer latenten Infektion durch avitaminotische Reizung angenommen werden (H. PINKERTON und R. L. SWANK). K. F. MEYER, B. EDDIE und H. Y. YANAMURA berichten, daß unter 12 Tauben, welche in einem schlecht belichteten Käfig dicht gedrängt untergebracht waren, Ornithosefälle auftraten, welchen 6 Vögel zum Opfer fielen. Wie bei den avitaminotischen Tauben war auch in diesem Falle eine Aktivierung latenter Infektionen anzunehmen; da aus den Kadavern der verendeten Tauben Paratyphusbazillen (*Salmonella typhi murium*) gezüchtet werden konnten, waren die Tiere vor ihrer Erkrankung Virusträger und gleichzeitig Bazillenträger. Eine ähnliche Kombination (Psittacosevirus und *Salmonella typhi murium*) stellten K. F. MEYER und B. EDDIE (5) bei den Papageien einer Sendung fest, welche per Schiff aus Südamerika nach Kalifornien gekommen war.

3. Herpes febrilis.

Im Handbuch (S. 41—45 und S. 785/786) wurde das Problem der latenten Infektion des Menschen mit Herpesvirus so ausführlich erörtert, daß hier nur einige ergänzende Bemerkungen notwendig sind.

Die Existenz latenter Herpesinfektionen ist eine Hypothese, welche nach der Entdeckung des Herpesvirus aufgestellt wurde, um die Phänomene des recurrierenden und provozierbaren Herpes zu erklären und die weniger wahrscheinliche Theorie der endogenen Entstehung des spezifischen Agens [R. DOERR (4), O. NÄGELI] ablehnen zu können.

F. M. BURNET und STANLEY W. WILLIAMS (siehe auch BURNET und D. LUSH) nehmen an, daß sich die latente Infektion an eine akute fieberhafte Erkrankung anschließt, welche schon in der Kindheit oder in früher Jugend unter dem Bild einer vesikulären (aphthösen) Stomatitis, oft unter sekundärer Beteiligung der Lippen, des Gesichtes und der Finger auftritt. Die latente Infektion würde dann das ganze Leben hindurch anhalten und stets bereit sein, unter dem Einfluß irgendwelcher Reize lokale klinische Manifestationen hervorzurufen. Die primären Ansteckungen der Kinder sollen durch Erwachsene mit recurrierendem

Herpes oder durch andere Kinder, die gerade an aphthöser Stomatitis leiden, erfolgen, eine Behauptung, welche jedoch mit der Erfahrung der Autoren nicht harmoniert, daß sie nie in einer Familie mehr als ein Kind fanden, das mit Stomatitis behaftet war. Die Frage, wo sich das Virus in der anfallsfreien Zeit befindet, wurde bekanntlich von verschiedenen Autoren sehr verschieden beantwortet; BURNET und WILLIAMS meinen, „the virus persists somewhere in the body“, wollen also keine Stellung nehmen oder halten diesen Punkt — mit Unrecht — nicht für wichtig.

Das einzige Argument, auf welches sich F. M. BURNET und seine Mitarbeiter sowie die anderen Anhänger der Lehre von der lebenslänglichen Persistenz des Herpesvirus stützen, ist der Nachweis von virusneutralisierenden oder komplementbindenden Antikörpern im Blutserum. R. T. BRAIN versuchte dieser Begründung eine überzeugendere Form zu geben, indem er an einem kleinen Material feststellte, daß Personen mit positiver Herpesanamnese die Komplementbindungsreaktion geben, während die Probe bei Individuen ohne spezifische Vorgeschichte negativ ausfiel. Wenn man aber alle die Berichte über die Resultate der Serumreaktionen und die Beziehungen der positiven Ergebnisse zum Alter, Geschlecht, zur sozialen Stellung der Probanden und bei Frauen zur Menstruation und Gravidität (N. P. HUDSON, COOK und ADAIR, E. R. WEYER, F. M. BURNET und WILLIAMS, C. H. ANDREWES und E. A. CARMICHAEL, R. A. BOAK, CARPENTER und WARREN, H. ZINSSER und TANG, H. HRUSZEK, F. M. BURNET und D. LUSH und andere) studiert und vor allem miteinander vergleicht, kann man keinen anderen Schluß ziehen, als daß die Anwesenheit der Antikörper in der Zirkulation nicht instande ist, das Auftreten herpetischer Manifestationen zu verhindern. Wenn die Antikörper verlässliche Indikatoren für bestehende latente Infektionen wären, sollte man erwarten, daß sich der Herpes nur bei Individuen mit positiver Serumreaktion provozieren läßt; dieser Versuch ist aber bisher nicht ausgeführt worden.

H. HRUSZEK sowie ZURUKZOGLU und HRUSZEK impften die Haut von Menschen mit virushaltigem Material, welches aus einem rezidivierenden Herpes labialis oder Herpes progenerialis entnommen worden war. In etwa 50% der sehr zahlreichen Übertragungen entwickelten sich in der Umgebung der primären Reaktion sekundäre Bläschen und nicht selten traten Rezidive auf, die an die Stelle der Inokulation gebunden waren. Die Autoren erblickten in diesen Beobachtungen einen Beweis, daß das Virus an der Impfstelle, also im Gewebe der Haut, in latentem Zustande verblieben war, während S. NICOLAU meint, daß sich die Erscheinungen auch im Sinne der von ihm und P. GASTINEL aufgestellten Lehre interpretieren lassen, daß das Virus vom Ort der Insertion auf nervöser Bahn bis zu den korrespondierenden Spinalganglien wandert und von dort wieder retrograd in die Haut ausschwärmt. Mehr Interesse als diese theoretischen Differenzen verdient der Umstand, daß Virus aus recurrierendem Herpes anscheinend oft recurrierenden Herpes zu erzeugen vermag, daß also die Neigung zum Rezidiv von besonderen Eigenschaften des Stammes bestimmt wird und nicht von dem Bestehen latenter Virusdepots. In Anbetracht der großen Zahl der von HRUSZEK und von ZURUKZOGLU angestellten Experimente¹ darf man mit großer Bestimmtheit annehmen, daß sich unter den Versuchspersonen Individuen befanden, bei welchen eine aspezifische Provokation von Herpesmanifestationen erfolgreich gewesen wäre, Individuen also, welche nach der herrschenden Ansicht mit Herpesvirus latent infiziert waren. Auch diese Über-

¹ Analoge Versuche waren schon früher mit dem gleichen Resultat ausgeführt worden, so von B. LIPSCHÜTZ, CH. FLANDIN und G. FALCHI.

legung spricht dafür, daß die latente Infektion, falls sie überhaupt besteht, für die experimentelle Induktion des rezidivierenden Herpes nicht maßgebend ist, sowie in weiterer Folge, daß die Provokation des Herpes und das Rezidivieren nicht den gleichen Mechanismus haben müssen.

Direkte oder mittelbare Übertragungen des Herpes von kranken auf gesunde Menschen werden zwar von manchen Autoren als regulärer Verbreitungsmodus angenommen (BURNET und WILLIAMS, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES, H. HRUSZEK u. a.). Die gesicherten Beobachtungen sind aber, auch wenn man den Herpes genitalis miteinbezieht, recht spärlich, und O. NÄGELI berichtet über eigene Erfahrungen, welche gegen die Kontagiosität der herpetischen Eruptionen unter natürlichen Verhältnissen sprechen (z. B. dauerndes Freibleiben von Ehepartnern, wenn der andere Teil an schwerem rezidivierendem Herpes labialis leidet). Immerhin ist in den herpetischen Bläschen das Virus vorhanden, in bestimmten Entwicklungsphasen der Effloreszenzen sogar in hoher Konzentration, so daß seine Abgabe nach außen und seine Übertragung auf Gesunde als möglich zugegeben werden muß. Wie verhält es sich aber mit den hypothetischen Trägern, die ja in den Bevölkerungen unserer Länder in so ungeheurer Anzahl vertreten sein sollen? Sind sie geschlossene Träger oder Ausscheider?

Nun, es gibt eine Reihe von Publikationen, speziell von solchen älteren Datums, denen zufolge der Nachweis von Herpesvirus im Speichel gesunder Menschen erbracht werden konnte. Aber wo hat man nicht schon Herpesvirus gefunden? S. NICOLAU führt eine lange Liste aller „Fundorte“ an und schließt mit dem, eine ungewollte Kritik enthaltenden Satz: „Cette énumération, incomplète, montre l'ubiquité du virus herpétique; et, à juste raison, on peut dire qu'on l'a trouvé souvent, là où l'on s'attendait le moins!“ Ein sehr großer Teil dieser Befunde beruht auf Irrtümern, denen man gerade bei der Feststellung von Herpesvirus durch corneale und intracerebrale Verimpfung der Proben auf Kaninchen in hohem Grade ausgesetzt ist. Was das angebliche Vorkommen von Herpesvirus im Speichel gesunder Menschen anlangt, hatten FLEXNER und AMOSS (1925) in zahlreichen Versuchen nicht ein einziges einwandfrei positives Ergebnis: sie mußten sich sogar zu ihrer Überraschung überzeugen, daß der Nachweis von Virus im Speichel nur ausnahmsweise und nach Überwindung von Schwierigkeiten gelingt, wenn die untersuchte Person zur Zeit gerade einen Herpesausschlag auf den Lippen zeigt, eine Angabe, die, nebenbei bemerkt, nicht geeignet ist, die von mancher Seite behauptete Rolle von Tröpfeninfectionen zu stützen.

Objektiv beurteilt liegt die Sache jetzt so, daß die Ansichten über den Mechanismus des Trägertums und die Orte, an denen das persistierende Herpesvirus vorhanden sein soll, weit voneinander abweichen, daß die Angaben über Befunde von Herpesvirus im Organismus gesunder Menschen, sofern sie Zutrauen verdienen, in gar keinem Verhältnis zur Zahl der Virusträger stehen, wie sie die Phänomene des rezidivierenden und provozierbaren Herpes fordern würden, daß kein wie immer gearteter Beweis besteht, daß die hypothetischen Virusträger Virus ausscheiden und so die Infektion weiter verbreiten, und daß die epidemiologischen Beobachtungen wenig Anhaltspunkte liefern, daß sich der Herpes nach der Art kontagiöser Prozesse ausbreitet und erhält.

Man könnte den Einwand erheben, daß Herpesvirus beim Kaninchen im Speichel und im Nasensekret (J. R. PERDRAU, ACH. URBAIN und W. SCHAEFFER), im Urin (S. FLEXNER und AMOSS, ACH. URBAIN und W. SCHAEFFER) und in den Fäces (ACH. URBAIN und W. SCHAEFFER) gefunden wurde. Abgesehen davon, daß die positiven Resultate nur bei einem Bruchteil der Untersuchungen erzielt wurden und auch nicht durchwegs zuverlässig erscheinen, handelte es sich in allen Fällen um akut erkrankte Tiere und nicht um solche, welche den Infekt

schon vor längerer Zeit überstanden hatten und sich zur Zeit der Entnahme des Materials in gesundem Zustande befanden, d. h. nicht um Virusausscheider.

4. Poliomyelitis.

Das Problem der Existenz *gesunder Ausscheider von Poliomyelitisvirus* wurde bereits an anderer Stelle dieses Abschnittes ausführlich und von verschiedenen Gesichtspunkten aus erörtert (siehe S. 104ff.). Obwohl damit enge zusammenhängend, soll die *Persistenz und Ausscheidung des Virus als Folgezustand einer Erkrankung* hier gesondert behandelt werden, jedoch so, daß die Darstellung Wiederholungen so weit als möglich vermeidet.

a) Virusbefunde im Nasenrachenraum von Patienten und Rekonvaleszenten.

1939 veröffentlichten S. D. KRAMER, B. HOSKWITH und L. H. GROSSMAN eine die Zeit von 1911—1938 umfassende Liste, in welcher sämtliche Mitteilungen über die Isolierung von Poliomyelitisvirus aus dem Nasopharynx von Menschen zusammengestellt sind. Zirka 535 Untersuchungen¹ ergaben 64 positive Resultate; dazu kamen noch zwei weitere positive Ergebnisse, über welche KRAMER und seine Mitarbeiter in der zitierten Publikation berichten konnten. Von den 535 Untersuchungen betrafen 70 Individuen, welche in den Tabellen als Rekonvaleszenten („convalescent“) gesondert registriert werden, wobei aber die seit Beginn der Erkrankung bzw. seit der Entfieberung verstrichene Frist nicht angegeben erscheint; auf diese 70 Untersuchungen entfallen 22 positive Befunde.

Überlegt man sich die Bedeutung dieser Ziffern, so tritt eine Unstimmigkeit zutage. Auf Kranke oder post mortem untersuchte Fälle würden nämlich nur etwa 10%, auf rekonvaleszente Ausscheider dagegen 31% positive Befunde entfallen, was zunächst so aufgefaßt werden könnte, daß die Virusausscheidung meist erst nach Beendigung des akuten Krankheitsstadiums einsetzt. Bei der Durchsicht der einzelnen Posten der von S. D. KRAMER und seinen Mitarbeitern publizierten Tabelle ergibt sich jedoch eine andere Deutung. An den 22 positiven Befunden von Virus im Nasopharynx von Rekonvaleszenten ist nämlich eine bestimmte Autorengruppe (C. KLING, A. PETTERSSON und W. WERNSTEDT) mit nicht weniger als 17, also mit 77% beteiligt und diese Ausbeute war nicht durch eine außerordentlich hohe Zahl von Einzeluntersuchungen bedingt, indem die 17 positiven Ergebnisse an 31 Proben (= 54%) erzielt wurden. Gegen diese Angaben nahmen S. FLEXNER und H. L. AMOSS auf Grund ihrer eigenen Versuche Stellung, denen zufolge das Virus in den späteren Stadien der Krankheit, wenn überhaupt, nur selten festgestellt werden kann, selbst wenn man als Material für den experimentellen Nachweis nicht das Sekret der Schleimhaut, sondern chirurgisch entfernte Gebilde aus dem Nasopharynx (Tonsillen oder Adenoide) benutzt. KLING, PETTERSSON und WERNSTEDT hatten bei 9 Rekonvaleszenten die Virusausscheidung durch die Mundschleimhaut (und den Darm) durch 7 Monate fortlaufend geprüft und kamen zu dem Schluß, daß dieser Zustand sehr lange, in einem Falle 204 Tage (vom Beginn der Krankheit gerechnet) anhielt und daß die Untersuchung nur in einem Falle schon am 30. Tage negativ ausfiel. Den auffallenden Gegensatz zwischen diesen Behauptungen und ihren eigenen Ergebnissen führten FLEXNER und AMOSS darauf zurück, daß die schwe-

¹ Die Zahl der Untersuchungen entspricht nicht genau der Zahl der untersuchten Personen, da in einem Falle 4 Proben vom gleichen Patienten stammten, in einem zweiten und dritten Fall 4 bzw. 2 Proben von verschiedenen Individuen gemischt und die Gemische auf Affen verimpft wurden.

dischen Autoren zweifelhafte histologische Veränderungen im Zentralnervensystem der mit humanem Material geimpften Affen als Auswirkungen von abgeschwächtem Poliomyelitisvirus deuteten, während tatsächlich negative Resultate vorlagen.

In jüngster Zeit wurde die strittige Angelegenheit nochmals von A. B. SABIN und R. WARD überprüft. In einem ihrer Berichte beschäftigten sich SABIN und WARD (1) mit der Virusausscheidung während der ersten 2 Wochen der Erkrankung. Das Material stammte von 22 Patienten, und zwar wurden das Nasensekret und das Mundsekret (der Speichel) getrennt untersucht.

Zwecks Entnahme des *Nasensekrets* wurden Wattetampons 3 Tage hindurch in das eine sowie in das andere Nasenloch eingeführt, so daß man pro Patient 6, mit Sekret meist vollgesogene Tampons erhielt, die mit fester CO₂ zur Gefrierung gebracht und am Ende des 3. Tages miteinander vermischt wurden. Aus diesen Tampons wurden verschiedene Extrakte, teilweise durch bloßes Auspressen, teils durch Verdünnung mit NaCl-Lösung hergestellt und ein und demselben Affen intranasal instilliert und intracerebral sowie intraperitoneal eingespritzt. *Speichel* und *Mundsekret* wurden durch Ausspucken in Petrischalen während 3 Tagen gewonnen, wobei die Teilportionen zwecks Konservierung immer wieder in den Kühlschrank kamen. Ein Teil des gesammelten Sekrets wurde einem Affen intranasal eingeträufelt, der Rest mit Äther behandelt und dem gleichen Tier intraperitoneal und intracerebral eingepflegt.

Nicht eine einzige dieser Untersuchungen hatte ein positives Ergebnis. J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK prüften die Spülflüssigkeiten aus der Nase von 139 Patienten; 136 Proben gaben negative, 3 zweifelhafte Resultate, keine ein ausgesprochen positives. Dagegen konnte in den Tonsillen und im adenoiden Gewebe von 6 an Poliomyelitis gestorbenen Leichen dreimal Virus nachgewiesen werden, welches sich in zwei Fällen auch auf weitere Affen übertragen ließ.

b) Virus im Stuhle von Kranken (Rekonvaleszenten) und im Darminhalt von Poliomyelitisleichen.

Im Stuhl, in Spülflüssigkeiten des Darmes und im Inhalt des Colon descendens von Poliomyelitisleichen wurde das Virus von zahlreichen Autoren festgestellt (KLING, PETERSSON und WERNSTEDT, P. H. HARMON, J. D. TRASK, PAUL und VIGNEC, H. A. HOWE und BODIAN, J. D. TRASK, VIGNEC und PAUL, S. D. KRAMER, GILLIAM und MOLNER, S. D. KRAMER, HOSKWITH und GROSSMAN, P. LÉPINE und SÉDAILLAN, A. B. SABIN und R. WARD, J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK, J. KEMPF und M. SOULE), in vielen Fällen auch dann, wenn die gleichzeitige Untersuchung des Mund- und Nasenrachenraumes negativ ausgefallen war.

Wie kommt aber das Virus in den Stuhl bzw. in den Darminhalt? Wenn man an der bis vor wenigen Jahren herrschenden, aus ungezählten Experimenten an Affen abgeleiteten Vorstellung festhalten wollte, daß die Nasenschleimhaut auch beim Menschen die reguläre Eintrittspforte und das normale Ausscheidungsorgan des Poliomyelitisvirus darstellt, daß also die Übertragungen von „Nase zu Nase“ erfolgen, müßte man entweder an das Verschlucken von Nasensekret (S. D. KRAMER, HOSKWITH und GROSSMAN) oder an einen zentrifugalen (retrograden) Virustransport aus dem Zentralnervensystem in den Darm auf nervöser Schiene denken oder schließlich an einen Übertritt von zirkulierendem Virus aus dem Blut in die Darmwand. A. B. SABIN und R. WARD (2) lehnen jedoch jede dieser drei Möglichkeiten ab.

Sie hatten Gelegenheit, bei 9 an Poliomyelitis gestorbenen Menschen vollständige Autopsien vorzunehmen und eine sehr große Anzahl von Geweben tier-

experimentell auf ihren Virusgehalt zu prüfen. Sie fanden das spezifische Agens hauptsächlich im *Zentralnervensystem* und im *Verdauungstrakt*, aber *nicht* in der Nasenschleimhaut, im Bulbus olfactorius und in der Substantia perforata anterior, und folgern daraus, „daß weder die Olfactoriusbahn noch der obere Respirationstrakt in den von ihnen untersuchten Fällen menschlicher Poliomyelitis an dem Krankheitsgeschehen beteiligt war“. Hinter dieser vorsichtigen Formulierung verbirgt sich aber, wie aus dem Text der einschlägigen Arbeiten von SABIN und WARD (1—4) klar hervorgeht, die dezidierte Meinung, daß eben nicht diese Wege für die Poliomyelitis des Menschen in Betracht kommen, sondern daß die primäre Lokalisation und Eintrittspforte des Virus im Darm zu suchen sind. Bei den oben erwähnten Autopsien wurde das Virus in der Wand des Pharynx und des oberen Ileum, und nur einmal im Gewebe des Colon descendens nachgewiesen, während es im Inhalt des Colon descendens regelmäßig zu finden war. Über den Zusammenhang zwischen der Lokalisation im Darm und dem Befall des Zentralnervensystems sprechen sich SABIN und WARD nicht bestimmt aus; da sie aber in einem Falle Virus im Plexus des Bauchsympathicus konstatierten, halten sie es für wahrscheinlich, daß diese Nervenbahn die sekundäre (zentripetale) Verbindung zwischen Darm und Rückenmark, wenn auch nicht immer, so doch gelegentlich vermittelt. Den umgekehrten (zentrifugalen) Weg vom Zentralnervensystem in die Darmwand schließen die Autoren aus, da sie nie den Beweis zu erbringen vermochten, daß das Virus aus dem Zentralnervensystem den Weg zu peripheren Nervenzellen (oberes Ganglion des Halsympathicus, Nebenniere, Speicheldrüsen) findet. Hierzu gesellte sich als unterstützendes Argument der Umstand, daß A. B. SABIN in Fortführung und Erweiterung früherer Angaben von L. W. SMITH in den Bulbi olfactorii menschlicher Poliomyelitisleichen niemals jene histologischen Veränderungen zu Gesicht bekam, welche bei intranasal infizierten Affen die Olfactoriusbahn als zuleitende Schiene regelmäßig markieren, während sie, wenn das Virus auf einem anderen Wege die Nervenzentren erreicht — ebenso wie bei dem spontan erkrankten Menschen —, fehlen (A. B. SABIN und P. K. OLITSKY). Auf der anderen Seite konnten A. B. SABIN und R. WARD (4) zeigen, daß man bei Rhesus-Affen, welche in den Nervus ischiadicus mit einem bestimmten Stamm („M. V.“) geimpft wurden, nirgends Virus nachzuweisen vermag, außer im infizierten Nerven und im Rückenmark, vor allem auch nicht in der Wand des Dünndarmes; das Virus, das man beim Menschen im Darm und im Darminhalt findet, könne daher nicht aus dem Zentralnervensystem stammen, sondern sei auf die Infektion der Eintrittspforte i. e. des Darmes zu beziehen, eine Auffassung, die auch J. A. TOOMEY vertritt.

Untersuchungen von Sektionsmaterial haben auch J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK mitgeteilt. Die Ergebnisse deckten sich der Hauptsache nach mit den von SABIN und WARD erzielten Resultaten; insbesondere wurde Virus außer im Rückenmark nur noch im Dickdarminhalt (in 5 von 8 untersuchten Fällen) und in der Tonsille und den Adenoiden (3 von 4 Fällen) festgestellt, nicht aber im Bulbus olfactorius oder in der Großhirnrinde. War das Rückenmark nicht virushaltig, was regelmäßig der Fall war, wenn der Exitus erst nach Ablauf der 3. Krankheitswoche eingetreten war, so fehlte das Agens auch in allen anderen Organen, mit einer einzigen Ausnahme, wo es im Bulbus olfactorius durch den Affenversuch nachgewiesen werden konnte. Diese Ausnahme, d. h. der Nachweis von Virus im Bulbus olfactorius als einziger Fundstätte ist nicht verständlich und es wird auch gar kein Versuch gemacht, sie zu erklären. Besonders bemerkenswert erscheint folgende Angabe: Mit der Krankheitsdauer sank die Zahl der positiven Virusbefunde im Rückenmark; sie belief sich in der 1. Woche auf 55, in der 2. Woche auf 56, in der 3. Woche nur mehr

auf 14% und in der 4. Woche wurden überhaupt keine positiven Resultate erzielt. Analog verhielten sich die Virusbefunde im Stuhl von Kranken: 33% positiver Resultate in der 1., 22% in der 2., 18% in der 3. Woche, 0 in der 4. Woche. Die absoluten Ziffern, aus welchen die Prozentzahlen errechnet wurden, sind allerdings klein, aber der Parallelismus, der auch von den Autoren hervorgehoben wird, ist doch deutlich. Was er zu bedeuten hat, ist vorderhand fraglich; es scheint indes, daß die Ausscheidung durch den Stuhl mit den Vorgängen im Rückenmark irgendwie zusammenhängt, vielleicht in dem Sinne, das beide Teilerscheinungen eines übergeordneten Prozesses sind.

c) Kritik der gastrointestinalen Theorie.

So ist an die Stelle der scheinbar so gut und mit enormem Aufwand an Zeit und Geld begründeten Lehre der Übertragung von „Nase zu Nase“ die These der Übertragung von „Darm zu Darm“ getreten, in welcher die Lokalisation im Zentralnervensystem sozusagen nur mehr als fatales Anhängsel eines an sich harmlosen Infektionsprozesses figuriert. Die epidemiologische Auffassung wäre damit um so radikaler verändert, als J. D. TRASK und J. R. PAUL, J. R. PAUL, TRASK und SVEN GARD, J. R. TRASK, PAUL und CULOTTA, C. KLING, C. KLING, OLIN, FAHRÆUS und NORLIN das Poliomyelitisvirus in Abwässern nachzuweisen vermochten, und zwar nicht etwa nur in den Abwässern von Spitälern, in welchen Poliomyelitispatienten lagen, sondern im Abwasserstrom von Sammelkanälen, welche große Abwassermengen führten (KLING, KLING und Mitarbeiter, J. D. TRASK und PAUL). A. B. SABIN und WARD (2) betonen, in welchem hohem Grade diese Feststellungen die Ähnlichkeit zwischen der menschlichen Poliomyelitis und der THEILERSchen Encephalomyelitis der Mäuse hervortreten lassen; in epidemiologischer Hinsicht, nämlich mit Beziehung auf die dominierenden Infektionswege stellen sie aber noch einen ganz anderen Kontakt her: die Analogie zum Typhus abdominalis und seinen durch Fäces vermittelten direkten und indirekten Kontaktinfektionen einschließlich der Seuchenausbrüche hydrischer Genese.

Bevor man sich entschließt, alles über Bord zu werfen, was bis vor kurzem Geltung hatte, muß natürlich die Tragfähigkeit der neuen Anschauungen sorgfältig untersucht werden, schon um nicht noch einmal „umlernen“ zu müssen. Statt dessen stoßen wir auf das Bestreben, die noch nicht völlig gesicherte Sachlage nach jeder kombinatorisch denkbaren Richtung hin hypothetisch auszubehaupten (TRASK und PAUL, KLING und seine Mitarbeiter, G. FANCONI und H. ZELLWEGER u. a.). Es sollen nun hier einige Einwände gegen die enterale Pathogenese der menschlichen Poliomyelitis kurz erörtert werden:

1. Es ist bekanntlich nicht leicht, Affen vom Darm aus zu infizieren. C. LEVADITI (1, S. 596—599) hat die Ergebnisse derartiger Versuche zusammengestellt und neuere Experimente von F. M. BURNET, JACKSON und ROBERTSON sowie von H. A. HOWE und D. BODIAN haben die Sachlage nicht wesentlich verschoben. Es wurde und wird zwar behauptet, daß die Resultate von der gewählten Affenspezies abhängen, indem *Macacus rhesus* für die enterale Infektion weniger empfänglich ist als *Macacus cynomolgus* oder Schimpansen. Die Zahl der Versager war jedoch sehr groß und die positiven Ergebnisse haben wegen der gewaltsamen Bedingungen, durch welche sie erzwungen wurden, keine Bedeutung für die Übertragungen von Mensch zu Mensch, die ja nicht so zustandekommen, daß konzentriertes Poliomyelitisvirus in eine freigelegte Darmschlinge eingespritzt wird oder daß man 100—250 ccm virushaltigen Stuhles verschluckt u. dgl. Sehr charakteristisch ist der Schluß, zu welchem C. KLING, C. LEVADITI und HORNUS bei einem Vergleich der Empfänglichkeit des *Macacus cynomolgus* (also einer besonders geeigneten Affenart) für die Infektion von der Nasopharyngealschleim-

haut und von der Schleimhaut des Verdauungstraktes aus gelangten; sie stellen fest, daß der an erster Stelle genannte Übertragungsmodus unbestreitbar sicherer ist als der zweite.¹ Daß sich dies beim Menschen umgekehrt verhält, ist möglich, aber nicht wahrscheinlich und auch nicht einwandfrei bewiesen.

2. Das Virus konnte von A. B. SABIN und WARD (2) auch in der Schleimhaut des Pharynx nachgewiesen werden, welche teils allein, teils zusammen mit den Tonsillen derselben Poliomyelitisleiche auf Affen verimpft wurde. Sind nun auch Pharynx und Tonsillen Eintrittspforten, haben diese Gewebe, wenn in denselben Virus festgestellt werden kann, als infiziert zu gelten und in welcher Beziehung stehen diese Infektionen zu den Lokalisationen in der Dünndarmwand? Diese Fragen drängen sich auf, wenn man folgende, etwas gekürzt wiedergegebene Tabelle von SABIN und WARD (2, S. 786) betrachtet:

Verteilung des Virus über den Verdauungstrakt von sieben an Poliomyelitis gestorbenen Menschen.

	Nummer des Falles						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Pharynx, Schleimhaut ± Tonsillen	+	+	0	0	+	+	0
Ileum, gewaschene Wand	+	0	+, 0	0, 0	0	+	0
„ Inhalt	+	+	0	0	0	0	0
Colon desc., gewaschene Wand ...	0	0	0	0	0	+	0
„ „ Inhalt	leer	+	+	+	+	+	+

Man registriert somit Fälle, wo das Virus weder in der Pharynxschleimhaut noch in der Wand des Ileums oder des Colon descendens, sondern nur im Inhalt des Colon descendens gefunden wurde (IV und VII), andere, wo es nur im Pharynx und im Inhalt des Colon descendens, nicht aber in der Wand des Ileums festzustellen war (V), solche, wo sich alle Proben — auch die gewaschene Wand des Colon descendens — als virushaltig erwiesen, mit Ausnahme der Contenta des Ileums (VI), endlich auch Fälle, in welchen der Inhalt des Ileums sowohl als auch jener des Colon descendens Virus in nachweisbarem Zustande enthielten, die Wände beider Darmabschnitte dagegen nicht (II) — kurz, alle denkbaren Kombinationen, so daß man nicht weiß, was man mit dem anscheinend konstanten Vorkommen von Virus im Inhalt der unteren Darmabschnitte anfangen soll.

Wenn ferner das Virus in der Pharynxschleimhaut — bei einem nicht genau bestimmbar Prozentsatz der Fälle — vorhanden ist, sollte es, wenn man die Analogie mit der hypothetischen Beziehung zwischen dem Virusgehalt der Darmwand und jenem des Darminhaltes gelten läßt, auch im Sekret der Pharynxschleimhaut auftreten, womit aber die Angabe, daß es sich nie im Nasenschleim, im Speichel oder im ausgeworfenen Sputum nachweisen läßt [A. B. SABIN und WARD (1)], nicht recht übereinstimmt.

¹ In einer Fußnote zu einer ihrer Publikationen definieren A. B. SABIN und R. WARD (1, S. 521) den Unterschied zwischen *M. rhesus* und *cynomolgus* in der Weise, daß beim Rhesus-Affen nur die Riechschleimhaut als Eintrittspforte in Betracht zu kommen scheint, während das Virus bei *Cynomolgus* sowohl in den oberen wie in den unteren Abschnitten des Verdauungskanales einzudringen vermag. Da sich nach der intranasalen Instillation von rohem Stuhlmaterial ein großer Teil der eingeträufelten Substanz über den Verdauungskanal verteilt, seien eben die *Cynomolgus* empfänglicher. Eine Veröffentlichung der experimentellen Beweise für diese Behauptung ist mir bisher nicht zu Gesicht gekommen.

3. Alle Autoren stimmen in dem Punkte überein, daß virushaltiges Material humaner Provenienz nicht stark verdünnt werden kann, ohne seine Infektiosität für Affen einzubüßen. Schon S. FLEXNER und H. L. AMOSS betonten diesen Umstand und erklärten daher, daß negative Resultate, welche bei der Übertragung von Spülflüssigkeiten des Nasenrachenraumes auf Affen erzielt wurden, aus diesem Grunde keine entscheidende Bedeutung besitzen. Durch fortgesetzte Affenpassage kann man allerdings die Infektiosität, speziell in gewissen Partien des Zentralnervensystems geimpfter Affen, derart steigern, daß noch in 0,00125 ccm einer 5%igen Emulsion die minimale cerebral infizierende Virusdosis enthalten ist (M. BRODIE). Für den Nachweis im Abwasser kommt aber nicht Affenpassagevirus, sondern nur von Menschen stammendes Virus in Betracht; es muß daher überraschen, daß das Virus in Abwasserproben durch Verimpfung auf Affen festgestellt werden konnte, und zwar nicht bloß in den Abwässern von Spitälern, in welchen sich zur Zeit Poliomyelitispatienten befanden, sondern in den flutenden Abwässern großer Sammelkanäle (C. KLING, KLING, OLIN, FAHRBAUS und NORLIN, TRASK und PAUL), obwohl die Zahl der Poliomyelitiskranken im entwässerten Wohnbezirk minimal war (TRASK und PAUL). In der Arbeit von J. D. TRASK und J. R. PAUL wird (S. 6) betont, daß es bisher nicht möglich war, Virus im Abwasser während epidemiefreier Zeiten nachzuweisen. Das würde indes nur bedeuten, daß das Virus im Abwasser nur relativ kurze Zeit haltbar ist, wofür auch Erfahrungen im Laboratorium (S. GARD, TRASK und PAUL) sprechen.¹ Daß aber trotz der enormen Verdünnung Virus im Abwasser festgestellt werden konnte, ist und bleibt vorläufig rätselhaft, selbst wenn man berücksichtigt, daß die Abwassermengen, welche den Versuchsaffen intraperitoneal injiziert wurden, 20 ccm und mehr betragen und daß in einem Falle (TRASK und PAUL) die Konzentrationsmethode von S. GARD (siehe S. 108) angewendet worden war, welche die Einverleibung der in Wassermengen von mehreren hundert Kubikzentimeter enthaltenen Viruselemente gestatten soll.

Um die Schwierigkeiten, die sich aus den Virusbefunden in Stuhl und Abwasser, aus der auf dieselben aufgebauten gastrointestinalen Theorie und ihrer Harmonisierung mit den epidemiologischen Phänomenen ergeben, zu meistern, hat man, wie schon früher erwähnt wurde, ungehemmt zu Hypothesen gegriffen und u. a. auch an eine Vermehrung des Virus außerhalb seiner natürlichen Wirte gedacht. Diese „exogene“ Vermehrung soll nach TRASK und PAUL in Fliegen, nach KLING in freilebenden Flagellaten (Bodoniden), nach FANCONI und ZELLWEGGER an Fäkalbakterien stattfinden, an denen die kleinen Viruselemente nach Art der Bakteriophagen haften. Konnte man über die dogmatische Hartnäckigkeit erstaunen, mit welcher bis jetzt der Satz verteidigt wurde, daß alles, was da „Virus“ heißt, nur im Inneren von Wirtszellen proliferieren kann und daß gerade diese Beschränkung das ureigenste Wesen der Virusarten ausmache, so ist man jetzt nicht minder über die Leichtigkeit befremdet, mit welcher dieser Standpunkt aufgegeben wird, wenn eine noch nicht gefestigte Auffassung der Poliomyelitis in statu nascendi hypothetisch ausgeschöpft werden soll.

4. Die Poliomyelitis, welche lange Zeit hindurch nur vereinzelt auftrat, hat sich im Laufe von etwa 60 Jahren in eine ausgesprochen epidemische Infektionskrankheit verwandelt, zuerst in Skandinavien (Norwegen, Schweden), dann auch in Deutschland und in anderen europäischen Ländern und etwa um dieselbe Zeit wie in Deutschland in den Vereinigten Staaten von Nordamerika. Einige

¹ In Stuhlproben scheint sich das Virus besser zu halten, da es noch nach dem Transport über lange Strecken während der Sommerhitze nachzuweisen war (J. D. TRASK, PAUL und VIGNEC).

Statistiken lassen den Schluß zu, daß sich erwachsene Personen an der Poliomyelitis morbidität in den letzten Jahren stärker beteiligen als früher. Beide Erscheinungen sind mit der Annahme, daß die Krankheit durch den Stuhl und durch fäkal verunreinigte Wässer und Abwässer übertragen wird, nicht vereinbar; der Typhus abdominalis und die Dysenterie zeigen das entgegengesetzte Verhalten.

Auch hier soll eine Hypothese über den Berg helfen. FANCONI und ZELLWEGER stellen sich vor, daß in den früheren Zeiten hygienischen Tiefstandes schon in den ersten Lebensjahren eine kontinuierliche, subklinische „fäkale“ Immunisierung gegen Poliomyelitis einsetzte, während sich mit fortschreitender Zivilisation weniger Gelegenheit „für die fäkale Infektion und vor allem auch für die fäkale Feiung“ bietet, so daß die manifesten Infektionen häufiger werden und eine größere Zahl von Menschen in nicht-immunisiertem Zustande heranwächst. Die Beweisführung vermag in keiner Weise zu überzeugen.

5. Wenn man die Befunde von Poliomyelitisvirus im Nasenrachensekret bzw. in Spülflüssigkeiten des Nasenrachenraumes, welche von KLING, PETERSSON und WERNSTEDT erhoben wurden, wegen der nicht ganz einwandfreien Begründung (siehe S. 153) ablehnt, bleibt noch immer eine wenn auch kleine Zahl von positiven Untersuchungen übrig, die nicht angefochten werden können. Das tun auch A. B. SABIN und R. WARD (1) nicht, vielmehr halten sie es doch für notwendig zu prüfen, ob das Virus, wenn es unter natürlichen Bedingungen im Pharynx auftritt, in den Ösophagus herabgeschwemmt oder seinen Weg in das Mundsekret finden und mit demselben nach außen befördert werden kann.

Vorerst wollen freilich A. B. SABIN und R. WARD (1) die Berichte über Virus im Mundsekret oder in Spülflüssigkeiten des Nasenrachenraumes nicht unbedingt in dem Sinne gelten lassen, daß das Virus am Fundorte ausgeschieden worden sein muß. Sie erwähnen (l. c., S. 528) nicht veröffentlichte Versuche, denen zufolge bei Affen, welche per os infiziert worden waren, Virus in der Mundschleimhaut, in der Zunge, in der Pharynxwand und in Spülflüssigkeiten der Mundhöhle zu finden war, wo es bei der Aufnahme der infizierenden Mahlzeit einfach liegengeblieben sein konnte. Es wird verlangt, daß man auch bei Menschen in den ersten Krankheitstagen oder an Leichen ähnliche Untersuchungen anstellt, bevor man ein abschließendes Urteil über den Mund als Austrittsstelle des Virus fällt. Die hier angestrebte Deutung der Virusbefunde im Mund und Rachen ist jedoch nicht plausibel, nicht einmal für die forcierten Bedingungen, unter welchen infizierende Fütterungsexperimente an Affen vorgenommen werden, geschweige denn für die natürliche Infektion des Menschen; übrigens konnten KRAMER, SOBEL, GROSSMAN und HOSKWITH im Nasensekret von zwei Kindern noch 13 bzw. 16 Tage nach Ausbruch der Krankheit das Virus nachweisen, so daß an eine Deponierung anlässlich einer infizierenden Aufnahme per os mit anschließender Persistenz nicht zu denken war.

6. Nach A. B. SABIN und R. WARD (1) läßt sich das Virus im Stuhl von Kindern, welche das 8. Lebensjahr noch nicht überschritten haben, weit häufiger nachweisen (50% der Untersuchungen) als bei Patienten von 8 oder mehr Jahren (12%). Selbstverständlich ist die Verlegung der Trennungslinie der beiden Gruppen an das Ende des 8. Lebensjahres ein statistisches Artefakt; KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK bezeichnen ebenso willkürlich das 16. Lebensjahr als Grenze, weil sich bei ihren Untersuchungen die positiven Resultate zwischen dem 10. und 15. Lebensjahr zu häufen schienen. Auch dies ist natürlich unrichtig; der Sachverhalt wird wohl am besten charakterisiert, wenn man mit J. D. TRASK, PAUL und VIGNEC feststellt, daß die Zahl der positiven Stuhlbefunde dem Alter der Patienten umgekehrt proportional ist. Diese großen Differenzen zwischen jüngeren und älteren Individuen sind unverständlich.

A. B. SABIN und R. WARD (1) erblicken eine mögliche Erklärung in der Annahme, daß sich das Virus im Organismus kleiner Kinder stärker vermehrt. Im

Inhalt des Colon descendens von an Poliomyelitis gestorbenen Menschen konnte aber das Virus auch dann festgestellt werden, wenn die Individuen älter als 8 Jahre waren, und zwar in 5 solchen Fällen 5mal („100%“); die Ausflucht, daß es sich um letal abgelaufene Prozesse gehandelt habe und daß die Intensität der Virusvermehrung nicht bloß vom Alter der Patienten, sondern auch von der Schwere der Infektion abhängt, halten SABIN und WARD selbst für willkürlich bzw. für unbewiesen. In der Tat steht diese Deutung mit der Angabe von J. TRASK, PAUL und VIGNEC in Widerspruch, daß die positiven Stuhlbefunde bei der nicht-paralytischen, meist rasch in Genesung übergehenden Form der Poliomyelitis 4—6mal häufiger sind als bei den schweren paralytischen Fällen — womit allerdings ein weiteres Problem zur Diskussion gestellt wird.

Wenn man somit die Angaben über das Auftreten von Poliomyelitisvirus im Darminhalt bzw. in den Stuhlentleerungen an Hand der Originalarbeiten gewissenhaft überprüft, stößt man auf zahlreiche Widersprüche und Unklarheiten, welche eine definitive Stellungnahme zugunsten der gastrointestinalen Theorie als gewagt erscheinen lassen. Man kann sich aber, ohne sich vorzeitig zu binden, die Frage nach der Intensität und der Dauer der Virusausscheidung durch den Stuhl vorlegen.

d) Menge des durch den Stuhl abgesonderten Virus und Dauer der Ausscheidung.

Über die *Menge (Konzentration) des Virus im Stuhl* gibt eine Untersuchung von J. D. TRASK, PAUL und VIGNEC (2) einen Anhaltspunkt.

Ein dreijähriges, an paralytischer Poliomyelitis erkranktes Mädchen setzte am 9. Krankheitstag 10 g harten Stuhl ab. Das Material wurde mit 320 ccm destillierten Wassers verrieben und mit 50 ccm Äther versetzt; nach eintägigem Aufenthalt im Kühlschrank wurden 120 ccm ($\frac{1}{3}$ der Stuhlprobe entsprechend) auf 65 ccm eingengt und nach weiteren 24 Stunden 20 ccm des Konzentrates (= $\frac{1}{9}$ der Stuhlprobe) einem *Macacus rhesus* intraperitoneal injiziert. Das Tier reagierte nach 10tägiger Inkubation mit Fieber und Lähmungen und wurde am 12. Tage nach der Impfung getötet. Typischer histologischer Befund, eine weitere Affenpassage positiv.

Aus 1 g Stuhl konnte somit eine letale Virusdosis (für einen intraperitoneal infizierten Rhesus-Affen) isoliert werden. Natürlich könnte die Viruskonzentration auch wesentlich höher gewesen sein.

Was die *Dauer der Virusausscheidung mit dem Stuhl* anlangt, sind unsere Kenntnisse dürftiger als man nach der großen Zahl der ausgeführten Untersuchungen annehmen sollte.

Die Befunde von C. KLING, PETERSSON und WERNSTEDT sind, wie schon mehrfach betont wurde, nicht einwandfrei, und spätere Autoren haben meist Stuhlproben aus den ersten zwei Wochen der Krankheit untersucht, vielfach sogar aus den ersten Tagen, wie z. B. A. B. SABIN und R. WARD (1), S. D. KRAMER, B. HOSKWITH und L. H. GROSSMAN, H. A. HOWE und BODIAN u. a. Eine Zusammenstellung des bis 1938 vorliegenden Materials von A. VIGNEC, TRASK und PAUL ergab, daß der Virusnachweis im Stuhl während der ersten fünf Krankheitstage öfter gelingt als nach Ablauf dieser Frist (31:18,9%) und H. A. HOWE und BODIAN verzeichneten bei 7 Stuhlproben aus den ersten fünf Krankheitstagen überhaupt kein negatives Resultat. Es hat somit den Anschein, als ob die Virusausscheidung durch den Stuhl bald nach dem Einsetzen klinischer Symptome (oder vielleicht schon in den späteren Stadien der Inkubationsperiode) beginnen und rasch spärlicher werden würde, um schließlich ganz zu versiegen, allerdings nicht bei allen Erkrankten zur gleichen Zeit.

„Spätausscheider“ wurden gelegentlich beobachtet, so von LÉPINE, SÉDAILLAN und SAUTTER, welche das Virus im Stuhl eines abortiv erkrankten Mädchens noch am 41., 74. und 128. Tage fanden, von J. F. KESSEL, MOORE, STIMPERT und FISK (zwei positive Resultate im Abstand von 2 Monaten; die dritte Untersuchung nach Ablauf eines 3. Monats fiel negativ aus), von J. D. TRASK, VIGNEC und PAUL, welche bei einem abortiven Fall am 2., 14. und 25. Tage Virus im Stuhl feststellten, aber nicht mehr am 43. und 64. Tage. Häufig scheinen solche Vorkommnisse nicht zu sein, da KESSEL und seine Mitarbeiter mit einer soeben erwähnten Ausnahme stets negative Ergebnisse hatten, wenn sie die Stuhluntersuchung bei Individuen mit positivem Befund ein zweites oder drittes Mal nach Ablauf von 1—3 Monaten wiederholten.

Wovon die Dauer der Ausscheidung durch den Stuhl abhängt, ist unbekannt. Die Schwere der vorausgegangenen Erkrankung ist zweifellos nicht maßgebend; die Mitteilungen über Spätausscheider betreffen ja abortive oder fast latente Fälle.

Über „Dauerausscheider“ im strengen Wortsinn liegt kein Bericht vor.

Wie sich die Ausscheidung des Poliomyelitisvirus durch den Stuhl in der Epidemiologie der Krankheit auswirkt und ob sie speziell die endemische Einnistung der Seuche begünstigt, läßt sich vorläufig noch nicht entscheiden. Schon bei den Infektionskrankheiten, welche durch mikroskopisch leicht faßbare und zum Teil auch auf unbelebten Medien kultivierbare Erreger hervorgerufen werden, hat die Klarstellung solcher Verhältnisse lange Zeit und großen Arbeitsaufwand erfordert; und in vielen Fällen ist auch auf diesem Gebiet noch manches wichtige Problem ungelöst geblieben, wie man sofort zugeben wird, wenn man an die Meningokokkeninfektionen oder an die bazilläre Dysenterie denkt.

5. Die ansteckende Blutarmut der Pferde.

Was hier den Virusträger charakterisiert, ist vor allem die Tatsache, *daß sich das Virus dauernd im Blut hält*; noch 10 Jahre nach spontanen Erkrankungen und bis zu 14 Jahre nach experimentellen Übertragungen konnte die Infektiosität des Blutes infizierter Pferde festgestellt werden. Es sind nicht nur die natürlichen Wirte (Pferde, Maultiere und Esel), bei welchen man diese zeitlich unbegrenzte Virämie beobachtet, sondern auch Tierarten, deren geringe Empfänglichkeit spontane Infektionen ausschließt und nur erfolgreiche Übertragungen unter den gewaltsamen Bedingungen des Laboratoriumsversuches ermöglicht. Im Blut infizierter Schweine konnte das Virus noch nach 196, im infizierten Huhn noch nach 165 Tagen nachgewiesen werden (zitiert nach HUTYRA, MAREK und MANNINGER). Im Schrifttum findet man ferner Mitteilungen über Infektionen von Menschen; drei betrafen Tierärzte, welche mit infektiös-anämischen Pferden von Berufswegen zu tun hatten, ein Fall (LÜHRS) eine zufällige Ansteckung durch den Stich mit einer Impfnadel bei der Operation eines kranken Pferdes. Die Diagnose wurde durch Rückübertragungen von Blut und Serum der Patienten auf gesunde Pferde gesichert; diese Rückübertragungen, welche zum Teil mit kleinen Mengen (1 ccm Blut oder Serum) wiederholt vorgenommen wurden, gaben bei LÜHRS noch nach 3 Jahren, in den anderen Fällen bis zu 7 Jahren positive Resultate. Das Virus hält sich somit im Blut des Menschen ebenfalls viele Jahre, und zwar anscheinend in erheblicher Konzentration.

Ob sich das Virus auch in der Zirkulation völlig refraktärer Tierspezies längere Zeit hält, ist meines Wissens nur von L. BALOZET (3) in einigen wenigen Experimenten geprüft worden; bei Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Hühnern, Affen (*Papio babuin*) waren die Ergebnisse negativ, und nur bei einem Hammel, der wiederholte Einspritzungen großer Mengen virushaltigen Serums erhalten

hatte, lieferte die Rückübertragung des Blutes auf Esel noch 8 Tage nach der letzten Injektion ein positives (nach 40 Tagen ein negatives) Resultat. Da die Angaben von BALOZET den Erfahrungen anderer Autoren (z. B. hinsichtlich der Viruspersistenz im Huhn, siehe oben) widersprechen, sollte die Frage systematisch und mit größerem Tieraufwand untersucht werden. Was aber schon jetzt sicher bekannt ist, erscheint merkwürdig genug, speziell wenn man zum Vergleich eine Virämie anderer Art, nämlich die Hühnerpest heranzieht. Bei der ansteckenden Blutarmut der Einhufer kann die Viruskonzentration im Blut solche Grade erreichen, daß schon sehr geringe Mengen Blut (0,01 ccm) genügen, um ein Pferd, dem man eine solche Dosis subcutan oder intravenös einspritzt, zu infizieren; statt Vollblut kann man auch Plasma oder Serum verwenden. Gleiche Verhältnisse wurden bei der Hühnerpest konstatiert, wo die infizierende Menge Vollblut auf 10^{-9} ccm hinabgehen kann und die minimale infizierende Dosis Serum auf 10^{-6} ccm. Infiziert man aber Gänse mit Hühnerpestvirus, so kommt es zwar auch zu einer Virämie, die jedoch transitorisch ist und — falls die Tiere lange genug leben — um den 5.—9. Tag post infectionem vollständig zurückgeht; die wirksam infizierte Gans kann zur Zeit des Exitus virusfreies Blut und virusfreie Organe besitzen, d. h. das Virus läßt sich durch Verimpfung solchen Materials auf normale Hühner nicht mehr nachweisen (R. DOERR und R. PICK). Wie R. DOERR, S. SEIDENBERG und L. WHITMAN, R. DOERR und S. SEIDENBERG und nach ihnen auch andere Autoren (O. NIESCHULZ und A. BOS, J. JANSEN und O. NIESCHULZ, W. A. COLLIER, G. M. FINDLAY und R. D. MACKENZIE usw.) zeigen konnten, lassen sich auch Säugetiere (Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten, Affen, Igel, Frettchen) mit Hühnerpestvirus infizieren und diese Infektionen können in zum Teil längeren homologen Passagereihen fortgeführt werden. Stets aber verschwindet das Virus rasch aus dem Organismus und vor allem werden Blut und Serum schon nach wenigen Tagen virusfrei, selbst wenn in großen Quantitäten von Organparenchymen noch so viel Virus übriggeblieben ist, um ein Huhn zu infizieren. Experimentelle Beweise, daß sich bei einer der aufgezählten Tierarten ein Zustand entwickeln könnte, den man als einen ausscheidenden Träger von Hühnerpestvirus definieren müßte, liegen nicht vor, vielmehr spricht die in diesem Falle ziemlich ausgedehnte Laboratoriumserfahrung gegen diese Möglichkeit. Daß *Hühner* zu Ausscheidern werden können, ist zwar oft auf Grund epizootologischer Erfahrungen behauptet worden (vgl. K. BELLER und E. TRAUB), aber schon aus dem Grunde unwahrscheinlich, weil die Hühnerpest so gut wie immer letal abläuft. Dafür, daß die Infektion bei Hühnern oder anderen empfänglichen Vogelarten subklinisch verlaufen kann, oder daß sich erkrankte Vögel erholen und dann längere Zeit hindurch Virus absondern, gibt es keine einwandfreie Beobachtung. C. HALLAUER und S. SEIDENBERG fanden zwar, daß aktiv hyperimmunisierte und mit großen Dosen Virus reinfizierte Hähne gesunde Hennen regelmäßig (wahrscheinlich durch ihr Sperma) infizierten, ohne selbst zu erkranken, und zwar merkwürdigerweise nur zwischen dem 2. und 5. Tag nach der Reinfektion; gerade in Anbetracht dieser zeitlichen Begrenzung ist es jedoch sehr fraglich, ob man von einer „latenten Reinfektion“, d. h. von einer Virusvermehrung ohne pathologische Auswirkung sprechen kann, oder ob nicht einfach die enormen Virusmengen, welche den Hühnern *intravenös* injiziert wurden (5—10 Millionen infizierende Minimaldosen), aus dem Körper eliminiert wurden. Normale Hähne, welche gleichzeitig Immuserum und Virus — ebenfalls massive Quantitäten (1 Million infizierende Minimaldosen) — intravenös erhalten hatten, vermochten die Infektion, *bevor* sie selbst erkrankten, durch den Geschlechtsakt auf Hennen zu übertragen. Rein äußerlich betrachtet, könnte man hier von Virusausscheidung in der Inkubation, also in einer latenten

Phase des Infektionsprozesses sprechen; aber die Überschwemmung des Blutes mit Virus macht diese Deutung zweifelhaft. Unter natürlichen Bedingungen spielen diese theoretisch interessanten Versuchsergebnisse keine Rolle.

Wir stellen somit beim Virus der infektiösen Anämie der Einhufer die Neigung zur Persistenz fest, beim Hühnerpestvirus das Gegenteil, d. h. die Tendenz zur Autosterilisation, und zwar ohne Rücksicht auf die Empfänglichkeit der natürlichen und experimentellen Wirte. Der Gegensatz muß daher in erster Linie in der Natur der beiden Virusarten begründet sein; wie man sich aber den Unterschied vorzustellen hat, ist unklar. Manche Autoren machen auch in diesem Falle eine Differenz der immunisierenden Wirkung verantwortlich, die beim Hühnerpestvirus einen hohen Grad erreichen, beim Anämievirus dagegen fehlen oder für die Autosterilisation nicht ausreichen soll. Daß aber die Persistenz sowohl als auch die Autosterilisation von der Empfänglichkeit der infizierten Tierarten nicht beeinflußt werden, stimmt mit dieser Erklärung nicht überein, da die in Betracht kommenden Tierarten in beiden Fällen untereinander sehr verschieden sind und da eine geringe Empfänglichkeit eine schwächere Virusvermehrung, d. h. einen zumindest in quantitativer Beziehung weniger intensiven immunisatorischen Impuls bedingt.

Das Virus der infektiösen Anämie vermehrt sich im Blut der infizierten Equiden in starkem Ausmaße, wie die bereits erwähnten erfolgreichen Übertragungen mit kleineren Mengen Blut oder Blutserum beweisen. Das Virus wird aber auch ausgeschieden, und zwar in großen Mengen durch den Harn, ferner durch den Kot, durch das Augensekret, den Nasenschleim, den Speichel (W. ZWICK). Wenn nun das Virus im Blut lebenslänglich nachweisbar bleiben soll — SCHALK und RODERICH konnten noch 14 Jahre nach der Ersterkrankung eine Übertragung bewerkstelligen —, so setzt dies voraus, daß die Virusverluste durch Virusvermehrung kompensiert werden; ist dieser Vorgang zeitlich und quantitativ nicht vollständig ausbalanciert, so muß der Virusspiegel im Blut Schwankungen unterworfen sein.

Diese Schlüsse werden zunächst einmal durch die klinische Beobachtung bestätigt. Es gibt akute, oft letal verlaufende Formen, subakute, von Intermissionen unterbrochene und chronische Verlaufsarten, Rückfälle von verschiedener Intensität, die auch nach lang anhaltender Besserung auftreten können, manchmal auch Infektionen, welche subklinisch einsetzen und latent bleiben; die innerhalb weiter Grenzen schwankende Inkubation der klinischen Manifestationen (1 Tag bis zu 3 Monaten) vervollständigt das wechselvolle Bild. Eingehendere Schilderungen der Symptomatologie und der mannigfaltigen Verlaufsarten findet man in den zusammenfassenden Darstellungen von TH. OPPERMANN und M. ZIEGLER, C. E. RICHTERS, HUTYRA-MAREK-MANNINGER u. a.

Das Virus der infektiösen Anämie kann nur auf eine einzige zuverlässige Weise nachgewiesen werden, nämlich durch Verimpfung der verdächtigen Probe auf sicher nicht-infizierte Pferde.¹ Nach den Angaben von C. E. RICHTERS, J. FORTNER (1), HUTYRA-MAREK-MANNINGER geht man so vor, daß man die geimpften Pferde monatelang beobachtet und daß man das Blut der klinisch nicht reagierenden Tiere auf andere Pferde überträgt oder die nicht reagierenden Tiere mit sicher wirksamem virushaltigem Material reinfiziert. Die Nachkontrolle eines

¹ Um die Gewißheit zu erlangen, daß die für den Hauptversuch bestimmten Pferde tatsächlich anämiefrei sind, kann man zunächst den sog. *Kreuzimpfversuch* ausführen. Es werden zwei neu eingestellte Pferde ausgewählt und jedes mit 20 cem Blut des anderen subcutan geimpft; beide Tiere müssen 2 Monate hindurch beobachtet werden und können, wenn sie während dieser Zeit keine Erscheinungen darbieten, zum Hauptversuch verwendet werden.

anscheinend negativen Hauptversuches ist aus dem Grunde notwendig, weil die Infektion der geimpften Pferde auch subklinisch verlaufen kann, obschon solche Vorkommnisse nach den Erfahrungen von C. E. RICHTERS zu den Seltenheiten gehören. Die geimpften Pferde zeigen oft erst nach längerer Zeit Symptome, in der Regel nach 2—4 Wochen, aber auch nach 2 oder gar 3 Monaten. Die hohen Kosten der Versuche, die lange Beobachtungsdauer sowie die mit der Unterbringung und Verpflegung von Großtieren verbundenen Schwierigkeiten schließen den Gedanken an exakte Titrierungen des Virus im Blut und in den Ausscheidungen, namentlich im Harn von vornherein aus; dazu kommt als weitere Hemmung die von J. v. MÓCSY sowie von TH. OPPERMANN mitgeteilte Beobachtung, daß die Reaktionen von Pferden, welche gleichzeitig mit demselben, d. h. von dem gleichen kranken Tier stammendem Material geimpft werden, verschieden ausfallen können, was meist so formuliert wird, daß das Ergebnis einer Impfung mit einem sicher virushaltigen Substrat durch die individuelle Disposition des Empfängers mitbestimmt wird (G. DE KOCK). Was man sich unter dieser „individuellen Disposition“ vorzustellen hat, läßt sich nicht präzise definieren; aber die Tatsache, daß man bei latent infizierten Pferden durch Aderlässe, Durstenlassen, körperliche Anstrengungen (K. BELLER und E. SCHWARZMAIER) usw. Fieberanfälle auslösen kann („Provokationsverfahren“), beweist, daß die Reaktionslage keineswegs ausschließlich, vielleicht überhaupt nicht auf konstitutioneller Basis ruht.

Über eine eigenartige Erfahrung hat G. DE KOCK berichtet. Er gewann das Serum eines virustragenden Pferdes und verimpfte beträchtliche Mengen (zirka 300 ccm) intravenös auf drei andere Pferde, und zwar nach einer Aufbewahrungszeit von 4 Tagen, 2 und 6 Monaten. Das Serum, das 4 Tage gestanden hatte, löste eine zweifelhafte, das 2 Monate alte keine und das 4 Monate alte eine positive Reaktion aus. Man könnte an einen Zufall oder an Differenzen der individuellen Disposition denken; aber DE KOCK selbst hat noch eine zweite, ganz analoge Beobachtung mitgeteilt (Verimpfung des 4 Tage und 2 $\frac{1}{2}$ Monate alten Serums negativ, akute Infektion mit dem gleichen Serum nach 6monatiger Konservierung) und L. BALOZET verimpfte das Serum eines erkrankten Pferdes ohne Erfolg, und 6 Monate später rief die gleiche Dosis (20 ccm) eine schwere, akut letal endigende Erkrankung bei einem anderen Pferde hervor. Die Infektiosität eines virushaltigen Serums scheint somit mit der Dauer der Lagerung sehr stark zuzunehmen; trifft diese Vermutung zu, so wäre die Titrierung des Virus, zumindest im Blutserum aus einem weiteren Grunde unmöglich.

Unter diesen Umständen können einige wichtige Probleme mit den gegenwärtigen Mitteln nicht in befriedigender Art gelöst werden, nämlich:

1. die Registrierung der Schwankungen der Viruskonzentration im Blut und in den Ausscheidungen;
2. die Frage, inwieweit die Intensität der klinischen Erscheinungen eine Funktion der im Blut jeweils bestehenden Viruskonzentration ist;
3. die Abhängigkeit der Virusausscheidung vom Virusspiegel im Blut und umgekehrt.

Es existiert indes eine Art experimenteller Kasuistik, d. h. eine Reihe von Mitteilungen, welche sich auf Übertragungsversuche beziehen, die zumeist zu diagnostischen oder veterinärpolizeilichen Zwecken ausgeführt wurden. Sie lassen sich allerdings nicht in der Weise systematisch ordnen, daß sichere Schlüsse aus ihnen abgeleitet werden könnten, weil der Übertragungsmodus variiert wurde und weil die verimpften Blutmengen, um zu einem positiven Resultat zu kommen, zum Teil sehr hoch bemessen wurden, in den von G. DE KOCK tabellarisch zusammengestellten Versuchen z. B. mit 30, 50, 200 ccm, ja mit 1 oder gar 10 l Blut. In der überwiegenden Mehrzahl stammte das verimpfte Blut

nicht von klinisch kranken Pferden, sondern von solchen, bei welchen das Bestehen einer subklinischen Infektion vermutet wurde; die Übertragung sollte also diesen Verdacht bestätigen und deswegen wurden eben so große Blutquantitäten verimpft, weil man in den Phasen der Latenz nicht mit hohen Viruskonzentrationen im Blut rechnete. Immerhin stößt man doch auf Angaben, aus welchen die Berechtigung der oben formulierten Fragestellungen hervorgeht.

So wird z. B. von Autoren, welche selbst eine größere Zahl von Blutübertragungen vorgenommen haben, die auffallende Erscheinung betont, daß einerseits minimale Inocula (0,01 ccm Blut oder Serum) genügen, um eine Infektion zu erzeugen, und daß andererseits mit ganz großen Mengen negative Ergebnisse erzielt werden. Um solche Widersprüche zu beseitigen, wird vielfach der Begriff der schwankenden Virulenz herangezogen. Es ist aber durchaus möglich, daß diesem Begriff keine Realität entspricht und daß — neben der Individualität der Versuchspferde (siehe S. 164) — die absolute Menge des verimpften Materials bzw. die in derselben enthaltene Menge aktiver Viruselemente maßgebend ist. Die Angaben von L. BALOZET, F. KRÁL, J. v. MÓCSY, daß das Agens der Anämie, wie es sich im Blut vorfindet, im Beginn eines Fieberanfalles „besonders virulent“ sei, ist mit großer Wahrscheinlichkeit so aufzufassen, daß der Fieberparoxysmus von einer starken Virusvermehrung im Blut (oder von einer Viruseinschwemmung in das Blut) begleitet wird. Ob und wie die beiden Vorgänge kausal zusammenhängen, soll hier nicht erörtert werden, da einerseits die tatsächlichen Unterlagen fehlen und da andererseits keine Aussage möglich ist, warum die Rückfälle trotz der scheinbar oft vorhandenen Immunität gegen Reinfektionen zustandekommen.

VALLÉE und CARRÉ haben zuerst (1904) festgestellt, daß man Pferden, welche eine Erkrankung durchgemacht hatten und anscheinend völlig geheilt waren, sehr erhebliche Mengen virushaltigen Serums (in einem Versuch belief sich die Menge auf 5740 ccm) injizieren kann, ohne daß die Tiere darauf reagieren. Diese Beobachtung wurde in der Folge von der *japanischen Kommission*, von G. DE KOCK, von RAMON und LEMÉTAYER, von J. FORTNER (1) u. a. bestätigt und schon von VALLÉE damit in Verbindung gebracht, daß sich das Virus im Organismus der Pferde unbegrenzt zu halten vermag, und daß somit das refraktäre Verhalten von Pferden, welche eine natürliche oder experimentell erzeugte Erkrankung überstanden haben, nicht als Immunität gegen eine Reinfektion, sondern als infektionsgebundene Immunität gegen Superinfektionen zu gelten habe. L. BALOZET (1) stellte jedoch Versuche an Eseln an, und zwar derart, daß er die Tiere infizierte und nach verschiedenen, zum Teil relativ kurzen Intervallen (48—101 Tagen bis zu mehreren Monaten) reinfizierte. In 7 von 11 Einzelversuchen blieb die Reinfektion erfolglos und es konnte überdies in zwei derartigen Fällen gezeigt werden, daß das Blut knapp vor der Reinokulation Virus enthielt, daß also beim Esel wie beim Pferd eine persistierende latente Infektion eine klinisch manifeste Superinfektion zu verhindern schien. Wider Erwarten reagierten aber 4 von den 11 Eseln auf die Reinokulation, 3 sogar mit schweren, letal ablaufenden Erkrankungen, und zwar gerade dann, wenn die Reinokulation schon 66, 85 und 101 Tage nach der Erstinfektion erfolgte. Daß der Organismus des Esels die Fähigkeit besitzt, sich des Virus rasch und vollständig zu entledigen, das Pferd aber nicht, erklärte BALOZET für unwahrscheinlich; er nahm vielmehr an, daß Superinfektionen bei beiden Tierarten möglich sind, ein Standpunkt, der durch spätere Beobachtungen bestätigt wurde.

Die Sache liegt also so, daß Superinfektionen ohne jede klinische Auswirkung bleiben können, daß sie aber auch leichte bis schwere (letale) Krankheiten hervorzurufen vermögen, die sich von den Folgen von Erstimpfungen oder von natürlichen Ansteckungen in keiner Weise unterscheiden, und drittens daß man

derzeit nicht sagen kann, wodurch die klinische Reaktion auf eine Superinfektion bestimmt wird. Das an sich schwierige Problem des Mechanismus der infektionsgebundenen Immunität erfährt hier eine weitere Komplikation, zunächst weil man es nicht mit einer fixen, sondern mit einer variablen Größe zu tun hat, dann aber auch, weil es nicht verständlich ist, warum eine erneute Viruszufuhr beim latent infizierten Tier die intensivste klinische Reaktion bewirken kann, während die Anwesenheit von wahrscheinlich sehr großen Virusmengen unmittelbar vor der Reinfektion das Befinden in keiner Weise stört.

Die außerordentlich lang anhaltende Persistenz des Virus, welche sich mit der Lebensdauer der natürlichen Wirte, der Equiden, deckt, müßte an sich genügen, um ein Abreißen der Infektketten, d. h. ein spontanes, ohne Zutun der Menschen erfolgendes Verschwinden der Krankheit aus verseuchten Beständen zu verhüten. Eine hohe Kontagiosität, d. h. ein besonders sicher und kontinuierlich funktionierender natürlicher Übertragungsmodus ist für die Erhaltung des Keimes keineswegs erforderlich, um so weniger als das Leben in Stallungen als kompensatorischer Faktor in Betracht zu ziehen ist. Nun werden zum Teil auf Grund von Überlegungen, zum Teil im Hinblick auf gelungene Experimente bekanntlich *zwei Arten der Ausbreitung* unter natürlichen Verhältnissen als möglich bezeichnet: 1. Die Übertragung durch verschiedene blutsaugende Arthropoden (Stomoxys calcitrans, Anopheles maculipennis, und die Pferdebremsen Chrysops, Haematopota und Tabanus), die aber nicht als Zwischenwirte, in welchen eine exogene Vermehrung stattfindet, gelten, sondern die das Virus mechanisch durch ihre mit Blut verunreinigten Stechwerkzeuge verimpfen sollen; 2. mittelbare Kontakte mit Futter, Stallstreu, Trinkwasser, wenn diese Objekte durch Ausscheidungen kranker oder virustragender Pferde, namentlich durch Harn, vielleicht auch durch Kot, Nasenschleim, Speichel usw. beschmutzt wurden. Es ist schon vom rein theoretischen Standpunkt aus einzusehen, daß die Sicherheit einer mechanischen Übertragung durch blutsaugende geflügelte Insekten nicht groß sein kann. Es konnten zwar Pferde durch Injektion von 0,01 ccm Blut infiziert werden, also mit Mengen, welche an den Mundwerkzeugen von Bremsen nach Aufnahme von virushaltigem Blut haften bleiben können; das sind jedoch Ausnahmen, welchen negative Resultate mit weit größeren Blutquanten gegenüberstehen. Bei den mittelbaren Kontakten muß man sich anderseits fragen, wie sie wirksam werden, d. h. durch welche Eintrittspforte das Virus in den Organismus des Pferdes eindringt. Wenn R. MANNINGER zwei Pferde dadurch infizieren konnte, daß er ihnen zweimal 1500 ccm Blut oder Harn per os beibrachte, und zwei weitere dadurch, daß er mit Blut oder Harn getränkte Verbände auf die unversehrte Fesselgegend auflegte und sie bis zum nächsten Tage liegen ließ, wird man aus solchen positiven Ergebnissen höchstens schließen, daß die percutane Infektion oder die Infektion durch Nahrungsaufnahme an besondere Bedingungen gebunden sind, die sich unter natürlichen Verhältnissen nur zufallsweise realisieren.

Unter den berufenen Fachleuten sind die Meinungen geteilt, ob die direkten Übertragungen durch hämatophage Arthropoden oder die indirekten, durch infektiöse Ausscheidungen vermittelten Kontakte die Hauptrolle spielen oder ob Umstände, welche derzeit noch nicht bekannt sind, den Ausschlag geben. Die epizootologischen Beobachtungen sind vieldeutig, stimmen aber mit den experimentellen Erfahrungen und den oben erörterten Überlegungen insofern überein, daß die *Einschleppung* in bisher unverseuchte Bestände von latent infizierten Virusträgern ausgeht, und daß die *weitere Ausbreitung* große Verschiedenheiten erkennen läßt, welche auf das Walten eines Zufallsfaktors hindeuten. So wird z. B. von C. E. RICHTERS hervorgehoben, daß sich manchmal die Infektion lange Zeit

hindurch auf ein einziges Pferd eines Stalles beschränkt und daß anderseits ein kurzes Zusammenspannen eines infizierten mit einem gesunden Pferd die Ansteckung herbeiführen kann, daß das Nebeneinanderstehen in einer Stallung häufig nicht genügt, um die Übertragung zu bewirken, und daß die Seuche in Reihen nebeneinanderstehender Tiere zuweilen mehrere Pferde überspringt, um bald an diesem, bald an einem entfernten Punkt das nächste Opfer zu finden. Wie sich immer der natürliche Übertragungsvorgang de facto gestalten mag, spricht doch die keinem bestimmten Gesetz unterworfenen Art der Ausbreitung dafür, daß der Übergang des Virus vom infizierten auf das gesunde Pferd durch das Zusammenspiel variabler Momente beherrscht sein muß. Schon das starke Schwanken der Viruskonzentration im Blut sowie im Harn infizierter Pferde könnte viele Beobachtungen erklären, und zwar sowohl jeder dieser beiden Faktoren für sich allein wie auch ihre gegenseitige Abhängigkeit; eine sehr hohe Viruskonzentration im Blut könnte zeitweilig die Übertragung durch Insekten, eine massive Ausscheidung im Harn die indirekten Kontakte begünstigen. Doch sind dies, wie schon auseinandergesetzt wurde, einstweilen bloß Kombinationen, aber mögliche und den experimentellen Resultaten nicht zuwiderlaufende Kombinationen. Am schwersten zu erklären scheint mir die (in Anbetracht der vielen übereinstimmenden geographisch-pathologischen Untersuchungen nicht zu bezweifelnde) Tatsache, daß sich die infektiöse Anämie nur in bestimmten, eng umgrenzten Bezirken mit sumpfigem Charakter endemisch einnistet; am ehesten könnte dies mit der Übertragung durch blutsaugende Fliegen in Zusammenhang gebracht werden, was auch von den Anhängern dieser Lehrmeinung wiederholt geltend gemacht wurde (J. FORTNER, J. W. SCOTT, C. W. HOWARD, *Bericht der japanischen Kommission* [siehe unter *Report*] u. a.).

6. Die Influenza erysipelatosae (Rotlaufseuche) der Pferde.

Der Vergleich dieser Seuche mit der infektiösen Anämie bietet aus mehreren Gründen Interesse. Zunächst weil die natürlichen Wirte in beiden Fällen Pferde sind und weil sich außer Pferden nur noch Maultiere und Esel als empfänglich erweisen; das Infektiositätsspektrum ist bei dem Virus der I. e. (= Influenza erysipelatosae) anscheinend noch enger als beim Anämievirus, indem der Mensch refraktär ist und Übertragungen auf kleine Laboratoriumstiere (Mäuse, Ratten, Kaninchen, Hunde, Tauben) keine krankhaften Erscheinungen auslösten. Nur Meerschweinchen scheinen eine Ausnahme zu machen; nach R. MANNINGER und CSONTOS ist nämlich das Agens des sog. Virusabortus der Stuten mit dem Virus der I. e. identisch und bewirkt, wenn man es Meerschweinchen in Form von virushaltigem Material injiziert, Verwerfen, das auch bei trächtigen Stuten experimentell, d. h. durch absichtliche Infektion erzeugt werden kann. Zweitens findet sich das Virus der I. e. im *Blut* und im *Blutserum*, und zwar nicht bloß während der meist kurzen Dauer der akuten und gutartig verlaufenden Krankheit, die in der Regel schon innerhalb einer Woche, seltener nach 2—3 Wochen durch Heilung beendet wird, sondern nach J. BASSET noch 3 Monate nach Ablauf der Erkrankung; ob dies als der äußerste Termin der Blutpersistenz oder der Virämie, die ja kein kontinuierlicher Zustand zu sein braucht, zu betrachten ist, erscheint zweifelhaft. In den Ausscheidungen der genesenen Pferde — und das wäre eine dritte Analogie zur infektiösen Anämie — hat man das Virus jedenfalls noch nach weit längerer Zeit nachgewiesen, im Speichel und in den Speicheldrüsen bis zu 8 Monaten nach der Genesung (AL. VECCHIO) und im Sperma sowie in den samenleitenden Organen von Hengsten, welche die Krankheit durchgemacht haben, scheint es sich fast unbegrenzt zu halten, da solche Tiere viele Jahre hindurch alle von ihnen gedeckten Stuten infizieren und da das Vorhanden-

sein des Virus im Sperma, in der Prostata, in den Samenblasen und Samenleiterampullen auch durch experimentelle Untersuchungen festgestellt werden konnte (E. BEMELMANS, A. BERGMANN, POELS u. a.).

Trotz dieser Ähnlichkeiten verhält sich jedoch die I. e. in epizootologischer Hinsicht ganz anders wie die infektiöse Anämie; was sie auszeichnet, ist die von allen Beobachtern hervorgehobene große Kontagiosität. Es genügen flüchtige Berührungen gesunder mit kranken Pferden, um eine Ansteckung herbeizuführen und, wenn die Seuche einmal eingeschleppt ist, sei es in einen bestimmten Pferdebestand oder durch Vermittlung des Verkehrs in größere Gebiete, erlischt sie in der Regel erst, bis keine empfänglichen Tiere mehr vorhanden sind. Das Überstehen der I. e. hinterläßt eine solide, lang dauernde Immunität sowohl gegen spontane Ansteckungen wie auch gegen experimentelle Infektionen. Es ist nicht genau untersucht worden, ob zwischen dieser erworbenen Immunität und der Persistenz des Virus im Blut, im Sperma und in verschiedenen Drüsen engere Beziehungen im Sinne einer infektionsgebundenen Immunität bestehen. Wahrscheinlich ist das nicht der Fall, da Angaben vorliegen, denen zufolge das refraktäre Verhalten auch dann noch andauert, wenn das Virus aus dem Organismus der Pferde verschwunden ist. E. BEMELMANS (l. c., S. 16) untersuchte einen Hengst, der in den Jahren 1905 und 1906 die Krankheit auf 55 Stuten übertragen hatte; 4 Jahre später war das Sperma dieses Hengstes nicht mehr infektiös und das Tier zeigte nach einer intravenösen Injektion von 10 ccm virushaltigen Blutes keine Reaktion. Wenn es nun tatsächlich die Regel ist, daß eine solide Immunität bereits besteht, solange das Virus noch im Körper verweilt, und daß sich mit der Autosterilisation an diesem Zustande nichts ändert, daß also gar keine Grenze zwischen der Immunität gegen Superinfektionen und jener gegen Reinfektionen existiert, und daß fernerhin beide Zustände hinsichtlich des hochgradigen Schutzwertes einander völlig gleichen, kann — zumindest im Falle der I. e. — die Theorie nicht richtig sein, daß Viruspersistenz ein Ausdruck von „Immunitätsschwäche“ ist (siehe S. 123).

Die hohe Kontagiosität der I. e. spricht eindeutig dafür, daß diese Krankheit durch unmittelbare Berührung von gesunden mit kranken Pferden übertragen wird und das ist ohne reichliche und kontinuierliche Virusausscheidung nicht denkbar. Wie aber die Ausscheidung erfolgt und wie das ausgeschiedene Virus seinen Weg zu neuen Wirten findet, ist nicht bekannt, wenn man von den sichergestellten Übertragungen durch latent infizierte Hengste auf gedeckte Stuten absieht, die nur eine — allerdings sehr merkwürdige und theoretisch nicht aufgeklärte — Abzweigung, aber sicher nicht die epizootologisch maßgebende Art der Ausbreitung darstellen. Die Bemühungen, das Virus in den Ausscheidungen der kranken oder rekonvaleszenten Pferde, im Speichel, im Nasenschleim, im Bindehautsekret, im Kot nachzuweisen, hatten zum Teil negative Resultate, und wo die Ergebnisse positiv waren, wurden sie unter Bedingungen erzielt (Aufbringung von Speichel auf die verletzte Mundschleimhaut, Einstreichen von Bronchialsekret in die Nasenlöcher und das Maul, intravenöse Injektionen), welche mit der Vorstellung einer durch flüchtige Berührung leicht ansteckenden Infektion nichts zu tun haben.

Unter diesen Umständen erscheint es begreiflich, daß die verschiedenartigsten Hypothesen vorgebracht werden konnten: Ansteckungen durch die ausgeatmete Luft, Tröpfchen- und Staubinfektionen, mittelbare Kontakte durch Futter, Trinkwasser und Stallstreu, welche mit virushaltigen Ausscheidungen verunreinigt sind, Übertragungen durch blutsaugende Insekten (*Stomoxys calcitrans*) — kurz alle die Kombinationen, die auch bei der infektiösen Anämie Anklang und Ablehnung gefunden. Und doch ist es a priori gewiß, daß diese beiden Pferdesuchen nicht

über einen Leisten geschlagen werden können. Was beiden gemeinsam ist, sind die eingangs erwähnten äußeren Ähnlichkeiten und vor allem die Forschungsmöglichkeiten, welche dadurch, daß nur das Pferd als empfindliches Testobjekt in Betracht kommt, noch weit stärker eingeengt sind als dies bei den Viruskrankheiten ohnehin der Fall ist (vgl. S. 92). Wenn man sich vorderhand mit Analogien begnügen will, wäre es logisch, hochkontagiöse Viruskrankheiten anderer Art heranzuziehen. W. SCHELLNER neigt der Ansicht zu, daß die infizierten Pferde schon in der Inkubationszeit das Virus ausscheiden, und begründet diese Annahme mit der Beobachtung, daß manchmal sämtliche Pferde eines Stalles gleichzeitig erkranken; dieses explosive Auftreten gestatte den Schluß, daß alle Tiere gleichzeitig angesteckt wurden, und zwar von einem einzigen Pferde, das sich im Inkubationsstadium befand. Ob diese Motivierung überzeugend ist, erscheint fraglich; aber die Anlehnung an andere hochkontagiöse Viruskrankheiten (Masern, Pocken) ist offensichtlich und, wie bereits betont, im Prinzip berechtigt. Es ist wohl kein Zufall, daß die Ermittlung des dominierenden Übertragungsmodus und der Infektionswege bei derartigen Seuchen auch dann Schwierigkeiten macht, wenn die Verhältnisse für experimentelle Untersuchungen günstiger liegen als bei der I. e. der Pferde.

7. Lyssa.

a) Hunde.

Wer nur die *Lyssa humana* ins Auge faßt, dürfte befremdet sein, diese Infektion hier aufgezählt zu sehen. Eine Ausscheidung von Virus nach abgelaufener Krankheit kommt ja gar nicht in Frage, da die Tollwut beim Menschen innerhalb weniger Tage ausnahmslos letal endigt.

Bei experimentell infizierten Tieren, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und besonders auch bei Hunden, wurden jedoch Heilungen beobachtet, und zwar häufiger als man annehmen würde (Jos. KOCH, l. c., S. 590f.). Nach einer Statistik von A. HÖGYES wurden von 159 Hunden, die im Budapester Lyssainstitut experimentell infiziert und unter zweifellosen Wutsymptomen erkrankt waren, 13 (= 8,1%) gesund. A. HÖGYES (l. c., S. 40) bezeichnete es daher schon im Jahre 1897 als höchstwahrscheinlich, daß Heilungen auch bei natürlich infizierten Hunden vorkommen, und Jos. KOCH hat diesen Standpunkt 1930 energisch gegenüber P. REMLINGER vertreten, der nur Heilungen nach experimentellen Infektionen mit *Virus fixe* zugestehen wollte, was insofern nicht richtig ist, als Genesung auch bei Hunden festgestellt worden ist, welche künstlich mit Straßenvirus infiziert worden waren. Allerdings besteht doch eine Differenz zwischen experimenteller und natürlicher Infektion, auch wenn es sich in beiden Fällen um Straßenvirus handelt, und so findet man in neueren Darstellungen wieder die Angabe, daß der Ausgang in Heilung bei der natürlich übertragenen Tollwut nur in extrem seltenen Fällen vorkomme (E. BOECKER). Wie Jos. KOCH mit Recht bemerkt, läßt sich jedoch ein zutreffendes Urteil über die Häufigkeit abortiver Erkrankungen nicht fällen, da solche Krankheitsbilder den in Lyssainstituten tätigen Fachleuten nicht zu Gesicht kommen. Sicher ist, daß der Prozeß beim Hunde zuweilen auch stark protrahiert abläuft und daß eine Reihe von Mitteilungen über *intermittierende* oder *rezidivierende Wut* veröffentlicht wurde, so von PASTEUR, CHAMBERLAND und ROUX, von v. LÖTE, GALTIER, LIGNIÈRES, V. BABES, O. HERRMANN, L. PFEL, R. OTTO, wozu eine eigene (nicht publizierte) Beobachtung hinzukommt. Der erste Paroxysmus ist oft nur von kurzer Dauer, aber durchaus charakteristisch und dem Typus der rasenden Wut entsprechend, indem die Hunde hochgradige Exzitation zeigen und Menschen

und andere Tiere anfallen und beißen; die Remission setzt plötzlich ein und ist entweder nur als Besserung zu bezeichnen oder so vollkommen, daß überhaupt keine verdächtigen Erscheinungen vorhanden sind. Nach 4—5 Wochen erfolgt der Rückfall, der dann, in der Regel abermals in Form der rasenden Wut, zum Exitus führt.

Nach der Kasuistik zu urteilen, gehört die intermittierende Wut der Hunde ebenfalls zu den Raritäten. Ob sie aber de facto selten ist oder nicht, jedenfalls stellt sie einen unwiderlegbaren Beweis dar, daß das Lyssavirus im Zentralnervensystem von Säugetieren in latente Zustände vorhanden sein kann, und zwar nicht bloß während der Inkubationsperiode (siehe S. 119), sondern im Intervall zwischen zwei Phasen pathogener Auswirkung. *Es kann sich somit die Latenz in das typische Krankheitsbild umsetzen und umgekehrt die Krankheit in komplette Latenz*, eine Aussage, deren Bedeutung bisher offenbar nicht erfaßt wurde. Es ist leicht einzusehen, daß diese doppelsinnige Reversibilität manche Phänomene der Lyssapathologie verständlicher erscheinen läßt, wie z. B. die exzessiv langen Inkubationen oder die Tatsache, daß nur ein geringer Prozentsatz der Menschen und Tiere, welche von sicher tollwütigen Tieren gebissen werden, an Lyssa erkrankt. Ob der Übergang der Latenz in die Krankheit auf gesteigerter und die Umkehrung des Vorganges auf zeitweilig gehemmter Virusvermehrung beruht, kann man zur Zeit nicht beweisen, sondern nur vermuten. Jedenfalls ist aber der Hund im Stadium der Remission oder Intermission einer rezidivierenden Tollwut ein *Virusträger*, und es muß schon an sich als auffallend bezeichnet werden, daß die Persistenz des Virus in einem der empfindlichsten und funktionell hochstehendsten Gewebe lokalisiert ist, besonders wenn kurz vorher schwere Störungen zu beobachten waren, welche nur auf die Schädigung eben dieses Gewebes bezogen werden konnten.

Soll der Virusträger ein *Ausscheider* werden, so muß das Agens in dem Sekret der Speicheldrüsen auftreten. In der Regel sind Tiere nur beißsüchtig, wenn bereits deutliche Symptome der rasenden Wut eingesetzt haben; die Infektiosität des Speichels in Zeiten der Latenz kann also wohl nur selten dadurch festgestellt werden, daß die Bisse von anscheinend gesunden Tieren Erkrankungen von Menschen oder anderen Tieren verursachen (siehe weiter unten). Meist ist der direkte experimentelle Virusnachweis im Speichel notwendig. Solche — nicht ungefährliche — Untersuchungen hat man namentlich in früherer Zeit ausgeführt, und es stellte sich zunächst heraus, daß der Speichel und die Speicheldrüsen, speziell die Submaxillardrüsen schon einige Tage vor dem Beginn der Symptome Virus enthalten können (E. ROUX und NOCARD, NICOLAS, RABIEAUX, PAMPOUKIS). Bei Hunden, welche mit Straßenvirus (Gehirn eines tollwütigen Hundes) subdural infiziert worden waren, fanden D. JONESCO und V. TEODOSIO die Submaxillardrüse bis zu 7 Tagen vor dem Erscheinen von Wutsymptomen infektiös (Übertragung auf Kaninchen); doch ist dies nicht der früheste Termin, da PAMPOUKIS, V. BABES sowie D. KONRADI über mehrere Fälle von Lyssaerkrankung bei Menschen berichten konnten, welche durch Bisse von Hunden verursacht waren, bei welchen die Wut erst 8, 12, 13, ja 15 Tage später ausbrach. Latenz im Zentralnervensystem und Virusausscheidung durch die Speicheldrüsen sind also jedenfalls vereinbar. Indes fiel hier die Virusausscheidung auf die letzten Tage des Inkubationsstadiums, auf eine Zeit, wo der Infektionsprozeß zweifellos schon im Gange war, so daß die Abwanderung des Virus in die Speicheldrüsen vor dem Auftreten voll ausgeprägter klinischer Manifestationen von seiten der nervösen Zentren nicht weiter merkwürdig erscheint. Man darf es aber als gesichert betrachten, daß das Lyssavirus im Intermissionsstadium der rezidivierenden Wut nicht nur im Zentralnervensystem persistiert, sondern auch in den

Speicheldrüsen und daß es von da aus in den Speichel austritt, so daß die Hunde in solcher Zeit, obwohl anscheinend vollkommen gesund, infizierende Bisse zufügen können.

Eine sehr interessante Beobachtung dieser Art hat O. HERRMANN veröffentlicht. Ein Hund biß anfangs August ein Kalb, 14 Tage später einen 17jährigen Burschen und seinen Vater, am 23. September eine Frau und am 7. Oktober einen Taubstummen. Bis zum 2. Oktober bot er das Verhalten eines völlig normalen Tieres; erst 5 Tage vor dem letzten Biß wurde er krank und angebunden und verendete am 10. Oktober an Wut. Das Kalb erkrankte und verendete an Tollwut, desgleichen der 17jährige Bursche; die Frau wurde schutzgeimpft und blieb gesund und das weitere Schicksal der restlichen zwei Personen blieb unbekannt. HERRMANN faßt den Fall als intermittierende Tollwut („*Lyssa recurrens*“) auf und nimmt an, daß der Hund nur gebissen hatte, wenn er sich gerade wieder im Anfall befand (l. c., S. 73).

Da Heilungen bei experimentell infizierten und vermutlich auch bei spontan erkrankten Hunden vorkommen, muß man sich fragen, wie lange die Virusausscheidung im Speichel die klinische Genesung überdauert. Speicheluntersuchungen an Hunden, welche eben eine abortive Wut überstanden hatten, wurden von P. REMLINGER, HALÁSZ, MENEZIER, HASENKAMP ausgeführt; Virus konnte noch 5—8 Tage nach erfolgter Heilung nachgewiesen werden. Auch JOS. FORST gibt an,¹ daß „freilebende Hunde noch 6—7 Tage nach dem Überstehen der Krankheit infektiös sind“. Danach würde das Lyssavirus ziemlich rasch aus den Speicheldrüsen schwinden, ob früher oder später als aus dem Zentralnervensystem der rekonvaleszenten Hunde, ist nicht bekannt. Zwischen einer ausheilenden Wut und einer, wenn auch sehr lang dauernden Intermission bei *Lyssa recurrens* scheint, wenn die angeführten Daten dem gesetzmäßigen Verhalten entsprechen, ein prinzipieller Unterschied zu bestehen, indem dort die Autosterilisation der Speicheldrüsen und des Zentralnervensystems rasch erfolgt, während hier die Umsetzung der Krankheit in einen latenten Infektionszustand die Persistenz des Virus in den Speicheldrüsen nicht beeinträchtigt. Es scheint somit die Erhaltung des Virus in den Speicheldrüsen mit seinem Fortbestehen in den nervösen Zentren irgendwie zusammenzuhängen.

Da latente Infektionszustände von zuweilen außerordentlich langer Dauer bei Mensch und Tier sicher festgestellt worden sind, hat die Erörterung einen Sinn, ob nicht auch Hunde, welche zu keiner Zeit ihres Lebens irgendwelche Anzeichen einer Erkrankung an Tollwut gezeigt haben, Lyssavirus beherbergen und in wirksamer Form mit dem Speichel ausscheiden können. Man unterscheidet hier meist drei Möglichkeiten, nämlich 1. daß die Hunde infiziert werden, aber infolge einer natürlichen Immunität nicht erkranken; 2. daß prophylaktisch immunisierte Hunde von tollwütigen Hunden gebissen werden und infolge des Impfschutzes vom Ausbruch der Krankheit verschont bleiben, obwohl sie subklinisch infiziert sein können; 3. daß der Hund infolge der Immunisierung mit *Virus fixe* zum Träger und Ausscheider dieser Virusform wird. Sichere Beobachtungen über derartige Ereignisse liegen indes nicht vor.

Völlig refraktäre Hunde sind offenbar sehr selten, da P. REMLINGER unter 1100 Hunden nur 4 fand, welche auf experimentelle Infektionen überhaupt nicht reagierten; es ist übrigens nicht bekannt und auch an sich unwahrscheinlich, daß ein solches refraktäres Tier erkrankt, wenn es von einem tollwütigen Hunde gebissen wird. Die an dritter Stelle genannte Möglichkeit ist ebenfalls auszuschließen. Prophylaktische Impfungen von Hunden mit *Virus fixe* sind in

¹ Das tschechische Original der Arbeit konnte nicht beschafft werden und aus dem Referat (siehe Literaturverzeichnis) ist nicht zu entnehmen, worauf sich diese Aussage gründet.

manchen Ländern (Japan, Algier, Amerika u. a.) zu Hunderttausenden ausgeführt worden, ohne daß die Tiere infolge der Impfung tollwütig wurden und es ist kein Fall bekannt, daß solche Hunde, *sofern sie völlig gesund bleiben*, Menschen oder Tiere beißen und mit Lyssa infizieren können. Im Gehirn von präinfektionell mit Virus fixe immunisierten Hunden hat man dementsprechend kein Virus gefunden (P. REMLINGER und J. BAILLY (1), J. BAILLY, REMLINGER, PALMOWITSCH und BAILLY u. a.), ebensowenig im Speichel (P. REMLINGER, MICHIN und TITOW u. a.). In seltenen Fällen und namentlich nach Verwendung bestimmter Impfstoffe wurden allerdings Exzitationszustände oder häufiger Lähmungen beobachtet (vgl. R. KRAUS und F. SCHWEINBURG); solche Vorkommnisse gaben Anlaß zu weitläufigen Diskussionen über die Gefahren der präinfektionellen Schutzimpfung von Hunden, besitzen aber zwar ein großes praktisches Interesse, gehören jedoch strenge genommen nicht in den Bereich des hier erörterten Problems, ob und unter welchen Umständen *dauernd gesunde Hunde* Virusträger und Virusausscheider werden können. Selbstverständlich muß stets die Vorfrage so exakt als möglich entschieden werden, ob die im Laufe einer Immunisierung auftretenden Erscheinungen als klinischer Ausdruck einer Infektion mit Virus fixe aufzufassen sind; geschieht dies nicht, was tatsächlich oft der Fall war, so gestatten derartige Mitteilungen überhaupt keine Verwertung.

Es bleibt somit noch die dritte, besonders von BR. BUSSON betonte Vermutung, daß Hunde durch die präinfektionelle Immunisierung mit Virus fixe einen ungenügenden Schutz erwerben könnten, derart, daß sie auf die Bisse tollwütiger Hunde klinisch gar nicht oder nur in abortiver, fast unkenntlicher Form reagieren, daß sie aber dennoch infiziert werden und das Virus mit dem Speichel ausscheiden. R. KRAUS und F. SCHWEINBURG meinen, man könne dieser Hypothese, obzwar sie durch Erfahrungen nicht belegt sei, eine gewisse Berechtigung nicht absprechen, halten aber die Bedenken von BUSSON „zum größten Teile“ durch Versuche von J. BAILLY sowie von MICHIN und TITOW für widerlegt.

J. BAILLY immunisierte 50 Hunde nach der Methode von P. REMLINGER (Injektion von drei mit Äther behandelten und emulgierten Gehirnen von Kaninchen, welche infolge einer Infektion mit Virus fixe eingegangen waren). 11 Hunde waren von unbekanntem Hunden, 7 von sicher tollwütigen Hunden gebissen worden; die restlichen 32 wurden wahrscheinlich — obzwar das in der Mitteilung nicht ausdrücklich erwähnt wird — einer experimentellen Infektion mit Straßenvirus nach beendeter Präventivimpfung unterzogen. Alle Hunde blieben frei von Erscheinungen, auch von Lähmungen oder Zeichen konsumtiver Wut (Abmagerung), und in großen Mengen ihres Speichels konnte kein Virus nachgewiesen werden. — MICHIN und TITOW überzeugten sich zunächst, daß der Speichel von Hunden, die man mit Virus fixe nach der japanischen, italienischen oder russischen Methode immunisiert, virusfrei bleibt (siehe oben). Sie infizierten ferner die immunisierten Hunde mit Straßenvirus und stellten fest, daß im Zentralnervensystem der Tiere kein Virus auftritt (geprüft bis zu 78 Tagen); auch im Speichel scheint unter solchen Bedingungen kein Virus vorhanden zu sein, obzwar sich die zugänglichen Referate der russischen Arbeit über diesen Punkt nicht ganz präzise aussprechen.

Wenn ein Mensch trotz der postinfektionellen Schutzimpfung an Lyssa erkrankt, konstatiert man keine Abschwächung des Krankheitsverlaufes; der Prozeß endet wie bei einem nicht geschützten Individuum tödlich. BR. BUSSON geht aber, sofern es sich um präinfektionell oder postinfektionell immunisierte und trotz der Schutzimpfung erkrankende Hunde handelt, von der Voraussetzung aus, daß der Effekt der Impfung in einer Milderung der Infektion mit Straßenvirus zum Ausdruck kommt oder doch kommen kann, welche so weit geht, daß rudimentäre, kaum erkennbare Krankheitsformen resultieren, ja daß die Reduktion ein völlig subklinisches Verhalten bewirkt, daß also das Tier gesund

erscheint. Für diese Annahme fehlen die Beweise. Was das Verhalten der Menschen betrifft, welche trotz rechtzeitig eingeleiteter Schutzimpfung erkranken, ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Ätiologie der postvaccinalen Lähmungen nicht restlos aufgeklärt ist. Diese Lähmungen heilen in einem erheblichen Prozentsatz der Fälle aus, und wenn die Ansicht richtig wäre, daß sie eine durch die Schutzimpfung veränderte Form der Infektion mit Straßenvirus darstellen, müßte man sich zu der Auffassung von BR. BUSSON, wenigstens im Prinzip, anders einstellen. Nun kann hier die ganze, außerordentlich weitläufige Diskussion über die Ursachen der postvaccinalen Lähmungen nicht erneut wiedergegeben werden; es muß genügen, wenn auf die zusammenfassenden Arbeiten von R. KRAUS und F. SCHWEINBURG, F. SCHWEINBURG, P. LÉPINE, ED. BOECKER, C. E. VAN ROOYEN und A. J. RHODES verwiesen wird, aus denen hervorgeht, daß man immer mehr von der Theorie der abgeschwächten Straßenvirusinfektionen abrückt. Einzelne Autoren wollen freilich diese Art der Entstehung noch immer als seltene Ausnahmen gelten lassen, wie z. B. P. LÉPINE (l. c., S. 481). P. REMLINGER (1) dagegen, der über ungewöhnlich ausgedehnte Erfahrungen verfügt, möchte nur zwei Möglichkeiten anerkennen, nämlich eine Infektion durch Virus fixe, wenn die Impfung mit lebendem Virus vorgenommen wurde und dieses bei der Autopsie im Zentralnervensystem nachzuweisen ist, oder die Wirkung der normalen Nervensubstanz, wenn die Lähmungen nach der Behandlung mit abgetötetem Virus auftreten. Die kaum übersehbaren experimentellen Untersuchungen, von denen man eine eindeutige Lösung des Problems der postvaccinalen Lähmungen erwartete, haben keine Entscheidung gebracht, sondern vielfach die Widersprüche vermehrt. Es mangelt eben eine Prämisse, um mit erhöhter Aussicht auf Erfolg vorzustoßen: *der Einblick in den Mechanismus der Lyssaimmunität.*

b) Andere Säugetiere.

Das Lyssavirus gehört zu den infektiösen Agenzien, welche sich durch die Breite (den Umfang) ihres Infektiositätsspektrums auszeichnen; es kann unter natürlichen und experimentellen Bedingungen auf die verschiedensten, im natürlichen System weit voneinander entfernten Tierarten übertragen werden. Tatsachen, welche sich auf das Verhalten empfänglicher Spezies als Träger und Ausscheider des Lyssavirus beziehen, können dazu beitragen, nicht genügend aufgeklärte Punkte der Lyssapathologie des Menschen und des Hundes sicherzustellen und gesicherte Kenntnisse zu erweitern. Dies zur Rechtfertigung der folgenden kurzen Ausführungen.

Zunächst einmal sind klinische *Heilungen* beobachtet worden. So von HÉJJ bei einer Kuh, welche von einem wütenden Hund gebissen wurde, aber erst nach 7 Monaten unter Wutsymptomen (heiserem Brüllen, Exzitation, Schlingbeschwerden) erkrankte; schon nach 3 Tagen wurde das Tier wieder gesund. Daß die beobachteten Erscheinungen auf einer Infektion durch Straßenvirus beruhten, wurde auch dadurch bestätigt, daß zwei Stallgenossinnen an Tollwut verendeten (positiver histologischer Befund). Spontane Heilungen bei einer Kuh und bei zwei Kälbern wurden auch von HALÁSZ bzw. von A. AUJESZKY beobachtet.

Beim Schwein verläuft die Lyssa rasch und führt als rasende Wut binnen wenigen Tagen zum Tode. Doch sind Spontanheilungen auch beim Schwein möglich, wie Mitteilungen von A. AUJESZKY und von M. PEUCH (1) lehren. In dem Fall von M. PEUCH erkrankte ein Mutterschwein an rasender Wut, welche in Lähmungen überging; 3 Tage verharrte die Sau in komatösem Zustand, erholte sich aber allmählich und wurde schließlich völlig gesund. Der Speichel der Sau enthielt, wie ein ad hoc ausgeführtes Experiment zeigte, Lyssavirus, und das Tier erwies sich in der Folge als hochgradig immun, da es auf den zweimaligen

Versuch einer Infektion mit massiven Dosen Virus nicht reagierte. M. PEUCH (2) hat bald darauf einen Bericht über die spontane Genesung eines an Wut erkrankten Ferkels veröffentlicht.

Bei der Katze kann die Lyssa sowohl als rasende als auch, obgleich seltener, als stille (paralytische) Wut verlaufen. Eine Katze, die von einem sicher tollwütigen Hund gebissen worden war, erkrankte 3 Wochen später und bot die Zeichen einer schweren ascendierenden Lähmung; aber schon am 3. Krankheitstag besserten sich die Lähmungen und am 4. Tage war die Katze wieder gesund (KACERCSKY, cit. nach JOS. KOCH).

Was an einem Teil dieser Berichte auffällt, ist der flüchtige Charakter und die kurze Dauer der klinischen Erscheinungen. Ein analoges Verhalten zeigt oft der erste Paroxysmus der recurrierenden Wut der Hunde (siehe S. 169); nur kommt es hier eben zu einem Rezidiv. Worauf es zurückzuführen ist, daß nach dem Abklingen des ersten Anfalls bald die endgültige Heilung folgt, bald wieder nur eine zeitweilige Unterbrechung des Krankheitsverlaufes, läßt sich zur Zeit nicht mit Bestimmtheit entscheiden; es liegt aber sehr nahe, für die Differenz das Verhalten des Virus im Zentralnervensystem verantwortlich zu machen. Daß ein Rezidiv nur möglich ist, wenn sich das Virus in den nervösen Zentren während der ganzen Dauer der Intermission hält, bedarf keines besonderen Beweises: e contrario wäre aus dem Ausbleiben des Rezidivs zu folgern, daß die Heilung mit einer Autosterilisation der nervösen Gewebe einhergeht. Schwindet das Virus im Falle einer Spontanheilung nicht nur aus dem Zentralnervensystem, sondern auch aus den Speicheldrüsen und ihren Sekreten, so wäre das Tier kein Ausscheider und somit unfähig, die Krankheit auf andere Tiere und Menschen zu übertragen. Die Übertragung hängt aber von der Beißsucht der Tiere ab; ist diese nicht vorhanden, so kann das Ausscheidertum nicht in Erscheinung treten, ein Umstand, der ja auch die Ausbreitung des Oulou-Fato hemmt. Sicherheit wäre wohl nur durch die experimentelle Untersuchung des Speichels spontan genesener Tiere zu gewinnen, ein Postulat, das sich bei der Seltenheit solcher Fälle kaum im erforderlichen Umfang erfüllen läßt. Wenn es tatsächlich richtig ist, daß die Spontanheilungen auf einer Vernichtung oder irreversiblen Inaktivierung des Virus im Nervensystem beruhen, könnte man annehmen, daß diese Entkeimung auch ohne manifeste Reaktion, d. h. ohne Erkrankung stattfinden kann, und mit dieser latenten Autosterilisation die relativ geringe Zahl der Erkrankungen von Menschen oder Tieren in Beziehung setzen, welche von sicher tollwütigen Tieren gebissen und keiner Schutzimpfung unterzogen wurden (vgl. hierzu S. 170).

Eine Sonderstellung unter den Säugetieren nehmen bestimmte Fledermausarten (*Desmodus* Spezies) ein. Auf der Insel Trinidad wird das Wutvirus durch *Desmodus rotundus murinus* auf Rinder und Menschen übertragen (E. W. HURST und J. L. PAWAN, H. V. M. MÉTIVIER, E. DE VERTEUIL und F. W. URICH). *Desmodus rotundus* (in den meisten Arbeiten wird neben dieser Spezies auch *D. rufus* als wichtiger Überträger genannt) gehört zu den Blattnasen (*Phyllostominae*) und nährt sich als einziges Säugetier ausschließlich von Blut, hauptsächlich von Rinderblut, ausnahmsweise auch von Menschenblut; sind die Vampire mit Wutvirus infiziert, so scheiden sie dasselbe im Speichel aus und stecken so ihre Opfer an. Das Virus, welchem der Charakter von echtem Straßenvirus zugesprochen wurde, pflanzt sich von Fledermaus zu Fledermaus fort, da die Tiere im akuten Stadium angriffslustig werden und sich gegenseitig Bißverletzungen beibringen. *Desmodus rotundus* ist somit der natürliche Wirt und die Abzweigungen der Infektketten auf Rinder und Menschen höchstwahrscheinlich nur zufällige, durch die Ernährungsweise der Vampire bedingte Ereignisse (siehe weiter unten). Die

Vampire können, wie J. L. PAWAN gezeigt hat, experimentell mit Lyssavirus infiziert werden; sie reagieren auf die Impfung entweder mit Exzitationserscheinungen, welche dem Typus der rasenden Wut vergleichbar sind, oder mit Lähmungen (stille bzw. paralytische Wut) oder bleiben frei von Symptomen, erweisen sich aber als latent infiziert. Sind einmal Lähmungen vorhanden, so gehen die Tiere ausnahmslos ein; von der rasenden Wut können sie sich jedoch erholen und werden zu Trägern, welche lange Zeit hindurch fähig bleiben, die Infektion durch Bisse zu übertragen, was in gleicher Weise von den Exemplaren gilt, bei welchen der Prozeß von Beginn an subklinisch verläuft. Beobachtungen an Vampiren, welche im Freien gefangen wurden, ergaben, daß die geschilderten Verhältnisse nicht bloß für künstlich infizierte Vampire gelten, sondern daß sich die Dinge auch unter natürlichen Bedingungen ebenso abspielen und daß insbesondere äußerlich gesunde Fledermäuse sowie solche, welche ein aufgeregtes, kampflustiges Wesen zur Schau tragen, Virus beherbergen und die Infektion untereinander sowie unter Rindern und Menschen verbreiten können.

Da die Vampire in den Versuchen von J. L. PAWAN mit Lyssavirus und nicht mit „Trinidadvirus“ infiziert wurden, darf man mit Bestimmtheit behaupten:

1. Daß die Lyssainfektion bei Desmodus ausheilen kann und daß dies offenbar häufig geschieht. Ob es stimmt, daß nur der rasende, nicht aber der paralytische Typus in spontane Genesung übergeht, kann ich aus den mir vorliegenden Daten nicht entnehmen; es wäre denkbar, daß die gelähmten Tiere an Inanition eingehen, weil sie nicht mehr imstande sind, sich die Blutnahrung auf die gewohnte Art zu verschaffen.

2. Daß die klinische Genesung nicht auf einer Autosterilisation beruhen muß, sondern daß die genesenen Tiere zu Trägern und Ausscheidern des Lyssavirus werden können in einem verläufig noch nicht genau angebbaren Prozentsatz. Die Dauer dieser Art des Ausscheidertums ist nicht bekannt.

3. Daß die Lyssainfektion bei Desmodus subklinisch verlaufen kann und daß solche Fledermäuse das Wutvirus auf Rinder und Menschen übertragen können. Es gibt also rekonvaleszente und gesunde Ausscheider.

Der von DE VERTEUIL und URICH organisierte Kampf gegen die Fledermäuse auf Trinidad gab Gelegenheit, Aufschlüsse über die Verbreitung der Infektion unter den frei lebenden Vampiren zu gewinnen. 1935 wurden 3634 Desmodus-exemplare gefangen und bei 62 (= 1,7%) NEGRISCHE Körperchen im Gehirn nachgewiesen; im Jahre 1936 betrug die Zahl der erbeuteten Desmodus-Fledermäuse 3632 und 99 (= 2,7%) hatten einen positiven Befund. Merkwürdigerweise konnte der Infektionszustand auch bei Fledermausarten festgestellt werden, welche sich von Insekten oder Früchten nähren, speziell bei der fruchtfressenden Spezies *Artibeus planirostris trinitatis*, allerdings ganz erheblich seltener als bei den blutsaugenden Desmodus (zwei Fälle unter 1661 gefangenen Exemplaren); es wird angenommen, daß Kämpfe der *Artibeus* mit kranken Desmodus zur Ansteckung der erstgenannten führen und daß diese, wenn sie krank und infolgedessen angriffslustig sind, wieder als Infektionsquellen für Desmodus fungieren.

Damit wäre von der Trinidadkrankheit alles gesagt, was sich auf das hier behandelte Thema bezieht. Es sei indes bemerkt, daß weder bei dieser Seuche noch bei den durch dieselben Fledermausarten übertragenen Epizootien Brasiliens, denen ebenfalls ein Wutvirus als ätiologisches Agens zugrundeliegt, alle beobachteten Phänomene befriedigend aufgeklärt werden konnten. Es wurde von verschiedenen Autoren behauptet, daß sich das Trinidadvirus sowie das Virus der südamerikanischen Epizootien, welche nur Rinder und Pferde befallen, aber nicht auf den Menschen übergreifen, vom klassischen Straßenvirus nicht unterscheiden lassen und F. SCHWEINBURG (l. c., S. 40—42) hat auf dieses Moment besonderes Gewicht gelegt. In Trinidad

wurden aber nachweislich zuerst Rinder ergriffen und erst 21 Jahre später Menschen; da die starke Ausbreitung unter den Rindern durch einen erheblichen Verseuchungszustand der Vampire bedingt sein mußte, ist es nicht verständlich, warum die Menschen, obwohl sie wahrscheinlich auch gebissen wurden, solange verschont blieben. Klinisch zeigt die Trinidadkrankheit beim Vieh wie beim Menschen ein anderes Verhalten als die Tollwut, die sich nach Bissen von Hunden, Katzen, Wölfen usw. entwickelt; die rasende Form sowie überhaupt Reizerscheinungen werden vermißt, Lähmungen beherrschen oft schon im Beginne der Krankheit das Bild und nehmen aszendierenden Charakter an, die Hydrophobie fehlt, der Speichelfluß stellt sich erst mit der bulbären Lähmung ein, Nausea und Erbrechen, bei der *Lyssa humana* so häufig, werden nicht beobachtet. Um solche Widersprüche zu erklären, nehmen manche Autoren an, daß die Fledermäuse echtes Lyssavirus von tollwütigen Hunden oder Katzen, von welchen sie verletzt wurden, übernommen haben (H. HAUPT und H. REHAAG) und daß sich das Virus im Organismus der Fledermäuse verändert habe (F. SCHWEINBURG, W. EVERLING u. a.). Die supponierte Veränderung soll zunächst die Tatsache verständlich machen, daß die Menschen auf Trinidad erst infiziert wurden, nachdem die Krankheit schon lange unter den Rindern und Vampiren verbreitet war; die „Virulenz“ für den Menschen soll gewissermaßen im Desmodus und *Artibeus* erst entstehen (siehe W. EVERLING). Andererseits soll die Fledermauspassage das Virus qualitativ in dem Sinne beeinflussen, daß die pathogene Auswirkung im Menschen in dem oben präzisierten Sinne beeinflußt wird. Beides ist nicht wahrscheinlich und vor allem nicht bewiesen. Aus den Experimenten von PAWAN geht doch hervor, daß Fledermäuse auf eine Erstinfektion mit echtem Lyssavirus genau so reagieren wie auf die Infektion mit Trinidadvirus, bei welchem man eine Veränderung durch mehrgliedrige Fledermauspassagen voraussetzen könnte. Mit Trinidadvirus wurden ferner verschiedene Säugetiere (hauptsächlich intracerebral) infiziert und es konnten bei Affen, bei Meerschweinchen, Hunden und manchmal sogar bei Kaninchen Reizerscheinungen, Beißsucht oder typische rasende Wut beobachtet werden (vgl. die Zusammenstellung von VAN ROOYEN und RHODES, l. c., S. 653 u. 654). Das sind experimentelle Erfahrungen, welche sich mit den vorgeschlagenen Hypothesen nicht vertragen. Eher könnte man daran denken, daß der natürliche Infektionsmodus irgendwie im Spiele ist. BRUNO BUSSON hat festgestellt, daß sich Hirnvirus und Speicheldrüsenvirus bei dem gleichen Virusstamm durch ihre Inkubation unterscheiden; diese Differenz braucht jedoch nicht die einzige zu sein, vielmehr könnte die Wanderungsfähigkeit in peripheren Nerven (die von C. LEVADITI so genannte Neuroprobiasie) quantitative und qualitative Verschiedenheiten aufweisen, die nicht nur davon abhängen, ob das Virus im Gehirn oder im Speichel vorhanden ist, sondern im Rahmen des „Speicheldrüsenvirus“ vorkommen und überdies veränderlich sein könnten. Doch soll diese Idee, da sie ja nicht mehr als eine bloße Vermutung ist, hier nicht weiter verfolgt werden; es sei auf die Ausführungen von R. DOERR (9) über die Beziehungen von Neurotropismus und Neuroprobiasie verwiesen.

Kompliziert werden die Probleme der Trinidadkrankheit in mehrfacher Hinsicht durch die in Südamerika (Santa Catharina, Nordbrasilien, Argentinien, Paraguay, Bolivia) beobachteten Wutepizootien, welche ebenfalls durch *Phyllostomina* (*Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* und *Phyllostomina superciliata*) übertragen werden. Im Gegensatz zur Trinidadkrankheit werden aber nur Tiere (Rinder oder Pferde) ergriffen und erkranken meist an paralytischer Wut, zeigen aber zuweilen, speziell wenn es sich um Pferde handelt, auch Reizerscheinungen und ausgesprochene Beißsucht (L. E. MIGONE und RAUL PEÑA). Übertragungen auf den Menschen kommen anscheinend nie vor, ebensowenig auf Hunde. Dieser Umstand bereitet einerseits Schwierigkeiten, wenn man annimmt, daß die Seuche — vermutlich mit infizierten Fledermäusen — aus Südamerika nach Trinidad eingeschleppt wurde; andererseits trat ja auch in Trinidad die Infektion als reine Epizootie auf und es dauerte zwei Dezennien, bis Menschen befallen wurden, so daß sich der Widerspruch darauf reduziert, daß das Über-

greifen auf Menschen nur in Trinidad erfolgte, in Südamerika dagegen bisher noch nicht.

Beobachtung und Experiment sprechen indes dafür, daß diese Verhältnisse einer sehr einfachen Erklärung zugänglich sind. Die blutsaugenden Fledermäuse bevorzugen nämlich bestimmte Tierarten und greifen andere entweder gar nicht oder nur dann an, wenn sie auf ihren nächtlichen Flügen keinen Zutritt zu den Tieren finden, an deren Blutart sie gewöhnt sind, so daß sie zu einer Umstellung gezwungen werden. So wird z. B. berichtet, daß die Trinidadkrankheit bei Menschen epidemisch auftritt, wenn die Rinder in geschützten Stallungen untergebracht werden. S. TORRES sperrte hungrige Fledermäuse mit Hunden und in einem anderen Versuch mit einer Ziege in den gleichen Käfig; die Hunde wurden während 3 Tagen nicht ein einziges Mal gebissen, die Ziege dagegen schon am ersten Tage wiederholt.

Es ist also durchaus möglich, daß das zeitweilige oder dauernde Verschontbleiben des Menschen oder bestimmter Tierarten bloß darauf beruht, daß die Vampire Blut dieser Provenienz verschmähen. In Santa Catharina (Südbrasilien) trat die Wutepizootie schon im Jahre 1908 unter den Rindern und erst seit 1920 unter den Pferden auf. Sehr wahrscheinlich sind aber auch die Virusarten nicht so vollkommen identisch, wie man vielfach angenommen hat. Der Standpunkt, daß es sich bei der Trinidadkrankheit, bei den südamerikanischen Epizootien und bei dem in Südwestafrika heimischen Olou-Fato immer nur um ein und dasselbe „Straßenvirus“ handelt, wie es sich im Gehirn und Geifer des lyssakranken Hundes findet (F. SCHWEINBURG u. a.), ist weder symptomatologisch noch epidemiologisch noch auch immunologisch begründet, da in gekreuzten Immunitätsversuchen ganz bestimmte Differenzen zutage treten (vgl. u. a. W. EVERLING). In einer Beziehung gleicht aber das Virus der südamerikanischen Wutepizootien dem Trinidadvirus wie auch dem echten Lyssavirus vollständig. *Im Organismus der blutsaugenden Fledermäuse kann es lange persistieren, sei es nach einem vorausgegangenen Exzitationsstadium, sei es ohne Auslösung auffälliger Erscheinungen, und solche Virusträger müssen auch Ausscheider sein, da es, wie besondere Versuche ergaben, möglich war, Rinder noch nach 1—4 Monaten durch die Bisse solcher Fledermäuse zu infizieren.*

8. Schweineinfluenza.

1931 veröffentlichte R. E. SHOFF experimentelle Untersuchungen, aus welchen hervorging, daß die Schweineinfluenza durch das Zusammenwirken von zwei infektiösen Agenzien hervorgerufen wird, eines Bakteriums (*Haemophilus influenzae suis*) und einer Virusart, welche dem Virus der menschlichen Influenza nahe verwandt ist. Es handelt sich also um eine „gekoppelte Infektion“ oder, wie man sich zutreffender ausdrücken könnte, um eine „*ätiologische Assoziation*“ [R. DOERR (2)].

R. DOERR (l. c., S. 588) meinte, daß nicht nur die Koppelung der Wirkung schwer verständlich sei, sondern und in höherem Grade die Koppelung der Übertragung. Wenn die rationale Analyse des epidemiologischen Geschehens und ihre Ableitung aus den Eigenschaften des Erregers und seiner Beziehungen zu bestimmten Wirten zu den schwierigsten Problemen der Seuchenforschung gehört, muß die Doppelspurigkeit der Ätiologie als eine geradezu hoffnungslose Komplikation angesehen werden. R. E. SHOFF hat jedoch diese Situation gemeistert und die Art, wie er die Epidemiologie der Schweineinfluenza auf den Einfluß des Wirtes und eines intermediären Reservoirwirtes zurückführte, darf — ebenso wie eine analoge Untersuchung über die Pseudorabies der Rinder — als eine der besten, von vagen Spekulationen freien Leistungen auf diesem Gebiete bezeichnet werden.

Die Schweineinfluenza ist eine hochgradig kontagiöse Krankheit, welche in den westlichen Staaten Amerikas epizootisch auftritt, und zwar so, daß die einzelnen Ausbrüche im Oktober jeden Jahres beginnen und etwa Mitte Dezember aufhören. Im 8—9monatigen Intervall zwischen zwei Ausbrüchen verschwindet die Seuche vollkommen. Es waren drei Fragen zu beantworten, nämlich 1. wie die Koppelung von Bakterium und Virus zustandekommt; 2. wie die Intervalle überbrückt werden und 3. wie die ersten Fälle der alljährlichen Ausbrüche entstehen, da die weitere Ausbreitung in Anbetracht der hohen Kontagiosität erklärlich schien.

Ad 1. Die Schweineinfluenza verläuft in einem sehr hohen Prozentsatz der Erkrankungen letal. Einige Tiere überleben indes; das Virus schwindet aus ihrem Körper; sie sind jedoch nur „halb entkeimt“, da sich die bakterielle Komponente des ätiologischen Assoziates, der *Haemophilus influenzae suis* unbegrenzt in den oberen Partien des Respirationstraktes hält. Nach jedem Seuchenausbruch bleiben somit Träger und Ausscheider des Influenzabacillus zurück und es ist nur die komplettierende Infektion mit dem Virus notwendig, um einen erneuten Ausbruch zu ermöglichen.

Ad 2. Im warmblütigen Wirt (im Schweine) vermag das Virus nicht zu persistieren. Das Intervall zwischen je zwei Eruptionen muß daher auf andere Weise überbrückt werden. Es zeigte sich, daß dies durch Vermittlung von Würmern geschieht, welche in den Lungen der Schweine schmarotzen. Die geschlechtsreifen weiblichen Lungenwürmer¹ setzen in den Bronchien der Schweine embryonierte Eier ab, welche durch Hustenstöße mit dem Bronchialsekret hinauf befördert, verschluckt und mit den Fäces ausgeschieden werden. Um sich weiter zu entwickeln, müssen die Eier von Regenwürmern aufgenommen werden, in welchen die Embryonen ausschlüpfen und sich zu Larven entwickeln; in diesem Stadium verharren sie bis zur Aufnahme durch Schweine, durchlaufen in diesen zwei weitere Stadien und gelangen schließlich in die Lungen, wo sie sich in erwachsene, geschlechtsreife Würmer umwandeln. Der ganze Zyklus kann unter besonders günstigen Bedingungen in einem Monat absolviert werden, beansprucht aber zuweilen einen Zeitraum von mehreren Jahren.

Lungenwürmer, welche in einem an Influenza erkrankten Schwein parasitieren, nehmen das Virus auf, das in den Eiern und Larven weitergeführt wird, allerdings in einer maskierten Form, da der direkte experimentelle Nachweis nicht möglich ist, ebensowenig wie in den ausgewachsenen Würmern, welche sich aus den latent infizierten Larven im Respirationstrakt des Schweines entwickeln. Die Schweine, welche sich mit virustragenden Larven der Lungenwürmer infizieren, zeigen zunächst keine Erscheinungen und der Beweis, daß sie das Virus beherbergen, läßt sich auf direktem Wege nicht erbringen. Es müssen besondere Reize hinzukommen, um den Zustand in die gefährliche Krankheit umzusetzen; im Versuch konnte gezeigt werden, daß intramuskuläre Injektionen von *Haemophilus influenzae suis* besonders geeignet sind, um bei einem mit parasitierten bzw. infizierten Regenwürmern gefütterten Schweine eine typische Influenzaerkrankung hervorzurufen.

¹ Die Lungenwürmer sind lange, glatte und dünne Fadenwürmer, welche der Familie der *Metastrongylidae* angehören. Ihre Arten sind an bestimmte Wirtsspezies angepaßt. Im Hausschwein schmarotzen *Metastrongylus elongatus*, *M. salmi* und *Choerostongylus pudendotectus* und bei diesen Würmern geht die Entwicklung durch Zwischenwirte hindurch, nämlich durch Regenwürmer (*Lumbricus terrestris major* und *minor*), welche die vom Schweine ausgeschiedenen Eier und geschlüpften Larven mit der Nahrung aufnehmen. Im Regenwurm erfolgen Häutungen, bis schließlich die Invasionsfähigkeit in den warmblütigen Endwirt erreicht ist (HUTYRA-MAREK-MANNINGER, S. 416—426).

Ad 3. Die dritte Frage ist durch die Ausführungen von R. E. SHOPE, denen die Darstellung bisher gefolgt ist, nicht befriedigend beantwortet. Die Schweine können Regenwürmer, welche Larven der Lungenwürmer enthalten, zu jeder Jahreszeit aufnehmen, um so mehr, als die letzteren ihre Entwicklung in verschiedenen langer Zeit durchlaufen. Die Schweineinfluenza ist aber eine Seuche, welche strenge an eine ganz bestimmte Saison gebunden ist. SHOPE berichtet zwar, daß Versuche, welche die Aktivierung einer latenten Virusinfektion der Schweine bezweckten, nur im Herbst, Winter und Frühjahr Erfolg hatten, daß sie aber in der Zeit von Mai bis September fehlschlügen. Wenn sich so die experimentelle Möglichkeit mit den natürlichen Ereignissen zu decken scheint, muß man andererseits, was SHOPE selbst betont, zugeben, daß zur Zeit keine Erklärung gegeben werden kann, warum sich die Schweine im Sommer nicht an ihren Zwischenwirten derart infizieren, daß sie typisch erkranken. Nach der Ansicht SHOPES liegt dies höchstwahrscheinlich nicht daran, daß die Zwischenwirte das Virus im Sommer nicht übertragen können, sondern daß in dieser Zeit die Reize fehlen, welche die maskierte Virusinfektion des Schweines in die Krankheit verwandeln. Diese Reize werden in endokrinen, von der Jahreszeit abhängigen Zuständen gesucht, also nicht in einer vorhandenen oder hinzutretenden Infektion mit *Haemophilus influenzae suis*, die ja naturgemäß nicht geeignet wäre, die Saisonprävalenz der Schweineinfluenza verständlich zu machen. Die ätiologische Assoziation des *Haemophilus influenzae suis* mit dem Influenzavirus genügt also entgegen der ursprünglichen Konzeption nicht, um die Krankheit hervorzurufen, oder sie genügt zumindest nur unter bestimmten unspezifischen Bedingungen. Daß sich aber trotz dieser Bedenken die epizootische Verbreitung der Schweineinfluenza in der von SHOPE angenommenen Art abspielt, ging u. a. auch daraus hervor, daß in Schweinezuchten, in welchen die Influenza als Saisonkrankheit auftrat, die von Regenwürmern durchwühlte Erde Larven der Lungenwürmer enthielt, welche, wie das Experiment lehrte, das maskierte Influenzavirus beherbergten.

Über die Persistenz des Virus in seiner maskierten Form konnte ermittelt werden, daß es sich in den Larven der Lungenwürmer, welche die Zwischenwirte (die Regenwürmer) bewohnen, mindestens 16 Monate und in den erwachsenen Lungenwürmern, welche in den Atmungsorganen der Schweine schmarotzen, weitere 3 Monate, vermutlich aber noch länger in aktivem oder richtiger in aktivierbarem Zustande erhält. Ein recht ausgiebiges Trägertum, welches gewissermaßen exterritorialisiert, aus dem natürlichen Endwirt, in welchem es unmöglich wäre, hinausverlegt ist, um den Fortbestand des infektiösen Keimes trotz der ungenügenden Leistungsfähigkeit der homogenen Warmblüterketten zu sichern.

Schlußwort.

Wie bereits in der Einleitung betont wurde, verfolgte die Darstellung des Themas nicht den Zweck, alle Daten, welche über Mensch und Tier als Träger und Ausscheider pathogener Virusarten bekannt sind, zu zitieren. Solche Angaben findet man schließlich in verschiedenen Werken des neueren und neuesten Schrifttums, allerdings meist im Text verstreut, oberflächlich und nicht selten auch fehlerhaft oder ohne jeden Versuch einer kritischen Sichtung wiedergegeben, oft auch so, daß die experimentelle Begründung von epidemiologischen Hypothesen oder Interpretationen serologischer Befunde nicht scharf genug getrennt wird. Nirgends aber werden die infektionspathologischen Zusammenhänge synoptisch herausgestellt und überall dominiert der praktisch-medizinische Standpunkt über die biologische Betrachtungsweise, welche sich auf die parasitologische Auffassung der Infektionsprozesse und die Fähigkeit der Erreger

aufbaut, sich durch vielfältige Anpassung an ihre Wirte in der Natur zu erhalten. Diese Lücken möchten die vorstehenden Ausführungen durch eine passende Auswahl geeigneter Einzelfälle ausfüllen, die so getroffen werden mußte, daß keine Überschnitten mit anderen Abschnitten des Handbuches oder des vorliegenden Ergänzungsbandes zustandekamen. Die tumorerzeugenden Virusarten und die mit ihnen zusammenhängenden Probleme der endogenen Virusentstehung (siehe OLUF THOMSON, Handbuch, 2. Hälfte, S. 994—1106, und R. DOERR, ebenda, 1. Hälfte, S. 33—69) wurden daher nicht berücksichtigt und dem interessanten Phänomen der Umsetzung latenter in klinisch manifeste Infekte blieb ein eigener Abschnitt vorbehalten (siehe B. FUSR, S. 195ff.).

Noch ein Wort zu dem hier vorgeschlagenen „System des Trägertums tierpathogener Virusarten“. Die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen mußte notwendigerweise nach einem einheitlichen Grundsatz geordnet werden, und die zeitliche Beziehung zur klinischen Auswirkung des Infekts kann — zumindest vom medizinischen Gesichtspunkt aus — als ein natürliches Klassifikationsprinzip gelten. Sie ist aber nicht so zu verstehen, daß sich die so definierten Formen des Trägertums gegenseitig ausschließen. Es kann z. B. bei der gleichen Virusinfektion sowohl der selbständige latente Infekt als cyclischer Prozeß wie auch die Virusausscheidung nach abgelaufener Krankheit vorkommen (MAREKSche Hühnerlähme, lymphocytäre Choriomeningitis der Mäuse, infektiöse Anämie der Pferde, rabische Myelitis der Vampire, Psittacose der Sittiche) oder es kann das Virus sowohl in der Inkubation wie nach beendetem klinischen Prozeß nach außen in wirksamer Form abgegeben werden (Maul- und Klauenseuche der Rinder, Lyssa der Hunde, Variola des Menschen); schließlich können sich auch Phasen intermediärer latenter Virusausscheidung zwischen Krankheitsanfalle einschalten (infektiöse Anämie der Equiden, besonders der Pferde, *Lyssa recurrens* der Hunde). Das sind Unvollkommenheiten und Inhomogenitäten, die in der Natur der betrachteten Phänomene liegen, welche scharfen Abgrenzungen ebenso wenig zugänglich sind wie die Zustände, die wir als Gesundheit (Latenz) und Krankheit (klinisch manifeste Infektion) bezeichnen.

Literaturverzeichnis.

- ANDERSON, J. F. and J. GOLDBERGER: (1) The period of infectivity of the blood in measles. *J. amer. med. Assoc.* **57**, 113 (1911).
 — (2) The infectivity of the secretions and the desquamating scales of measles. *J. amer. med. Assoc.* **57**, 1612 (1911).
- ANDREWES, C. H.: Immunity to the salivary virus of guinea-pigs studied in the living animal and in tissue-culture. *Brit. J. exper. Path.* **11**, 23 (1930).
- ANDREWES, C. H. and E. A. CARMICHAEL: Presence of antibodies to herpes virus in post-encephalitic and other human sera. *Lancet* **1**, 857 (1930).
- ANTONIOLI, G. M.: Contribution à la lymphogranulomatose inguinale subaigue (maladie de NICOLAS-FAVRE). *Boll. Soc. Internat. Microb. Sez. ital.* **6**, 326 (1935).
- AYCOCK, W. L.: Alterations in autarceologic susceptibility to experimental poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **34**, 573 (1936).
- BABES, V.: *Traité de la rage* (1912).
- BAILLY, J.: Vaccination antirabique du chien par la méthode de REMLINGER. *C. r. Soc. Biol.* **95**, 1317 (1926).
- BALOZET, L.: (1) Effet de réinoculations, chez l'âne, du virus de l'anémie infectieuse. *C. r. Soc. Biol.* **119**, 160 (1935); *C. r. Acad. Sci.* **198**, 992 (1934).
 — (2) Études expérimentales sur l'anémie infectieuse des équidés. *Arch. Inst. Pasteur, Tunis* **24**, 268 (1935).
 — (3) Inoculation du virus de l'anémie infectieuse des équidés à d'autres espèces. *C. r. Soc. Biol.* **124**, 1150 (1937).

- BASSET, J.: Cause déterminante de la fièvre typhoïde du cheval. *Rec. Méd. vét.* **89**, 88 (1912).
- BAUER, J. and N. HUDSON: The duration of immunity in human yellow fever as shown by the protective power of the serum. *J. prevent. Med. (Am.)* **4**, 177 (1930).
- BAUGUËSS, H.: Measles transmitted by blood transfusion. Report of a case. *Amer. J. Dis. Childr.* **27**, 256 (1924).
- BEDSON, S. P.: (1) Immunological studies with the virus of Psittacosis. *Brit. J. exper. Path.* **14**, 162 (1933).
- (2) Some reflections on virus immunity. *Proc. Soc. Med., Lond.* **31**, 1 (1937).
- (3) A study of experimental immunity to the virus of psittacosis in the mouse with special reference to persistence of infection. *Brit. J. exper. Path.* **19**, 353 (1938).
- BEDSON, S. P. and G. T. WESTERN: Observations on the virus of psittacosis. *Brit. J. exper. Path.* **11**, 502 (1930).
- BEDSON, S. P., G. T. WESTERN and SIMPSON: Further observations on the aetiology of psittacosis. *Lancet* **1**, 545 (1930).
- BELLER, K. u. E. TRAUB: Geflügelpest und ähnliche Viruskrankheiten der Vögel. *Handbuch der Viruskrankheiten* **1**, 590 (1939).
- BELLER, K. u. E. SCHWARZMAIER: Untersuchungen über die ansteckende Blutarmut der Pferde. *Arch. Tierhk.* **76**, 24 (1940).
- BEMELMANS, E.: L'étiologie et la thérapie de la fièvre typhoïde (Pferdestaupe). *Zbl. Bakt. usw. I., Orig.* **68**, 8 (1913).
- BERGMANN, A.: Beiträge zur Kenntnis der Virusträger bei Rotlaufseuche, Influenza erysipelatososa, des Pferdes. *Z. Infkrkh. u. Hyg. Haustiere* **13**, 161 (1913).
- BEZENCY, R. u. F. SAGHER: Orale Infektion mit Lymphogranuloma inguinale. *Med. Klin.* **1935**, 270.
- BINKLEY, G. W. and W. R. LOVE: Mouse brain lymphogranuloma venereum antigen. *Arch. Dermat. (Am.)* **38**, 383 (1938).
- BIRT, C.: (1) Experimental investigation of simple continued fever. *J. Roy. Army Med. Corps* **11**, 566 (1908).
- (2) Phlebotomus or sandfly fever. *Brit. med J.* **1910**, 875.
- BLAKE, F. G. and J. D. TRASK: Studies on measles. *J. exper. Med. (Am.)* **33**, 385, 413 (1921).
- BLANC, G., CAMINOPETROS, DUMAS et A. SAËNZ: Recherches expérimentales sur la sensibilité des singes inférieurs au virus de la dengue. *C. r. Acad. Sci. Par.* **101**, 442 (1929).
- BLANC, G., CAMINOPETROS et MANOUSSAKIS: Quelques recherches expérimentales sur la Dengue. *Arch. Inst. Pasteur, Hellénique* **2**, 167 (1928).
- BLOOM, D.: Lymphogranuloma inguinale of the tongue and cervical glands. *Arch. Derm. (Am.)* **28**, 816 (1933).
- BOAK, R. A., CARPENTER and WASSÉN: Symptomatic herpetic manifestations following artificially induced fevers. *J. Bacter. (Am.)* **27**, 83 (1934).
- BÓDIAN, D. and H. A. HOWE: The rate of progression of poliomyelitis virus in nerves. *Bull. Hopkins, Hosp., Baltim.* **69**, 79 (1941).
- BOECKER, ED.: Tollwut. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 215 (1939).
- BRACK, W.: Lymphogranuloma inguinale und Trauma. *Schweiz. med. Wschr.* **1938**, 992.
- BRAIN, R. T.: The demonstration of herpetic antibody in human sera by complement-fixation, and the correlation between its presence and infection with herpes virus. *Brit. J. exper. Path.* **13**, 166 (1932).
- BRODIE, M.: The distribution of the virus of poliomyelitis in the cerebrospinal axis of monkeys. *J. Immunol. (Am.)* **25**, 71 (1933).
- BRUCK, C.: Immunität bei Syphilis. *Handbuch der pathog. Mikroorg.*, 3. Aufl., **7**, 155 (1930).
- BURNET, F. M.: New light on poliomyelitis. *J. Amer. med. Assoc.* **116**, 244 u. 1862 (1941), Ref.
- BURNET, F. M. and A. V. JACKSON: The significance of neutralising antibodies in human sera. *Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci.* **17**, 261 (1939).

- BURNET, F. M., A. V. JACKSON and E. G. ROBERTSON: (1) The use of "Macacus cynomolgus" as an experimental animal (for poliomyelitis). *Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci.* **17**, 375 (1939).
- (2) Poliomyelitis. — Intraocular inoculation as a standard method for the demonstration of neutralizing antibodies. *Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci.* **17**, 253 (1939).
- BURNET, F. M. and D. LUSH: Herpes simplex. Studies on the antibody content of human sera. *Lancet* **236**, 629 (1939).
- BURNET, F. M. and STANLEY W. WILLIAMS: Herpes simplex: a new point of view. *Med. J. Austral.* **1**, 637 (1939).
- BUSCHKE, H. u. W. COURTH: Über die extragenitale Lokalisation des Lymphogranuloma inguinale. *Klin. Wschr.* **10**, 1709 (1931).
- BUSSON, BR.: (1) Zur Frage der Lyssaschutzimpfung durch die praktischen Ärzte und der prophylaktischen Impfung der Hunde. *Wien. Klin. Wschr.* **1925**, 789, 1134.
- (2) Experimentelle Studien über das Lyssavirus. *Zbl. Bakter. usw. I., Orig.* **115**, 294 (1930).
- CAMINOPETROS, J.: (1) Recherches épidémiologiques et expérimentales sur la maladie de NICOLAS et FAVRE: longue persistance du virus de cette maladie dans l'organisme humain. *Presse méd.* **1935**, 1368.
- (2) Nouvelles recherches sur l'immunité dans la lymphogranulomatose vénérienne. Existence d'une réactivité particulière propre à chaque groupe de tissus réceptifs, déterminant l'évolution de l'infection. *Z. Immunit.forsch.* **96**, 217 (1939).
- (3) L'immunité et ses caractères particuliers dans la lymphogranulomatose vénérienne. *Bull. Acad. Méd., Par.* **120**, 114 (1938).
- (4) Recherches épidémiologiques et expérimentales sur la maladie de NICOLAS et FAVRE. Longue persistance du virus dans l'organisme humain. *Bull. Soc. Pathol. exot.* **28**, 408 (1935).
- (5) Réceptivité du lapin et du cobaye au virus de la lymphogranulomatose inguinale. *Bull. Soc. Pathol. exot.* **27**, 634 (1934).
- CAMINOPETROS, J. et B. PHOTAKIS: Étude histologique des lésions pulmonaires, provoquées chez le lapin par inoculation dans le poumon du virus de la maladie de NICOLAS et FAVRE. La réaction spécifique du système réticulo-endothelial. *Bull. Soc. Path. exot.* **28**, 81 (1935).
- CAMINOPETROS, J., PHYLACTOS et B. PHOTAKIS: Recherches expérimentales sur la lymphogranulomatose inguinale en Grèce. *C. r. Soc. Biol.* **110**, 445 (1932).
- CERUTTI, P. e E. PAVANATI: Linfogranulomatosi inguinale benigna. Turin, 1938.
- CLARK, P. F., SCHINDLER and ROBERTS: Some properties of poliomyelitis virus. *J. Bacter. (Am.)* **20**, 213 (1930).
- COLE, R. and ANN KUTTNER: A filterable virus present in the submaxillary glands of guinea pigs. *J. exper. Med. (Am.)* **44**, 855 (1926).
- COLLIER, W. A.: Übertragung des Geflügelpestvirus auf Mäusegehirn und Rattenhoden. *Z. Hyg.* **113**, 751 (1932).
- CORNWALL, J. W. and W. A. BEER: *Ind. J. med. Res.* **13**, 475 (1925/26), zit. nach ROOYEN und RHODES.
- COUTTS, W. E.: Hereditary transmission of Lymphogranulomatosis venerea. *J. trop. Med. (Am.)* **41**, 279 (1938).
- COUTTS, W. E., MARTINI u. GACITUA: Entwicklungsformen des Lymphogranuloma inguinale. *Derm. Wschr.* **107**, 1404 (1938).
- CRUICKSHANK, J. A. and E. R. WRIGHT: A note on some experiments performed with a view to finding out the period before symptoms during which the saliva of an animal incubating rabies is infective. *Ind. J. med. Res.* **1**, 532 (1914).
- DAMMAN u. HASENKAMP: Einiges über Tollwut. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1908**.
- DAVID, V. C. and M. LOVING: Extragenital lesions of lymphogranuloma inguinale. *J. amer. med. Assoc.* **106**, 1875 (1936).
- DEGKWITZ, R.: (1) The etiology of measles. *J. infect. Dis. (Am.)* **41**, 304 (1927).
- (2) Die Masernprophylaxe und ihre Technik. Berlin, 1923.
- DICK, W.: Ist das Lymphogranuloma inguinale auf die Nachkommenschaft übertragbar? *Med. Klin.* **32**, 319 (1936).

- DINGER, J. E. u. E. P. SNIJDERS: Dengue und Gelbfieber. Arch. Schiffshyg. u. Tropenkrkh. **35**, 497 (1931).
- DOERR, R.: (1) Pappataciefieber und Dengue. Handbuch der pathog. Mikroorg., 3. Aufl., **8** (1930).
- (2) Der qualitative Virusnachweis. — Anreicherungsverfahren. Handbuch der Virusforschung **2**, 574—597 (1939).
- (3) Die Infektion als Gast-Wirt-Beziehung mit besonderer Berücksichtigung der tierpathogenen Virusarten. Arch. Virusforsch. **2**, 87 (1941).
- (4) Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik. Handbuch der Virusforschung, S. 1—125. 1938.
- (5) Die Ausbreitung der Virusarten im Wirtsorganismus. Handbuch der Virusforschung, S. 690—825. 1939.
- (6) Die Tropismen und spezifischen Lokalisationen der Virusarten. Handbuch der Virusforschung, S. 826—861. 1939.
- (7) Die Lehre von den Infektionskrankheiten in allgemeiner Darstellung. Lehrbuch der inneren Medizin, 5. Aufl. Berlin 1942.
- (8) Die Schienenimmunisierung. Klin. Wschr. **1936**, II, 1062.
- (9) Ausbreitung und Auswirkung toxischer und infektiöser Agenzien im peripheren Nervensystem. Z. Neur. u. Psychiatr. **173**, 621 (1941).
- (10) Viruskrankheiten. Schweiz. med. Jahrb. **XXI**, 1942.
- (11) Allgemeine Merkmale der Virusarten. Z. Hyg. **118**, 738 (1934).
- (12) Natürliche und experimentelle Übertragung der Virusarten. Handbuch der Virusforschung, S. 547—574. 1939.
- DOERR, R., FRANZ u. TAUSSIG: Das Pappataciefieber. Leipzig u. Wien, 1909.
- DOERR, R. u. C. HALLAUER: Die primäre Herpesmyelitis und ihre Beziehungen zum Infektionsmodus sowie zur Wirtsspezies. Z. Hyg. **118**, 474 (1936).
- DOERR, R. u. M. KON: Schieneninfektion, Schienenimmunisierung und Konkurrenz der Infektionen im Zentralnervensystem beim Herpesvirus. Z. Hyg. **119**, 679 (1937).
- DOERR, R. u. R. PICK: Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest. Zbl. Bakter. usw., I, Orig. **76**, 476 (1915).
- DOERR, R. u. V. K. RUSS: (1) Weitere Untersuchungen über das Pappataciefieber. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **13**, 693 (1909).
- (2) Die gutartigen kurzfristigen Fieber der warmen Länder. Menses Handbuch der Tropenkrankheiten, 2. Aufl., 3. Bd., 1914.
- DOERR, R. u. S. SEIDENBERG: Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest. VI. Z. Hyg. **113**, 671 (1932).
- DOERR, R., SEIDENBERG u. L. WHITMAN: Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest. IV. Z. Hyg. **112**, 732 (1931).
- DOUGLAS, S. R. and W. SMITH: A study of vaccinal immunity in rabbits by means of „in vitro“ methods. Brit. J. exper. Path. **11**, 96 (1930).
- DRAPER, G.: Acute Poliomyelitis. Philadelphia, 1917.
- ELITZAK, J. and B. KORNBLITH: Lymphogranuloma inguinale with rectal manifestation in a child. Amer. J. Dis. Childr. **49**, 703 (1935).
- ELLCOTT, V. L. and C. H. HALLIDAY: The psittacosis outbreak in Maryland, Dezember 1929 and Januar 1930. Public Health Rep. (Am.) **46**, 843 (1930).
- ERNST, W. u. H. HAHN: Tollwutuntersuchungen. Ref. Berl. tierärztl. Wschr. **1926**, 562.
- EVERLING, W.: Lyssa-Übertragung durch Fledermäuse. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **43**, 102 (1939).
- FANCONI, G. u. H. ZELLWEGER: Beiträge zur Epidemiologie der Kinderlähmung. Schweiz. med. Wschr. **72**, 1025 (1942).
- FAVRE, M.: Sur un caractère particulier du virus figuré de la lymphogranulomatose inguinale: l'argyrophilie. Le virus figuré vu sur coupes. Sa répartition dans le ganglion. C. r. Soc. Biol. **133**, 182 (1940).
- FINDLAY, G. M.: Die Immunisierung gegen das Gelbfieber. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **41**, 185 (1937).

- FINDLAY, G. M. and R. D. MACKENZIE: (1) The transmission of fowlpest to ferrets. *Brit. J. exper. Path.* **18**, 146 (1937).
 — (2) Fowl pest: the susceptibility of monkeys, hedgehogs and other animals. *Brit. J. exper. Path.* **18**, 258 (1937).
- FINDLAY, G. M., MACKENZIE and MACCALLUM: Developmental forms of the virus of lymphogranuloma inguinale (climatic bubo). *Nature* **141**, 877 (1938); *Trans. Roy. Soc. trop. Med., Lond.* **32**, 183 (1938).
- FISCHER, A. E.: Tonsillectomy and Poliomyelitis. *J. amer. med. Assoc.* **116**, 2433 (1941).
- FLEXNER, S.: (1) The effects of nasally instilled virus of poliomyelitis on the cerebrospinal fluid and the blood of monkeys. *J. exper. Med. (Am.)* **62**, 787 (1935).
 — (2) Experimental cerebrospinal meningitis in monkeys. *J. exper. Med. (Am.)* **9**, 142 (1907).
- FLEXNER, S. and H. L. AMOSS: (1) Persistence of the virus of poliomyelitis in the nasopharynx. *J. exper. Med. (Am.)* **29**, 379 (1919).
 — — (2) Varieties and properties of the herpes virus. *J. exper. Med. (Am.)* **41**, 357 (1925).
- FLEXNER, S., CLARK and FRASER: Epidemic poliomyelitis. Passive human carriage of the virus of poliomyelitis. *J. amer. med. Assoc.* **60**, 201 (1913).
- FORSsMAN, J.: Verbreitung der Staphylokokken in Kaninchen nach intravenösen Injektionen von Staphylokokken. *Z. Immunit.forsch.* **91**, 165 (1937).
- FORST, J.: Beitrag zur Kenntnis atypischer und abortiver Lyssaformen bei Hunden. *Klin. spisy vys. šk. zvěrol. Brünn*, 1924. Tschechisch; *ref. Zbl. Bakter. usw., I*, Ref. **80**, 246 (1925/26).
- FORTNER, J.: (1) Die ansteckende Blutarmut der Einhufer. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1938**, 1.
 — (2) Sur la question de l'immunité contre la psittacose. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **28**, 683 (1936).
- FORTNER, J. u. R. PFAFFENBERG: (1) Über das gehäufte Wiederauftreten der Psittacose. *Z. Hyg.* **116**, 397 (1935).
 — — (2) Über das gehäufte Wiederauftreten der Psittacose. II. Mitt. *Z. Hyg.* **117**, 286 (1936).
- FRANZ, K. u. H. KOLAR: Zur Pathologie und Therapie des Pappataciefiebers. *Beih. z. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **14**, 41 (1910).
- FREI, W.: Eine neue Hautreaktion bei Lymphogranuloma inguinale. *Klin. Wschr.* **6**, 2042 (1927).
- FULDE, E. u. J. HERZBERG: Über die Urethritis purulenta lymphogranulomatosa inguinalis acuta. *Dtsch. Z. Chir.* **251**, 479 (1938).
- GALTIER et LIGNIÈRES: Zit. nach KRAUS, GERLACH und SCHWEINBURG.
- GARD, SVEN: (1) Method for detecting poliomyelitic virus in sewage and stools. *J. exper. Med. (Am.)* **71**, 779 (1940).
 — (2) Übermikroskopische Beobachtungen an gereinigten Poliomyelitisviruspräparaten. *Arch. Virusforsch.* **3** (1943) (im Druck).
- GERLACH, F.: (1) Beobachtungen bei der in Österreich auftretenden Psittacose. *Z. Hyg.* **118**, 574 (1936).
 — (2) Menschen als Psittacosevirusträger nach stummer Infektion mit Psittacosevirus. *Z. Hyg.* **118**, 709 (1936).
- GILDEMEISTER, E.: Poliomyelitis. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 133 (1939).
- GILDEMEISTER u. AHLFELD: Über eine bei der weißen Maus spontan auftretende Meningoencephalomyelitis. *Zbl. Bakter. usw., I*, Orig. **142**, 144 (1938).
- GILDEMEISTER, E. u. E. HAAGEN: Nachweis eines Toxins in Rickettsien-Ei-Kulturen (*Rickettsia mooseri*). *Dtsch. med. Wschr.* **66**, 878 (1940).
- GOLDBERGER, J. and J. F. ANDERSON: An experimental demonstration of the presence of the virus of measles in the mixed buccal and nasal secretions. *J. amer. med. Assoc.* **57**, 476 (1911).
- GORDON, M. H.: Virus studies concerning the aetiology of psittacosis. *Lancet* **1930**, 1174.

- GORDON, H. and T. K. HOLMES: Experimental measles. The lymphoid tissues of animals inoculated with the virus of human measles. *Amer. J. Path.* **17**, 165 (1941).
- GREENBLATT, R. B., DIENST, PUND and TORPIN: Experimental and clinical granuloma inguinale. *J. amer. med. Assoc.* **113**, 1109 (1939).
- v. GROER, F.: Die Masern. *Handbuch der Kinderheilkunde*, herausg. von PFAUNDLER und SCHLOSSMANN, 4. Aufl., **2**, 195 (1931).
- HAAGEN, E.: (1) Gelbfieber. *Handbuch der Viruskrankheiten*, **1**, 454 (1939).
— (2) Die Papageienkrankheit (Psittacosis). *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 1 (1939).
- HAAGEN, E. u. G. MAUER: Die Psittacose. (Zusammenfassender Bericht auf Grund der Untersuchungen im Institut Robert Koch im Jahre 1936/37.) *Dtsch. med. Wschr.* **1938**, 568.
- VON HAAM, E. and R. D'AUNOY: Is lymphogranuloma inguinale a systemic disease? *Amer. J. trop. Med.* **16**, 527 (1936).
- HABEL, K.: Tissue factors in antirabies immunity of experimental animals. *Publ. health. Rep.* **56**, 692 (1941).
- HACKENTHAL, H.: Über die Lokalisation des Kuhpockenvirus im Blute von mit Pockenlymphe infizierten Meerschweinchen. *Dtsch. med. Wschr.* **1929**, 960.
- HALASZ: Cit. nach HUTYRA-MAREK-MANNINGER.
- HALLAUER, C.: Die erworbene Immunität gegen Virusinfektionen. *Handbuch der Virusforschung* **2**, 1147—1266 (1939).
- HALLAUER, C. u. S. SEIDENBERG: Beitrag zur Epidemiologie der Hühnerpest. *Z. Hyg.* **120**, 110 (1937).
- HARMON, P. H. and H. N. HARKINS: The significance of neutralizing substances in resistance and recovery from poliomyelitis. *J. amer. med. Assoc.* **107**, 552 (1936).
- HASHIMOTO, T. and S. KOYAMA: *Jap. J. Derm. a. Ur.* **38**, 113 (1935); zit. nach C. et J. LEVADITI.
- HAUPT, H. u. H. REHAAG: Durch Fledermäuse verbreitete seuchenhafte Tollwut unter Viehbeständen in Santa Catharina (Südbrasilien). *Z. Infekt.krkh. Haustiere* **22**, 76, 104 (1921).
- HECKENROTH, F.: Contribution à l'étude de la rage en Afrique occidentale française. *Ann. Inst. Pasteur., Par.* **32**, 389 (1918).
- HEGLER, C.: Psittacosis (Papageienkrankheit). *Handbuch der inneren Medizin*, 3. Aufl., **1**, 1085 (1934).
- HÉJJ: Allavatori Lapok, **1921**, 63; zit. nach HUTYRA-MAREK-MANNINGER, S. 441.
- HEKTOEN, L.: Experimental measles. *J. inf. dis.* **2**, 238 (1905).
- HELLERSTRÖM, S. and E. WASSÉN: Epidemiology and etiology of lymphogranuloma inguinale. *Hommage à la mémoire du professeur JEAN CANTACUZÈNE*. Paris: Masson & Cie., 1934.
- HERRMANN, O.: Experimentelle und natürliche Lyssa recurrens. *Zbl. Bakter. usw., I*, Orig. **95**, 69 (1925).
- HOFFMANN, W. H.: Das gelbe Fieber. *Handbuch der pathog. Mikroorg.*, 3. Afl., **8**, 419 (1930).
- HÖGYES, A.: Lyssa. *Spezielle Pathologie und Therapie*, V. Bd., II. Abt. Wien, 1897.
- HOME, F.: *Medical facts and experiments*. London, 1759.
- HOMMA, H. u. H. T. CHAGLIASSIAN: Über einen Fall von extragenitalem Lymphogranuloma inguinale bei einer Krankenpflegerin. *Wien. Klin. Wschr.* **1935**, 464.
- HÖRING, F. O.: Die klinischen Eigenschaften der Viruskrankheiten. *Dtsch. Mil.arzt* **7**, 275 (1942).
- HORNUS, G.: Immunité dans la poliomyélite. *Les ultravirus des maladies humaines*, S. 604 (1938).
- HOWARD, C. W.: Insect transmission of infectious anemia of horses. *J. Parasitol. (Am.)* **4**, 70 (1917).
- HOWE, H. A. and D. BODIAN: (1) Untreated human stools as a source of poliomyelitis virus. *J. infect. dis. (Am.)* **66**, 198 (1940).
— — (2) Portals of entry of poliomyelitis virus in Chimpanzee. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **43**, 718 (1940).
— — (3) Second attacks of poliomyelitis. *J. exper. Med. (Am.)* **74**, 145 (1941).

- HOWE, H. A. and R. S. ECKE: Experimental poliomyelitis without paralysis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **37**, 125 (1937).
- HRUSZEK, H.: Beitrag zum Problem der natürlichen Übertragung des Herpesvirus von Mensch zu Mensch. Die venerische Ansteckung. *Derm. Wschr.* **105**, 1150 (1937).
- HURST, E. W. and J. L. PAWAN: (1) An outbreak of rabies in Trinidad without history of bites, and with the symptoms of acute ascending myelitis. *Lancet* **II**, 622 (1931).
- — (2) A further account of the Trinidad outbreak of acute rabie myelitis. *J. Path. a. Bacter.* **35**, 301 (1932).
- HUTYRA, MAREK, MANNINGER: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 8. Aufl. Jena, 1941.
- JACKSON, L.: An intracellular protozoan parasite of the ducts of the salivary glands of the guinea pig. *J. infect. dis. (Am.)* **26**, 347 (1920).
- JADIN, J. et E. ARNALDI: Considérations au sujet de l'épidémie ictérogène de Zongo et vaccination anti-amarile. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* **19**, 377 (1939).
- JAFFÉ, R.: Pathologisch-anatomische Untersuchungen über das strikturierende Rectumgeschwür (Lymphogranulomatosis inguinalis oder NICOLAS-FAVRESche Krankheit). *Schweiz. Z. allg. Path. u. Bakter.* **2**, 31 (1939).
- JANSEN, J. u. O. NIESCHULZ: Over de gevaeligheid von ratten voor het hoederpest-virus. *Tijdschr. Dierg.* **60**, 245 (1933); **61**, 15 (1934).
- JONESCO, D. et V. TEODOSIO: Passage du virus rabique dans les glandes sous-maxillaires chez le chien. *C. r. Soc. Biol.* **100**, 897 (1928).
- JUNGBLUT, C. W.: (1) Further observations on the poliocidal property of pregnant mare serum. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **33**, 137 (1935/36).
- (2) Vitamin C therapy and prophylaxis in experimental poliomyelitis. *J. exper. Med. (Am.)* **65**, 127 (1937).
- JUNGBLUT, C. W. and E. T. ENGLE: On the property of certain animal sera to neutralize the virus of poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **29**, 879 (1931/32).
- JUNGBLUT, C. W. and E. L. HAZEN: Failure to immunize the monkey against poliomyelitis by prolonged nasopharyngeal spraying with live virus. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **28**, 1004 (1930/31).
- JUNGBLUT, C. W., K. MEYER and ENGLE: Inactivation of poliomyelitis virus and of diphtheria toxin by various endocrine principles. *J. Immunol. (Am.)* **27**, 43 (1934).
- JUNGBLUT, C. W. and M. SANDERS: Studies of a murine strain of poliomyelitis virus in cotton rats and white mice. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 407 (1940).
- KACERCSKY: Zvěrolék. *Obz.* **1926**, 84; zit. nach Jos. KOCH.
- KASAHARA, M. u. J. GAMMO: Der Vitamin C-Gehalt im Liquor bei experimenteller Poliomyelitis. *Z. Neur.* **162**, 671 (1938).
- KEMPF, J. and M. SOULE: (1) Effect of chlorination of city water on virus of Poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **44**, 431 (1940).
- — (2) Three strains of poliomyelitis virus isolated from feces during the 1939 Buffalo and Detroit epidemics. *J. infect. dis. (Am.)* **68**, 188 (1941).
- KESSEL, J. F., MOORE, STIMPERT and FISK: Occurrence of poliomyelitis virus in autopsies, patients and contacts. *J. exper. Med. (Am.)* **74**, 601 (1941).
- KLING, C.: Présence du virus poliomyélique dans les eaux d'égout. *Bull. Acad. Méd., Par.* **123**, 335 (1940).
- KLING, C., LEVADITI et HORNUS: Comparaison entre les divers modes de contamination du singe par le virus poliomyélique (voies digestives et naso-pharyngée). *Bull. Acad. Méd., Par.* **111**, 709 (1934).
- KLING, C., OLIN, FAHRAEUS et NORLIN: L'eau d'égout comme porteur et disséminateur du virus poliomyélique. *Bull. Acad. Méd., Par.* **126**, 249 (1942).
- KLING, C., OLIN, MAGNUSSON et S. GARD: Nouvelles recherches sur l'élimination du virus poliomyélique par les matières fécales. *Bull. Acad. Méd., Par.* **121**, 826 (1939).

- KLING, C. u. A. PETERSSON: Keimträger bei Kinderlähmung. Dtsch. med. Wschr. **40 I**, 320 (1914).
- KLING, C., W. WERNSTEDT et A. PETERSSON: Recherches sur le mode de propagation de la paralysie épidémiques (maladie de Heine-Medin). Z. Immunit.forsch. **12**, 316, 657; **14**, 354 (1912).
- KOCH, JOS.: Lyssa. Handbuch der pathog. Mikroorg. **8**, 547 (1930).
- DE KOCK, G.: Beiträge zur Kenntnis der infektiösen Anämie der Pferde, wie sie in Südafrika beobachtet wird. Z. Inf.krkh. Haustiere **27**, 30 (1925).
- KOLMER, J. A. and A. M. RULE: Tests for immunity to acute anterior poliomyelitis. J. Immunol. (Am.) **29**, 175 (1935).
- KONRADI, D.: Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektiösfähig? Zbl. Bakter. usw., I, Orig. **47**, 203 (1908).
- KOPPISCH, E.: Zur Wanderungsgeschwindigkeit neurotroper Virusarten in peripheren Nerven. Z. Hyg. **117**, 635 (1935).
- KRÁL, F.: La variabilité de la virulence et de l'infectiosité du virus de l'anémie „infectiosa equi“. Zvěrolék Rozpr. **1933**, 208. Tschechisch; ref. Bull. Inst. Pasteur, Par. **32**, 494 (1934).
- KRAMER, S. D.: (1) Immunity to poliomyelitis in the general population, probable mechanism of production. J. amer. med. Assoc. **99**, 1048 (1932).
— (2) Detection of a healthy carrier of virus of poliomyelitis without history of contact. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 1165 (1935).
- KRAMER, S. D. and W. L. AYCOCK: Abortive Poliomyelitis. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **29**, 98 (1931/32).
- KRAMER, S. D., GILLIAM and MOLNER: Recovery of the virus of poliomyelitis from the stools of healthy contacts in an institutional outbreak. Publ. Health Rep. (Am.) **54**, 1914 (1939).
- KRAMER, S. D., GROSSMAN and PARKER: Active immunity to experimental poliomyelitis by intranasal route in macacus rhesus. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 370 (1937).
- KRAMER, S. D., HOSKWITH and GROSSMAN: Detection of the poliomyelitis virus in the nose and throat and gastro-intestinal tract of human beings and monkeys. J. exper. Med. (Am.) **69**, 49 (1939).
- KRAMER, S. D., SOBEL, GROSSMAN and HOSKWITH: Survival of the virus of poliomyelitis in the oral and nasal secretion of convalescents. J. exper. Med. (Am.) **64**, 173 (1936).
- KRAUS, R., GERLACH u. SCHWEINBURG: Lyssa bei Mensch und Tier. Berlin u. Wien, 1926.
- KRAUS, R. u. F. SCHWEINBURG: Über die experimentellen Grundlagen der Schutzimpfung gegen Tollwut. Handbuch der pathog. Mikroorg., 3. Aufl., **8**, 1, 695 (1930).
- KRUMWIEDE, CH., GRATH and OLDENBUSCH: The etiology of the disease psittacosis. Science (Am.) **71**, 262 (1930).
- KUTTNER, A. G.: Further studies concerning the filtrable virus present in the submaxillary glands of guinea pigs. J. exper. Med. (Am.) **46**, 935 (1927).
- LACASSAGNE, J. et LEBOEUF: La rareté de la maladie de NICOLAS-FAVRE chez les prostituées. Marseille Méd. **75**, 432 (1938).
- LÉPINE, P.: Rage-Virus rabique. Les Ultravirus des maladies hum. **395** (1938).
- LÉPINE, P., SÉDAILLAN et SAUTTER: Sur la présence du virus poliomyélique dans les matières fécales chez un porteur sain. Bull. Acad. Méd., Par. **122**, 141 (1939).
- LEVADITI, C.: (1) Poliomyélite infectieuse épidémique. Les Ultravirus des maladies humaines, S. 517—631. Paris, 1938.
— (2) Taille du virus de la lymphogranulomatose inguinale en rapport avec le cycle évolutif de ce virus. C. r. Soc. Biol. **134**, 382 (1940).
- LEVADITI, C., MOLLARET et REINIÉ: Identité entre la maladie de NICOLAS et FAVRE et certaines anorectites ou recto-colites végétantes. Étude expérimentale. Bull. Acad. Méd., Par. **113**, 439 (1935).

- LEVADITI, C., PAIC et KRASNOFF: Ultrafiltration et dimensions approximatives du virus de la maladie de NICOLAS et FAVRE. Rôle de la virulence. C. r. Soc. Biol. **123**, 1048 (1936).
- LEVADITI, C. et J. LEVADITI: Maladie de NICOLAS-FAVRE. Les ultravirus des maladies humaines, S. 899—975 (1938).
- LEVADITI, C., RAVAUT¹ et J. LEVADITI: Zit. nach C. et J. LEVADITI, siehe daselbst.
- LEVADITI, C., V. SANCHIS-BAYARRI et R. SCHOEN: Neuro-infections auto-stérilisables. C. r. Soc. Biol. **98**, 911 (1928).
- LEVADITI, JEAN: Caractère inapparent de la poliomyélite épidémique. Par. méd. **95**, 37 (1935).
- LEVY, H.: Lymphogranuloma venereum in childhood. Review of the literature with report of a case. J. Pediatr. (Am.) **11**, 812 (1937).
- LI, C. P.: (1) Generalized infection with gastro-intestinal lesions produced in certain laboratory animals by the virus of lymphogranuloma inguinale. Chin. med. J. Suppl. **III**, 349 (1940).
- (2) A critical note on the inclusions and elementary bodies in lymphogranuloma inguinale. Chin. med. J., Suppl. **III**, 359 (1940).
- LÖHE, H. u. H. SCHLOSSBERGER: Der heutige Stand unserer Kenntnisse vom Lymphogranuloma inguinale. Med. Klin. **1937**, 1427, 1471.
- v. LÖTTE, J.: Über ein Symptom der experimentellen Lyssa (das sogenannte prämonitorische Fieber). Zbl. Bakter. usw., I, Orig. **39**, 32 (1905).
- LÜHRS: Ist das Pferdewechselfieber auf den Menschen übertragbar? Z. Veterinärk. **32**, 89 (1920).
- MAGRASSI, FL.: Studii sull'infezione e sull'immunità da virus erpetico. I. Boll. Ist. sieroter. milan. **14**, 773 (1935). — II. Z. Hyg. **117**, 501 (1935). — III. Z. Hyg. **117**, 573 (1935).
- MANNINGER, R.: (1) Ansteckungsversuche mit dem Virus der ansteckenden Blutarmut der Pferde. Arch. Tierheilk. **73**, 425 (1938).
- (2) La vaccination préventive des chiens au service de la lutte contre la rage. C. r. Congr. Mal. trop. et Palud. 1938, 1^{re} partie, S. 583.
- MANNINGER, R. u. J. CZONTOS: Virusabortus der Stuten. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1941**, 105.
- MANOUÉLIAN, Y.: (1) Neurones virulents et infection de la salive au cours de la rage. C. r. Soc. Biol. **119**, 256 (1935).
- (2) Le mécanisme de l'infection de la salive au cours de la rage. Ann. Inst. Pasteur, Par., Suppl. commém. rage **55**, 97 (1935).
- MARCHOUX, SALIMBENI et SIMOND: La fièvre jaune. Ann. Inst. Pasteur, Par. **17**, 671 (1903).
- MARCHOUX, E. et SIMOND: Études sur la fièvre jaune. Troisième et quatrième mémoire. Ann. Inst. Pasteur, Par. **20**, 104, 161 (1906).
- MARGAROT et RIMBAUD: Histoire singulière de quatre maladies de NICOLAS-FAVRE contractées à la même source. Marseille méd. **75**, 429 (1938).
- MARTIN, J. P.: The bearing of recent work on certain aspects of poliomyelitis. Brit. med. J. **1933** II, 1200.
- MATHEWSON, C.: Inflammatory strictures of the rectum associated with venereal lymphogranuloma. J. amer. med. Assoc. **110**, 709 (1938).
- MATHIS, C.: Fièvre jaune. — Virus amaril. — Les ultravirus des maladies humaines. Paris, 1938.
- MATHIS, M.: Diagnostic de la fièvre jaune par inoculation intracrânienne du sang de malade à la souris blanche. C. r. Acad. Sci., Par. **203**, 547 (1936).
- MELCZER, N. u. K. SIPOS: Spezifischer Hautausschlag im Spätstadium des Lymphogranuloma inguinale. Arch. Derm. (D.) **178**, 106 (1938).
- MEMMO, G.: La febbre estiva nei militari è la febbre de pappataci. Gi. Med. mil. **37**, 449 (1909).
- MENDINI, G.: Intorno ad alcune febbri estive o febbri da canape. Boll. Soc. med. Bologna **7**, 297 (1907).
- MENEZIER: Cit. nach KRAUS, GERLACH und SCHWEINBURG, S. 80.

- MENK, W. u. W. MOHR: Kurze Mitteilung über den serologisch-experimentellen Nachweis antigen-verschiedener Typen des Lymphogranuloma inguinale-Virus. *Klin. Wschr.* **1941**, 685.
- METIVIER, H. V. M.: Paralytic rabies in livestock. *J. comp. Path. a. Ther.* **48**, 245 (1935).
- MEYER, K. F.: (1) Phagocytosis and immunity in psittacosis. *Schweiz. med. Wschr.* **1941**, 436.
- (2) Pigeons and barn yard fowls as possible sources of human psittacosis or ornithosis. *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 1377 (1941).
- MEYER, K. F. and B. EDDIE: (1) Latent psittacosis infections in mice. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **30**, 483 (1933).
- — (2) Latent psittacosis infections in Shell Parrakeets. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **30**, 484 (1933).
- — (3) Über Papageienpest. *Klin. Wschr.* **13**, 865 (1934).
- — (4) Avian Psittacosis. *J. Bacter. (Am.)* **29**, 67 (1935).
- — (5) Psittacosis in importations of psittacine birds from the South American and Australian continent. *J. infect. Dis. (Am.)* **65**, 234 (1939).
- — (6) Spontaneous ornithosis (psittacosis) in chickens the cause of a human infection. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **49**, 522 (1942).
- MEYER, K. F., EDDIE and H. Y. YANAMURA: Ornithosis (Psittacosis) in pigeons and its relation to human pneumonitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **49**, 609 (1942).
- MICHIN u. TITOW: Die Resultate von 2 Versuchsserien, die Hunde mit einer einzigen Antilyssavaccineschutzimpfung zu schützen. II. Kongr. Veter.-Arb. in Charkow 1927, S. 204; ref. *Zbl. Bacter. usw., I, Ref.* **91**, 153 (1928); ferner *Bull. Inst. Pasteur, Par.* **26**, 507 (1928).
- MIGONE, L. E. et R. PEÑA: Le mal de Cadéras des bovidés au Paraguay. *Bull. Soc. Path. exot.* **25**, 590 (1932).
- v. MOCSY, J.: Zur Pathogenese der ansteckenden Blutarmut der Pferde. *Arch. Tierheilk.* **65**, 547 (1932).
- NÄGELI, O.: Zur Biologie des Herpes simplex (gleichzeitig ein Beitrag zum Studium des Wesens des Herpesphänomens). *Münch. med. Wschr.* **1936 I**, 339.
- NICOLAS: Apparition de la virulence dans la salive mixte des animaux rabiques. *C. r. Soc. Biol.* **60**, 625 (1906).
- NICOLAU, S.: Considérations sur la prophylaxie de la lymphogranulomatose inguinale. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **27 I**, 505 (1935).
- NICOLAU, S., CRUVEILHIER et KOPCIOWSKA: Étude sur la pseudorage expérimentale. *C. r. Soc. Biol.* **126**, 563 (1937).
- NICOLAU, S. et KOPCIOWSKA: (1) Identification d'un virus prétendu herpétique. Immunisation antirabique cutanée, à l'aide d'injections intradermiques répétées de virus formolé. *C. r. Soc. Biol.* **101**, 655 (1929).
- — (2) Neuroinfections expérimentales, mortelles, partiellement autostérilisées chez le lapin. *C. r. Soc. Biol.* **115**, 1094 (1934).
- NICOLAU, S. et P. POINCLOUX: Herpès récidivant; caractères du virus herpétique. *C. r. Soc. Biol.* **87**, 451 (1922).
- NICOLLE, CH. et E. CONSEIL: Pouvoir préventif du sérum d'un malade convalescent de rougeole. *Bull. Soc. méd. Hop. Par.* **42**, 336 (1918).
- OLITSKY, P. K.: (1) A transmissible agent (THEILER's virus) in the intestines of normal mice. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 113, (1940).
- (2) Further studies of the agent in intestines of normal mice which induces encephalomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **43**, 296 (1940).
- OPPERMANN, TH. u. M. ZIEGLER: Infektiöse Anämie der Pferde. *Handbuch der pathog. Mikroorg., 3. Aufl., 9*, 77 (1929).
- OTTO, M.: Gelbfieber. *Handbuch der pathog. Mikroorg., 2. Aufl., 8* (1913).
- OTTO, R.: Bericht über das Veterinärwesen Sachsens. Cit. nach KRAUS, GERLACH und SCHWEINBURG, S. 117.
- PALTAUF, R.: Zur Pathologie der Wutkrankheit beim Menschen. *Wien. Klin. Wschr.* **22**, 1023 (1909).

- PAMPOUKIS: Quelques observations sur la rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **14**, 111 (1900).
- PAPP, K.: (1) Masernstudien. *Acta pædiatr. (Schwd.)* **45** (1933).
 — (2) Études sur la rougeole. *Annal. Méd.* **36** (1933).
 — (3) Fixation du virus morbillieux aux leucocytes du sang dès la période d'incubation de la maladie. *Bull. Acad. Méd., Par.* **117**, 46 (1937).
- PASTEUR, J. L., CHAMBERLAND et ROUX: Nouvelle communication sur la rage. *C. r. Acad. Sci. Par.* 1884.
- PAUL, J. R. and J. D. TRASK: The virus of poliomyelitis in stools and sewage. *J. amer. med. Assoc.* **116**, 493 (1941).
- PAUL, J. R., TRASK and CULOTTA: Poliomyelitis virus in sewage. *Science (Am.)* **90**, 258 (1939).
- PAUL, J. R., TRASK and SVEN GARD: Poliomyelitic virus in urban sewage. *J. exper. Med. (Am.)* **71**, 765 (1940).
- PAULSON, M.: The indication of Lymphogranuloma venereum Virus in the human intestine by the use of bowel antigen. *J. Bacter. (Am.)* **35**, 45 (1938).
- PAULSON, M. and B. KRAVETZ: The diagnosis of colitis associated with virus of lymphogranuloma venereum by bowel antigen. *Amer. J. digest. Dis.* **5**, 554 (1938).
- PAWAN, J. L.: Rabies in the vampire bat of Trinidad, with special reference to the clinical course and the latency of infection. *Ann. trop. Med.* **30**, 401 (1936).
- PETÉNYI: A Kanyaró virus fejlődése. *Orv. Hetil. (Ung.)* **1927**, 1054.
- PERDRAU, J. R.: The virus of herpes: its immune reactions and its relation to that of encephalitis lethargica. *Brit. J. exper. Path.* **6**, 41 (1925).
- PEUCH, M.: (1) Experimentell geprüfte Heilung der Wut bei einer Sau. *Rev. vétér.* **1889**, 466.
 — (2) Wut bei einem Ferkel mit spontaner Genesung. *Veter.-J.* **31**, 250 (1890).
- PFÄFFENBERG, R.: Die Psittacosis (Papageienkrankheit) in den Jahren 1931—1935. *Erg. Hyg. usw.* **18**, 251 (1936).
- PFEIL, L.: Beiträge zur klinischen Diagnostik der Tollwut. *Mh. prakt. Tierhk.* **29**, 252 (1918).
- PINKERTON, H. and R. L. SWANK: Recovery of virus morphologically identical with psittacosis from thiamin-deficient pigeons. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **45**, 704 (1940).
- RABIEAUX: Contribution à l'étiologie de la rage. *C. r. Soc. Biol.* 1903, Nr. 2.
- RAKE, G., SHAFFER, JONES and KEE: Soluble antigen in lymphogranuloma venereum. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **46**, 300 (1941).
- RAMON et LEMÉTAYER: Essais sur l'anémie infectieuse du cheval. *C. r. Acad. Sci. Par.* **198**, 508 (1934).
- Rapport de la commission de la fièvre jaune. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **31**, 1065 (1939).
- REISS, F.: Über eine neue immunologische Reaktion zur Diagnose der Lymphogranulomatosis inguinalis. *Derm. Wschr.* **99**, 1203 (1934).
- REMLINGER, P.: (1) 202 accidents paralytiques du traitement antirabique. *Bull. Acad. Méd., Par.* **128**, 419 (1937).
 — (2) Persistance de virus rabique dans la salive de chien guéri de la rage. *C. r. Soc. Biol.* **62**, 800 (1907).
- REMLINGER, P. et J. BAILLY: (1) Le virus fixe ne passe pas dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **42**, 729 (1928).
 — (2) Contribution à l'étude de la propagation de virus de rue dans le système nerveux central. *C. r. Soc. Biol.* **99**, 14 (1928).
 — — (3) Sur une différence de comportement des virus rabique et herpétique dans l'encéphale du lapin. *C. r. Soc. Biol.* **101**, 773 (1929).
 — — (4) Les chiens naturellement réfractaires à la rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **60**, 195 (1938).

- REMLINGER, P., PALMOVITCH et J. BAILLY: Nouveaux faits démontrant que le virus fixe ne passe pas dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **107**, 203 (1931).
- Report on the results obtained by the special committee for the investigation of infectious anemia among horses. The horse administr. bureau, Tokyo, 1914; ref. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1916**, 136, und *Bull. Inst. Pasteur, Par.* **12**, 634 (1914).
- RICHTERS, C. E.: Ansteckende Blutarmut der Einhufer. *Handbuch der Viruskrankheiten* **1**, 618 (1939).
- RITOSSA, P. u. F. MULÉ: Versuche zur Züchtung des Masernvirus auf der Chorionallantois des Hühnerembryos. *Arch. Virusforsch.* **2**, 53 (1941).
- RIVERS, T. M. and G. P. BERRY: (1) Psittacosis II. Experimentally induced infections in mice. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 105 (1931).
- — (2) Psittacosis. Experimentally induced infections in monkeys. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 129 (1931).
- — (3) Experimentally induced infections (with psittacosis) in rabbits and guinea pigs. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 119 (1931).
- — (4) Diagnosis of psittacosis in man by means of injections of sputum into white mice. *J. exper. Med. (Am.)* **61**, 205 (1935).
- RIVERS, T. M. and F. F. SCHWENTKER: Vaccination of monkeys and laboratory workers against psittacosis. *J. exper. Med. (Am.)* **60**, 211 (1934).
- VAN ROOYEN, C. E. and A. J. RHODES: *Virus diseases of man*. London, 1940.
- ROST: *Veter.-Bericht. Sachsen*, 1917.
- ROUBAUD, E., STEFANOPOULO et G. M. FINDLAY: Essais de transmission par les stegomyies du virus amaril de cultures en tissu embryonnaire. *Bull. Soc. Path. exot.* **30**, 581 (1937).
- ROUX, E. et NOCARD: A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés? *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **4**, 163 (1890).
- SABIN, A. B.: (1) Vitamin C in relation to poliomyelitis. *J. exper. Med. (Am.)* **69**, 507 (1939).
- (2) The olfactory bulbs in human poliomyelitis. *Amer. J. Dis. Childr.* **60**, 1313 (1940).
- (3) Filtrable mesenchymotropic microorganisms producing experimental polyarthritides and choreiform syndromes in mice. III. *Internat. Congr. Microbiol., New York 1940*, S. 182.
- SABIN, A. B. and P. K. OLITSKY: The olfactory bulbs in experimental poliomyelitis. *J. amer. med. Assoc.* **108**, 21 (1937).
- SABIN, A. B. and R. WARD: (1) The natural history of human poliomyelitis. II. Elimination of the virus. *J. exper. Med. (Am.)* **74**, 519 (1941).
- — (2) The natural history of human poliomyelitis. I. Distribution of virus in nervous and non-nervous tissues. *J. exper. Med. (Am.)* **73**, 771 (1941).
- — (3) Nature of non-paralytic and transitory paralytic poliomyelitis in rhesus monkeys inoculated with human virus. *J. exper. Med. (Am.)* **73**, 757 (1941).
- — (4) The natural history of experimental poliomyelitis infection. 1. Studies on the centrifugal spread and elimination of virus in intrasciatically inoculated rhesus monkeys. *J. exper. Med. (Am.)* **75**, 107 (1942).
- — (5) Rôle of leucocytes in immunity in vaccinia. *Brit. J. exper. Path.* **16**, 158 (1935).
- SACQUÉPÉE, E. et L. FERRABOUC: Sur l'étiologie de la psittacose. *Presse méd.* **1930**, 569.
- SAWYER, E. A.: Persistence of yellow fever immunity. *J. prevent. Med. (Am.)* **5**, 413 (1931).
- SCHAEFFER, M. and R. S. MUCKENFUSS: *Experimental poliomyelitis*. Depart. of health Bureau of Laborat., Vol. 1. New York, 1940.
- SCHALK and RODERICH: History of a "swamp fever" virus carrier. *Agricult. exper. Stat. North Dakota Bull.* **168**, 7 (1923); *Berl. tierärztl. Wschr.* **1924**, 177.
- SHELLNER, W.: Rotlaufseuche des Pferdes. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 106 (1939).

- SCHLOSSBERGER, H.: Lymphogranuloma inguinale. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 418 (1939).
- SCHOEN, R.: (1) Sur la mise en évidence des corpuscules lymphogranulomateux par imprégnation argentique d'après la méthode de DIETERLE. C. r. Soc. Biol. **133**, 397 (1940).
- (2) Morphologie du virus de la lymphogranulomatose inguinale. Ann. Inst. Pasteur, Par. **61**, 864 (1938).
- SCHULTZ, E. W. and L. P. GEBHARDT: (1) Observations on the prophylactic value of specific immune serum in experimental poliomyelitis. J. Pediatr. (Am.) **7**, 332 (1935).
- (2) Prevention of intranasally inoculated poliomyelitis in monkeys by previous intranasal irrigation of chemical agents. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **34**, 133 (1936).
- SCHWEINBURG, F.: Neuere Ergebnisse der Tollwutforschung. Weichardts Erg. **20**, 1 (1937).
- SHAFFER, L. W. and E. ARNOLD: Lymphogranuloma venereum, especially its treatment with sulfanilamide. Arch. Derm. (Am.) **38**, 705 (1938).
- SHAFFER, M., RAKE, STOKES and O'NEIL: Studies on measles. 2. Experimental disease in man and monkey. J. Immunol. (Am.) **41**, 241 (1941).
- SHOPE, R. E.: The influence of host and intermediate reservoir host in determining the epidemiologic pattern of bovine pseudorabies and swine influenza. Arch. Virusforsch. **2**, 397 (1942).
- SICÉ, A.: Enfance et fièvre jaune. Bull. Soc. Path. exot. **33**, 6 (1940).
- SILVER, J. F., HALL and HITCHENS: (1) Results obtained in the transmission of dengue fever. J. amer. med. Assoc. **84**, 1163 (1925).
- — — (2) Dengue. Philipp. J. Sci. **29** (1926).
- SIMMONS, J. S.: Dengue fever. Amer. J. trop. Med. **11** (1931).
- SIMMONS, J. S., H. S. JOHN and H. K. REYNOLDS: Experimental studies of dengue. Philipp. J. Sci. **44**, 1 (1931).
- SIMOND, AUBERT et NOC: Contribution à l'étude de l'épidémiologie amarile. Ann. Inst. Pasteur Par. **23**, 864, 1009 (1909).
- SKORPIL, F.: Über die außergeschlechtliche Ansteckung durch Lymphogranuloma inguinale. Arch. Derm. (D.) **171**, 489 (1935).
- SMITH, H. H., PENNA and PAOLIELLO: Yellow fever vaccination with cultured virus (17 D) without immune serum. Amer. J. trop. Med. **18**, 437 (1938).
- SMITH, W.: The distribution of virus and neutralizing antibodies in the blood and pathological exsudates of rabbits infected with vaccinia. Brit. J. exper. Path. **10**, 93 (1929).
- SONCK, C. E.: A 6th case from Finland of lymphogranuloma in children. Acta derm. vener. (Schwd.) **21**, 469 (1940).
- SOPER, F. L. and A. DE ANDRADE: The disproportion between immunity distribution as revealed by complement-fixation and mouse protection tests and history of yellow fever at Cambuci, Rio de Janeiro. Amer. J. Hyg. **18**, 588 (1933).
- SOPER, F. L., PENNA, CARDOSO, SERAFIM, FROBISHER and PINHEIRO: Yellow fever without "Aedes aegypti". Amer. J. Hyg. **18**, 555 (1933).
- SORDELLI, A. u. E. SAVINO: Die Isolierung des Psittacosevirus und die Komplementbindung mit Serum von Kranken. Rev. Inst. bacter. Dep. nac. Hig., B. Air. **9**, 448 (1940).
- SORDELLI, A. et A. ZUCCARINI: Técnica para el distamamiento del virus de la psittacose. Rev. Inst. bacter. Dep. nac. Hig., B. Air. **9**, 99 (1939).
- STIMPERT, F. D. and J. F. KESSEL: Infectivity and immunity resulting from the injection of poliomyelitis virus by the intracutaneous route. J. exper. Med. (Am.) **71**, 645 (1940).
- TALIAFERRO, W. H.: The immunology of parasitic infections. The century biolog. series. New York, 1929.
- TANIGUCHI, T., HOSOKAWA, KUGA and TEREDA: An experimental study on the virus of measles. Jap. J. exper. Med. (e.) **13**, 577 (1935).

- TAYLOR, E. and H. L. AMOSS: Carriage of the virus of poliomyelitis with subsequent development of the infection. *J. exper. Med. (Am.)* **26**, 745 (1917).
- THEILER, M.: (1) Spontaneous encephalomyelitis of mice—a new virus disease. *Science (Am.)* **80**, 122 (1934).
- (2) Spontaneous encephalitis of mice. *J. exper. Med. (Am.)* **65**, 705 (1937).
- THEILER, M. and SVEN GÅRD: Encephalomyelitis of mice. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 49, 79 (1940).
- TISELIUS, A. u. SVEN GÅRD: Übermikroskopische Beobachtungen an Poliomyelitis-Viruspräparaten. *Naturwiss.* **30**, 728 (1942).
- TOOMEY, J. A.: (1) Spread of poliomyelitis virus along nerve fibers of the sympathetic system. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **31**, 305 (1934).
- (2) Spread of poliomyelitis virus from the gastrointestinal tract. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **31**, 680 (1934).
- (3) Poliomyelitis histology in rhesus monkeys: virus introduced via gastrointestinal tract. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **34**, 593 (1936).
- (4) Intranasal or gastrointestinal portal of entry in poliomyelitis. *Science (Am.)* **82**, 200 (1935).
- (5) The gastrointestinal portal of entry in poliomyelitis. *J. Pediatr. (Am.)* **8**, 664 (1936).
- (6) The histologic aspect of experimental poliomyelitis produced via the gastrointestinal tract. *Amer. J. Dis. Child.* **52**, 1361 (1936).
- TORNACK, J. H.: Über Sputumuntersuchungen bei Psittacose. *Dtsch. med. Wschr.* **1941**, 43.
- TORRES, S.: Cit. nach W. EVERLING. .
- TRASK, J. D. and J. R. PAUL: Periodic examination of sewage for the virus of poliomyelitis. *J. exper. Med. (Am.)* **75**, 1 (1942).
- TRASK, J. D., PAUL and VIGNEC: (1) Identification of a strain of poliomyelitis virus from feces in non paralytic poliomyelitis. I. Immunological tests. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **41**, 241 (1939).
- — (2) Poliomyelitic virus in human stools. *J. exper. Med. (Am.)* **71**, 751 (1940).
- TRASK, J. D., VIGNEC and PAUL: (1) Isolation of poliomyelitic virus from human stools. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **38**, 147 (1938).
- — — (2) Poliomyelitis virus in human stools. *J. amer. med. Assoc.* **111**, 6 (1938).
- TRAUB, E.: (1) Persistence of lymphocytic choriomeningitis virus in immun animals and its relation to immunity. *J. exper. Med. (Am.)* **63**, 847 (1936).
- (2) Factors influencing the persistence of choriomeningitis virus in the blood of mice after clinical recovery. *J. exper. Med. (Am.)* **68**, 229 (1938).
- TUNNICLIFF, R. and W. B. MOODY: Experimental measles by inoculation of monkeys, guineapigs and rabbits with a green-producing diplococcus. *J. infect. Dis. (Am.)* **31**, 382 (1922).
- URBAIN, ACH. et W. SCHAEFFER: Sur la répartition du virus herpétique dans les tissus et les tumeurs. *C. r. Soc. Biol.* **97**, 1279 (1927).
- VECCHIU, A.: (1) Equine influenza (pink eye). *J. comp. Path. a. Ther.* **40**, 243 (1927).
- (2) Recherches expérimentales sur la fièvre typhoïde du cheval. *Rev. gén. méd. vét.* **1926**, 241.
- DE VERTUEIL, E. and F. W. URICH: The study and control of paralytic rabies transmitted by bats in Trinidad. *Trans. Soc. trop. Med.* **29**, 317 (1935/36).
- VIEUCHANGE, J.: Psittacose. Les ultravirus des maladies humaines. S. 863 (1938).
- VIGNE, P. et J. BONNET: Utilisation d'un antigène ganglionnaire sur le malade lui-même dans le diagnostic biologique de la maladie de NICOLAS-FAVRE. *Marseille méd.* **75**, 471 (1938).
- VIGNEC, A., J. R. PAUL and J. D. TRASK: (1) Poliomyelitis virus from feces in non paralytic poliomyelitis. II. Infectivity by various routes. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **41**, 246 (1939).
- — — (2) The recovery of the virus of poliomyelitis from extraneural sources in man. *Yale J. Biol. a. Med. (Am.)* **11**, 15 (1938).

- VIOLLE, H.: Le choléra. Paris: Masson, 1919.
- WALCOTT, A. M., CRUZ, PAOLIELLO and SERAFIM: An epidemic of urban yellow fever which originated from a case contracted in the jungle. *Amer. J. trop. Med.* **17**, 677 (1937).
- WASSÉN, E.: Studies of lymphogranuloma inguinale from etiological and immunological points of view. *Acta path. et microbiol. scand., Suppl.* XXIII (1935).
- WAWERSIG, R.: Über die Verwendung von Tierantigenen zur FREISCHEN Reaktion beim Lymphogranuloma inguinale. *Derm. Wschr.* **109**, 1348 (1939).
- WENCKEBACH, G. K.: Wiedererkrankung an Psittacose. *Med. Klin.* **32**, 1594 (1936).
- WEYER, E. R.: Herpes antiviral substances: distribution in various age groups and apparent absence in individuals susceptible to poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. Med. (Am.)* **30**, 309 (1932/33).
- WHITMAN, L.: Failure of "Aedes aegypti" to transmit yellow fever cultured virus (17 D). *Amer. J. trop. Med.* **19**, 19 (1939).
- WIEDMANN, A.: Bemerkungen zur Diagnose, Klinik und Therapie der Lymphogranulomatosis inguinalis. *Derm. Wschr.* **101**, 1319 (1935).
- WILMOTH, C. L.: Lymphogranuloma inguinale. *J. trop. Med. (Am.)* **39**, 174 (1936).
- WINGE, M.: Über Lymphogranuloma inguinale unter besonderer Berücksichtigung des Vorkommens bei Kindern. *Klin. Wschr.* **1941**, 1073.
- WITTINGHAM and ROOK: Observations and Bionomics of Phlebotomus papatasii. *Brit. med. J.* **1923**, 1144.
- YOFFEY, J. M. and E. R. SULLIVAN: The lymphatic pathway from the nose and pharynx. *J. exper. Med. (Am.)* **69**, 133 (1939).
- ZINSSER, H. and F. F. TANG: Further experiments on the agent of herpes. *J. Immunol. (Am.)* **17**, 343 (1929).
- ZWICK, W.: Les anémies infectieuses et particulièrement l'anémie infectieuse des chevaux. *Off. internat. Epizoot.* **10**, 151 (1935).

Dritter Abschnitt.

Die unspezifische Provokation manifester Virusinfektionen.

Von

B. FUST, Bern.

Allgemeiner Teil.

I. Einleitung.

Die Infektion gilt heute wohl allgemein als ein Sonderfall des Parasitismus, dessen Wesen als Ansiedelung, Wachstum und Vermehrung eines Organismus in einem Wirt definiert wird. Der Gastcharakter des Parasiten bzw. des Infektionserregers ist nach der übereinstimmenden Auffassung maßgebender Parasitologen und Mikrobiologen ein sekundärer Zustand, der dadurch erreicht wird, daß ein frei lebender Organismus seine Selbständigkeit aufgibt und gegen die Abhängigkeit von fremdem Leben eintauscht [R. DOERR (6)]. Dieser Wechsel des Lebensraumes ist ein in der Zeit ablaufender Anpassungsvorgang. Ist er einmal bis zu einem gewissen Grade vorgeschritten, so kann er nicht mehr rückgängig gemacht werden. Da die Adaptation allmählich erfolgt, muß es möglich sein, verschiedene aufeinanderfolgende Stufen des Parasitismus nachzuweisen.

Die Anpassung dürfte unter natürlichen Verhältnissen in der Hauptsache gastbedingt sein und vor allem von nutritiven Bedürfnissen des Parasiten abhängen.

Obschon sich der Infektionserreger auf Kosten des Wirtes am Leben erhält und vermehrt, ist seine Anwesenheit nicht notwendigerweise mit einer Schädigung oder gar mit dem Untergang des Wirtes verknüpft. Wäre das letztere regelmäßig der Fall, so würde nicht nur die Wirtsspezies, sondern auch der Parasit schließlich dem Aussterben geweiht sein. Dieses Ereignis wäre um so früher zu erwarten, je kleiner das Infektiositätsspektrum, d. h. je niedriger die Zahl der empfänglichen Wirtsarten und damit die Summe der möglichen Wirtsindividuen ist. Diese Überlegung besagt indirekt, daß die Erhaltung der Wirtsspezies für den Parasiten eine biologische Notwendigkeit darstellt. Das gilt naturgemäß in erster Linie für „*xenostene*“ Schmarotzer und „*monophage*“ Infektionserreger. Man braucht sich also nicht darüber zu wundern, daß viele Infektionen den Ablauf der Lebensfunktionen des infizierten Individuums häufig überhaupt nicht beeinträchtigen, sondern latent oder subklinisch verlaufen. Bekanntlich erkrankt nur ein geringer Prozentsatz der mit Poliomyelitisvirus oder mit Meningokokken infizierten Menschen an epidemischer Kinderlähmung, bzw. an übertragbarer Genickstarre. Bei weißen Mäusen sind wiederholt symptomlose Infektionen mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis, der Encephalomyelitis, der Ektromelie ermittelt worden. In diesen Kreis gehört auch das Virus III des Kaninchens, ebenso das

Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens. Gerade diese Infektionserreger haben das Gemeinsame, daß ihnen eine außerordentlich geringe Zahl empfänglicher Wirtsarten zugeordnet ist. Sie sind „*monophag*“ oder doch „*oligophag*“. Für das Virus III ist außer dem Kaninchen vielleicht nur noch der Mensch empfänglich. Spontane Meningokokkeninfektionen kommen ausschließlich beim Menschen vor. Das Virus der lymphocytären Choriomeningitis wurde bei weißen Mäusen, Affen und Menschen nachgewiesen und konnte experimentell auf Meerschweinchen übertragen werden; wahrscheinlich ist jedoch die Maus als natürliches Virusreservoir zu betrachten.

Der latent infizierte Wirt verhält sich gegenüber dem Gast nicht passiv, wenn auch seine Gesundheit anscheinend nicht gestört wird. Er reagiert auf die Anwesenheit von Infektionserregern, obschon in der Regel in einer Form, die erst durch bestimmte Versuchsanordnungen erfaßt werden kann (humorale oder cellulare Immunität nach latenten Infektionen, infektionsgebundene Immunität während latenten Infektionen). Die Aufdeckung solcher Verhältnisse oder der direkte Nachweis des Erregers ist grundsätzlich durch systematische Untersuchung großer Reihen möglich, bleibt aber, da meist a priori kein zwingender Grund für derartige ausgedehnte, zeitraubende und kostspielige Experimente vorliegt, mehr oder weniger dem Zufall überlassen. Das dürfte um so häufiger sein, je seltener die entsprechende natürliche Gast-Wirt-Beziehung ins Pathologische ausartet.

Der Aufschwung der biologischen Forschungsrichtung brachte es mit sich, daß täglich Hekatomben von Versuchstieren in den Laboratorien unseres Planeten auf ihr Verhalten gegenüber den mannigfachsten Einflüssen geprüft werden. Chemische Stoffe werden in fester Form auf die Körperoberfläche gebracht oder in den Darmkanal eingeführt; als Gase oder in Gestalt winziger Tröpfchen eingeatmet; als Lösungen oder Emulsionen auf die Haut und auf die Schleimhäute gepinselt, in die Nase oder in den Bindehautsack des Auges geträufelt, mit der Schlundsonde eingegeben, in die Blutbahn, ins Gehirn, in die Nerven oder Muskeln, in die Bauchhöhle, in oder unter die Haut gespritzt. Dazu kommt eine Reihe physikalischer Faktoren, die auf ihre biologische Wirkung untersucht werden; ganz abgesehen von den Infektionsstoffen und von den körpereigenen dynamischen Substanzen, die vielfach im Tierversuch nachgewiesen und ausgewertet werden müssen. Die ausgedehnte Heranziehung des Tierexperimentes begünstigte die Erforschung der Spontankrankheiten der Laboratoriumstiere; denn die Kenntnis dieser Affektionen ist eine der wichtigsten Grundlagen für die sachgemäße Beurteilung biologischer Versuche. Es ist daher nicht verwunderlich, daß Infektionen, die unter natürlichen Bedingungen ausschließlich oder doch vorwiegend latent ablaufen, bis auf den heutigen Tag mehr bei kleinen Laboratoriumstieren als beim Menschen und bei Haus- und Nutztieren entdeckt worden sind.

II. Die Eruiierung latenter Virusinfektionen.

Während die Auffindung latenter Infektionen mikroparasitären Ursprunges entweder auf mikroskopischem Wege oder durch die Züchtung auf künstlichen Nährmedien, sei es unter aëroben oder unter anaëroben Verhältnissen mehr oder minder leicht gelingt oder doch soweit angebahnt wird, daß sie durch zusätzliche Untersuchungen ermöglicht wird, ist der Nachweis solcher Virusinfektionen mit größeren Schwierigkeiten verknüpft. *Um jedes Mißverständnis auszuschließen, sei betont, daß an dieser Stelle nur diejenigen Versuchsanordnungen ins Auge gefaßt werden, welche auf die erstmalige Feststellung eines Infektionsstoffes hinzielen, der unter natürlichen Bedingungen ausschließlich oder überwiegend latent vorkommt.*

Das gesuchte Agens ist also im extremsten Falle völlig unbekannt. Seine Existenz wird höchstens vermutet. Ein allgemein gültiges Verfahren kann nicht angegeben werden und ist in Anbetracht der biologischen Vielfältigkeit der Virusarten auch kaum zu erwarten.

Es ist eine historische Tatsache, daß meistens nicht der rationale Weg der Virusforschung, sondern *eine Verkettung zufälliger Umstände* oder wenigstens *eine wesentliche Mitwirkung von zufälligen Faktoren* zur Entdeckung solcher Virusarten geführt hat [R. DOERR (4)]. Als typisches Beispiel mag das Virus III dienen, weil das Ergebnis mit der ursprünglichen Fragestellung, nämlich mit der Ätiologie der Varicellen in keinem Zusammenhang stand (T. M. RIVERS und W. S. TILLET).

Immerhin lassen sich aus der Fülle der in den letzten Jahren und Jahrzehnten gesammelten experimentellen Erfahrungen vor allem vier Versuchsanordnungen herauschälen, mit deren Hilfe die Transformation latenter Virusinfektionen in manifeste Erkrankungen, wenn auch nicht regelmäßig, so doch des öfteren erreicht worden ist, nämlich

- A. das Verfahren der sog. *Blindpassagen*,
- B. die *Einverleibung an und für sich harmloser oder oligotoxischer Stoffe*,
- C. die *Übertragung auf hochempfindliche Gewebe* und
- D. die *Verimpfung auf hochempfindliche Wirte*.

Diese sowie einige andere, weniger bedeutende Methoden sind unter dem Namen „*Provokationsverfahren*“ in die Literatur eingegangen.

A. Die Provokation manifester Virusinfektionen durch Blindpassagen.

Die Übertragung infektiöser Agentien auf empfängliche Wirtsorganismen führt bei diesen in der Regel zu Krankheitserscheinungen und zu geweblichen Veränderungen. Der Erfolg des Übertragungsversuches wird an seiner pathologischen Auswirkung erkannt. Im allgemeinen stellt man schon auf das Ergebnis der ersten Überimpfung ab. Bleiben die empfänglichen Tiere gesund, so zieht der Untersucher gewöhnlich den Schluß, daß das Ausgangsmaterial das vermutete Virus nicht enthalten oder daß die Infektion aus irgendeinem Grunde nicht gehaftet habe. Zu dieser Folgerung ist man jedoch nicht immer berechtigt, selbst dann nicht, wenn man wohl charakterisierte Virusarten unter den Händen hat. Als Beispiel mögen hier die Erfahrungen von FR. R. HORSFALL, R. G. HAHN und E. R. RICKARD dienen. Nach ihrer Mitteilung hatte die intranasale Inokulation der Nasen-Rachen-Spülflüssigkeit von Influenzakeranken und von Kontaktpersonen beim hochempfindlichen Frettchen gelegentlich keine Symptome zur Folge. Aus den anscheinend normalen Frettchenlungen wurden Suspensionen hergestellt und auf ein zweites Tier verimpft. Dieses erkrankte auch nicht. Die Autoren ließen sich aber nicht entmutigen, sondern legten weitere derartige Lungen-Lungen-Passagen an, bis sie nach einer wöchentlichen Zahl erfolgloser Passagen schließlich doch bei einem Teil der Versuche die für die Influenza-Infektion des Frettchens typischen pathologisch-anatomischen Läsionen erzeugen konnten. Von da ab ließ sich die Krankheit mühelos von Frettchen auf Frettchen übertragen. Die so isolierten Virusstämme konnten auf immunologischem Wege als humane Influenzavirusstämme agnosziert werden. Die ersten, scheinbar erfolglosen Übertragungen werden als „*Blindpassagen*“ bezeichnet.

Die Analyse der von HORSFALL, HAHN und RICKARD durchgeführten Art der Isolierung humaner Influenzavirusstämme gestaltet sich verhältnismäßig einfach. Es dürften keine Zweifel darüber bestehen, daß das Agens bereits im Ausgangsmaterial vorhanden gewesen war. Die Frettchen der ersten Passagen erkrankten offenbar nicht, weil die *Menge* der eingebrachten Virusteilchen für die

Erzeugung krankhafter Prozesse nicht genügte, oder weil die *Pathogenität* des Virus für das Frettchen fehlte, bzw. den erforderlichen unteren Schwellenwert noch nicht erreicht hatte. Die Methode der Blindpassagen steht somit zu den *Anreicherungsverfahren* in Beziehung. Diesen liegt der Gedanke zugrunde, daß die Infektion in einem hochempfindlichen Gewebe relativ leicht zustande kommt und daß sich infolgedessen kleine in große Virusmengen umsetzen lassen. Solche Gedankengänge verraten rein quantitative Gesichtspunkte, deren Zulässigkeit man vielleicht für die Interpretation bestimmter Anreicherungsphänomene, wie etwa der Vermehrung von Herpes- oder Vaccinevirus im Hodengewebe des Kaninchens gelten lassen kann; wahrscheinlicher aber ist — und das dürfte gerade bei den Blindpassagen der Fall sein —, daß die mengenmäßige Zunahme aktiver Viruselemente mit einer qualitativen Änderung des Agens im Sinne einer Pathogenitätssteigerung für die benutzte Tierspezies einhergeht. Diese Annahme stützt sich nicht bloß auf Vermutungen, hat sie doch in den Verfahren zur Pathogenitätssteigerung bestimmter Bakterien, z. B. der Pneumokokken durch Mausepassagen, experimentell gut untermauerte Analogien.

Erfolgreiche *Lungenblindpassagen* sind am Frettchen, an der Maus und am Igel, *Hodenblindpassagen* am Kaninchen, *Hirnblindpassagen* an der Maus, *Nasenblindpassagen* am Igel, *cutane* und *intrapertoneale Blindpassagen* am Meerschweinchen ausgeführt worden. Im allgemeinen wird die Reihenübertragung auf *homologe Gewebe* bevorzugt. Inokulationsort und Impfgut bleiben stets gleich. Weit seltener wird das Ausgangsmaterial nicht in ein bestimmtes Organ, sondern in eine Körperhöhle, z. B. in den Peritonealraum eingebracht. Dann stellt man für die folgenden Passagen Emulsionen aus der Leber, aus der Milz oder aus anderen Organen her, um sie wiederum intraperitoneal einzuspritzen. Derartige Blindpassagen werden nach dem Einverleibungsmodus bezeichnet. Soweit es sich bei erfolgreichen Blindpassagen um Aktivierungen latenter Virusinfektionen und nicht um biologische Anreicherungs- oder Adaptationsphänomene handelt, kann die Beantwortung der Frage nach dem Ursprung des übertragbaren Agens äußerst schwierig sein. Natürlich stammt das Virus entweder aus dem Ausgangsmaterial oder aus den Passagetieren. Die erste Möglichkeit ist ausgeschlossen, wenn das originäre Impfgut *ultrasteril* ist (entsprechend zubereitete Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen von Substanzen bekannter chemischer Konstitution oder *sterilisierte* Gewebepartikel und biologische Flüssigkeiten). Komplizierter gestalten sich die Verhältnisse, wenn das erste Injektionsgut durch bakteriosterile Aufschwemmungen von nativen Organen oder durch bakteriosterile genuine Körperflüssigkeiten von gesunden oder gar von kranken Individuen repräsentiert wird. Unter solchen Umständen bleibt der Ursprung des Virus oft lange ins Dunkel gehüllt. Der Sachverhalt läßt sich manchmal durch zusätzliche Untersuchungen und Erhebungen eruieren. Die einzuschlagenden Wege sind von Fall zu Fall verschieden. Ist die erste Verimpfung mit einem Wechsel der Spezies verbunden, macht sich die Notwendigkeit geltend, zwei Tierarten in den Kreis der Betrachtungen einzuziehen. Kann schließlich der Entscheid zugunsten der ersten Möglichkeit gefällt werden, so ist das Rätsel endgültig gelöst. Das ist aber nicht der Fall, wenn angenommen werden muß, daß das Virus aus den Passagetieren stammt; denn wir wissen dann meistens nicht, welches Tier der wievielten Passage das Virus geliefert hat.

Mittels Blindpassagen gewonnene pathogene Agentien müssen sorgfältig darauf hin untersucht werden, ob ihnen die obligaten positiven und negativen Kriterien der Virusarten (Filtrierbarkeit, Fehlen der Kultivierbarkeit auf künstlichen bakteriologischen Nährmedien usw.) zukommen, bevor sie als Vira propagiert werden. Dieses Bedürfnis macht sich um so mehr geltend, als man es

mit mehrgliedrigen Passagen zu tun hat, wobei jedes Glied der Kette theoretisch eine Fehlerquelle darstellen kann. Für den pathologischen Effekt können nicht-infektiöse Ursachen verantwortlich sein. Neben Traumen erheischen auch andere Faktoren Berücksichtigung. E. GILDEMEISTER und G. HEUER zeigten, daß Emulsionen von normalem Kaninchenhirn, Serum oder Kochsalzlösung akut toxische Eigenschaften annehmen, wenn man sie in Glaskolben mit Glasperlen genügend lange kräftig schüttelt; solche Flüssigkeiten erzeugen vermöge ihres Gehaltes an Glassplittern und Kieselsäureverbindungen nach intracerebralen Injektionen beim Kaninchen heftige Krämpfe, die häufig in wenigen Stunden zum Exitus führen, und R. DOERR (3, 7) verwies darauf, daß die Bildung entzündungs-erregender Stoffe im entzündeten Gewebe durch R. RÖSSLE wahrscheinlich gemacht wurde und daß man mit dem Saft mechanisch erzeugter Quaddeln wiederum Quaddeln erzeugen kann. Natürlich darf man die Möglichkeit akzidenteller Verunreinigungen mit Bakterien ebenfalls nicht außer acht lassen. Bakterien können nicht nur bei der Zubereitung der Organaufschwemmungen in das Impfgut hineingelangen, sondern auch in latenter Form im Versuchstier stecken. Es muß sogar in Erwägung gezogen werden, daß unter Umständen zwei oder mehr Individuen einer Übertragungsreihe mit verschiedenen Virusarten latent infiziert sind. Die Konsequenzen, die sich aus solchen Verhältnissen ergeben, mahnen zur äußersten Vorsicht in der Beurteilung der Versuchsergebnisse. Diese und andere Erfahrungen ermuntern nicht dazu, das Verfahren der Blindpassagen etwa als Methode der „fraktionierten Anreicherung“ [R. DOERR (4)] klinisch-diagnostischen Zwecken dienstbar zu machen.

Bei der Transformation latenter Virusinfektionen in manifeste Erkrankungen mittels Blindpassagen läßt sich — falls angenommen werden muß, daß das Virus aus den Passagetieren stammt — das erste latent infizierte Glied der Versuchsreihe, wie wir gezeigt haben, nicht mit Sicherheit ermitteln. Auch immunologische Prüfungen dürften da keine absolute Klarheit bringen. Über den Mechanismus des Verfahrens läßt sich somit nichts Bestimmtes aussagen. Das Ergebnis einer ersten Versuchsreihe läßt lediglich pathologische Effekte zutage treten, erlaubt aber keine Schlüsse auf die Art und Weise ihrer Entstehung. Stellt es sich nachträglich heraus, daß 100% der Individuen der untersuchten Population mit einem bestimmten Virus latent infiziert sind, dann herrscht kein Zweifel, daß das Verfahren der Blindpassagen de facto zu einer Anreicherung und Pathogenitätssteigerung geführt hat. Beträgt aber der Prozentsatz der latent durchsuchten Individuen weniger als 100%, so ist eine derartige

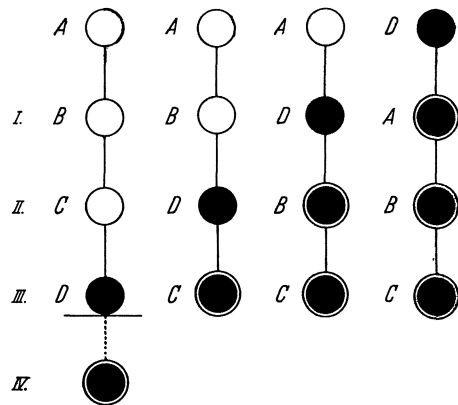


Abb. 1. Erklärung im Text. Die leeren Kreise entsprechen nicht infizierten, die schwarz ausgefüllten latent infizierten, die umrandeten manifest infizierten (kranken) Mäusen; die vertikalen Reihen stellen die im Text beschriebenen Versuchsreihen dar, die römischen Ziffern I, II, III, IV bezeichnen die Nummern der aufeinanderfolgenden Passagen.

Deutung des Resultates der Blindpassagen nicht ohne weiteres angängig. Setzen wir den Fall, es sei von vier Mäusen A, B, C, D eine, nämlich D, latent mit dem Virus der Ektromelie infiziert. Diese vier Mäuse werden hintereinander zur Anlegung von Passagen benutzt. Es sind also drei Passagen möglich. Je nach der Reihenfolge, in welcher diese vier Tiere eingesetzt werden, wird das

Versuchsergebnis differieren. Der Versuch kann auf vier verschiedene Arten ausgeführt werden (siehe Abb. 1).

1. *Versuchsreihe*: Das Ausgangsmaterial stammt von Maus A. Die Passagen erfolgen nach der alphabetischen Reihe. Alle drei Passagen verlaufen ergebnislos. Wird der Versuch hier abgebrochen, so ist die latente Infektion der Maus D nicht erkennbar, denn die Krankheit würde erst bei der nächstfolgenden Übertragung zum Ausbruch kommen.

2. *Versuchsreihe*: Die Übertragungen erfolgen, ausgehend von A auf B, von B auf D und von D auf C. Das Glied der dritten Passage erkrankt an Ektromelie.

3. *Versuchsreihe*: Die Organemulsion von A wird auf D verimpft. Die Krankheit tritt erstmals in der zweiten Passage in Erscheinung.

4. *Versuchsreihe*: Das Ausgangsmaterial stammt von Maus D. Schon das Tier der ersten Passage erkrankt an Ektromelie.

Welche von den vier möglichen Versuchsreihen wirklich ausgeführt wird, bleibt dem Zufall überlassen. Die Erwartung beträgt für jede Serie 25%. Von wesentlicher Bedeutung ist, daß sich die latente Infektion der Maus D unter der Voraussetzung der Beschränkung auf drei Passagen in der Versuchsreihe 1 dem Nachweis entzieht. In den Beispielen der zweiten und dritten Versuchsreihe kommt es zwar bei der Maus der dritten, bzw. der zweiten Passage zur manifesten Erkrankung; das Resultat kann jedoch zu der irrigen Annahme verleiten, daß schon das Ausgangsmaterial (Maus A) den Infektionsstoff enthalten habe, der dann durch eine, bzw. durch zwei Blindpassagen angereichert worden sei. Nur das Modell der vierten Versuchsreihe gibt über die tatsächlichen Verhältnisse Aufschluß, indem die latente Ektromelie-Infektion der Maus D schon durch die erste Übertragung auf ein gesundes Tier nachweisbar wird.

Daß diese schematisch dargestellten Verhältnisse für die Ektromelie zutreffen, bzw. zutreffen können, geht aus Versuchen von W. KIKUTH und R. GÖNNERT hervor. Diese Autoren impften vier Mäuse plantar mit einer Suspension, welche aus den Lungen von vier anscheinend völlig gesunden Mäusen hergestellt worden war. Von den so behandelten Tieren erkrankten zwei der ersten Passage an einer deutlichen, für Ektromelie sprechenden Schwellung der Pfote, welche bei einer Maus schließlich zur Abschnürung des Gliedes führte. Im Gegensatz dazu war die nasale Inokulation des Lungenmaterials erst in der zweiten Passage erfolgreich. In einem anderen Versuch wurde das Ausgangsmaterial aus den Hinterpfoten von vier gesunden Mäusen gewonnen. Die nasale Instillation dieses Impfgutes führte in der dritten Passage zu den typischen Erscheinungen der Lungenektromelie.

Da man bei den Blindpassagen nicht voraussehen kann, ob und wann die erwartete krankhafte Veränderung eintreten wird, und da man ja normal aussehende Organe überimpft, hat man auch keinen Anhaltspunkt, zu welcher Zeit das Material für die Anlegung der nächsten Passage entnommen werden soll. Im allgemeinen entscheidet man sich für Intervalle von vier bis fünf Tagen, weil man einerseits die Vermehrung im latent infizierten Gewebe abwarten und andererseits nicht zu spät kommen will, da ja auch der Zeitpunkt einer möglichen Auto-sterilisation nicht bekannt ist. Die Passagen werden vorzugsweise mit Hilfe von intracerebralen und intratesticularen Injektionen vorgenommen, wobei auch die Überlegung maßgebend sein dürfte, daß es sich um relativ abgeschlossene, kleinere Organe handelt, aus welchen das einverlebte Impfgut nicht so leicht abtransportiert werden kann [R. DOERR (4)]. Besteht begründeter Verdacht, daß das nachzuweisende Agens durch besondere Gewebsaffinitäten gekennzeichnet ist, so wird man diesem Anhaltspunkt nachgehen und die Übertragung in das ent-

sprechende Organ verlegen, auch wenn die übrigen Bedingungen vielleicht nicht so günstig sind wie bei cerebralen oder bei testicularen Injektionen. So wird man vermutlich pneumotrope Virusarten durch aufeinanderfolgende intranasale Instillationen nachzuweisen versuchen, obschon die Gefahr einer akzidentellen Verunreinigung mit Bakterien oder mit Virusarten ungleich größer ist als bei Hoden- oder Hirnimpfungen. Die Frage, weshalb der erwartete Effekt verhältnismäßig oft nach einer bestimmten Zahl (3—5) von blinden Passagen in Erscheinung tritt, kann nicht endgültig beantwortet werden; es sei denn, daß es sich um latente Virusinfektionen handelt, die, wie die Ektromelie, schon bei der ersten Übertragung manifest werden können. In diesem Falle ließen sich unter der Voraussetzung, daß genügend Versuchsreihen angesetzt werden, unseres Erachtens aus dem Maximum der blinden Passagen Schlüsse auf den Grad der latenten Durchseuchung einer bestimmten Population ziehen.

Das Verfahren der Blindpassagen wird auch dann angewendet, wenn die Anpassung eines bekannten Virus an einen von vorneherein wenig empfänglichen Wirt aus irgendeinem Grunde erzwungen werden soll. Meistens wird die Adaptation an leicht beschaffbare und billige Versuchstiere angestrebt. Solche Versuche beziehen sich daher vornehmlich auf die weiße Maus. H. C. NAGEL injizierte das Virus der Maul- und Klauenseuche weißen Mäusen intracerebral und führte dasselbe in sehr langgliedrigen Hirnpassagen fort. Nach den Angaben des Autors kam es dabei weder zur Ausbildung von für die Maul- und Klauenseuche typischen Veränderungen noch zu Symptomen, die als Erkrankung des Zentralnervensystems zu deuten gewesen wären. Das Virus hatte aber selbst nach der 125. Mauspassage seine Meerschweinchenpathogenität voll bewahrt. DOERR, SEIDENBERG und WHITMAN übertrugen Hühnerpestvirus auf das Gehirn von weißen Mäusen, legten intracerebrale Mauspassagen an und stellten fest, daß die ursprüngliche Infektiosität für das Huhn durch den Wirtswechsel nicht beeinflußt wurde. Vermittels Lungenblindpassagen gelang es TH. FRANCIS und P. MAGILL, J. M. CLAMPIT und F. B. GORDON, das humane Influenzavirus ohne vorangehende Frettchenpassage an den Organismus der weißen Maus zu adaptieren. Mit den gleichen Mitteln erreichte C. H. STUART-HARRIS die Anpassung des humanen Influenzavirus an den Igel. Die Durchführung derartiger Adaptationsversuche bereitet im allgemeinen keine außergewöhnlichen Schwierigkeiten; man hat es ja jederzeit in der Hand, das Vorhandensein des Virus in den Tieren der blinden Passagen durch Rückübertragungen auf bekannte, hochempfindliche Wirtsorganismen festzustellen.

B. Die Provokation manifester Virusinfektionen durch Einverleibung an und für sich harmloser oder wenig toxischer Substanzen.

Bekanntlich kann der Herpes febrilis des Menschen durch Injektionen *verschiedenartiger, besonders pyrogener Stoffe* ausgelöst werden. Durch intracerebrale Injektion *steriler Bouillon* vermochte E. TRAUB (1, 2) die latente Infektion weißer Mäuse mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis in eine manifeste Erkrankung zu verwandeln. G. M. FINDLAY, M. S. ALCOCK und R. O. STERN erzielten das gleiche Ergebnis, indem sie weißen Mäusen *Stärke*lösung, P. LÉPINE und V. SAUTTER, indem sie *Serum* von Masernkranken ins Gehirn einspritzten. Durch den Zusatz geringer Mengen von *Agar* wurde der pleuropneumonie-ähnliche Organismus L 5, welcher allein intracerebral injiziert, bei Mäusen nur eine subklinische Infektion des Zentralnervensystems zur Folge hat, zu einem hochpathogenen Agens (G. M. FINDLAY, E. KLIENECKER, F. O. MACCALLUM und R. D. MACKENZIE). Von der provokatorischen Funktion derartiger Stoffe bei der

Manifestation von Virusinfektionen bis zum Kunstgriff zum Zwecke der Erleichterung des Haftens und der pathogenen Entfaltung experimenteller Infektionen existieren alle Übergänge. Es sei nur an die Rolle der Äthernarkose bei der nasalen Instillation von Influenzavirus und an die Beeinflußbarkeit des Ablaufes von Infektionen mit bestimmten neurotrophen Virusarten durch die simultane Einwirkung chemischer Stoffe erinnert.

LESTER S. KING injizierte Mäusen 0,23 ccm einer 50%igen Glycerinlösung in die Bauchhöhle, infizierte die Tiere darnach intramuskulär mit einem Virus fixe der equinen Encephalomyelitis oder mit dem Virus der St. Louis-Encephalitis und stellte fest, daß die Glycerininjektion das Zustandekommen der korrespondierenden Virusencephalitiden wesentlich beförderte. Nun ist aber Glycerin kein indifferenten Stoff. Kontrollmäuse, denen 0,23 ccm einer 50%igen Glycerinlösung intraperitoneal einverleibt wurden, gingen nach LESTER S. KING gelegentlich innerhalb 1—3 Stunden ein. Hatten sie aber diese kritische Periode überstanden, so blieben sie am Leben, ohne je Intoxikationserscheinungen zu zeigen.

Beim Versuch, latente Virusinfektionen durch die Applikation nichtinfektiöser Stoffe zu aktivieren, wird man sich zunächst wohl am einfachsten an bewährte Vorbilder halten und vielleicht sterile Bouillon, Stärkelösung, Serum oder Vollblut verwenden. Die Wahl des Injektionsmodus wird Schwierigkeiten bereiten, wenn das Agens der nachzuweisenden Infektion wenig oder nicht bekannt ist. Da bleibt wohl nichts anderes übrig, als die systematische Anwendung der üblichen Injektionsarten. Am ehesten dürften nach den bisherigen Erfahrungen die intracerebrale und die intraperitoneale Applikation und vielleicht auch die Injektion ins Hodengewebe einen Erfolg versprechen. Welcher Weg zum Ziele führt, hängt im wesentlichen von den mehr oder minder ausgeprägten Gewebsaffinitäten des zu suchenden Infektionsstoffes ab.

Die spontane lymphocytäre Choriomeningitis der Mäuse ist eine ausgesprochene Virusepticämie; der Erreger hat jedoch gewisse meningotrope und neurotrope Eigenschaften. Diese Gewebsaffinitäten werden bei der intracerebralen Injektion indifferenten Stoffe ausgenützt. Unter dem Einfluß der unspezifischen Reize wird das im Blute kreisende Agens in den Meningen und im Gehirn fixiert und gelangt daselbst zur pathogenen Auswirkung. Derartige Fixationsverfahren werden bekanntlich auch bei der experimentellen Abklärung anderer Probleme in Anwendung gebracht, z. B. bei der Ausführung des Neutralisationstestes beim Gelbfieber nach der von SAWYER und LLOYD inaugurierten und von MAHAFFY, LLOYD und PENNA weiter ausgebauten Technik, welche darin besteht, daß die Gemische aus neurotropem Gelbfiebertropen und Serum intraperitoneal injiziert werden, wobei durch die simultane intracerebrale Injektion von 2%iger Stärkelösung die „Fixation“ von nichtneutralisiertem Virus im Mäusegehirn gewährleistet wird (zit. nach C. HALLAUER).

Bei dieser Art der Erzeugung von Viruskrankheiten fallen neben den im vorangehenden Abschnitt erwähnten Möglichkeiten der traumatischen Beeinflussung und der Übertragung entzündungserregender Substanzen vor allem primär toxische Wirkungen der als Reize fungierenden Provokantien als Fehlerquellen in Betracht. Die Provokantien sind daher, falls ihre biologische Wirkung auf die untersuchte Tierart noch nicht hinreichend geklärt ist, unbedingt in einer größeren Reihe von Kontrollversuchen auf ihre Toxizität zu prüfen.

Wenn man bei der Beurteilung der Erzeugung von Viruskrankheiten mittels Blindpassagen Zweifel hegen kann, ob das Verfahren als spezifisch oder als unspezifisch zu gelten habe — es ist spezifisch, wenn man den Effekt als Resultat der Aktivierung latenter Infektionen deutet, unspezifisch, wenn man der Lehre der endogenen Virusentstehung im Sinne der Ankurbelung einer krankhaften

Deviation des Stoffwechsels huldigt —, so ist die Provokation von Viruskrankheiten durch die Einverleibung atoxischer oder oligotoxischer Substanzen auf jeden Fall das Ergebnis unspezifischer Beeinflussung. Dagegen dürfte die Entscheidung schwerfallen, ob der Eingriff eine latente Infektion aktiviert oder ob er die Bildung eines Infektionsstoffes im Wirtsorganismus bewirkt hat. *Die Provokantien können sich gegenseitig vertreten.* Wie man am Beispiel der lymphocytären Choriomeningitis erkennt, erweisen sich Bouillon, Stärkelösung und Patientenserum als äquivalent.

C. Die Eruierung latenter Virusinfektionen durch Überimpfung von Organemulsionen auf hochempfindliche Gewebe.

R. COLE und A. G. KUTTNER fanden in den Submaxillardrüsen klinisch gesunder, erwachsener Meerschweinchen Einschlußkörperchen. Die cerebrale Impfung mit Emulsionen einschlußhaltigen Drüsengewebes verursacht bei jungen Meerschweinchen eine Meningitis, an der die Tiere am 5. bis 7. Tage zugrunde gehen, während die Infektion, wenn sie auf andere Art gesetzt wird, zwar haftet und in der Bildung von Einschlußkörperchen in den verschiedenen Organen ihren Ausdruck findet, aber nicht zu charakteristischen Symptomen führt. Durch intracerebrale Injektionen des filtrierten Darminhaltes normaler Mäuse konnten P. K. OLITSKY, M. THEILER und S. GARD den Nachweis erbringen, daß bestimmte Zuchten weißer Mäuse in exzessiv hohem Grade latent mit dem Virus der Encephalomyelitis verseucht sind. Das Virus hat ausgesprochen neurotrope Eigenschaften: Es entfaltet seine pathogene Wirkung nur dann konstant, wenn es ins Gehirn gebracht wird, wohingegen die nasale Verimpfung unregelmäßig, die subcutane Inokulation nur sehr selten, die intravenöse, intraneurale und intraperitoneale Einverleibung, sowie die Verfütterung überhaupt nicht zu klinischen Symptomen führen (P. K. OLITSKY). Ähnlichen Verhältnissen begegnen wir beim Virus der lymphocytären Choriomeningitis. Nach E. TRAUB ist die Choriomeningitis das Hauptkennzeichen der künstlichen cerebralen Infektion der Maus. Nach der Anwendung anderer Impfmethode treten nur selten charakteristische neurologische Erscheinungen auf; andere, wenig pathognomonische Symptome können vorkommen, z. B. angestrengte Atmung nach intravenösen und intraperitonealen Injektionen, bleiben aber, besonders bei erwachsenen Mäusen, meist ganz aus.

Diese Virusarten besitzen besondere Affinitäten zu bestimmten Geweben (Meningen, Zentralnervensystem), Eigenschaften, die ihren Nachweis erleichtern. Die Auffindung solcher histotroper Qualitäten wird durch das gelegentliche Auftreten von Spontanerkrankungen angebahnt. Solche Spontanerkrankungen führten M. THEILER zur Entdeckung der Encephalomyelitis und veranlaßten E. TRAUB zu seinen Forschungen über die lymphocytäre Choriomeningitis. Bei der Übertragung virushaltiger Organemulsionen auf hochempfindliche Gewebe wird der pathologische Effekt natürlich *auf spezifischem Wege* erzeugt. Wir haben diese Tatsachen aber trotzdem in den Rahmen unserer Erörterungen einbezogen, weil sie historisch und sachlich mit anderen, aber unspezifischen Verfahren zur Manifestation latenter Virusinfektionen aufs engste verknüpft sind.

Im Anschluß an diese Darlegungen darf nicht unerwähnt bleiben, daß selbst *infektiöse Agentien* die Rolle von Provokantien spielen können. Manchmal wird eine solche Funktion freilich nur vorgetäuscht. Derartige Beobachtungen liegen in großer Zahl vor. A. R. DOCHEZ, K. C. MILLS und B. MULLIKEN sahen nach der serienweisen intranasalen Verimpfung des Virus des Common cold bei weißen Schweizermäusen plötzlich eine bösartige Lungenerkrankung auftreten, als deren

Ursache ein bei dieser Mäusezucht latent vorkommendes pneumotropes Virus ermittelt wurde. Im Laufe von Übertragungsversuchen mit humanem Influenzavirus entdeckten W. KIKUTH und R. GÖNNERT die Lungenektromelie. Diese Experimente sind besonders lehrreich, weil die durch das Provokans allein (Influenzavirus) erzeugten Läsionen makroskopisch mit den Veränderungen bei der Lungenektromelie identisch sind. Eine Klärung zugunsten der Ektromelie wird erst durch den Nachweis von acidophilen Zelleinschlüssen und von Elementarkörperchen möglich. R. BIELING und L. OELRICHS isolierten aus Frettchen und aus Kaninchen Grippevira, welche bei weißen Mäusen Symptome und Veränderungen hervorriefen, die von den Erscheinungen, welche humane Influenzavirusstämme verursachen, nicht zu unterscheiden waren. Schließlich erlaubten immunologische Studien die Abgrenzung dieser Virusarten sowohl gegeneinander als auch gegen das humane Influenzavirus.

Die Drehkrankheit (Rolling disease) der Mäuse trat nach intracerebralen Injektionen eines neurotropen Gelbfiebertvirusstammes und nach Injektionen eines Stammes der lymphocytären Choriomeningitis auf (G. M. FINDLAY, E. KLIENBERGER, F. O. MACCALLUM und R. D. MACKENZIE). Die Funktion dieser Virusarten erwies sich als unspezifisch; denn die Drehkrankheit entwickelte sich auch dann, wenn das Gelbfiebertvirus oder das Virus der lymphocytären Choriomeningitis durch das Agens der klimatischen Bubonen oder sogar durch Spuren von Agar ersetzt wurde. Der Erreger dieser Affektion ist ein pleuropneumonieähnlicher Mikroorganismus, der offensichtlich wenig pathogen ist und unter natürlichen Bedingungen im latenten Zustand zu verharren pflegt. Handelt es sich bei der Drehkrankheit der Mäuse um die unspezifische provokatorische Wirkung gewisser Virusarten auf eine latente Infektion bakterieller Ätiologie, so treffen wir bei bestimmten pneumotropen Virusarten Verhältnisse, die es wahrscheinlich machen, daß die durch die Virusinfektion eingeleiteten pathologischen Prozesse durch das Hinzutreten von Bakterien in unspezifischer Weise verstärkt werden. Von diesen Cooperationen von Virus und Bacterium bis zur ätiologischen Assoziation, wie sie uns in reinster Form in der Fusospirochätose (Angina PLAUVINCENTI) entgegentritt, dürften verschiedene Übergänge vorkommen. Diese Beziehungen sowie die provokatorische Rolle gewisser Virusarten auf latente Virusinfektionen werden, soweit sich zu unserem Thema Berührungspunkte ergeben, im speziellen Teil erläutert werden.

D. Der Nachweis besonderer latenter Virusinfektionen durch Verimpfung von Organemulsionen auf hochempfindliche Wirte.

Es ist denkbar, daß es Virusarten gibt, die in ihren natürlichen Wirten stets in latenter Form vorkommen. Sie können aber die Eigenschaft haben, in experimentellen Wirten eine Krankheit hervorzurufen. Dann ist die Ermittlung der latenten Infektion durch einen künstlichen Wirtswechsel möglich. Als Beispiel sei das Mäusevirus von J. LAIGRET und R. DURAND angeführt, das nach Verimpfungen von murinem Gehirnbrei auf Meerschweinchen zur pathogenen Auswirkung gelangt ist. Da hier keine unspezifische Provokation im Sinne unserer Fragestellung vorliegt, begnügen wir uns mit diesem kurzen Hinweis.

III. Die Bedeutung der unspezifischen Provozierbarkeit latenter Virusinfektionen.

Die unter natürlichen Verhältnissen selbständigen latenten Infektionen werden nach R. DOERR (1) in *cyclische* und in *acyclische* Prozesse aufgeteilt. Die cyclischen Prozesse enden innerhalb einer relativ kurzen und gesetzmäßigen Frist mit dem

Untergang der Erreger, einem Vorgang, den man, wirtsseitig betrachtet, als Auto-sterilisation bezeichnet. Bei den acyclischen Prozessen bleibt die latente Infektion während sehr langen Zeitspannen bestehen, um sich später entweder doch noch in eine manifeste Erkrankung umzusetzen oder schließlich dem Erlöschen anheimzufallen oder um lebenslänglich im ursprünglichen Zustande zu verharren. Vermöge ihrer längeren Dauer spielen die acyclischen Prozesse im epidemischen bzw. epizootischen Geschehen unter Umständen eine bedeutendere Rolle als die cyclischen, obschon weiterhin keine grundsätzlichen Unterschiede bestehen. Latent infizierte Individuen stellen Ansteckungsquellen dar, sofern die Ausscheidung der Erreger in den Exkreten und Sekreten des Wirtes gewährleistet ist. Mit dem Virus der Encephalomyelitis latent infizierte Mäuse scheiden den Infektionsstoff mit den Faeces aus (P. K. OLITSKY, M. THEILER und S. GARD); das Virus der lymphocytären Choriomeningitis findet sich im Nasensekret und im Harn infizierter Mäuse [E. TRAUB (2)].

Das Virusträgertum bedeutet aber nicht nur eine Gefahr für die Umgebung, sondern auch für den Virusträger selbst, indem die stumme Infektion unter der Wirkung unspezifischer Einflüsse in eine manifeste Erkrankung übergehen kann. Aus einer stattlichen Reihe von Tierversuchen geht hervor, daß exogene Faktoren aller Art, wie Vitaminmangel, Hunger, Änderung der Ernährung, Abkühlung, Ermüdung, Intoxikation, den Ausbruch infektiöser Affektionen begünstigen, und dem Kliniker und Epidemiologen ist es geläufig, daß bestimmte ansteckende Krankheiten im Anschluß an Temperatursenkungen gehäuft aufzutreten pflegen und daß schwere körperliche Anstrengungen den Ausbruch der epidemischen Genickstarre, der HEINE-MEDINSCHEN Krankheit und der Lyssa, wenn vielleicht nicht direkt auszulösen, so doch zu fördern vermögen. Dazu gesellt sich die Möglichkeit der Aktivierung latenter Infekte durch die Einverleibung völlig unschädlicher oder oligotoxischer Substanzen. In der ärztlichen Praxis werden der leidenden Menschheit täglich die verschiedensten differenten und indifferenten Stoffe per os, per rectum, per vaginam und per injectionem verabreicht oder auf die Haut aufgetragen. Ist da nicht unter Umständen mit einer unspezifischen Aktivierung latenter Infekte zu rechnen?

Neben der potentiellen Transformation einer im Wirtsorganismus schlummern- den Infektion in eine Krankheit besteht die *Gefahr einer künstlichen Übertragung von Infektionserregern bei prophylaktischen und bei therapeutischen Maßnahmen. Schutzimpfstoffe*, die als Antigene durch Tierpassage abgeschwächte und modifizierte Virusarten enthalten, können mit anderen, möglichenfalls menschenpathogenen Vira verunreinigt sein. Zur Zubereitung gewisser Gelbfieberimpfstoffe werden infizierte Mäusegehirne verwendet. Diese können nach den Angaben von P. MOLLARET, G. M. FINDLAY, E. TRAUB (6) das menschenpathogene Virus der lymphocytären Choriomeningitis beherbergen. J. LAIGRET und R. DURAND isolierten aus Mäusen und aus dem Liquor eines Patienten, welcher nach einer Gelbfieberschutzimpfung an leichten meningitischen Symptomen erkrankt war, zwei Virusstämme, die sich anscheinend als identisch erwiesen. Man darf daher vermuten, daß die benutzte Gelbfiebervaccine mit dem Mäusevirus infiziert war. Virus fixe, Neurolapinen und Hodenlapinen enthalten möglichenfalls Virus III, ein infektiöses Agens, welches nach den Beobachtungen von T. M. RIVERS und W. S. TILLET (2) bei künstlicher Übertragung für den Menschen wahrscheinlich nicht ganz irrelevant ist. Solche Gefahren sollten daher bei der Präparation derartiger Impfstoffe berücksichtigt werden, da sich die staatliche Kontrolle der Impfstoffe, dort, wo sie überhaupt eingeführt ist, wohl stets auf den Nachweis der Bakteriosterilität, der Unschädlichkeit und auf die Feststellung des antigenen Titers beschränkt und wohl auch beschränken muß. Über latente und auf den

Menschen übertragbare Virusinfektionen des Hühnerembryos ist uns, außer einer nicht gerade beweiskräftigen Beobachtung von J. LAIGRET und R. DURAND, nichts Näheres bekannt; es ist aber nicht ausgeschlossen, daß solche Zustände in Zukunft aufgedeckt werden. In diesem Falle würde sich die Gültigkeit der vorstehenden Ausführungen auch auf Eiervaccinen erstrecken. Ähnlich wie bei den Schutzimpfstoffen dürften die Verhältnisse bei der Verwendung von *nativen Sera* und von *Vollblut* liegen. Besonders Rekonvaleszentensera werden des öfteren nicht mit viruliciden Konservierungsmitteln versetzt und vor der Abgabe an den behandelnden Arzt wohl stets auf Bakteriosterilität, aber kaum jemals auf Ultra-sterilität geprüft. Virusinfektionen können aber auch bei der Substitutions-therapie mittels *Organ- und Gewebsimplantationen* übertragen werden; freilich ist zu erwähnen, daß diese Verfahren mehr und mehr zugunsten der einfacheren und rationelleren Verabreichung hochgereinigter Präparate tierischen Ursprungs oder synthetischer Produkte verlassen werden.

Aus der Existenz provozierbarer Viruskrankheiten erwachsen für die Forschung folgende Konsequenzen:

1. *Chemische und physikalische Faktoren*, welche im Tierversuch, in der Gewebekultur oder am wachsenden Hühnerembryo auf ihre Wirksamkeit geprüft werden, können eine im biologischen Substrat schlummernde Virusinfektion aktivieren.

2. Beim Arbeiten mit *Organpartikeln, Gewebsemulsionen, Körperflüssigkeiten* ist mit der Möglichkeit der *Einschleppung von Virusinfektionen* in die Versuchstiere, in die Gewebekultur oder in das bebrütete Hühnerei zu rechnen. Diese Infektionen können zunächst latent verlaufen und daher unerkannt bleiben, haben aber die Eigenschaft, entweder *nach einigen blinden Passagen* auf einem und demselben Milieu oder beim *Wirts- oder Gewebswechsel* in Erscheinung zu treten.

3. *Virusarten vermögen latente Virusinfektionen im biologischen Substrat zu aktivieren*, welche sich in bezug auf den pathologischen Effekt von der Wirkung des Ausgangsmaterials unterscheiden oder aber gleiche oder ähnliche krankhafte Prozesse heraufbeschwören, wie das Originalvirus. Beispielsweise aktivierte R. GÖNNERT (3) beim Versuch, das Bronchopneumovirus der Maus auf Ratten zu übertragen, ein allem Anscheine nach bei dieser Tierspezies latent vorkommendes, morphologisch ähnliches pneumotropes Virus, das gegenwärtig von W. KIKUTH näher geprüft wird.

IV. Die unspezifische Beseitigung manifester Virusinfektionen.

Das Gegenstück zur Erzeugung von Viruskrankheiten durch unspezifische Faktoren ist die Beseitigung manifester Virusinfektionen durch ebensolche unspezifische Einflüsse. Das ist stets ein Programmpunkt der Chemotherapie gewesen, die sich als letztes Ziel die Entdeckung einer „*Therapia sterilisans magna*“ gesetzt hat. Während die Sulfonamide diesen Wunschtraum in bezug auf bestimmte bakterielle Infektionen (Gonokokken, Meningokokken, Streptokokken, Pneumokokken) weitgehend erfüllt haben, scheinen für die menschliche und tierische Pathologie bedeutsame Virusarten solchen chemischen Beeinflussungen vorläufig noch zu trotzen. Immerhin hat auch die Virusforschung Tatsachen zutage gefördert, welche teils auf die Möglichkeit der Abschwächung und Verzögerung des Krankheitsablaufes, teils der völligen Auslöschung des pathogenen Effekts durch unspezifische Faktoren hindeuten, wenn wir auch von einer therapeutischen Ausbeutung allem Anschein nach — wenigstens was die folgenden Beispiele anbelangt — noch weit entfernt sind. Durch den *Wirtswechsel* und durch

fortgesetzte Passagen im Kaninchenorganismus wird das Straßenvirus der Lyssa seiner Menschenpathogenität beraubt. Gewisse Poliomyelitisvirusstämme können nach C. ARMSTRONG, C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS vom Menschen auf Affen, vom Affen auf Sigmodonratten und von der Sigmodonratte auf weiße Mäuse übertragen werden. In den Sigmodonpassagen kommt die Infektiosität für Mäuse zustande, gleichzeitig wird die Pathogenität für Affen ganz erheblich reduziert. Schließlich verschwindet die Fähigkeit, bei Affen Lähmungen zu erzeugen, während die Pathogenität für Mäuse synchron auf ihr Maximum emporsteigt. Durch Kalbspassage wird das Variolavirus in das abgeschwächte Vaccinevirus verwandelt. Allgemein bekannt ist die Tatsache, daß viele infektiöse Mikroben (Amöben, Trypanosomen, Spirochäten, Bakterien) ihre Pathogenität und auch ihre Infektiosität für den Wirt, aus dem sie stammen, durch längere Züchtung auf unbelebten Nährmedien einbüßen. Als Beispiel einer unspezifischen Auslöschung der Infektiosität und der Pathogenität eines übertragbaren Agens durch *Temperaturreinflüsse* sei das von R. DOERR (3) und seinen Mitarbeitern beschriebene Phänomen der Dissoziation von Bakterienwachstum und Bakteriophagenvermehrung angeführt.

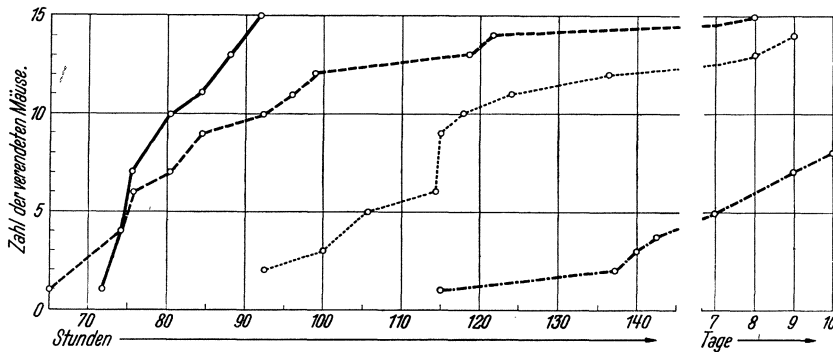


Abb. 2. Verzögerung des Krankheitsverlaufes und Abnahme der Mortalitätsquote nach der Injektion des Virus der Pseudolyssa in entzündete Gewebe [nach LESTER S. KING, J. exper. Med. 72, 580 (1940)]. ——— = Kontrollmäuse, infiziert mit 0,05 ccm einer 10%igen Organemulsion; - - - - - = Versuchsmäuse. Injektion von 0,05 ccm einer 10%igen Organemulsion in einen entzündeten Bezirk: = Kontrollmäuse, infiziert mit 0,05 ccm der gleichen, im Verhältnis 1 : 100 verdünnten Organemulsion; - - - - - = Versuchsmäuse, injiziert mit derselben Dosis (0,05 ccm einer Verdünnung von 1 : 100) in einen entzündeten Bezirk.

R. DOERR und W. GRÜNINGER sowie H. HORSTER stellten fest, daß sich ein bestimmter Colistamm sowohl bei 18 als auch bei 37 und bei 43° C gut vermehrte, daß aber zugesetzte geringe Phagenmengen nur bei 37° C eine gewaltige Zunahme erfuhren und Lyse bewirkten. Bei 43° C nahm das Lysin nicht zu, sondern verschwand binnen 5—7 Stunden aus der Kultur und die aus einer solchen Bouillon nach eingetretenem Lysin-schwund gezüchteten Colibakterienstämme waren nicht lysogen (Verlust der Pathogenität und der Infektiosität). Bei 18° C trat ebenfalls weder Lysinproduktion noch Bakteriolyse ein, das zugesetzte Lysin verschwand aber nicht, sondern blieb während der ganzen Versuchsdauer in seiner initialen Konzentration erhalten (Verlust der Pathogenität).

LESTER S. KING setzte bei 30 Mäusen Entzündungsherde, indem er den Tieren ein Gemisch aus Terpentinöl, Äther und Olivenöl in das subcutane Gewebe eines Hinterbeins einspritzte. 6 Stunden später erfolgte die Inokulation mit Pseudorabiesvirus in den entzündeten Bezirk. Gleichzeitig wurden gleichviel Kontrolltiere mit dem Virus allein infiziert. Das Impfgut bestand bei der einen Hälfte der Versuchsreihe in einer 10%igen Organemulsion, welche bei der anderen

Hälfte im Verhältnis 1:100 verdünnt wurde. Aus den Ergebnissen, welche in der Abb. 2 wiedergegeben sind, geht hervor, daß die *Injektion des Impfmateri- als in das entzündete Gewebe den Ablauf der Impfkrankei- t deutlich verzögerte*. Außerdem war die Morbiditätsquote in der mit der niedrigeren Viruskonzentration ange- setzten Versuchsreihe wesentlich kleiner als bei der Serie der entsprechenden Kontrollversuche.

Die unspezifische Modifikation des Krankheitsablaufes gelingt manchmal sehr leicht. W. H. und L. G. TALIAFERRO hielten Affen, welche mit Plasmodium brasilianum infiziert waren, tagsüber im Dunkeln und setzten sie während der Nacht der Wirkung des elektrischen Lichtes aus. Diese *Änderung der Belichtung* verschob den Termin des Schizontenzerfalles um 12 Stunden und erzeugte sogar morphologische Veränderungen an den Parasiten.

Die hypothetische Interpretation der unspezifischen Provozierbarkeit mani- fester Virusinfektionen ist bereits mehrfach Gegenstand anderer Abhandlungen gewesen [R. DOERR (3, 4), C. H. ANDREWES u. a.]. Wir verzichten daher auf eine ausführliche und zusammenfassende Darstellung der gefallenen Meinungs- äusserungen, jedoch nicht ohne betont zu haben, daß bestimmte Autoren und vor allem R. DOERR (3, 4) in gewissen Provokationsphänomenen eine wesentliche Stütze der Theorie der endogenen Virusentstehung sehen. Auch über das Wesen der unter natürlichen Verhältnissen vorwiegend latent verlaufenden Virus- infektionen haben wir uns nicht näher zu äußern, da diese Form der Gast-Wirt- Beziehung in jüngster Zeit ebenfalls von R. DOERR (6) in umfassender Weise er- örtert worden ist. Die folgenden Ausführungen beschränken sich daher im wesentlichen auf eine sachliche Wiedergabe der einschlägigen Erfahrungen, wobei der genauen Darstellung der Versuchsanordnung und der von den Autoren selbst verlaublichen Gedankengänge breiter Raum geschenkt wird. Die Blindpassagen werden in extenso abgehandelt werden, während von den übrigen Provokations- erscheinungen diejenigen Beispiele ausgewählt werden sollen, welche nach unserem Dafürhalten entweder besonders instruktiv oder besonders aktuell sind. Die Provokationsphänomene, welche die übertragbaren Tumoren und die Bakterio- phagen betreffen, werden jedoch beiseite gelassen, in der Meinung, daß sie mit größerem erkenntnistheoretischem Nutzen in zusammenfassenden Arbeiten über diese heute schon sehr weitgehend spezialisierten Forschungsgebiete besprochen würden.

Im übrigen sind wir uns bewußt, daß gerade auf dem Gebiete der Virus- forschung, welches wir zum Thema unserer Abhandlung erkoren haben, heute noch Vieles im Flusse ist und daß gewisse Teilergebnisse die Weiterentwicklung vielfach kaum vorausahnen lassen.

Spezieller Teil.

A. Die Provokation manifester Virusinfektionen mittels Blindpassagen.

1. Hodenblindpassagen.

a) Virus III.

Die Vorgeschichte der Versuche, welche T. M. RIVERS und W. S. TILLET (1) zur Entdeckung des Virus III geführt haben, ist wiederholt unvollständig oder in irreführender Form wiedergegeben worden. Tatsache ist, daß diese beiden Forscher ursprünglich den Ansteckungsstoff der Varicellen auf Kaninchen über- tragen wollten. Nachdem dieser Plan mit dem Bläscheninhalt von Varicellen-

kranken mißlungen war, hofften sie mit Patientenblut das Ziel zu erreichen. Die intracerebrale Verimpfung auf junge Kaninchen verlief aber ergebnislos. In der Meinung, daß die Zahl der mit dem Blute übertragenen Viruselemente zu gering sein könnte, um beim Kaninchen einen pathogenen Effekt zu erzeugen, suchten sie zunächst ein leistungsfähiges Verfahren zur Virusanreicherung. Da H. J. NICHOLS und H. NOGUCHI u. a. gezeigt hatten, daß sich Spirochäten und Vaccinevirus im Kaninchenhoden leicht und rasch zur Vermehrung bringen lassen, erwarteten RIVERS und TILLET, daß sich das Virus der Varicellen analog verhalten würde. Den unmittelbaren Anlaß zur Anwendung der von ihnen befolgten Versuchstechnik gaben schließlich die nachstehenden Befunde von T. OHTAWARA. Dieser Autor beschäftigte sich mit der Frage, ob das cutan einverleibte Vaccinevirus in die Blutbahn eindringe. Als die cutane Verimpfung kleiner Mengen des Blutes dermal inokulierter Tiere erfolglos war, injizierte er das mutmaßlich infektiöse Blut in die Testikel von Kaninchen. Je nach dem Zeitpunkt der Blutentnahme bei den Virusspendern traten bei den Virusempfängern Orchitiden schweren oder leichten Grades auf. Sobald Veränderungen nachweisbar waren, exstirpierte OHTAWARA den betreffenden Hoden, verrieb ihn zu einer Emulsion und übertrug diese auf die Haut von Kaninchen und Kälbern. Auf den geimpften Bezirken schossen Impfpusteln auf, ein Beweis, daß sich das Vaccinevirus im Hodengewebe der Kaninchen vermehrt hatte. Wurde das Blut dermal geimpfter Tiere 11 oder 15 Tage nach der Inokulation entnommen und in den Hoden injiziert, so trat bei Kaninchen keine Orchitis auf. Solche Tiere erwiesen sich jedoch als immun gegen eine zweite Impfung mit Vaccinevirus. Es war also *trotz des völligen Fehlens klinischer Manifestationen* zu einer Infektion gekommen. RIVERS und TILLET konnten diese Angaben in vollem Umfange bestätigen. Von NOGUCHI hatten sie außerdem erfahren, daß sich die Anpassung des Vaccinevirus an das Hodengewebe des Kaninchens manchmal erst nach 5—6 hintereinandergeschalteten Hoden-Hoden-Passagen bewerkstelligen läßt.

Unter diesen Voraussetzungen spritzten RIVERS und TILLET Kaninchen je 2,0 ccm Blut von Varicellenkranken in jeden Hoden ein. Während der Injektion stocherten sie mit der Kanüle im Hodengewebe herum, um das Haften der Infektion durch traumatische Beeinflussung zu erleichtern. *Obwohl keine Reaktion auftrat*, wurden mit Hodengewebe weitere intratesticuläre Passagen in Intervallen von 4 Tagen angelegt und die zur Impfung verwendeten Hodenemulsionen jeweils durch cutane und corneale Übertragungen auf ihre Pathogenität geprüft. Intervalle von 4 Tagen wurden gewählt, weil sich dieser Zeitpunkt für die Übertragung des Vaccinevirus von Kaninchen zu Kaninchen als zweckmäßig erwiesen hatte. In 5 von 11 solchen Serien änderte sich plötzlich das Resultat, und zwar *nie vor dem vierten*, zuweilen aber auch erst beim achten Tiere der positiven Reihen. Die bakteriosterilen Hodenemulsionen riefen nunmehr deutliche Entzündungen hervor. War einmal dieser Erfolg erreicht, so konnten Passagen in unbegrenzter Reihe weitergeführt werden. Am stärksten und regelmäßigsten waren die Reaktionen bei der III. Versuchsreihe. RIVERS und TILLET führten in der Folge die meisten Untersuchungen mit diesem Stamm durch, den sie zunächst aus Gründen der Einfachheit und Bequemlichkeit als „Virus III“ bezeichneten. Diese laboratoriumsmäßige Benennung wurde dann, als sich die Unabhängigkeit der von RIVERS und TILLET isolierten Stämme von der Ätiologie der Varicellen erwiesen hatte, zum Artbegriff erhoben. An Stelle von Varicellenblut kann man zur ersten Hodenimpfung Blut oder Gelenkflüssigkeit von Patienten, welche an Gelenkrheumatismus leiden (C. P. MILLER, C. H. ANDREWES und H. R. SWIFT), Material von Scharlachkranken (I. E. MACCARTNEY), Normalmenschenserum [R. DOERR (7)], ja sogar Kaninchenblut (C. H. ANDREWES und C. P. MILLER)

benutzen. Das Ausgangsmaterial spielt demnach keine maßgebende Rolle. Im übrigen blieb der sonderbare Tatbestand unverändert, vor allem die Angabe, daß das Virus nicht vor der IV. intratesticulären Blindpassage in Erscheinung tritt.

Die Symptome und Veränderungen, welche das durch Hodenblindpassagen gewonnene Agens zu erzeugen vermag, beschränken sich in der Regel auf den Inokulationsort. Zeichen einer Allgemeinerkrankung werden nur gelegentlich beobachtet. Die behandelten Hoden werden geschwollen, derb und gerötet. Im Scrotalsack befindet sich häufig eine farblose bis gelbliche Flüssigkeit; das Gewebe des Scrotums ist ödematös infiltriert. Das aufgequollene und bisweilen hämorrhagische Hodengewebe ist des öfteren von kleinen, gelblichweißen Nekroseherden durchsetzt. In Schnittpräparaten beobachtet man vor allem Veränderungen im Interstitium; das Gewebe ist exsudativ durchtränkt und mit Lymphocyten, Makrophagen und Leukocyten erfüllt. Auf der Höhe der Infektion (etwa am 4. Tage nach der Impfung) treten in den im interstitiellen Gewebe befindlichen Makrophagen acidophile Kerneinschlüsse auf, welche leicht darstellbar sind und den Herpeskörperchen ähneln. Die Zahl der Einschlüsse entspricht der Schwere des klinischen Krankheitsbildes. Nach schweren Orchitiden kann es zur Hodenatrophie kommen; das Interstitium ist dann mit großen Mengen kleinzelliger Elemente erfüllt. In den Epithelien der Ausführungsgänge der Hoden und Nebenhoden sind ebenfalls Einschlüsse gesehen worden, ebenso, wenn auch selten, im Keimepithel. Die scarifizierte, mit Hodenemulsion beimpfte Cornea erscheint rau und trüb; es besteht Tränenfluß, Photophobie und konjunktivale Injektion. Die Veränderungen klingen aber bald ab, ohne Dauerschäden zu hinterlassen. Im Bereiche der Impfstrieche treten auf der Haut kleine rote Papeln oder den Scarifikationslinien folgende, strichförmige oder fleckige erythematös-papulöse Efflorescenzen auf, welche nach mehreren Tagen unter Abschuppung und brauner Pigmentation, jedoch ohne Narbenbildung, verschwinden. Gleichförmiger sind die Hautveränderungen nach intracutanen Injektionen von je 0,2 ccm wirksamer Hodenaufschwemmungen. Es bilden sich Papeln von 2—4 cm Durchmesser; das Zentrum derselben nimmt eine dunkelrote Färbung an. Auch diese Veränderungen heilen im Laufe von 14 Tagen narbenlos ab [RIVERS und TILLET (2)]. Die intracerebrale Verimpfung hat des öfteren keinen Erfolg, hie und da führt sie jedoch zu einer Encephalitis, welche in einigen Punkten mit der Herpesencephalitis übereinstimmt. Histopathologisch besteht eine Meningoencephalitis. Die Hirnhäute sind mit Lymphocyten, Plasmazellen und Endothelzellen infiltriert. Ganglienzellen, Gliazellen und Endothelzellen enthalten acidophile Kerneinschlüsse (T. M. RIVERS und F. W. STEWART).

Als Allgemeinreaktion wird das Fieber gedeutet, welches aber nur bei einem Teil der Kaninchen, und zwar nach testiculären, cerebralen oder endovenösen Virusinjektionen vorkommt. Die Tatsache, daß 5—11 Tage nach testiculären Impfungen gelegentlich auf Hautbezirken, welche entweder bloß enthaart oder rasiert und scarifiziert, nicht aber geimpft worden waren, Papeln aufschossen, wurde dahin interpretiert, daß es im Verlaufe der Erkrankung zu einer Virusämie gekommen sei.

Nach intradermalen, cutanen, testiculären, intravenösen, cerebralen oder nasalen Impfungen tritt eine Immunität auf, welche mindestens 6 Monate anhält. Das Immuns Serum von Kaninchen hat starke virusneutralisierende Eigenschaften. Passive Immunisierung ist jedoch nicht erfolgreich.

Die Pathogenität des Virus III scheint sich nach den bisherigen Beobachtungen auf das Kaninchen zu beschränken. Affen, Ratten, Mäuse und Meerschweinchen erwiesen sich als unempfindlich. Dagegen erkrankte eine von zwei Personen, welche mit 0,2 ccm des aktiven Materials an zwei Stellen des linken Oberarmes

intradermal geimpft worden waren, an allgemeinem Unwohlsein, Rötung, Schwellung und Schmerzhaftigkeit des geimpften Gliedes und Vergrößerung der axillaren Lymphdrüsen. Nach 5 Tagen erfolgte restitutio ad integrum [RIVERS und TILLET (2)].

Das Agens, welches sich unter dem Namen „Virus III“ in der Literatur eingebürgert hat, entspricht in vielen Beziehungen (Filtrabilität, Glycerinresistenz, Kerneinschlüsse) bekannten Virusarten. Fast alle Autoren, welche sich selbst mit dem Virus III beschäftigt haben, deuten den Vorgang der Virusgewinnung so, daß manche Kaninchenzuchten latent infiziert sind. Das Virus soll in geringen Quantitäten im Organismus der Tiere als apathogener und schlummernder Keim vorhanden sein und erst durch mindestens 4 Hodenpassagen die Fähigkeit der Infektiosität und Pathogenität erwerben. Zugunsten dieser Auffassung wird angeführt, daß RIVERS und TILLET (2) unter ihren unbehandelten Kaninchen 15 bis 20% fanden, welche gegen das Virus immun waren und neutralisierende Antikörper im Blute hatten. Auf der anderen Seite konnte C. H. ANDREWES unter den Kaninchen, welche er in London untersuchte, keine Exemplare feststellen, welche eine natürliche Immunität besaßen, und mit diesen Kaninchen mißglückte auch der Versuch, einen neuen Stamm des Virus III mit demselben Verfahren zu isolieren, das in Amerika erfolgreich gewesen war. B. FUST¹ versuchte wiederholt neue Stämme zu gewinnen. Als Ausgangsmaterialien dienten Blut von klinisch gesunden Kaninchen, natives Normalmeerschweinchenserum und sterilisierte Milch. Obschon je 12 aufeinanderfolgende intratesticuläre Blindpassagen ausgeführt wurden, gelang es nicht, ein übertragbares Agens zu isolieren. Während der ersten 6 Passagen injizierte B. FUST das Impfgut in Mengen von je 1,0 ccm in den rechten Hoden. Von der VII. Passage an wurden beide Testikel geimpft. Nach dieser Modifikation der Versuchsanordnung traten zwar bei einigen Tieren orchitische Reaktionen auf, sie schwankten aber in bezug auf ihre Intensität bei den nachfolgenden Übertragungen derart, daß sich B. FUST nicht entschließen konnte, seine Befunde als positive Ergebnisse zu deuten. Aus dem Zusammenhalt der Angaben von RIVERS und TILLET, von ANDREWES und von FUST scheint sich zu ergeben, daß die Isolierung des Virus III nur dort gelingt, wo eine latente, enzootische Verseuchung der Kaninchenbestände vorhanden ist.

R. DOERR (3) konnte sich mit dieser Auffassung nicht befrenden, weil sie keinen Aufschluß darüber gibt, warum die Hodenpassagen die Pathogenität dieses Infektionsstoffes so außerordentlich erhöhen und warum zu diesem Zweck eine Minimalzahl von aufeinanderfolgenden, durch kurze Intervalle getrennten intratesticulären Übertragungen notwendig ist. In der Tat weist die experimentelle Beweisführung in dieser Hinsicht beträchtliche Lücken auf. In erster Linie sei hervorgehoben, daß bis jetzt noch keine Spontankrankheit des Kaninchens beobachtet worden ist, die dem Virus III zugeschrieben werden dürfte. Ferner sind unseres Wissens noch keine Versuche unternommen worden, latente Virus III-Infektionen beim Kaninchen histologisch zu erfassen. Bekanntlich können schlummernde Infektionen gewebliche Wegspuren hinterlassen, zum Teil in Form von chronisch entzündlichen Veränderungen, zum Teil auch in Gestalt von acidophilen Kerneinschlüssen. Es sei hier nur an die Läsionen erinnert, welche das Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens in den Submaxillardrüsen erzeugt. Wir sind daher nicht darüber informiert, wo sich das Virus III im Körper des latent infizierten Kaninchens aufhält. Das aktivierte Agens hat zweifellos eine gewisse Affinität zum Hodengewebe, wir wissen aber nicht, ob diese Eigenschaft dem originären Infektionsstoff zukommt oder ob sie das Ergebnis wiederholter

¹ B. FUST, unveröffentlichte Untersuchungen.

experimenteller Übertragungen darstellt. H. EYER hält die Virus III-Infektion des Kaninchens für eine echte virämische Erkrankung, gibt aber nicht an, ob diese Äußerung auf die natürliche oder auf die künstliche Infektion oder auf beide bezogen werden soll. Weiterhin fehlt jeder Beweis, daß zur Virusgewinnung wirklich 3—4 intratesticuläre Blindpassagen nötig sind. Nach den Angaben von RIVERS und TILLET (2) sowie von ANDREWES und MILLER waren 15—20% der von ihnen benützten Kaninchen latent infiziert. Werden 100 Kaninchen einer solchen Zucht hintereinander zur Anlegung von Passagen eingesetzt, so heißt das natürlich nicht, daß sich die latent infizierten Individuen regelmäßig verteilen müssen, so daß auf je 5 oder je 7 Passagen ein latent infiziertes Kaninchen fallen würde. Im ungünstigsten Falle können 80—85 Passagen vorgenommen werden, ohne daß sich ein latent infiziertes Glied in der Reihe befindet; unter den günstigsten Verhältnissen wird schon das erste intratesticulär geimpfte Tier latent infiziert sein. RIVERS und TILLET, MILLER, ANDREWES und SWIFT sowie ANDREWES und MILLER haben in mehr als der Hälfte der von ihnen angesetzten Versuchsreihen kein positives Ergebnis erhalten, möglicherweise weil sie sich mit der Fortführung der wenigen positiven Reihen begnügten und die negativen Serien spätestens nach der VIII. Passage abbrachen. Keiner dieser Autoren hat den strikten Beweis erbracht oder auch nur die Behauptung aufgestellt, daß das Kaninchen der ersten Passage bereits latent infiziert war. Die Aussage, es seien zur Aktivierung mindestens 4 Passagen „notwendig“, scheint demnach — wenigstens vorläufig — der sachlichen Grundlage zu entbehren. Bis auf weiteres besteht also kein zwingender Grund zur Ablehnung der Annahme, daß sich das Virus III schon bei der ersten oder zweiten Übertragung von einem latent infizierten Individuum auf ein gesundes Tier zur pathogenen Entfaltung bringen läßt. Unter diesem Gesichtswinkel betrachtet, erscheint der Tatbestand, daß das Virus III bisher frühestens nach 4 Blindpassagen in Erscheinung trat, als zufälliges Ereignis. Es ist überdies denkbar, daß der Grad der latenten Durchseuchung der Kaninchen an verschiedenen Punkten der Erdoberfläche stark variiert, in einigen Gegenden liegt er vielleicht noch wesentlich unter dem von RIVERS und TILLET ermittelten Prozentsatz.

Der Theorie der latenten Durchseuchung steht die in ihrer Art faszinierende Auffassung von R. DOERR (3, 7) gegenüber. Dieser Autor schließt aus den kurzen Intervallen, die zwischen die intratesticulären Impfungen eingeschaltet werden müssen, um das Virus zu „gewinnen“ und zu „erhalten“, daß *nicht eine Infektion, sondern ein pathologischer Prozeß, nämlich eine acute Entzündung übertragen wird*, und zwar mit Hilfe unbelebter Substanzen, die der Entzündungsherd liefert und die selbst imstande sind, fortzeugend Entzündungen zu gebären. Sorgfältigen Nachprüfungen der Versuchsanordnung, welche zur Auffindung des Virus III geführt hat, unter zweckmäßiger Variierung der einzelnen Faktoren, bleibt die Entscheidung vorbehalten, welche von beiden Theorien zu Recht besteht.

W. SCHLESINGER,¹ welcher sich dieser Aufgabe unterziehen wollte, spritzte Kaninchen in zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen defibriniertes Kaninchenblut bzw. Vollblut eines klinisch gesunden Kaninchens in Mengen von 1,0 und 1,5 ccm in beide Hoden ein und legte in Intervallen von 4 Tagen Hoden-Hoden-Passagen an. In beiden Fällen trat nach der IV. Übertragung eine charakteristische und gleichartige Erkrankung auf, die bis zur VII. bzw. bis zur XV. Passage übertragen wurde; in diesem Zeitpunkt mußten die Versuche aus äußeren Gründen abgebrochen werden. Die pathologischen Reaktionen boten aber nicht die Merkmale einer Infektion mit Virus III dar, sie waren weitaus heftiger und

¹ W. SCHLESINGER, nicht publizierte Untersuchungen.

entsprachen im wesentlichen mehr den Schilderungen der „rabbit-pox“. Ein hoher Prozentsatz der geimpften Tiere verendete. Kaninchen, welche die Infektion überstanden hatten, erwiesen sich nach den Beobachtungen von SCHLESINGER 2—6 Wochen später als immun gegen eine Zweitimpfung mit dem homologen Ansteckungsstoff oder mit Vaccinevirus. Umgekehrt reagierten mit Vaccinevirus intratesticulär vorbehandelte Kaninchen nach 4 Wochen nicht auf eine Reinokulation seines Agens. Die immunologischen Beziehungen des SCHLESINGERSchen Virus zum Virus III konnten nicht abgeklärt werden, weil das von RIVERS gelieferte Virus III, das bei der I. Hodenpassage keine Reaktion erzeugte, bei der II. Passage die Provokation einer rabbit-pox-artigen Affektion zur Folge hatte. SCHLESINGER vertrat die Auffassung, daß er mit dem Verfahren der Hodenblindpassagen latente Infektionen mit Kaninchenpockenvirus aktiviert hätte. B. FUST stellte mit dem SCHLESINGERSchen Agens umfangreiche immunologische Studien an und erzielte folgende Resultate: Von 12 Kaninchen, welche mit dem SCHLESINGERSchen Virus vorbehandelt waren, erwiesen sich 4 als immun, 8 als nicht immun gegen eine Zweitimpfung mit dem homologen Infektionsstoff. Von 4 mit SCHLESINGER-Virus intratesticulär geimpften Kaninchen war eines immun gegen die corneale Nachimpfung mit Vaccinevirus. Mit Vaccinevirus vorbehandelte Kaninchen erwiesen sich als nicht immun gegen eine corneale Nachimpfung mit SCHLESINGER-Virus. Alle mit SCHLESINGER-Virus vorbehandelten Tiere erkrankten schwer, als sie corneal mit rabbit-pox-Virus geimpft wurden. Auf Grund dieser Untersuchungen zog B. FUST den Schluß, daß das SCHLESINGERSche Agens zeitweilig aus zwei Komponenten bestand; die eine Komponente erwies sich als Vaccinevirus, der zweite Faktor konnte nicht identifiziert werden.

Sollten die Reaktionen, die bei den Virus III-Infektionen beobachtet werden, durch die Übertragung entzündungserregender Produkte bedingt sein, so müßte es gelingen, mit derselben Versuchsanordnung nicht nur beim Kaninchen, sondern auch bei anderen Tieren übertragbare Orchitiden hervorzurufen. Diesem Problem ist B. FUST¹ nachgegangen. Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen. Das erste Impfgut bestand aus 0,5 ccm Meerschweinchenblut, bzw. aus 0,5 ccm Normalmeerschweinchenserum, welches in den rechten Hoden verimpft wurde. In Abständen von 4—5 Tagen wurden insgesamt 17 aufeinanderfolgende Hoden-Hoden-Passagen vorgenommen. Bei den so behandelten Meerschweinchen traten keinerlei Krankheitserscheinungen auf und die durch Semikastration gewonnenen Hoden zeigten entweder gar keine oder nur ganz geringfügige entzündliche Reaktionen.

b) Virus „S“.

Das Verfahren der Hodenblindpassagen hat insofern Schule gemacht, als es für A. IMAMURA, H. ONO, T. ENDO und I. KAWAMURA die Grundlage für ihre Studien über die Ätiologie des Scharlachs bildete. Die japanischen Forscher injizierten das Citratblut von 49 Scharlachkranken in Mengen von je 1,0 ccm in die Hoden albinotischer Kaninchen und nahmen in Abständen von 5—6 Tagen Hoden-Hoden-Passagen vor. 24 Versuchsreihen waren erfolgreich. Zwischen der V. und VIII., gelegentlich schon in der II. Passage traten heftige, übertragbare Orchitiden auf. Wirksame Hodenemulsionen erzeugten auf der Cornea Veränderungen, in welchen sich Gebilde, ähnlich den GUARNIERISchen Körperchen und kleine intracellulär und extracellulär gelagerte Elemente fanden, welche letztere als Virus „S“ bezeichnet wurden. Intracutane Injektionen führten zu circumscribten Schwellungen mit zentraler Blasenbildung und Nekrose. Im

¹ B. FUST, unveröffentlichte Untersuchungen.

Gegensatz zum Virus III konnte das Virus „S“ auf der Chorioallantois des Hühnerembryos kultiviert werden. Die japanischen Autoren glaubten, daß sie das Scharlachvirus isoliert hätten; eine Nachprüfung ihrer Befunde durch C. LEVADITI, R. MARTIN, R. SCHOEN und ROUESSE ergab jedoch in dieser Hinsicht negative Resultate.

c) Kaninchenpocken.

Im Jahre 1938 beobachtete B. FUST in Basel eine Kaninchenpockenepizootie. Um das infektiöse Agens zu gewinnen, entnahm er einem spontan von zahlreichen Haut- und Schleimhauteffloreszenzen befallenen Tiere am 3. Krankheitstage 2,0 ccm Blut durch Herzpunktion und injizierte davon je 1,0 ccm in die Hoden eines gesunden Kaninchens. *Da keine Symptome auftraten*, kastrierte er das Tier am 4. Tag, verarbeitete die *makroskopisch normalen Hoden* zu einer Aufschwemmung und injizierte diese einem weiteren Kaninchen in die Hoden. Schon am folgenden Tage reagierte das zweite Passagetier mit einer Schwellung und Induration beider Testes, die am 2. und 3. Tag mächtig zunahm und von lokaler Hyperthermie begleitet war; die Scrotalhaut wurde blaurötlich verfärbt, außerdem bestand Präputialödem und Priapismus. Unter raschem Verfall trat am 4. Tage der Exitus ein. In der Folge verendeten alle intratesticulär geimpften Tiere am 4. Tage. Durch Untersuchung der immunologischen Beziehungen zu Vaccine- und rabbit-pox-Virus konnte die von FUST beobachtete Seuche als Kaninchenpockenepizootie identifiziert werden. In diesem Falle hat sich die Methode der Blindpassagen als *Verfahren zur Virusanreicherung* bewährt.

2. Hirnblindpassagen.

a) Poliomyelitis.

Seit es K. LANDSTEINER und E. POPPER im Jahre 1908 gelang, durch Injektion der Rückenmarksubstanz eines an Poliomyelitis gestorbenen Menschen die Krankheit auf Affen zu übertragen, fehlte es nicht an ausgedehnten Versuchen, auch andere Tiere, insbesondere kleine Nager, zu infizieren; sie lieferten aber, obschon sie bis in die jüngste Zeit (W. GAVRILOV und A. FESTER) und wie wir im nächsten Abschnitt sehen werden, unter Zuhilfenahme von allerlei Kunstgriffen, fortgesetzt wurden, entweder negative oder nicht eindeutige Ergebnisse. Kürzlich berichtete F. PATOČKA, daß es ihm geglückt sei, die Poliomyelitis auf Frettchen zu übertragen. Von einer Reihe von Frettchen, die er intracerebral mit der Rückenmarksubstanz von rasch tödlich verlaufenden Fällen von Kinderlähmung geimpft hatte, erkrankten 3 unter Temperatursteigerungen an paretischen und paralytischen Symptomen, welche bei 2 Tieren zum Tode führten. Von einem derselben konnte das Virus noch auf ein weiteres Frettchen übertragen werden, dann aber hatte das Agens sowohl seine Frettchen- als auch seine Affenpathogenität eingebüßt. Als unwalzender Fortschritt wurden die Feststellungen von C. ARMSTRONG (1, 2), C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS (1, 2) sowie J. A. TOOMEY und W. S. TAKACS (1, 2) begrüßt, wonach sich einzelne Stämme des Poliomyelitisvirus (Stamm „Lansing“, Stamm „SK“, „Flexners M. V.“-Stamm und „Flexners Philadelphia“-Stamm) von Affen auf gewisse Rattenarten, sog. Baumwollratten (*Sigmodon hispidus hispidus* und *Sigmodon hispidus littoralis*) mit Erfolg verimpfen lassen. Nachdem die Stämme „Lansing“ und „SK“ an diese Rattenspezies angepaßt waren, wurden sie auch für weiße Mäuse pathogen [C. ARMSTRONG (2), C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS (1, 2)]. Der „SK“-Stamm konnte dann überdies nach 70 intracerebralen Mauspassagen auf Meer-schweinchen übertragen werden [C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS (3)].

C. ARMSTRONG (1) gebührt das Verdienst, die Empfänglichkeit von *Sigmodon hispidus hispidus* für Poliomyelitis entdeckt zu haben. Er übertrug den „Lansing“-Stamm, welcher bis dahin 4 Affenpassagen durchgemacht hatte, auf eine Baumwollratte. Am 25. Tage nach der Impfung wurde das Tier aufgeregt und es begann zu zittern. Am folgenden Tage traten Lähmungen der Hinterbeine auf. Das Tier wurde getötet und die Obduktion ergab eine Polioencephalitis. Von 11 Baumwollratten, welche in der Folge mit Affenpassagevirus des gleichen Stammes geimpft wurden, erkrankte ein einziges Tier am 29. Tage an Lähmungen der hinteren Extremitäten. Der Versuch, das Virus auf Baumwollratten in Passagen weiterzuführen, riß zunächst nach einer ersten erfolgreichen Übertragung ab, zeitigte aber später positive Resultate. Im Laufe fortgesetzter Passagen schien die Pathogenität für Baumwollratten zuzunehmen. Die Inkubationszeit wurde kürzer. Nach 4—14 Tagen bekamen die Baumwollratten ein gestäubtes Fell. Dazu gesellten sich Erregungszustände, gefolgt von schlaffen Lähmungen und Atembeschwerden. Das Impfgut bestand jeweilen aus einer 5%igen Hirn- und Rückenmarkaufschwemmung, welche jedem Tier in Dosen von 0,06 ccm intracerebral, 0,06 ccm intranasal und 0,25 ccm subcutan einverleibt wurde. Die histopathologischen Untersuchungen, welche von R. D. LILLIE ausgeführt wurden, ergaben bei den Baumwollratten Veränderungen im Zentralnervensystem, welche sowohl in bezug auf ihre topographische Verteilung als auch in bezug auf ihren Aufbau die größte Ähnlichkeit mit den Läsionen aufwiesen, welche bei der Poliomyeloencephalitis des Menschen und des Affen festgestellt worden sind. R. D. LILLIE und C. ARMSTRONG hielten daher das Baumwollrattenvirus für identisch mit dem Affenvirus. In dieser Auffassung wurde ARMSTRONG dadurch bestärkt, daß das Nagetiervirus — intracerebral auf Affen verimpft — das klassische Syndrom der Affenpoliomyelitis zu erzeugen vermochte. Ferner ließ sich die pathogene Wirkung des Nagetiervirus auf Baumwollratten, wenn auch nicht ganz gesetzmäßig, aufheben, wenn virushaltige Hirnemulsionen mit bekannten Poliomyelitisantisera gemischt, intracerebral injiziert wurden. Nach einer Serie von Baumwollrattenpassagen konnte die Krankheit überraschenderweise auch auf weiße Mäuse übertragen werden [C. ARMSTRONG (2)]. Das Mäusevirus erwies sich als hochpathogen für Baumwollratten, besaß aber nicht mehr die Fähigkeit, bei Affen regelmäßig die typischen Erscheinungen der Poliomyelitis hervorzurufen.

JUNGBLUT und SANDERS gelang die Anpassung des Stammes „SK“ an *Sigmodon hispidus littoralis* und anschließend an weiße Mäuse in drei voneinander unabhängigen Versuchsreihen. In der ersten Versuchsreihe wurden 2 Baumwollratten intracerebral mit 0,05 ccm einer Emulsion geimpft, die aus dem mit Glycerin versetzten Rückenmark des 11. Passageaffen hergestellt worden war. Das eine Tier ging am Hirntrauma zugrunde; das zweite verendete nach einer Woche, ohne Symptome gezeigt zu haben. Die Autopsie ergab außer einer deutlichen Hyperämie des Gehirns keine pathologischen Befunde. Das Gehirn erwies sich als bakteriosteril. Die intracerebrale Verimpfung auf eine weitere Baumwollratte verursachte „milde“ nervöse Symptome, welchen das Tier am 3. Tag erlag. Dagegen traten bei der Baumwollratte der III. Passage am 6. Tage komplette schlaife Lähmungen der Hinterbeine und eines Vorderbeines auf. Affen, welche intracerebral mit Hirnaufschwemmungen der Baumwollratten der I., II. und III. Passage geimpft wurden, erkrankten nicht. Kaninchen, Meerschweinchen und albinotische Ratten verhielten sich gegenüber der cerebralen Inokulation des Baumwollrattenvirus der II. und III. Passage refraktär, während weiße Mäuse innerhalb 3—4 Tagen schlaife Lähmungen der Hinterbeine bekamen und an der experimentellen Krankheit zugrunde gingen (siehe Abb. 3).

Die zweite Versuchsreihe begann damit, daß JUNGBLUT und SANDERS 2 Baumwollratten mit dem „SK“-Virus der XVI. Affenpassage impften. *Trotzdem die Tiere völlig gesund erschienen*, wurden sie am 8. Tage getötet. Die Gehirne wurden herausgenommen und zu Suspensionen verarbeitet. Beim Ansetzen der II. Passage diente das Gemisch aus beiden Aufschwemmungen als Impfgut für 2 weitere Baumwollratten. Die eine erkrankte am 3. Tage an Lähmungen der Hinterbeine, die andere zeigte „milde nervöse Symptome“. Beide Tiere verendeten am 4. Tage. Zur III. Passage wurde wiederum ein Gemisch aus den Gehirnen der beiden Tiere der vorangehenden Passage benutzt; die geimpfte Baumwollratte war am 3. Tage vollständig gelähmt und verendete. Mäuse, welchen das Hirnmaterial aus der I. Baumwollrattenpassage ins Gehirn eingespritzt wurde, blieben symptomfrei; auf die Injektion des Materials der II. Baumwollrattenpassage reagierten sie mit nervösen Symptomen. Lähmungen wurden nicht beobachtet. Nach 5 Übertragungen von Maus zu Maus ging das Agens anscheinend verloren. Die Überimpfung des Baumwollrattenvirus der III. Passage führte zunächst bei Mäusen nur zu leichten nervösen Erscheinungen, die aber im Verlaufe von Subpassagen von Maus zu Maus zusehends stärker wurden, bis bei allen Mäusen der V. Subpassage schlaffe Lähmungen auftraten. Rückübertragungen von den Baumwollratten auf Affen waren in dieser Versuchsreihe erfolgreich; dagegen vermochte das Virus, welches durch den Aufenthalt in 3 Baumwollratten für Mäuse infektiös und durch nachfolgende Subpassagen in Mäusen für diese Tiere hochpathogen geworden war, bei Affen nicht mehr Lähmungen zu erzeugen. Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Ratten verhielten sich refraktär gegen das Mäusevirus (siehe Abb. 4).

Im Gegensatz zu den vorstehenden Anpassungsexperimenten, die durch wenigstens eine symptomlose Übertragung auf Baumwollratten gekennzeichnet sind, konnten JUNGBLUT und SANDERS in einer 3. Versuchsreihe *schon durch die erste Verimpfung von frischem Rückenmark* aus der XVIII. Affenpassage des „SK“-Stammes bei einer Baumwollratte schlaffe Lähmungen erzeugen. Die Krankheit ließ sich von da ab ohne Schwierigkeiten auf andere Baumwollratten und auf weiße Mäuse übertragen. In diesem Fall büßte das Agens die Eigentümlichkeit, bei Affen Lähmungen zu verursachen, in dem Zeitpunkt ein, als seine Pathogenität für Mäuse schlagartig auf ein Maximum emporschnellte. Nach den Angaben von JUNGBLUT und SANDERS erwiesen sich die drei an den Mäuseorganismus angepaßten Stämme des Poliomyelitisvirus „SK“ als identisch, sowohl in bezug auf ihren pathogenen Effekt als auch in bezug auf ihr immunologisches Verhalten. Versuche, das „SK“-Virus unter Umgehung der Baumwollratte direkt an weiße Mäuse zu adaptieren, verliefen negativ. Die Infektiosität für Mäuse kommt daher in den Sigmodonpassagen zustande. JUNGBLUT und SANDERS ziehen aus ihren Versuchsergebnissen den Schluß, daß sich die Virusadaptation zumindest in drei verschiedenen Phasen äußern kann, nämlich:

1. Das der infizierten Baumwollratte entnommene Virus ist für Affen, nicht aber für Mäuse pathogen. Die Sigmodonratte kann subklinisch infiziert sein.

2. Das Virus erzeugt bei der Baumwollratte Lähmungen und befindet sich insofern in einem labilen Übergangsstadium, als es für Affen einen geringeren Grad von Pathogenität bekundet, aber gleichzeitig in zunehmendem Maße für Mäuse pathogen wird.

3. Die Fähigkeit des Virus, bei Affen Lähmungen zu erzeugen, geht schlagartig und vollständig verloren, während die Pathogenität für Mäuse gleichzeitig ihr Maximum erreicht. Diese Phase der Anpassung hat somit den Charakter einer explosiven Mutation [R. DOERR (6)].

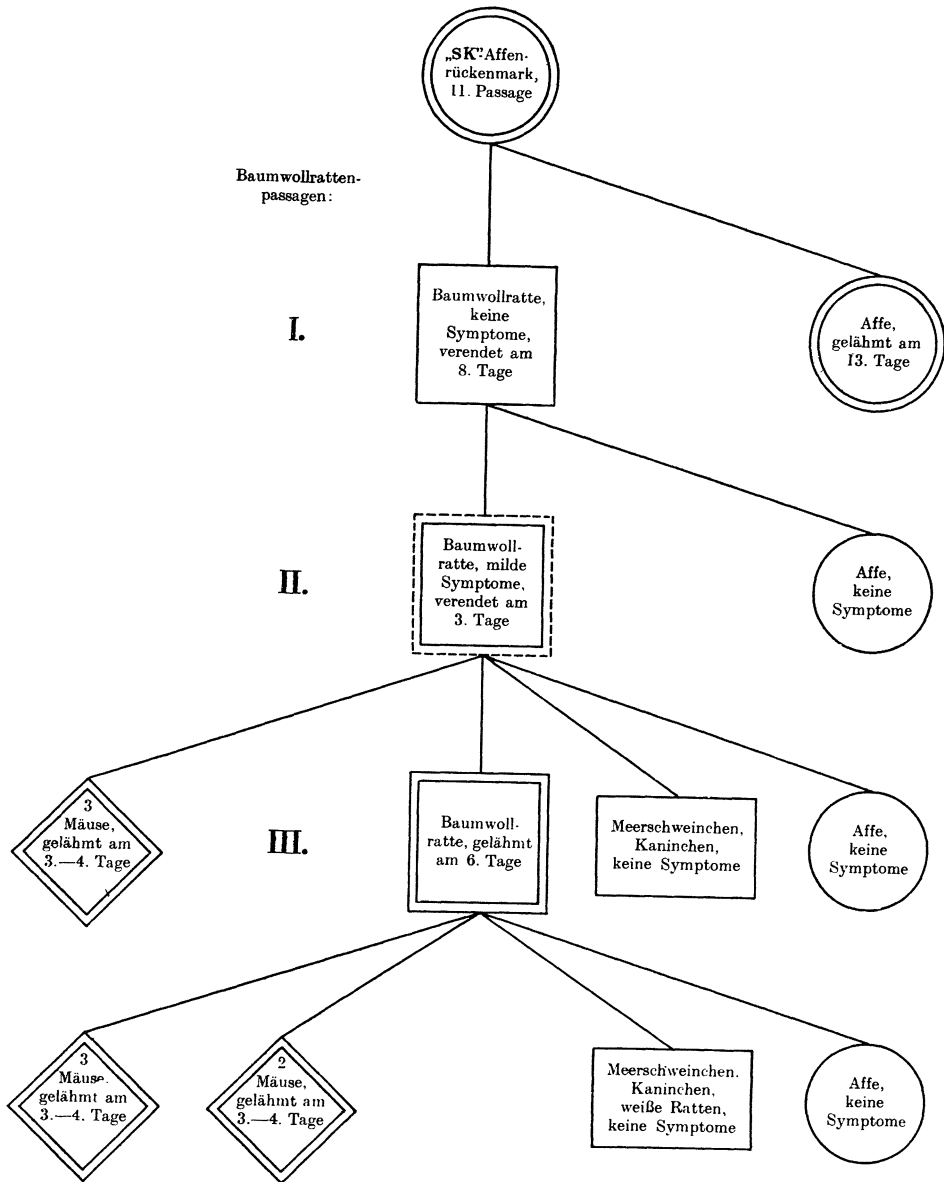


Abb. 3. Adaptation des Poliomyelitisvirusstammes „SK“ an Baumwollratten und weiße Mäuse. Erste Versuchsreihe. Erklärung im Text [nach C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS, J. exper. Med. (Am.) 72, 407 (1940)].

Welche Faktoren die Reihenfolge der Ereignisse in den Passagereihen bestimmen, konnten JUNGBLUT und SANDERS nicht ermitteln, es war ihnen daher auch nicht möglich, die Art der Realisierung der Adaptation vorauszusagen; sie glauben aber einigen Umständen einen Einfluß zuschreiben zu dürfen, so dem Ausmaße, in welchem sich das Virus vor seiner Überimpfung auf Baumwollratten an den Organismus des Affen fix eingestellt hat, der Verwendung von frischer oder von abgelagerter, mit Glycerin versetzter Affenrückenmarksubstanz

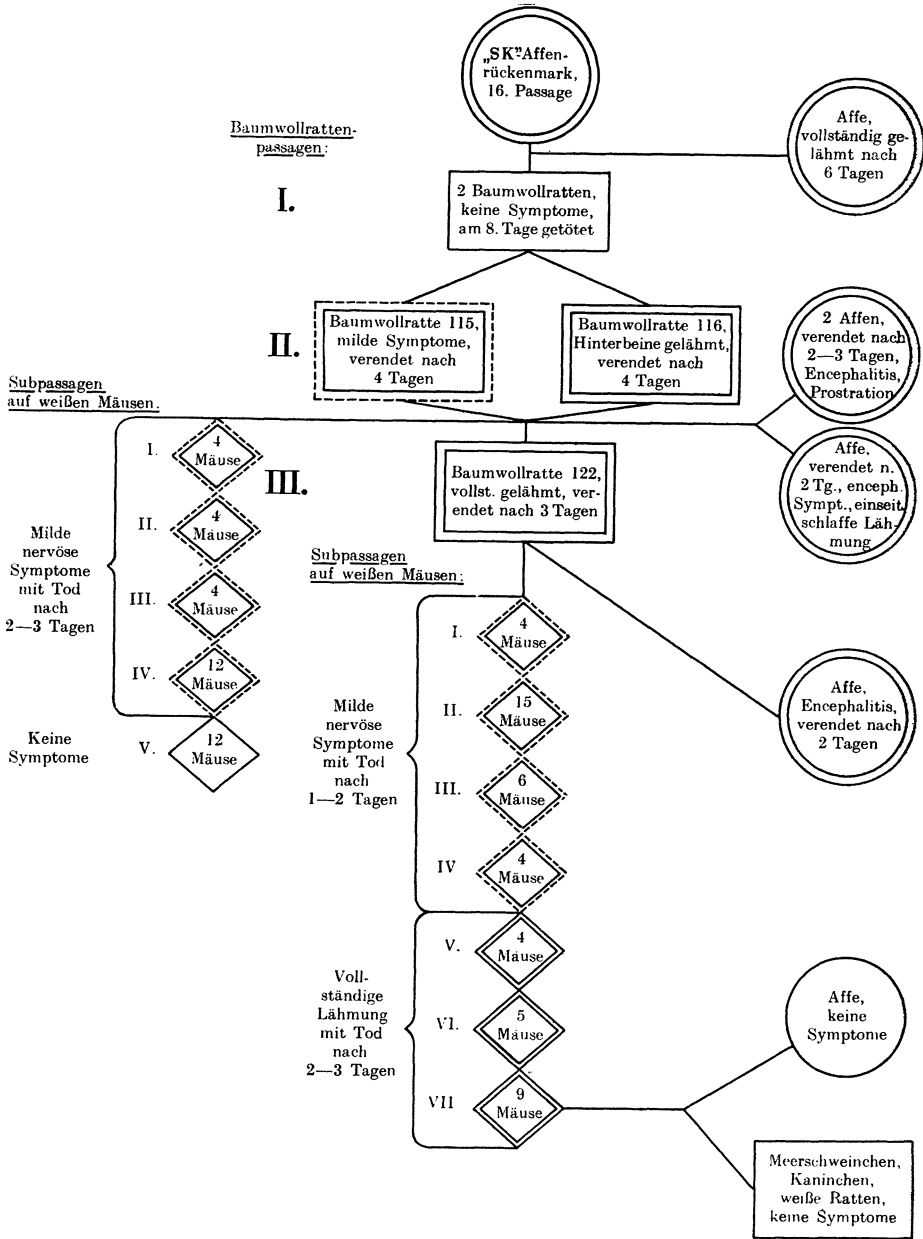


Abb. 4. Adaptation des Poliomyelitisvirusstammes „SK“ an Baumwollratten und weiße Mäuse. Zweite Versuchsreihe. Erklärung im Text (nach C. W. JUNGBLUT und M. SANDERS, J. exp. Med. 72, 407, 1940).

und den zwischen die Passagen eingeschalteten Zeitintervallen. „Sollten, wie dies JUNGBLUT und SANDERS fast als sicher annehmen, Veränderungen des Poliomyelitisvirus durch heterologe Passagen vorliegen, so wären die angeführten experimentellen Ergebnisse ausgezeichnete Beispiele für die Phänomene des ‚Wirtsgewinnes‘ und ‚Wirtsverlustes‘ durch das Parasitieren in besonderen, dem infektiösen Agens aufgezwungenen Lebensräumen. Man sieht sofort ein, daß auf

diesem Wege, der vielleicht nicht nur im Laboratorium, sondern auch in der Natur realisiert werden kann, neue ‚Erreger‘, mit bisher unbekanntem Eigenschaften, mit einem eigenartig zusammengesetzten Infektiositätspektrum, mit besonderen klinischen und anatomischen Auswirkungen entstehen können, ‚Keime‘, die ihre Abstammung, wenn der ganze Vorgang irreversibel ist, nicht mehr verraten“ [R. DOERR (6)]. Andererseits besteht aber auch die Möglichkeit, daß das Virus, das unter Umständen plötzlich eine so konstante Infektiosität und Pathogenität für Mäuse an den Tag legt und das sich dann auch mit Hilfe von embryonalem Mäusegewebe *in vitro* züchten läßt [JUNGBLUT und SANDERS (2)], nicht mehr das Poliomyelitisvirus ist, sondern ein neurotropes Virus, das in den Sigmodonratten im latenten Stadium vorkommt und auf diese Weise in die Passagen eingeschmuggelt wird.

Andererseits würde die Feststellung, daß das Nagetiervirus doch noch das Agens der Poliomyelitis ist, außerordentlich wertvolle Perspektiven eröffnen. Einmal wären damit die längst gesuchten, leicht beschaffbaren Versuchstiere für diesen Infektionsstoff gefunden. Die Hindernisse, welche bis heute einer endgültigen Lösung der alten Streitfrage über den Wert der Serotherapie bei der Kinderlähmung im Wege gestanden sind, wären weggeräumt. Überdies könnte die Beeinflussbarkeit der Poliomyelitis durch chemische Stoffe leicht im Laboratorium geprüft werden. Baumwollratten und weiße Mäuse würden es auch ermöglichen, die Ursachen und die Dauer der individuellen Disposition für diese ansteckende Krankheit zu ermitteln und die Hintergründe der individuellen Resistenz (stille Feiung durch Spontaninfektionen mit kleinen Virusmengen oder altersbedingter Verlust der Disposition des jugendlichen Lebensalters) aufzudecken (C. ARMSTRONG, J. STAFFORD).

Seither haben JUNGBLUT und SANDERS (3) den an Baumwollratten und weiße Mäuse adaptierten Poliomyelitisvirusstamm „SK“ in weiteren Hirnpassagen auf der Maus fortgezüchtet. Im Laufe derselben wurde eine wesentliche Steigerung der Pathogenität beobachtet. Diese Tatsache veranlaßte die Autoren, das Virus nochmals auf Affen und Meerschweinchen zu überimpfen. 7 Affen erhielten intracerebrale Injektionen einer Suspension, die aus dem Gehirn und Rückenmark gelähmter Mäuse der 70. Passage zubereitet worden war. 3 Affen erkrankten an hohem Fieber, Zittern, tonisch-klonischen Krämpfen und Prostration. Eines dieser Tiere verendete; die übrigen 4 blieben anscheinend gesund. Alle überlebenden Affen erwiesen sich jedoch, als sie 4 Wochen später mit dem nur auf Affen fortgezüchteten „SK“-Poliomyelitisvirusstamm infiziert wurden, als nicht immun. Das an das Nervensystem der Maus angepaßte Virus bekundete somit nach der 70. Mauspassage im Gegensatz zu früher eine deutliche Affenpathogenität. Freilich äußerte sich diese nicht in Form einer Poliomyelitis, sondern unter dem Bilde einer Polio-Encephalitis. Von 26 Meerschweinchen, die mit 0,1 ccm nichtfiltrierter Aufschwemmungen, zubereitet aus dem Gehirn und Rückenmark gelähmter Mäuse der 70. oder späterer Passagen, intracerebral geimpft worden waren, bekamen 24 nach einer Inkubation von 2—4 Tagen zuerst Fieber und dann meist vollständige schlaffe Lähmungen der Hinterbeine, seltener auch der Vorderbeine. In der Regel verlief die Krankheit tödlich, nur wenige Tiere genasen. Zum gleichen Ergebnis führte die intracerebrale Injektion von Suspensionen infektiösen Mäusehirns, die durch Berkefeld N- oder W-Kerzen filtriert worden waren, bei 3 von 6 Meerschweinchen. Die histologischen Veränderungen entsprachen denjenigen eines typischen poliomyelitischen Prozesses in den Vorderhörnern des Rückenmarkes, daneben bestanden Zeichen einer leichten Encephalitis. Das Virus ließ sich im Gehirn und Rückenmark der gelähmten Meerschweinchen nachweisen, nicht aber in anderen Organen oder im

Blut. Merkwürdigerweise konnte die Krankheit entweder bloß mit dem Gehirn oder bloß mit dem Rückenmark gelähmter Meerschweinchen auf neue Meerschweinchen übertragen werden; nur selten erwiesen sich beide Organe des gleichen Tieres als infektiös. Die ersten Übertragungen des Virus von der Maus auf das Meerschweinchen gelangen nicht nur auf cerebralem, sondern auch auf subcutanem, intraperitonealem oder intravenösem Wege. Verfütterung oder nasale Instillationen ergaben negative oder fragwürdige Resultate. Von Meerschweinchen zu Meerschweinchen konnte die Krankheit aber nur vermittels intracerebraler Injektionen weiterübertragen werden. Das Meerschweinchenpassagevirus wurde sowohl durch Meerschweinchen-Rekonvaleszentenserum, wie auch durch „SK“-Affenrekonvaleszentenserum und Kaninchenantiserum inaktiviert. Diese Befunde sprechen nach JUNGEBLUT und SANDERS (3) für die Identität des Virus im Affen, in der Maus und im Meerschweinchen. Beim Versuch, den „SK“-Poliomyelitisvirusstamm fortlaufend im Organismus des Meerschweinchens weiterzuzüchten, zeigte sich sehr bald eine Abnahme der Pathogenität. Die Inkubationszeit wurde länger und der Prozentsatz der gelähmten Tiere nahm zusehends ab. Zwei Serien rissen in der VI. bzw. in der VII. Meerschweinchenpassage ab, während eine dritte Versuchsreihe bis jetzt noch in der X. Passage erfolgreich war. Während das Virus für Meerschweinchen pathogen war, ließ es sich leicht auf Mäuse und Baumwollratten, nicht aber auf Affen rückübertragen. Als dann die Meerschweinchenpathogenität sukzessive, und zwar synchron mit der Mäusepathogenität absank, war das Virus plötzlich wieder imstande, beim Affen eine klassische Poliomyelitis zu erzeugen. Es scheint daher, daß der Wirtswechsel beim „SK“-Poliomyelitisvirus zu gewissen *cyclischen Veränderungen der Pathogenität* führte. Bemerkenswert ist ferner die Tatsache, daß das durch fortgesetzte Hirnpassagen im Meerschweinchen abgeschwächte Virus bei diesem Tier allmählich fast nur noch *latente Infektionen* zur Folge hatte, welche gegen eine Nachimpfung mit meerschweinchenpathogenem „SK“-Virus schützten. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind möglichenfalls geeignet, unsere Kenntnisse über die Eigentümlichkeiten der Epidemiologie der humanen Poliomyelitis zu erweitern und zu vertiefen. Im Rahmen unserer Ausführungen ist zunächst lediglich die Feststellung von besonderer Bedeutung, daß die beschriebenen Versuche von JUNGEBLUT und SANDERS (3) Anhaltspunkte dafür liefern, daß das an Nagetieren zur pathogenen Entfaltung gebrachte Agens noch immer Poliomyelitisvirus ist.

Der von C. ARMSTRONG (1) an Baumwollratten und weiße Mäuse adaptierte „Lansing“-Stamm hat sich nach den Angaben von V. H. HAAS und C. ARMSTRONG, von C. G. HARFORD und J. BRONFENBRENNER, sowie von S. D. KRAMER im Mäuseversuch zur Wertbemessung menschlicher Poliomyelitis-Rekonvaleszentensera als brauchbar erwiesen. Auch dieser Stamm ist also im Organismus der Nagetiere anscheinend Poliomyelitisvirus geblieben. Außerordentlich merkwürdig muten freilich die Befunde von C. LEVADITI an, wonach das „Lansing“-Virus aus dem Gehirn von Mäusen etwa 14mal größer sein soll als Poliomyelitisvirusstämme, die bloß cerebrale Affenpassagen durchgemacht haben.

b) Rolling disease.

Der pleuropneumonie-ähnliche Keim L 5, der von G. M. FINDLAY, EMMY KLIENEBERGER, F. O. MACCALLUM und R. D. MACKENZIE aus dem Gehirn weißer Mäuse, welche an Rolling disease litten, isoliert wurde, verursachte nach intracerebraler Einverleibung von Reinkulturen bei Mäusen keine Krankheit, obschon die Infektion nachweislich gehaftet hatte. Es kam also lediglich eine latente, bzw. eine subklinische Infektion zustande. Die Autoren versuchten diese in eine

manifeste Erkrankung überzuführen, indem sie eine Maus, welche sie mit 0,03 ccm einer Bouillonkultur von L 5 infiziert hatten, 48 Stunden nach der Infektion töteten, aus dem Gehirn eine Suspension herstellten und diese einigen weiteren gesunden Tieren intracerebral einspritzten. In Abständen von 48 Stunden wurden weitere Hirn-Hirn-Passagen angelegt. Bei den Mäusen der III. Passage traten bereits Symptome auf, ja einige Tiere dieser Serie zeigten das typische Bild der Rollkrankheit. Durch Weiterführung rasch aufeinanderfolgender intracerebraler Übertragungen konnte die Pathogenität von L 5 so weit gesteigert werden, daß sich Prozesse entwickelten, welche sich weder in klinischer noch in anatomischer Hinsicht von der spontanen oder von der durch das Zusammenwirken von Bouillonkulturen des Mikroorganismus L 5 und dem Stamm „S“ des Virus der lymphocytären Choriomeningitis erzeugten Rolling disease unterschieden. Dieses Beispiel wird hauptsächlich deswegen angeführt, weil auf Grund der nicht alltäglichen Versuchsanordnung die Abtrennung der Rolling disease von den sog. gekuppelten Infektionen ermöglicht und die ätiologische Bedeutung des pleuropneumonie-ähnlichen Mikroben L 5 klargestellt wurde.

c) Maul- und Klauenseuche.

Im Jahre 1937 teilte H. C. NAGEL mit, daß es ihm gelungen sei, den Typus B des Maul- und Klauenseuchenvirus durch fortlaufende intracerebrale Verimpfungen auf weiße Mäuse zu übertragen und im Gehirn dieser Tiere weiterzukultivieren. Bis zur 60. Passage wurde das Virus nicht nur im Zentralnervensystem, sondern auch in anderen Organen, sowie im Blut gefunden. Später war es nur noch im Gehirn nachweisbar. Bei den geimpften Mäusen traten bis zur 140. Übertragung überhaupt keine klinischen Symptome auf. Aber von da an machten sich in steigendem Maße Krankheitserscheinungen bemerkbar, die auf eine Infektion des Zentralnervensystems hindeuteten und im Laufe der folgenden Passagen bei einem stets wachsenden Prozentsatz der Tiere zum Tode führten. Für jede Übertragung wurden 3 Mäuse im Gewicht von 16—20 g benutzt. Zur Verimpfung gelangten je 0,2 ccm der überstehenden Flüssigkeit einer Aufschwemmung, die aus den Gehirnen der 3 Mäuse der vorangehenden Passage durch Verreiben mit 2—3 ccm Phosphatpufferlösung von einem pH-Wert von 7,6 hergestellt und während 1 Minute bei 3000 Touren zentrifugiert worden war. Gleichzeitig wurde das Impfmateriale jeweils auf die Planta pedis von 4 Meeresschweinchen übertragen, um allfällige Veränderungen im epitheliotropen Verhalten des Mäusevirus ermitteln zu können. Nach W. HOFMANN erkrankten die intracerebral geimpften Mäuse der 140. und der späteren Übertragungen gewöhnlich nach 24—48 Stunden. Ihr Fell war leicht gestäubt und ihre Freßlust vermindert. Nach weiteren 24 Stunden kauerten die Tiere mit deutlich gestäubtem Haarkleid und stark gekrümmtem Rücken in einer Ecke des Käfigs zusammen. Bereits in diesem Stadium kamen die ersten Todesfälle vor. Bei den übrigen Tieren stellten sich am 5. oder 6. Tage nach der Injektion Lähmungen der hinteren Extremitäten ein. Krämpfe wurden nicht beobachtet. Kurz vor dem Tode war die Atmung angestrengt und stark beschleunigt. Die Mortalität betrug praktisch 100%. Vereinzelt Tiere, die sich, wenn auch ganz langsam, erholten, zeigten nie mehr die ursprüngliche Munterkeit. Mit den Passagen höherer Ordnung nahm die Pathogenität des Virusstammes immer mehr zu, so traten nach 400 Übertragungen die Lähmungen bereits nach 40 Stunden auf und nach spätestens 52 Stunden waren alle Versuchstiere tot. *Mit der Entwicklung der neurotropen Eigenschaften parallel verlief ein starkes Absinken der epitheliotropen Qualitäten.* Gehirnaufschwemmungen der 476. Mauspassage, die im Verhältnis 1:10¹² verdünnt waren, erzeugten, intracerebral verimpft, bei

Mäusen noch immer Krankheitserscheinungen, wohingegen die epitheliotrope Komponente durch plantare Verimpfungen auf Meerschweinchen nur bis zu der Verdünnung 1:1000 nachweisbar war. Die geringen epitheliotropen Eigenschaften des an das Mäusegehirn adaptierten Virusstammes ließen sich nach den Untersuchungen von W. HOFMANN durch Weiterzüchtung des Virus auf der Meerschweinchenplanta wieder verstärken, gleichzeitig nahmen aber die neurotropen Qualitäten ab. Der Vorgang war also *reversibel*. Interessanterweise führte die intracerebrale und die subcutane Infektion des neurotrophen Mäusevirus bei Meerschweinchen zu einem Krankheitsbild, das seinen Ausdruck hauptsächlich in einer starken Salivation fand. Die Tiere magerten ab und gingen innerhalb weniger Tage zugrunde. Lähmungen, wie bei den Mäusen, wurden nur selten beobachtet. Die spezifischen Erscheinungen der Maul- und Klauenseuche des Meerschweinchens, nämlich Aphthen an den Fußsohlen und an der Zunge, stellten sich jedoch in keinem Falle ein. Das Vorgehen von H. C. NAGEL und W. HOFMANN beweist uns, daß man mit Zähigkeit und Ausdauer aus dem Verfahren der Blindpassagen schließlich doch eine lehrreiche experimentelle Beute herausholen kann.

d) Influenza.

Versuche, Influenzavirusstämme an das Gehirn weißer Mäuse zu adaptieren, verliefen zunächst erfolglos. Dann beschrieb C. H. STUART-HARRIS (2) einen Stamm, „*W. S.*“, der nach intracerebraler Injektion bei Mäusen zu einer tödlichen Erkrankung des Zentralnervensystems führte. Dieser war von der Mäuse-lunge zuerst auf die Chorioallantois des Hühnerembryos verbracht worden. Nach 14 Eihautpassagen erzeugte das Virus beim Hühnerembryo eine hämorrhagische Encephalitis. Das Gehirn des Hühnerembryos der XXI. Eihautpassage wurde zu einer Suspension verarbeitet, die in Mengen von 0,02 ccm intracerebral auf 3 junge Mäuse verimpft wurde. In Abständen von 2—3 Tagen legte STUART-HARRIS weitere intracerebrale Passagen an. Dazu wurden nun etwas größere Mäuse benutzt. Erst von der XII. Passage ab traten neurologische Symptome auf und die Mäuse starben dann regelmäßig. Während den blinden Übertragungen konnte das Influenzavirus in den Mäusegehirnen mittels intranasaler Instillationen an anderen Mäusen nachgewiesen werden. TH. FRANCIS jr. und A. E. MOORE versuchten auf ähnliche Art eine Anpassung des Influenzavirus an das Mäusegehirn zu erzielen. Sie kultivierten verschiedene humane und porcine Virusstämme in Gewebskulturen aus embryonalem Hühnerhirn in Tyrode- oder in Kochsalzlösung und legten vorerst weitere Gewebskulturpassagen an. Dabei gingen fast alle Virusstämme schon ziemlich früh verloren. Einzig der Stamm „*W. S.*“ konnte mühelos weiterverimpft werden, während Versuche mit dem sog. „*Melbourne*“-Stamm nur teilweise erfolgreich waren. Nach 7 Passagen in der Gewebskultur wurde der Stamm „*W. S.*“ intracerebral auf Mäuse übertragen und in Intervallen von 2—3 Tagen wiederum intracerebral fortgeimpft. Von der XI. Passage an erkrankten die Tiere gewöhnlich nach einer Inkubation von 3 Tagen und gingen am 4.—6. Tage unter tetanischen Krämpfen zugrunde. Lähmungen wurden nicht beobachtet. Die mikroskopische Untersuchung des Gehirns ergab Hyperämie und Zeichen einer Meningitis von lymphocytärem Charakter. Das Gehirn war wenig oder nicht verändert. Die pneumotropen Eigenschaften des Virus blieben auch nach der Anpassung an das Mäusegehirn erhalten. Freilich zeigte sich eine gewisse Abnahme der Lungenpathogenität, die sich vor allem in einer Verlängerung der Krankheitsdauer äußerte. Ähnliche Ergebnisse zeitigten die Versuche mit dem „*Melbourne*“-Stamm. Schließlich wurde Mäuselungenvirus des Stammes „*W. S.*“ ohne Zwischenschaltung von Gewebskulturpassagen intracerebral auf Mäuse verimpft, mit dem Erfolg, daß

schon nach 3 oder nach 6 Blindpassagen tödlich verlaufende Infektionen des Zentralnervensystems auftraten. Daraus geht hervor, daß der Influenzavirusstamm „W. S.“ von Haus aus neurotrope Eigenschaften besitzt und daß der beschwerliche Umweg über die Chorioallantois des Hühnerembryos oder über die Gewebekultur für die Adaptation an das Gehirn der Maus nicht nur entbehrlich, sondern eher noch hinderlich ist.

3. Lungenblindpassagen.

a) Influenza.

Frettchen antworten auf die intranasale Einverleibung eines vom Menschen stammenden influenzavirushaltigen Materials in der Regel prompt mit einer Fieberreaktion. Im Gegensatz dazu liefern weiße Mäuse nach der Verimpfung von originärem humanem Influenzavirus zunächst keine klinischen Anhaltspunkte für das Haften der Infektion. Dieses Verhalten verleitet vielfach zur Schlußfolgerung, daß der Ansteckungsstoff nicht direkt vom Menschen auf die weiße Maus übertragen werden könne. THOMAS FRANCIS und THOMAS P. MAGILL sowie J. MARION CLAMPIT und F. B. GORDON erbrachten jedoch den Nachweis, daß die Anpassung des originären menschlichen Influenzavirus an den Organismus der weißen Maus durch fortgesetzte intranasale Blindpassagen möglich ist.

FRANCIS und MAGILL ließen Nasen und Rachen von zwei Influenzakranken mit gewöhnlicher Bouillon ausspülen und vermischten das gewonnene Material. Ein Teil desselben wurde in herkömmlicher Weise auf Frettchen verimpft. Der isolierte Virusstamm zeichnete sich dadurch aus, daß er vom Frettchen leicht auf Mäuse übertragen werden konnte. Der Rest der gesammelten Nasen-Rachen-Spülflüssigkeit wurde während 19 Tagen im Tiefkühler bei -78°C aufbewahrt, dann bei Zimmertemperatur aufgetaut und während 30 Minuten bei 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. FRANCIS und MAGILL pipettierten die überstehende Flüssigkeit ab und zentrifugierten diese während 3 Stunden in der Ultrazentrifuge bei 14000 Umdrehungen pro Minute. Schließlich wurde die überstehende Flüssigkeit abgossen und das Sediment in einem Sechstel des ursprünglichen Volumens der überstehenden Flüssigkeit aufgeschwemmt. Davon verimpften FRANCIS und MAGILL 0,05—0,08 cem intranasal auf narkotisierte Mäuse. In Intervallen von 4—5 Tagen wurden Serienübertragungen vorgenommen, in dem 50—70%ige Aufschwemmungen feinerzerriebenen Lungengewebes geimpfter Tiere in die Nase gesunder Mäuse geträufelt wurden. Während den ersten 3 Passagen traten keine nennenswerten Lungenveränderungen auf, das Virus konnte aber in den Lungen der Mäuse der III. Passage durch Übertragung auf Frettchen nachgewiesen werden. Sämtliche Mäuse der IV. Passage zeigten geringgradige Lungenveränderungen. Von da an nahm die Mäusepathogenität rasch zu, um im Verlaufe der VI. Passage bei einem Teil der geimpften Tiere bereits eine tödliche Infektion zu verursachen. Für die VII. Passage verwendeten FRANCIS und MAGILL ein sicher bakterienfreies Berkefeld V-Filtrat. Bei den Mäusen der VIII. Passage traten die ersten Todesfälle am 4. Tage nach der Impfung ein. Durch Neutralisationsversuche, bei welchen Lungenaufschwemmungen der Mäuse der VII. Passage und ein bekanntes Immuserum benutzt wurden, konnte die Identität des infektiösen Agens mit dem menschlichen Influenzavirus nachgewiesen werden.

CLAMPIT und GORDON benutzten als Ausgangsmaterial 9 Sputa und Nasen-Rachen-Spülwässer von 7 Influenzakranken, welche zwischen 12 und 72 Stunden nach dem Ausbruch der Krankheit gewonnen wurden. Die Exkrete wurden mit

Glassand verrieben und mit Kalbfleischbouillon versetzt. Im Gegensatz zu FRANCIS und MAGILL verzichteten CLAMPIT und GORDON auf eine Einengung des Virus durch Ultrazentrifugation. Sie befreiten die Aufschwemmung durch leichtes Zentrifugieren vom Glassand und von größeren Partikeln und verimpften die überstehende Flüssigkeit auf weiße Mäuse, indem sie die Nase der narkotisierten Tiere während einigen Atemzügen in das Impfgut eintauchten. 5 Tage später wurden die Tiere getötet, ihre Lungen zu einer dichten Aufschwemmung verarbeitet und in gleicher Weise auf gesunde Mäuse übertragen. Alle weiteren Passagen wurden in 5tägigen Intervallen vorgenommen. In bezug auf den Zeitpunkt des ersten Auftretens von Lungenveränderungen verhielten sich die Stämme verschieden: verdichtete Herde wurden frühestens bei der III., spätestens bei der VIII. Passage beobachtet. Zur Erzeugung einer Infiltration der ganzen Lunge waren 5—13 Passagen nötig. Der Tod erfolgte dann gewöhnlich am 5. Tage nach der Inokulation. Nachdem aber die Stämme an den Mäuseorganismus angepaßt waren, riefen sie regelmäßig identische Veränderungen hervor. Die klinischen, pathologisch-anatomischen und histologischen Befunde glichen denjenigen, welche bei Mäusen nach Infektionen mit bekannten Influenzavirusstämmen auftreten. 8 von den 9 isolierten Virusstämmen wurden überdies durch Berkefeld-N-Kerzen filtriert. Das Filtrat vermochte in allen Fällen Lungeninfiltrationen zu erzeugen. Schließlich wiesen CLAMPIT und GORDON durch gekreuzte Neutralisationsversuche mit einem bekannten humanen Influenzavirusstamm die serologische Identität der isolierten Stämme mit dem menschlichen Influenzavirus nach.

Der eingeschlagene Weg, die direkte Adaptation des originären humanen Influenzavirus an den Organismus der Maus zu erzwingen, mutet auf den ersten Blick recht sonderbar an. FRANCIS und MAGILL, wie auch CLAMPIT und GORDON geben die näheren Gründe nicht an, die sie zu diesem Procedere bewogen haben. De facto liegt bis zu einem gewissen Grade eine Umkehrung der Verhältnisse vor, denen wir beim Virus III begegnen. Dort wird eine natürlicherweise ausschließlich als latenter Zustand vorkommende Virusinfektion durch fortgesetzte Hodenblindpassagen in eine manifeste Erkrankung übergeführt. Hier ist der Spender krank (Mensch) und die Übertragung des infektiösen Agens ruft beim Empfänger (Maus) keine Symptome hervor. Der neue Wirt ist aber latent infiziert, was einerseits durch Überimpfung von Emulsionen von Mäuselungen auf primär empfänglichere Versuchstiere (Frettchen) (FRANCIS und MAGILL), andererseits durch die schließlich erfolgreiche Fortsetzung der intranasalen Maus-Maus-Passagen bewiesen wird. Bei den zitierten Versuchen trat die Mäusepathogenität frühestens während der III., spätestens im Verlaufe der VIII. Passage in Erscheinung und erfuhr dann eine ständige Zunahme bis zu einem, bei Virusstämmen verschiedener Provenienz, anscheinend gleichen Maximum. Im Verlaufe der Blindpassagen erfolgt offenbar eine qualitative Änderung des infektiösen Agens im Sinne einer Anpassung an den Mäuseorganismus. Diese Anpassungsfähigkeit ist bei den einzelnen Virusstämmen verschieden ausgeprägt, da die ersten pathologischen Lungenbefunde nicht immer während der gleichen Passage erhoben werden. Auch bei der Übertragung von Influenzavirusstämmen von Frettchen auf die weiße Maus wurden ähnliche Erfahrungen gemacht. Während das Virus manchmal erst nach 13 Frettchenpassagen auf weißen Mäusen anging, wurden in anderen Fällen schon nach zwei, ja sogar nach einer einzigen Übertragung auf Frettchen positive Resultate erzielt. Die Bedeutung der Möglichkeit der direkten Übertragung des humanen Influenzavirus auf die weiße Maus mittels intranasaler Blindpassagen liegt nicht nur in der Ausschaltung des Frettchens als Brückenwirt, sie eröffnet auch neue Perspektiven hinsichtlich der Auffindung neuer experimenteller Gast-Wirt-Beziehungen.

Bis jetzt sind freilich solche direkte Übertragungen des humanen Influenzavirus auf die Maus nur vereinzelt gelungen. Verschiedene Autoren verzeichneten lauter Mißerfolge. Zuletzt berichtete M. DREGUSS über insgesamt 17 negative Versuchsreihen. Nachdem R. M. TAYLOR und M. DREGUSS [Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) 43, 100 (1940)] gezeigt hatten, daß sich das Influenzavirus nach der Anpassung an Frettchen oder an Frettchen und Mäuse durch intranasale Einträufelung unter Äthernarkose auf der Nasenschleimhaut des Hamsters zur Ansiedelung und Vermehrung bringen läßt, prüfte M. DREGUSS diese Tierart auf ihre Eignung zur Isolierung des Influenzavirus aus menschlichen Rachenspülwässern. Gleichzeitig wurden Frettchenimpfungen vorgenommen. Von 4 Virusstämmen, die bei den Frettchen gehaftet hatten, vermehrten sich 3 auch auf der Nasenschleimhaut des Hamsters. Es traten jedoch bei diesem Tier keine ausgesprochenen Krankheitssymptome auf. Die Hamster waren am 3. oder 4. Tage nach der Impfung höchstens weniger munter als gewöhnlich und die Nasenschleimhaut war mehr oder weniger geschwollen. Die Anwesenheit des Virus auf der Nasenschleimhaut des Hamsters wurde einerseits durch Mäuse-Impfung, andererseits durch den Nachweis virusneutralisierender Antikörper im Blutserum festgestellt. Zur Übertragung von Hamster zu Hamster und vom Hamster auf die Maus verwendete DREGUSS stets die abgeschabte und fein zerriebene Nasenschleimhaut, während er von Maus zu Maus Lungenmaterial verimpfte. Nach einer oder nach mehreren Hamsterpassagen waren auf der Maus regelmäßig noch 2—4 blinde Übertragungen nötig, bis charakteristische Lungenläsionen auftraten. Zu analogen Ergebnissen kamen R. M. TAYLOR und A. S. PARODI, die an Stelle des von DREGUSS verwendeten *Cricetus cricetus* eine andere Hamsterart, nämlich *Cricetus auratus*, benutzten. Diese Autoren versuchten das Haften des Influenzavirus im Respirationstraktus des Hamsters zu erleichtern, indem sie die Tiere 2—3 Tage nach der unter Äthernarkose erfolgten Instillation der Rachenspülwässer erneut narkotisierten und ihnen 0,4 ccm physiologische Kochsalzlösung in die Nase träufelten. Auch in diesem Falle waren nach einer Hamsterpassage noch 3—4 blinde Mauspassagen erforderlich, bis makroskopisch sichtbare Lungenveränderungen auftraten. Es scheint, daß der Hamster das Frettchen als Brückenwirt ersetzen kann. Das wäre ein Vorteil, indem Hamster leichter zu beschaffen und billiger sind als Frettchen. Dagegen wird die Tatsache, daß der Hamster auf die Ansiedelung des Influenzavirus nicht mit deutlichen klinischen Symptomen reagiert, als Nachteil empfunden.

Verschiedene theoretische und praktische Beweggründe veranlassen uns, auf einen von WILSON SMITH und C. H. STUART-HARRIS erwähnten Spezialfall näher einzugehen. Anlässlich der Untersuchung von mit Influenzavirus infizierten Frettchen wurde STUART-HARRIS von einem Tier heftig angegriffen. Der betreffende Virusstamm war im Jahre 1933 isoliert und seither 196mal von Frettchen zu Frettchen übertragen worden. 45 Stunden nach dem Zwischenfall erkrankte STUART-HARRIS an typischer Influenza. Am folgenden Tage wurden Nasen-Rachen-Spülungen vorgenommen, das gewonnene Material mit Quarzsand im Mörser zerrieben, zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit intranasal auf ein Frettchen (1,0 ccm) und auf 6 weiße Mäuse (je 0,05 ccm) verimpft. Sowohl das Frettchen als auch die 6 Mäuse zeigten nach der üblichen Inkubationsfrist Symptome, welche für die Influenzainfektion der entsprechenden Spezies als typisch gelten. E. HAAGEN und G. MAUER deuten dieses Ergebnis als erfolgreiche direkte Übertragung des Influenzavirus vom Menschen auf die Maus. Die Richtigkeit dieser Auffassung kann angezweifelt werden. Der Tatbestand erlaubt weit eher den Schluß, daß einerseits 196 Frettchenpassagen keinen wesentlichen Verlust der Menschenpathogenität des betreffenden Virusstammes bedingten und

daß anderseits eine einzige Menschenpassage die durch die Frettchenpassagen angebaute Mäusepathogenität nicht beeinflusste. Auf die praktisch wichtige Möglichkeit, daß Influenzaepidemien von Laboratorien ausgehen könnten, in denen Influenzaversuche am Frettchen vorgenommen werden, haben bereits SMITH und STUART-HARRIS hingewiesen. Besondere Beachtung verdient in diesem Zusammenhang eine Beobachtung von E. HAAGEN und DU DSCHENG-HSING. Sie gewannen durch Rachenspülung von einem an leichter Influenza erkrankten Individuum sekrethaltige Flüssigkeit, mischten diese mit einer gleichen Menge Nährbouillon und filtrierten das Ganze durch Berkefeld V-Kerzen. Mit dem Filtrat wurden 4 Mäuse in Äthernarkose intranasal geimpft. Die Inokulationsdosis betrug 0,05 ccm. Von den so behandelten Mäusen machten 2 am 6. Tage nach der Instillation einen deutlich kranken, eine Maus einen nur leicht kranken Eindruck, während das vierte Versuchstier gesund erschien. Alle 4 Mäuse wurden getötet. Die beiden Tiere, welche schwer krank gewesen waren, wiesen teils am Hilus, teils in den Lungenspitzen Entzündungsprozesse auf. Bei den beiden anderen Mäusen ergab sich kein nennenswerter Lungenbefund. Diese Feststellung, die freilich eine Ausnahme darstellen dürfte, spricht gegen die Auffassung, daß das humane Influenzavirus bei den Mäusen der I. Passage keine Lungenveränderungen erzeugt. Im Laufe weiterer Übertragungen von Maus zu Maus registrierten HAAGEN und DSCHENG-HSING eine erhebliche Pathogenitätszunahme ihres Virusstammes, die sich darin äußerte, daß bei sämtlichen Tieren der III. Passage schwere entzündliche Prozesse in den Lungen bestanden. Vergleichende Untersuchungen mit einem bereits bekannten Influenzavirusstamm ergaben die vollständige Identität beider Stämme.

Gelegentlich hat die intranasale Verimpfung der Nasen-Rachen-Spülflüssigkeit von Influenzakranken und von Kontaktpersonen selbst beim hochempfänglichen Frettchen keine Symptome zur Folge. Das trifft besonders dann zu, wenn die Epidemien einen auffallend milden Charakter zeigen. Unter solchen Umständen läßt sich das Virus durch Lungenblindpassagen am Frettchen zur pathogenen Entfaltung bringen (FR. L. HORSFALL, R. G. HAHN und E. R. RICKARD).

Durch Lungenblindpassagen bzw. durch Nasen-Nasen-Blindpassagen konnte das Influenzavirus des Menschen auch an den Igel angepaßt werden. Nachdem C. H. ANDREWES, P. P. LAIDLAW und W. SMITH die Übertragung des humanen Influenzavirus auf das Frettchen und vom Frettchen auf die weiße Maus gelungen war, stellten sie fest, daß der Infektionsstoff, falls er von der weißen Maus auf den Igel verimpft wurde, im Körper dieser Tiere einige Zeit infektiös blieb, ohne Krankheitserscheinungen hervorzurufen. C. H. STUART-HARRIS (1) bestätigte diese Beobachtung. Er übertrug den Virusstamm „WS“, der vorher zuerst 166 Frettchen- und anschließend 81 Mauspassagen durchgemacht hatte, intranasal auf einen mit Äther narkotisierten Igel. *Obschon das Tier gesund blieb*, tötete er es am 4. Tage nach der Inokulation, stellte aus der Nase eine Suspension her, zentrifugierte diese und instillierte davon 0,25 ccm in die Nase eines zweiten Igels. In der Folge wurden in Abständen von 2, 3, 4, 6 und 14 Tagen weitere derartige Nasen-Nasen-Passagen vorgenommen. Erst der Igel der IV. Passage bekam einen leichten Schnupfen, ein Symptom, das im Laufe der anschließenden Serienübertragungen mit Ausnahme eines Falles nicht nur regelmäßig auftrat, sondern gelegentlich auch von Niesen begleitet war. Von der VIII. Passage an wurde der Effekt auch dann ausgelöst, wenn die Äthernarkose weggelassen wurde. Zu Kontrollzwecken wurden von jedem Igel Nasen- und Lungenemulsionen getrennt auf Mäuse verimpft. Das Virus war stets in beiden Organen vorhanden, sofern die Überimpfung vor dem 14. Tage nach der Inokulation des Igels aus-

geführt wurde. Nachdem das Virus einmal an den Organismus dieses Tieres adaptiert war, wurde es so pathogen, daß kranke Igel gesunde Tiere ansteckten.

b) Pneumotrope Mäusevira.

Anlässlich der serienweisen Übertragung des Virus des Common cold auf weiße Mäuse stießen A. R. DOCHEZ, K. C. MILLS und B. MULLIKEN auf einen neuen Ansteckungsstoff. Weiße Mäuse reagierten auf die intranasale Inokulation des Erkältungsvirus gewöhnlich gleichmäßig mit der Bildung ziemlich ausgedehnter blauroter (plum-colored) Verdichtungen der Lungen und etwa 10% der geimpften Tiere verendeten am 4. oder 5. Tag. Als diese Experimente in größerem Maße wiederholt werden sollten, kamen Versuchstiere aus einer neuen Bezugsquelle zur Verwendung. Von diesen gingen 80% nach der Impfung mit dem Virus der Erkältung an ausgedehnten Lungeninfiltrationen zugrunde. Als Ursache der plötzlichen Änderung wurde einerseits eine Pathogenitätssteigerung des infektiösen Materials, andererseits eine erhöhte Krankheitsbereitschaft des neuen Mäusestammes (Swiss mice) vermutet. Diese Annahmen erwiesen sich jedoch als irrig. Sichere, gegen das Virus der Erkältung gerichtete Immunsera schützten nicht gegen den neuen Krankheitsstoff. Die Autoren zogen daher die Möglichkeit der Aktivierung eines latent im Mäuseorganismus vorkommenden Agens in Erwägung und verschafften sich in dieser Beziehung Gewißheit, indem sie folgende Versuche ausführten: 50 anscheinend völlig gesunde Schweizermäuse wurden getötet und sezirt. Bei 5 Tieren fanden sich kleine verdichtete Herde in den Lungen und bei 12 Läsionen in der Größe eines Stecknadelkopfes. Suspensionen, welche aus den so veränderten oder aus *ganz normal aussehenden Lungen* zubereitet wurden, erzeugten nach intranasaler Einverleibung bei Mäusen vorerst nur sehr geringfügige Veränderungen. Durch fortgesetzte Passagen wurde aber die Pathogenität so gesteigert, daß der größte Teil der Tiere von der IV. Passage an innerhalb von 24—48 Stunden einging. Die verdichteten Bezirke der Lungen waren grau oder rotgrau verfärbt; mikroskopisch wurden ausgedehnte Zellinfiltrationen, an deren Bildung sich in der Hauptsache mononukleäre Zellen beteiligten, Blutextravasate und Ödem festgestellt. Das Agens passierte Berkefeld V-Filter und Kollodiummembranen. Mäuse erkrankten nur nach intranasaler Einverleibung; intracerebrale, subkutane und intraperitoneale Injektionen erwiesen sich als wirkungslos. Das von DOCHEZ, MILLS und MULLIKEN gefundene Virus war also in ausgesprochenem Maße an das Lungengewebe adaptiert. Frettchen erkrankten nach intranasal verabreichten infektiösen Lungensuspensionen an Fieber und gelegentlich auch an Atembeschwerden.

Eine ganz ähnliche Erkrankung provozierten F. B. GORDON, G. FREEMAN und J. M. CLAMPIT, indem sie weißen Mäusen von 5—10 g Körpergewicht *Rachenspülwässer von gesunden oder von kranken Personen, Bouillon oder Suspensionen von normalen Mäuselungen* in die Nase instillierten und in Abständen von 6 Tagen Lungen-Lungen-Passagen anlegten. Alle Versuchsreihen hatten nach 1—9 blinden Übertragungen Erfolg. Die Krankheit verlief in den Passagen höherer Ordnung stets tödlich. Berkefeld- und Seitzfiltrate waren ebenfalls pathogen. Influenza-Rekonvaleszentenserum schützte nicht gegen die Infektion.

F. L. HORSFALL jr. und R. G. HAHN isolierten mit der Methode der Blindpassagen aus Schweizermäusen ein anderes Pneumonievirus. Das erste Inokulationsgut bestand aus einer Suspension normaler Mäuselungen. Die Übertragungen fanden jeden 7. Tag statt. Lungenveränderungen traten während der III. Passage auf. Die Letalität betrug 24%. Das Virus passierte Berkefeld V- und N-Kerzen und Gradocolmembranen mit einem Porendurchmesser von 300 $\mu\mu$. Frettchen waren nicht empfänglich. Das Agens hatte keine immuno-

logischen Beziehungen zum Influenzavirus. Bei 17 Versuchen, das humane Influenzavirus direkt auf die Maus zu übertragen, stieß M. DRÉGUS dreimal auf einen mäusepathogenen Erreger, der mit dem von HORSFALL jr. und HAHN isolierten Agens identisch war.

K. HERZBERG und W. GROSS erzeugten durch Verimpfung von 12 menschlichen Rachenwaschwässern, die zum größeren Teil von Erkältungskranken, zum kleineren von Influenzapatienten stammten, in zwei Fällen durch nasale Instillation bei Mäusen eine übertragbare Pneumonie. In der Annahme, daß ein im Rachenspülwasser vorhandener, aber an die Maus nicht angepaßter Erreger im kranken Gewebe leichter haften würde als im gesunden, wurde dem Impfgut während den ersten Mauspassagen eine Normalöse einer *Pneumococcus mucosus*-Kultur hinzugefügt. Nach 2—4 Passagen wurden dann die Pneumokokken durch Filtration entfernt und nur noch das Filtrat weiterverimpft. *Ausgedehnte pneumonische Herde entstanden nach der V. bzw. nach der XII. Filtratpassage.* Im Verlaufe weiterer Übertragungen nahm die Pathogenität beider Stämme so zu, daß $\frac{3}{4}$ bis $\frac{4}{5}$ der nasal geimpften Mäuse zwischen dem 3. und 6. Tage schweren Pneumonien erlagen. Subcutane und intraperitoneale Infektionen machten die Mäuse nicht krank, führten aber zu einer soliden Immunität. Frettchen und Kaninchen waren für diese Erreger nicht empfänglich. Im Gegensatz zu humanen Influenzavirusstämmen konnten die Erreger durch Berkefeld V-Filter nur schwer filtriert werden. Ferner ließen sie sich in Glycerin-Tyrode-Lösung nur kurze Zeit konservieren. Die Mäusepathogenität wurde nur durch ununterbrochene Passagen auf der einmal erreichten Höhe erhalten. Gekreuzte Immunitätsversuche ergaben, daß es sich nicht um Influenzavirusstämme handelte. Die Stämme erhielten die Bezeichnungen „Ib“ und „VI“. In der Vielgestaltigkeit der Formen hatten die Erreger des Stammes „Ib“ große Ähnlichkeit mit dem Agens der Peripneumonie der Rinder [K. HERZBERG (2)]. Dieser filtrierbare Mikroorganismus konnte neuerdings auf erstarrtem Löffler Serum kultiviert werden [K. HERZBERG (3)]. Er hat daher mit den Virusarten nur noch eine wesentliche Eigenschaft, die Filtrierbarkeit, gemeinsam. W. O. GROSS (1) beschrieb kürzlich einen ähnlichen Erreger einer Mäusepneumonie, dem er die Bezeichnung „Schandau“ beilegte. Dieser passierte Berkefeld V-Filter ebenfalls nur schwer. Er ließ sich mikroskopisch darstellen und auf erstarrtem Löffler Serum züchten. Zwischen beiden Stämmen bestanden aber deutliche immunologische Unterschiede. In sehr lehrreichen Versuchen konnte W. O. GROSS (2) weiterhin zeigen, daß der Stamm „Ib“ zwei Komponenten umfaßte, von denen jede für sich allein bei der Maus eine Pneumonie hervorzurufen vermochte. Der eine Anteil erwies sich als identisch mit dem Erreger „Schandau“, das zweite Agens erhielt den Namen Erreger „Greifswald“. Dieser unterschied sich vom Mikroben „Schandau“ durch längere Haltbarkeit und schlechtere Ausschleuderbarkeit, er verhielt sich aber gleich hinsichtlich der Filtrierbarkeit. Die Züchtung auf unbelebten Nährmedien gelang bis jetzt noch nicht. Dagegen konnte K. HERZBERG (4) auch den Erreger „Greifswald“ mikroskopisch erfassen. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse kann nach W. O. GROSS (3) die Herkunft des seinerzeit isolierten Stammes „Ib“ bzw. seiner beiden Komponenten, des Erregers „Schandau“ und des Erregers „Greifswald“ aus den Mäusen selbst als erwiesen gelten.

Im Anschluß an diese Beobachtungen führt W. O. GROSS (4) aus, daß bei Lungen-Lungen-Passagen eines mäuse-eigenen Erregers ein hinzugefügtes Virus in der Lunge zum Haften gebracht werden könne und daß nachträglich eine Beseitigung des mäuse-eigenen Infektionsstoffes auf immunbiologischem Wege ohne Beeinträchtigung des zur Ansiedelung gebrachten Virus möglich sei. Er schlägt vor, diesen Umstand bei der Isolierung humaner Erreger durch Übertragung auf

die Maus zunutze zu ziehen. Dabei wären umfangreiche Kontrollen anzusetzen. Das Vorgehen wäre nach GROSS (4) trotzdem gerechtfertigt, weil dadurch nach seiner Auffassung ein nachfolgender Ursprungsnachweis des isolierten Agens, der in der Regel erhebliche Schwierigkeiten bereitet, entbehrt werden könnte.

Durch cerebrale Verimpfung des Pneumonie-Erregers „VI“ gelang es HERZBERG und GROSS, bei sehr jungen, zirka 8 g schweren Mäusen nach verschieden langer Inkubationszeit, eine tödliche Meningoencephalitis zu erzeugen und diese in 8 Passagen weiterzuführen. Das Hirn verstorbener Mäuse der II. und VII. Passage verursachte bei nasaler Inokulation wiederum Pneumonien. Intracerebral mit infektiösem Lungenmaterial geimpfte, erwachsene Mäuse erkrankten nicht, wurden aber gegen eine nachfolgende pulmonale Infektion immun. Hinsichtlich dieser Eigentümlichkeit ergeben sich gewisse, freilich nur lose Beziehungen zu dem von T. FRANCIS und P. MAGILL beschriebenen Virus der „akuten Meningopneumonitis“.

Während Versuchen, die zum Zwecke des Nachweises latenter Ektromelie-Infektionen bei von verschiedenen Händlern stammenden Mäusen angestellt wurden, entdeckte R. GÖNNERT (1) ein neues pneumotropes Mäusevirus. Mehrere gesunde Mäuse wurden getötet, die Lungen unter sterilen Kautelen herausgenommen und zu einer Suspension verarbeitet, welche auf intranasalem Wege zur Verimpfung kam. Nach 2—4 blinden Passagen erkrankten die Tiere an einer Bronchopneumonie, die sich in Serien unbeschränkt weiterübertragen ließ und durch eine graue Verfärbung der Lungen, besonders der hilusnahen Bezirke, gekennzeichnet war. In nach GIEMSA gefärbten Präparaten fand R. GÖNNERT (1) rotviolette Elementarkörperchen in großer Zahl, freiliegend und intracellulär, hauptsächlich in Leukocyten. Weiterhin ließen sich typische, in histiocytären Zellen gelegene Einschlüsse nachweisen, die große Ähnlichkeit mit denen bei Infektionen mit anderen Virusarten, besonders des Lymphogranuloma inguinale — welches nach R. SCHOEN auf nasalem Wege in der Mäuselunge zum Haften gebracht werden kann — und des Trachoms hatten. Die morphologische Übereinstimmung des Agens der Bronchopneumonie mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale geht sogar so weit, daß es nicht möglich ist, beide Virusarten in Lungentupfpräparaten voneinander zu unterscheiden. Die FREISCHE Reaktion mit einem Antigen aus Bronchopneumonievirus haltigem Material fiel positiv aus [R. GÖNNERT (2)]. Chemotherapeutisch wurde das Bronchopneumonievirus ebensogut von Sulfonamidpräparaten beeinflusst, wie das Virus des Lymphogranuloma inguinale. Der einzige Unterschied bestand nach R. GÖNNERT (2) bisher darin, daß sich das Bronchopneumonievirus im Gegensatz zum Agens des Lymphogranuloma inguinale im Gehirn von Mäusen nicht etablieren ließ. Aus dieser großen Ähnlichkeit der beiden Erreger ergibt sich die sehr wichtige Frage, ob sie miteinander identisch bzw. nahe verwandt sind oder nicht. Würden beide Virusarten identisch sein, so bedeutete das, daß ein menschenpathogenes Virus latent bei Mäusen vorkommt. Die Maus würde das Reservoir für das Lymphogranuloma inguinale-Virus darstellen. Andererseits erscheint auch die Frage berechtigt, ob es sich nicht unter Umständen bei den bisher als erfolgreich betrachteten Übertragungen des menschlichen Lymphogranuloma inguinale auf die Maus in Wirklichkeit um das beschriebene Bronchopneumonievirus handelt. In Anbetracht der offensichtlich großen Verbreitung dieses Infektionsstoffes bei der Maus ist jedenfalls mit einer derartigen Möglichkeit zu rechnen.

Das Bronchopneumonievirus blieb bei Aufbewahrung in Glycerinwasser in luftdicht abgeschlossenen Gefäßen 3 Monate infektiös. Durch Erhitzen auf 50° C wurde es binnen weniger Minuten abgetötet. Gegen tiefe Temperaturen erwies es sich als unempfindlich. Filtrationsversuche ergaben, daß Berkefeld V-

Filter glatt vom Bronchopneumovirus passiert werden, daß aber der größte Teil des Infektionsstoffes von Berkefeld N-Filtern zurückgehalten wird. Die Größe wird von R. GÖNNERT (3) auf etwa $200 \mu\mu$ geschätzt. Das Bronchopneumovirus ist ausgesprochen pneumotrop. Mäuse erkranken nur nach intranasaler Instillation. Im Herzblut, in der Leber, in der Milz und in der Niere schwerkranker Tiere ließ sich das Virus durch intranasale Weiterverimpfung nachweisen, nicht aber im Gehirn. Auf der Chorioallantois des Hühnerembryos verursacht es zahlreiche kleinste, herdförmig angeordnete, zum Teil konfluierende, weißliche Trübungen. Bis jetzt konnte es noch nach der X. Eihautpassage auf Mäuse zurückübertragen werden, dagegen wurden auf der Chorioallantois weder Elementarkörperchen noch Einschlüsse gebildet. Für Meerschweinchen und Igel ist das Bronchopneumovirus mäßig, für Hamster stärker pathogen. Kaninchen, Katzen und Kanarienvögel verhielten sich dagegen refraktär. Eigentümlicherweise kommt es im Blut von Mäusen und Meerschweinchen nach Infektion mit dem Agens der Bronchopneumonie nicht zur Bildung virusneutralisierender Antikörper. Das Virus verhält sich somit auch in dieser Beziehung gleich wie der Erreger des Lymphogranuloma inguinale [R. GÖNNERT (3)].

c) Pneumotrope Virusarten bei Frettchen, Meerschweinchen und Kaninchen.

Wir beschränken uns hier auf die Wiedergabe einiger merkwürdiger Beobachtungen von R. BIELING und L. OELRICHS. Während einer leichten Grippeepidemie, welche auch die Mitarbeiter BIELINGS befiel, erkrankten mehrere Frettchen. Eines wurde in extremis getötet. Bei der Autopsie fanden sich ausgedehnte Veränderungen in der Lunge, von der gleichen Art, wie sie bei der Übertragung der menschlichen Grippe auf das Frettchen beobachtet werden. Es wurde infolgedessen angenommen, daß eine Spontanübertragung menschlicher Grippe auf das Frettchen vorliege. Auffallend war, daß dieses Virus vom Frettchen sofort auf Mäuse übertragen werden konnte und bei diesen Tieren die gleichen Erscheinungen erzeugte wie ein schon seit längerer Zeit an Mäuse adaptierter englischer Influenzavirusstamm. Es wurden nun mit diesem und dem englischen Originalvirus Übertragungsversuche auf andere Tiere vorgenommen; die Verimpfung erfolgte durch den SHOPESCHEN Schnüffelversuch. Nach einigen Tagen wurden die Tiere getötet und *die Lunge, welche keine makroskopischen Veränderungen zeigte*, zermahlen und auf ein anderes Tier der gleichen Art übertragen. *Nach einigen Passagen* sah man sowohl beim Meerschweinchen wie beim Kaninchen das Auftreten einzelner hellroter, nicht vorgewölbter Verdichtungen, welche dem Bilde der typischen Mäuse- bzw. Schweineinfluenza entsprachen. Dadurch wurde der Anschein erweckt, als ob das Influenzavirus durch mehrfache Passage an den Organismus von Meerschweinchen und Kaninchen angepaßt worden wäre. Serologische Untersuchungen ergaben jedoch, daß dies nicht zutraf. Alle Passagen waren nämlich auf Mäuse rückübertragbar und konnten infolgedessen nach der Methode von LAIDLAW mit Immunsorum geprüft werden, das durch Vorbehandlung von Pferden mit dem englischen Grippestamm gewonnen worden war. Mäuse, welche Mischungen des halbverdünnten Serums mit den Passagestämmen in die Lunge eingebracht erhielten, erkrankten und gingen ein. Lediglich diejenigen Mäuse, welchen der originäre Grippevirusstamm oder dessen reine Mauspassage mit Immunsorum zusammen injiziert wurde, überlebten. Die pneumotropen Vira, welche BIELING und OELRICHS aus den Kaninchen und Meerschweinchen herausgeholt hatten, waren also vom Influenzavirus verschieden.

Ferner injizierten BIELING und OELRICHS Kaninchen keimfreie Grippevirusaufschwemmungen intracerebral. Nach 5 Tagen wurde das Gehirn in üblicher

Weise entnommen, zerrieben und auf neue Kaninchen verimpft. Nach 5 Hirnpassagen wurde bei einem Kaninchen, welches wie die vorangehenden Passagetierte keinerlei Symptome gezeigt hatte, bei der Sektion eine kleine Partie einer Lungenspitze induriert und gerötet gefunden. Dieser Lungenbezirk wurde herausgeschnitten, zu einer Suspension angerieben und im Schnüffelversuch auf Mäuse übertragen. Diese bekamen die bekannten Erscheinungen der Grippe. Das aus der Lunge des intracerebral infizierten Kaninchens gewonnene Agens war aber nicht mehr identisch mit dem Ausgangsvirus, während sich das Virus der III. Hirnpassage noch als identisch erwiesen hatte. Offenbar handelte es sich bei den relativ leichten Lungenveränderungen des Kaninchens der V. Hirnpassage um einen zufälligen Befund einer spontanen Kaninchenaffektion. Diese Feststellungen sind ein warnender Hinweis darauf, daß im Laufe mehrfacher Passagen bei Mäusen, Meerschweinchen und offenbar auch beim Frettchen spontan vorhandene, influenzaähnliche, aber von dem menschlichen Grippevirus verschiedene infektiöse Agentien aktiviert werden können.

d) Ektromelie.

Die Ektromelie (J. MARCHAL) ist eine bei Mäusen sehr verbreitete Krankheit, die vorwiegend bei jungen Tieren auftritt. Die charakteristischen Symptome sind Schwellung, Abschnürung und Verlust der Extremitäten. Eine Generalisation des Virus mit oder ohne Läsionen an den Pfoten, aber mit Veränderungen der inneren Organe, namentlich der Leber und Milz, führt fast immer in kurzer Zeit zum Tode. Die Generalisation tritt fast ausnahmslos dann ein, wenn infektiöses Material in großen Mengen subcutan oder intraperitoneal injiziert wird. Bei der auf natürlichem Wege erfolgenden Ansteckung ist der Krankheitsverlauf in der Regel viel milder. Ein großer Teil der spontan infizierten Tiere scheint überhaupt keine Krankheitserscheinungen aufzuweisen oder die Symptome sind so wenig bezeichnend, daß sie für die Diagnose einer Ektromelie nicht ausreichen. Tiere, die manchmal einen ungepflegten Eindruck machen, aber auch Mäuse, die sich von gesunden Individuen keineswegs unterscheiden lassen, können, wie W. KIKUTH und R. GÖNNERT gezeigt haben, den Erreger beherbergen. Als Ausgangsmaterial benützten sie Lungen von Mäusen, die mit Influenzavirus infiziert und kurz ante exitum getötet worden waren. Bei der Fortführung des Influenzavirus in Passagen untersuchten KIKUTH und GÖNNERT nach GIEMSA gefärbte Lungenausstrich- und Tupfpräparate. In den Lungen der XIX. Passage bemerkten sie cytoplasmatische Einschlüsse in großen einkernigen Zellen, fast ausschließlich in Zellen des respiratorischen und des Flimmerepithels. Die Einschlüsse färbten sich hellrotviolett und waren etwas heller als der Kern. Ihre Größe variierte von ganz kleinen körnigen Formen bis zu Gebilden in der Größe eines halben Kernes und darüber. Auch Gestalt und Struktur wechselten; es wurden Schuppen, Schollen, Borken und Fäden mit unscharfen Begrenzungen und nicht homogenem Inhalt gesehen. Im Plasma befallener Zellen befanden sich vielfach Vakuolen. Ob diese Einschlüsse schon in früheren Passagen aufgetreten waren, ließ sich nicht mehr eruieren, sie wurden aber von der XIX. Passage an regelmäßig nachgewiesen. Nachdem das Influenzavirus schon von den verschiedensten Autoren aufs Gründlichste untersucht worden war, ohne daß der Nachweis von Elementarkörperchen oder irgendwelchen intranucleären bzw. cytoplasmatischen Einschlüssen gelungen wäre, schien es unwahrscheinlich, daß diese Einschlüsse durch das Influenzavirus bedingt sein sollten. Der Gedanke einer Verunreinigung mit einem für Mäuse hochpathogenen Agens lag daher nahe. Da KIKUTH und GÖNNERT zur gleichen Zeit, zwar nicht in demselben Laboratorium, aber räumlich nicht weit davon entfernt, mit Ektromelievirus arbeiteten, vermuteten sie eine Kontamination mit

diesem Ansteckungsstoff. Es wurden deshalb 12 Mäuse mit dem suspekten Material intraplantar geimpft. Bei allen Tieren trat schon am 3. Tage die für Ektromelie typische Schwellung der behandelten Extremität auf. 6 Tiere erlagen der Krankheit am 4. Tage, 1 am 5., 3 am 6. Tage. Die restlichen beiden waren am 3. bzw. am 4. Tage getötet worden. Infolge des akuten Krankheitsverlaufes kam es nicht zur Abstoßung des erkrankten Gliedes und nur bei zwei Tieren konnte die Krankheit bis zur Gangrän fortschreiten. Die Autopsie ergab lediglich eine Leberschwellung. Vor allen Dingen wurden — bis auf eine leichte Lungenentzündung bei einer Maus — bei diesen an der Fußsole geimpften Tieren keine Lungenläsionen festgestellt. Symptomatologie und Krankheitsverlauf entsprachen vollkommen einer sehr akuten Ektromelie-Erkrankung nach plantarer Übertragung. In der serösen Flüssigkeit der Pfotenläsionen wurden Elementarkörperchen und Einschlüsse gefunden, welche mit den in den Lungen nachgewiesenen übereinstimmten. An Hand histologischer Präparate zeigten KIKUTH und GÖNNERT, daß die cytoplasmatischen Einschlüsse, mit den von MARCHAL beschriebenen, für die Ektromelie charakteristischen eosinophilen Einschlüssen identisch waren.

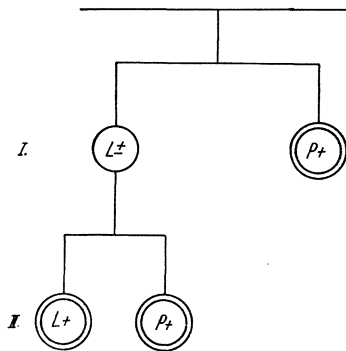


Abb. 5. Provokation der Ektromelie durch Blindpassagen (nach W. KIKUTH und R. GÖNNERT. Arch. Virusforsch. I, 295, 1940). Ausgangsmaterial: Lungen von 4 gesunden Mäusen. L = nasale Impfung; P = plantare Impfung; + = Ektromelie positiv; ± = Ektromelie zweifelhaft.

Die Übertragung des infektiösen Agens auf Frettchen verursachte bei diesen keine für die Influenza sprechenden Symptome. Es war daher wahrscheinlich, daß das Influenzavirus durch das Hinzutreten der Ektromelie verdrängt bzw. überwuchert worden war. Nach Instillationen großer Mengen bekannter Ektromeliestämme erkrankten Mäuse nach 2—3 Tagen und starben am 4. oder 5. Tage an den Zeichen einer Pneumonie. Makroskopisch boten die Lungen Veränderungen, die von den Läsionen, welche das Influenzavirus erzeugt, nur sehr schwer zu unterscheiden waren.

Nach KIKUTH und GÖNNERT sind auch FAIRBROTHER und HOYLE, LAIDLAW und ANDREWES beim Arbeiten mit Influenzamaterial auf Ektromelie-Infektionen gestoßen. KIKUTH und GÖNNERT verschafften sich nun Influenzavirusstämme aus verschiedenen Ländern. Bei der serienweisen Übertragung derselben kam es wiederholt zur Aktivierung latenter Ektromelie-Infektionen, und zwar so, daß das Influenzavirus verdrängt wurde. Das Virus der Ektromelie hat demnach eine besondere Affinität zur Lunge. Durch Reihenübertragungen von Lunge zu Lunge wird es bei latentem Vorhandensein vermöge seiner pneumotropen Eigenschaften sozusagen angereichert, so daß die Krankheit bereits nach wenigen Passagen manifest wird. Dabei verschwindet das Influenzavirus, offenbar, weil es weniger an den Mäuseorganismus angepaßt ist.

Schließlich erbrachten KIKUTH und GÖNNERT den direkten Beweis, daß 2 der 5 von ihnen benutzten Mäusestämme latent mit Ektromelie verseucht waren. 4 anscheinend gesunden Mäusen jeder Zucht wurde Lungen- und Pfotenmaterial entnommen, in der üblichen Weise präpariert und je 4 Mäusen intranasal instilliert und je 4 anderen Mäusen in die Fußsole injiziert. Über den Erfolg der Verimpfung der *Lungenaufschwemmung* orientiert die Abb. 5.

Von den 4 *plantar* geimpften Mäusen erkrankten 2 schon in der I. Passage an einer deutlichen, für Ektromelie sprechenden Schwellung der Pfote, welche bei einer Maus zur Abstoßung des Gliedes führte.

Bei den *intranasal* behandelten Tieren war der Erfolg der I. Passage zweifelhaft. Es wurde daher aus den Lungen dieser Mäuse eine Suspension angefertigt und intranasal und subcutan auf je 4 weitere Mäuse übertragen. Bei der II. Passage erkrankten sämtliche Tiere an den vorstehend geschilderten pneumonischen Erscheinungen, bzw. an charakteristischen Fußschwellungen. Nach GIEMSA gefärbte Ausstrichpräparate der Lungen zeigten zahlreiche Einschlüsse; nach HERZBERG gefärbte Pfortentupfpräparate Elementarkörperchen. Abb. 6 zeigt die Resultate der Übertragung des Pfortenmaterials. Die erste nasale Verimpfung verlief negativ. Lungen und Pfortentiere der II. Passage zeigten keine Symptome.

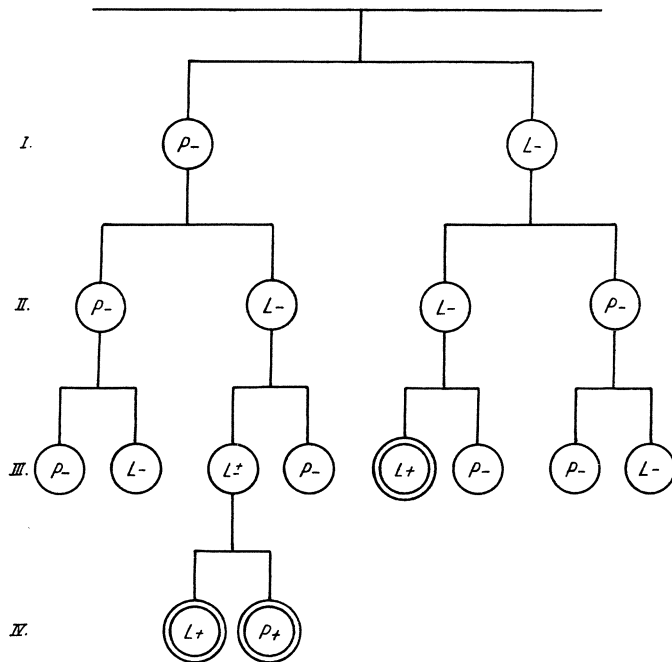


Abb. 6. Provokation der Ektromelie durch Blindpassagen (nach W. KIKUTH und R. GÖNNERT, Arch. Virusforsch. 1, 295, 1940). Ausgangsmaterial: Hinterpfoten von 4 gesunden Mäusen. L = nasale Impfung; P = plantare Impfung; + = Ektromelie positiv; ± = Ektromelie zweifelhaft; - = Ektromelie negativ.

In der III. Passage fanden sich in den Lungen der mit Lungensuspensionen infizierten Tiere Ektromelie-Einschlüsse, während die plantar geimpften Tiere noch nicht reagiert hatten.

Die *plantare* Verimpfung des Pfortenmaterials führte in der III. Passage bei einer Maus zu geringfügigen Lungenveränderungen. Diese Lungen wurden nun als Ausgangsmaterial für die IV. Passage benutzt, bei der sowohl in den Lungen als auch in den Pforten aller geimpften Individuen eine floride Ektromelie zum Durchbruch kam. Latente Ektromelie-Infektionen können demnach sowohl durch Verimpfung von Lungen- als auch durch Verimpfung von Pfortensuspensionen ermittelt werden. Neuerdings versuchte R. GÖNNERT (4) bei Mäusen auf plantarem Wege künstliche latente Ektromelie-Infektionen zu setzen, um die Möglichkeiten der Durchbrechung dieses Gleichgewichtszustandes zwischen Wirt und Parasit zu studieren. Dabei zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit des zeitlichen Verlaufes und der Schwere der Erkrankung von der Infektionsstärke. Es gelang ihm aber nicht, symptomlose Infektionen zu erzeugen. Wir haben daher keine

Veranlassung, auf diese Untersuchungen näher einzugehen, obschon sie in anderer Hinsicht recht wertvolle Aufschlüsse geben. Erwähnenswert ist jedoch die Tatsache, daß nasale und plantare Überimpfungen von Organen plantar infizierter Mäuse auf ektorneliefreie Tiere sowohl während der akuten Krankheit, wie auch im Stadium vorübergehender Besserung, mit wenigen Ausnahmen schon auf den ersten Anhieb erfolgreich waren.

4. Cutane Blindpassagen.

Unter dem Eindruck der Entdeckung des Virus III und im Anschluß an Versuche mit dem Virus der Maul- und Klauenseuche führten F. RUPPERT und W. COLLIER folgende merkwürdige Versuche aus: Sie injizierten Meerschweinchen je 0,1 ccm Pferdeserum intracutan in die Planta pedis. Der Effekt dieses Eingriffes war fast negativ, er überragte in keiner Weise die nach solchen Injektionen auftretenden Reizerscheinungen. Die Planta pedis wurde nach 24 Stunden exstirpiert und bis auf die Cutis fein abgeschabt. Der gewonnene Gewebsbrei wurde in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und auf neue Meerschweinchen übertragen. Die Passagen geschahen zuerst täglich, dann alle 2 und später alle 3 Tage. Im Verlaufe der fortgesetzten Übertragungen schwell die ganze Plantarfläche stark an, die Haut war gerötet und prall gespannt. Diese Reaktion hielt bei den Passagen höherer Ordnung zusehends länger an, dauerte oft eine Woche und dehnte sich bei einigen Meerschweinchen auch auf die nicht geimpfte Planta des anderen Fußes aus. In einigen Fällen war die Entzündung so stark, daß sich die Haut abblätterte, dagegen kam es nicht zur Bildung von Blasen. Die zerriebene Plantarfläche unbehandelter Meerschweinchen erzeugte, intracutan injiziert, keine Reaktion. Bakteriologische Nährböden, die mit dem Gewebsbrei beimpft wurden, blieben steril. RUPPERT und COLLIER ließen die aus den Pflanzen der erkrankten Meerschweinchen hergestellten Gewebsemulsionen durch Berkefeld N-Kerzen filtrieren und konnten die Impfkrankheit auch mit dem Filtrat hervorrufen. Die Autoren vertreten die Auffassung, daß sich im Laufe cutaner Blindpassagen im Organismus der Meerschweinchen ein übertragbares, entzündungserregendes Agens gebildet habe.

5. Intraperitoneale Blindpassagen.

In der Absicht, das Geheimnis der Ätiologie der Dermatitis polymorpha (BROCQ-DUHRING) zu enthüllen, verimpfte H. BEEUWKES den bakteriosterilen Blaseninhalt in Mengen von 0,1 ccm intracerebral auf 4 Meerschweinchen. Davon reagierten 2 mit einer Temperaturerhöhung und eines derselben ging am 8. Tage ein. Von den beiden übrigen Tieren blieb das eine völlig gesund, das andere verendete am 7. Tage, ohne krankhafte Erscheinungen gezeigt zu haben. *Blut, Gehirn, Leber und Milz* jenes Meerschweinchens, welches mit hohem Fieber reagiert hatte und am 8. Tage gestorben war, wurden unter den üblichen Kautelen intraperitoneal auf neue Tiere übertragen. Bei diesen stieg die Körpertemperatur nach einer Inkubation von 7—11 Tagen an. Bei der Obduktion getöteter oder spontan verendeter Tiere wurde nichts Abnormes gefunden. Die intraperitonealen Verimpfungen wurden aber trotzdem fortgesetzt. Von der III. Passage an zeigten sich bei einem Teil der Tiere paralumbale, umschriebene Blutungen im Peritoneum, kleine Haemorrhagien im Omentum und entzündliche Veränderungen der inguinalen Lymphdrüsen. Es wurden insgesamt 18 Passagen durchgeführt, wofür 119 Meerschweinchen verwendet wurden. Von diesen Tieren zeigten 52 während 3—4 Tagen eine Febris continua oder doch eine erhebliche Fieberzacke und 32 Meerschweinchen erlagen der experimentell induzierten Affektion. Nach den

Angaben von BEEUWKES waren Organemulsionen, welche Zeiß-Glasfilter passiert hatten, ebenfalls wirksam. Das Agens konnte durch Erwärmen auf 65 und 70° C innerhalb 15 Minuten und durch den Zusatz von 0,5% Formalin innerhalb einer halben Stunde inaktiviert werden. Neben der intraperitonealen waren auch die subcutane und die intracutane Impfung erfolgreich. Affen, Kaninchen und Mäuse reagierten nicht auf die Einverleibung des Krankheitsstoffes.

H. BEEUWKES vermutete nun, daß im Gefolge der experimentellen Eingriffe eine latente Virusinfektion des Meerschweinchens manifest geworden sei und versuchte diese Meinung durch folgende Experimente zur Gewißheit zu erhärten: Bei 40 unbehandelten Meerschweinchen wurden während 3 Wochen täglich Temperaturmessungen vorgenommen. Ein Tier zeigte eines Tages eine Temperaturerhöhung (39,6° C). Auf die Überimpfung des Gehirnes dieses Tieres reagierten gesunde Meerschweinchen gleichmäßig mit Fieber, einem Symptom, das durch fortgesetzte Passagen stets wieder erzeugt werden konnte. Weiterhin wurden 20 gesunden Meerschweinchen je 1,0 ccm *Bouillon* intraperitoneal injiziert. Bei 2 Tieren traten nach 11 bzw. 13 Tagen Temperatursteigerungen von 39,5 und 40,0° C auf. Übertragungen des Gehirnes eines dieser Tiere führten wiederum zu fieberhaften Erscheinungen. Schließlich wurde das Gehirn eines normalen Meerschweinchens zu einer Emulsion verarbeitet und 20 Tieren in die Bauchhöhle gespritzt. Nach einer Inkubation von 8—16 Tagen erkrankten 6 Meerschweinchen an Fieber. Von einem dieser Tiere ausgehend, legte BEEUWKES weitere Passagen an, indem er stets 0,5 ccm einer mit *Bouillon* zubereiteten *Hirnaufschwemmung intraperitoneal* injizierte. Von der IV. Passage an trat die fieberhafte Reaktion konstant auf und die Letalität betrug 29%. Die übrigen Eigenschaften dieses auf unspezifischem Wege aktivierten übertragbaren Agens waren völlig identisch mit den Qualitäten jenes Virus, das durch die Verimpfung des Inhalts von Dermatitisblasen beim Meerschweinchen erzeugt worden war. Obschon das beschriebene Krankheitsbild etwas vage anmutet, glaubt BEEUWKES annehmen zu dürfen, daß er auf unspezifischem Wege eine in ausgedehntem Maße bei Meerschweinchen latent vorkommende Virusinfektion aktiviert habe.

Das *Psittakosevirus* kann bekanntlich auf intraperitonealem, intravenösem, intracerebralem, subcutanem und intranasalem Wege, sowie durch Verfütterung auf Mäuse übertragen werden. Zum Virusnachweis hat sich nach E. HAAGEN vor allem die intraperitoneale Inokulation bewährt. Gewöhnlich erkrankten intraperitoneal geimpfte Mäuse nach 5—8 Tagen an Mattigkeit, Freßunlust und Durchfällen und gehen nach weiteren 2—3 Tagen zugrunde. Bei der Sektion findet man meistens eine starke Auftreibung der Dünndärme und ein mehr oder weniger klares, fadenziehendes Exsudat in der Peritonealhöhle. Leber und Milz sind in der Regel vergrößert und wie die übrigen Bauchorgane mit grauweißen, fibrinösen Belägen überzogen. Im Peritonealexsudat können die Elementarkörperchen nachgewiesen werden. Mitunter hat die Übertragung psittakosevirushaltigen Materials bei der Maus jedoch keine krankhaften Reaktionen zur Folge. In solchen Fällen kann das Virus durch 2—3 intraperitoneale Blindpassagen angereichert werden (E. HAAGEN, K. F. MEYER, K. F. MEYER und B. EDDIE). Gewöhnlich verimpft man Milzemulsionen in Abständen von 8—10 Tagen. Es soll aber auch möglich sein, wenig pathogene Psittakosevirusstämme durch die erste Verimpfung in die Bauchhöhle der Maus innert 20 Tagen so anzureichern, daß die nachfolgende cerebrale Übertragung von Milzemulsionen bei der Maus sofort zu pathologischen Erscheinungen führt (K. F. MEYER, B. EDDIE und H. Y. YANAMURA).

B. Die unspezifische Provokation manifester Virusinfektionen durch Einverleibung atoxischer oder oligotoxischer Stoffe.

1. Lymphocytäre Choriomeningitis.

Im Laufe der letzten Jahrzehnte wurde von Zeit zu Zeit über gutartige Meningitiden unbekannter Ätiologie Bericht erstattet, welche mit verschiedenen Namen, wie Meningitis serosa, akute aseptische Meningitis, akute benigne Lymphocytenmeningitis usw., belegt oder einfach nur als Meningealsyndrom, meningeale Reizzustände usw. bezeichnet wurden. Die erste umfassende Schilderung des Krankheitsbildes stammt von A. WALLGREN (1924). Von der Krankheit werden vorwiegend Kinder und jüngere Erwachsene befallen. Nach allgemeinen Prodromen von gewöhnlich kurzer Dauer beginnt sie plötzlich mit heftigen Kopfschmerzen, Erbrechen, mehr oder weniger ausgesprochener Benommenheit und Fieber mäßigen oder höheren Grades. Vollständige Bewußtlosigkeit ist sehr selten. Bei der Untersuchung stellt man in der Regel deutliche Nackensteifigkeit, mitunter ausgesprochenen Opisthotonus fest. Das KERNIGSche Zeichen ist positiv. Sonst treten etwa gelegentlich noch Pupillenträgheit, Anisokorie, eventuell Strabismus, selten Paresen des N. facialis in Erscheinung. Die Lumbalpunktion liefert gewöhnlich einen klaren bis trüben Liquor, der unter erhöhtem Druck steht und sich durch eine Erhöhung des Globulin- und Zellgehaltes auszeichnet. Die Zellzahl, welche mit der klinischen Schwere des Symptomenkomplexes übereinstimmt, schwankt zwischen 50 und etwa 2000 pro Kubikmillimeter und rekrutiert sich zur Hauptsache aus Lymphocyten; polymorphkernige Leukocyten und andere Formelemente bilden nur einen geringen prozentualen Anteil. Zucker- und Chloridwerte bleiben in normalen Grenzen. Gefärbte Ausstrichpräparate liefern keine Anhaltspunkte für das Bestehen einer bakteriellen oder parasitären Infektion. Durch Übertragung des Liquors auf gebräuchliche bakteriologische Nährmedien lassen sich keine Mikroorganismen kultivieren. Das Blutbild zeigt keine diagnostisch verwertbaren Veränderungen. Das Blut erweist sich als bakteriosteril. Der Verlauf der Affektion ist im allgemeinen durchaus gutartig. Todesfälle ereignen sich äußerst selten (H. TÉCOZ). Gewöhnlich geht die Krankheit innerhalb einiger Wochen in Heilung über, ohne bedenkliche Folgezustände zu hinterlassen. Diese benignen Meningitiden scheinen ziemlich häufig aufzutreten. Außer in den nordischen Ländern sind sie in Frankreich, Italien, Deutschland, in der Schweiz, in England, in den USA. usw. beobachtet worden. Als Krankheitsursache wurde schon früh ein Virus vermutet: WALLGREN verimpfte Patientenliquor ohne Erfolg auf Kaninchen, A. ECKSTEIN auf Affen. Das Ergebnis seiner Versuche war jedoch nicht eindeutig. Andere hegten den Verdacht, daß diese Krankheit durch das viel umstrittene „Ultravirus der Tuberkulose“ erzeugt werde, und wieder andere registrierten das Syndrom einfach als eine Sonderform der abortiven Poliomyelitis oder Encephalitis.

Inzwischen ist man auf Grund der Forschungen von CH. ARMSTRONG und R. D. LILLIE, THOMAS M. RIVERS und T. F. MACNAIR SCOTT, G. M. FINDLAY, N. S. ALCOCK und R. O. STERN u. a. über das Stadium der Vermutungen hinausgekommen, obschon sich unter der klinischen Einheit möglichenfalls, ja sogar wahrscheinlich eine ätiologische Vielheit verbirgt (RIVERS und SCOTT, FINDLAY und STERN, KREIS u. a.).

Das Ausgangsmaterial, welches ARMSTRONG und LILLIE benutzten, stammte von einer farbigen Frau C. G., welche im August 1933 in St. Louis während der daselbst herrschenden Encephalitisepidemie erkrankt und gestorben war. Sie verimpften das Gehirn dieser Frau auf Affen und legten mit dem isolierten Agens weitere Affenpassagen an. Zunächst traten bei den behandelten Tieren Symptome

auf, welche denen der von R. S. MUCKENFUSS, CH. ARMSTRONG und H. A. MAC CORDOCK beschriebenen experimentellen St. Louis-Encephalitis entsprachen. Auch die pathologisch-anatomischen Befunde stimmten mit den Veränderungen überein, welche das Virus der St. Louis-Encephalitis zu erzeugen pflegt. Bei der VIII. Passage änderte sich das Krankheitsbild plötzlich. Der in Frage stehende *Macacus rhesus* war etwa 1 Monat vorher 2mal erfolglos mit dem FREEMAN-Stamm der St. Louis-Encephalitis geimpft worden und reagierte nun auf die Inokulation des Stammes C. G. am 8. Tage mit Fieber, leichtem Zittern, langsamen, steifen Bewegungen und verweigerte das Futter. Im Liquor fanden sich 439 Zellen pro Kubikmillimeter, fast lauter Lymphocyten. Das Tier wurde noch im akuten Krankheitsstadium getötet und sein Gehirn intracerebral auf weitere Affen übertragen. Das infektiöse Agens ging auch bei diesen Tieren an und konnte durch fortgeführte Hirn-Hirn-Passagen erhalten werden. Nach einer Inkubation von 4—5 Tagen bekamen die Affen Fieber. Sie saßen mit vorgebeugtem Kopf und geschlossenen Augen im Käfig und machten einen trostlosen Eindruck. Falls sie gestört wurden, führten sie ganz langsame und steife Bewegungen aus. Gelegentlich bestand ein leichter Intentionstremor der Hände. Während der Fieberperiode fraßen die Tiere fast nichts und verloren daher an Gewicht. Gewöhnlich genasen sie; falls der Tod eintrat, sank die Körpertemperatur kurz vorher unter die Norm ab. Der Liquordruck war stets erhöht. Pro Kubikmillimeter Liquor wurden 150—1260 Zellen gezählt, fast ausschließlich Lymphocyten. Bei der Sektion erwies sich das Gehirn als ödematös und hyperämisch. Die histologische Untersuchung ergab eine geringgradige, perivascularäre, lymphocytäre Reaktion und herdförmige Gliawucherungen in der unmittelbaren Nachbarschaft der gewöhnlich haemorrhagisch-nekrotischen oder granulierenden Impfwunde und eine mehr oder weniger diffuse und regelmäßige Durchsetzung der Meningen mit Lymphocyten, hauptsächlich in den basalen Abschnitten, sowie Ödem und lymphocytäre Infiltration des Plexus chorioideus, gelegentlich auch eine Erweiterung der Ventrikel.

Außer Rhesus- konnten auch Cebus-Affen, weiße Mäuse, wilde Mäuse, Meer-schweinchen, nicht aber weiße Ratten und Kaninchen auf cerebralem Wege infiziert werden. Weiße Mäuse erkrankten in der Regel am 6. oder 7. Tage, gelegentlich auch erst am 10. oder 12. Tage nach der Impfung. Die Tiere saßen des öfteren abgesondert und mit gestäubtem Fell in einer Ecke des Käfigs, sahen aber manchmal auch völlig normal aus. Wenn man sie am Schwanz aufhob, reagierten sie mit einer Serie rascher, zitteriger, krampfhafter Bewegungen der Vorder- und Hinterbeine, welche oft in auffallende Krämpfe übergingen und einige Sekunden bis zu einer Minute und mehr anhielten. Dabei waren die Hinterbeine stark ausgestreckt und steif, wie auch der Schwanz, während die Vorderbeine gegen den Rumpf gepreßt wurden. Häufiger blieben aber die Vorderbeine vom Anfall verschont, so daß die Mäuse in der Lage waren, sich mit den vorderen Extremitäten herumzuschleppen. Die Wirbelsäule war stark ventralwärts gekrümmt. Bei männlichen Tieren wurden Erektionen und Ejakulationen beobachtet. Die Anfälle führten manchmal schon bei ihrem ersten Auftreten zum Tode, viele Tiere erholten sich aber wieder, um schließlich im Laufe von 1—3 Tagen doch einem Krampfanfall zum Opfer zu fallen.

Das Virus konnte durch Übertragung auf weiße Mäuse regelmäßig im Gehirn, Liquor und Blut, einmal auch im Urin infizierter Affen aufgefunden werden.

Die Gewebsveränderungen bei Mäusen bestanden im wesentlichen in einer mehr oder minder ausgedehnten Zellinfiltration der Hirnhäute, welche vornehmlich an der Hirnbasis ausgeprägt war und dem Verlaufe der Gefäße folgte. Diese Zellansammlungen bauten sich überwiegend aus Lymphocyten sowie aus einigen

Makrophagen und polymorphkernigen Leukocyten auf. Die Veränderungen im Plexus chorioideus waren nicht so deutlich wie beim Affen. Die eigentümliche Beschaffenheit der Gewebläsionen im Zentralnervensystem veranlaßte ARMSTRONG und LILLIE dazu, die neue Krankheit mit dem Namen „*lymphocytäre Choriomeningitis*“ zu belegen. Die Virusnatur des Ansteckungstoffes wurde durch die Übertragbarkeit des bakteriosterilen Impfgutes und die Filtrabilität sichergestellt. Vom Virus der St. Louis-Encephalitis unterscheidet sich das Agens der lymphocytären Choriomeningitis in folgenden wesentlichen Beziehungen (siehe Tabelle 1):

Tabelle 1.

St. Louis-Encephalitis		Lymphocytäre Choriomeningitis
	<i>Empfänglichkeit.</i>	
+	Rhesus-Affen	+
—	Cebus-Affen	+
+	Weißer Maus	+
—	Meerschweinchen	+
	<i>Inkubation.</i>	
8—14—21 Tage	Rhesus-Affen	4—5—8 Tage
5—6—8 Tage	Weißer Maus	6—10—12 Tage
	<i>Symptome.</i>	
Heftiger Intentionstremor	Rhesus-Affen	Geringer Intentionstremor
Reizbarkeit		Apathie
Freßlust erhalten		Freßunlust
Lähmungen		Langsame, steife Bewegungen
	<i>Virusnachweis während des febrilen Stadiums.</i>	
	Rhesus-Affen	
—	Blut	+
—	Liquor	+
	<i>Immunität.</i>	
Rekonvaleszenten nicht immun gegen das Virus der lymphocytären Choriomeningitis	Rhesus-Affen	Rekonvaleszenten nicht immun gegen St. Louis-Encephalitis-Virus

Über die Herkunft des Ansteckungstoffes waren ARMSTRONG und LILLIE zunächst im Zweifel. Es bestand einerseits die Möglichkeit einer Mischinfektion mit zwei Virusarten bei Frau C. G., andererseits konnte bei einem der verwendeten Affen eine latente Infektion mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis vorgelegen haben, die durch den künstlichen Eingriff aktiviert worden wäre. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß das Agens erstmals bei einem Affen in Erscheinung trat, der offensichtlich gegen das Virus der St. Louis-Encephalitis geschützt war. Gegen die Annahme einer latenten Infektion bei den Versuchstieren sprach der Ausfall immunologischer Studien. Die untersuchten, unvorbehandelten Affen waren in keinem Falle gegen die intracerebrale Inokulation mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis geschützt, wohingegen ein großer Teil der Tiere, welche die Impfkrankheit überstanden hatten, eine zweite Inokulation reaktionslos vertrug. Da die lymphocytäre Choriomeningitis bei Affen zur Entwicklung der Symptome nur 4—5—8 Tage beansprucht, während der St. Louis-Encephalitis eine Inkubation von 8—14—21 Tagen eigen ist, mußte auch die Möglichkeit einer Verdrängung des St. Louis-Encephalitisvirus durch den neuen Ansteckungstoff in Erwägung gezogen werden. In der Tat

ging nach simultaner Verimpfung beider Stämme das Virus der St. Louis-Encephalitis nach einigen Affenpassagen verloren. Bei Mäusen dagegen trat das Gegenteil ein; das Virus der lymphocytären Choriomeningitis wurde unterdrückt. Auf Grund dieses Sachverhaltes hielten es ARMSTRONG und LILLIE für wahrscheinlich, daß das Agens humanen Ursprungs sei. Später untersuchten CH. ARMSTRONG und J. G. WOOLEY die Sera von 44 unbehandelten Affen auf ihren Gehalt an neutralisierenden Antikörpern gegenüber dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis. 5 dieser Sera besaßen mäßige bis starke neutralisierende Eigenschaften. Andererseits reagierten 3 von 51 gesunden Affen nicht auf die auf verschiedene Art und Weise praktizierte Einverleibung des Choriomeningitisvirus. Darnach muß doch mit einer gewissen Quote von Spontaninfektionen bei Affen gerechnet werden. Das Agens ist aber auch mehrmals mit Sicherheit aus menschlichem Material gewonnen worden, so von ARMSTRONG und WOOLEY aus dem Gehirn, von FINDLAY, ALCOCK und STERN, RIVERS und SCOTT aus dem Liquor; außerdem wurden im Serum von Personen, welche benigne Lymphocytomeningitiden durchgemacht hatten, spezifische, virusneutralisierende Antikörper nachgewiesen (ARMSTRONG und WOOLEY, ARMSTRONG und DICKENS, FINDLAY, ALCOCK und STERN, SCOTT und RIVERS), wie auch im Serum von Personen ohne korrespondierende Anamnese (ARMSTRONG und WOOLEY, WOOLEY, ARMSTRONG und ONSTOTT u. a.). Die letzte Gruppe umfaßte sogar den größeren Teil der positiven Befunde. Man ist daher berechtigt anzunehmen, daß viele Fälle von lymphocytärer Choriomeningitis beim Menschen latent bzw. subklinisch verlaufen oder nur ganz geringfügige influenza-ähnliche Erscheinungen im Gefolge haben.

Im Anschluß an Versuche mit dem Virus der equinen Encephalomyelitis und mit Schweinecholera entdeckte E. TRAUB (1, 2) bei weißen Mäusen ein filtrierbares infektiöses Agens, das sowohl in Hinsicht auf seinen pathogenen Effekt als auch in serologischer Beziehung mit keiner der damals bekannten spontanen Viruskrankheiten der Mäuse verwandt schien. Da er in bezug auf den natürlichen Wirt im unklaren war, jedoch den Verdacht hegte, daß allenfalls die benutzten Mäuse latent infiziert gewesen sein könnten, spritzte er 60 fünf Wochen alten, gesund aussehenden Mäusen, welche aus der Zucht des Institutes stammten, „eine kleine Menge“ *steriler Bouillon* ins Gehirn. Während der Beobachtungsdauer von 3 Wochen blieben 51 Tiere gesund, 4 starben zwischen dem 3. und 13. Tage nach der Behandlung, 5 wurden, nachdem sie am 6. bzw. 8. Tage krank geworden waren, getötet. 2 davon hatten lediglich Zeichen von Photophobie gezeigt, bei den anderen waren Somnolenz, Zittern der Extremitäten und Krämpfe der Hinterbeine aufgetreten, welche letztere besonders zum Ausdruck kamen, wenn die Tiere am Schwanz aufgehoben wurden. Die gleichen Erscheinungen waren nach der Verimpfung des ursprünglichen Materials beobachtet worden. Aus dem Gehirn der eingegangenen oder im akuten Krankheitsstadium getöteten Mäuse wurden bakteriosterile Suspensionen angefertigt und auf Meerschweinchen verimpft. Auch diese zeigten Symptome, welche für die Infektion mit dem originären Agens typisch waren: Fieber, Abmagerung, Somnolenz, gelegentlich auch Speichelfluß und mühsames Atmen. Gegen intracerebrale Injektionen des isolierten Ansteckungsstoffes waren etwa 40% der unvorbehandelten Mäuse aus der fraglichen Zucht resistent. Aus dem vorliegenden Tatsachenbestand schloß TRAUB auf das Vorkommen einer natürlicherweise latent bzw. subklinisch verlaufenden Mäusekrankheit, die unter der Einwirkung bestimmter, aber unspezifischer Reize, wie der intracerebralen Injektion einer eiweißhaltigen Flüssigkeit, manifest wird. Die klinischen und histologischen Befunde stimmten derart mit der von ARMSTRONG und LILLIE geschilderten lymphocytären Choriomening-

itis überein, daß der Autor an die Identität seines Agens mit diesem Virus dachte, eine Annahme, die später sowohl von ARMSTRONG und DICKENS, RIVERS und MACNAIR SCOTT als auch von TRAUB selbst auf der Grundlage gekreuzter Neutralisationsversuche bestätigt wurde. Seither ist der Nachweis der Existenz latenter Infektionen mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis verschiedenen Autoren gelungen, so ARMSTRONG und WOOLEY, FINDLAY, ALCOCK und STERN, P. LÉPINE und V. SAUTTER.

Im Herbst 1934 erhielt FINDLAY aus den Imperial Cancer Research Laboratories eine Maus, welche an eigenartigen nervösen Erscheinungen erkrankt war. Dieses Tier, Träger eines Impftumors, war mit *Radium* behandelt worden. Er vermutete, daß die Radiumbehandlung entweder selbst eine Schädigung des Zentralnervensystems bewirkt oder durch Schaffung eines *Locus minoris resistentiae* im Gehirn ein infektiöses Agens zur pathogenen Entfaltung gebracht habe. Die zweite Variante erwies sich als richtig; denn mit dem Gehirn dieser Maus cerebral infizierte Mäuse verendeten nach 6—8 Tagen an den typischen nervösen Zeichen der lymphocytären Choriomeningitis. Im Anschluß an diese Versuche erbrachten FINDLAY und seine Mitarbeiter den Nachweis latenter Infektionen mit diesem Virus bei anscheinend gesunden Tieren. Sie kauften von fünf Händlern je eine Gruppe von Mäusen und spritzten ihnen das Virus der lymphocytären Choriomeningitis in das Gehirn ein. Die Tiere aus 4 Bezugsquellen waren empfänglich und erkrankten. Von 12 Tieren, welche vom fünften Lieferanten stammten, waren 5 immun. Darnach injizierten sie 12 weiteren Mäusen aus dieser Zucht *Stärkelösung* ins Gehirn. Diese Behandlung führte bei 4 Tieren zur Entwicklung typischer lymphocytärer Choriomeningitis.

LÉPINE und SAUTTER benutzten *Serum von Masernkranken* als Injektionsgut. Auf die intracerebrale Injektion reagierte eine Anzahl weißer Mäuse, welche das Institut Pasteur von verschiedenen Lieferanten bezogen hatte, mit Erscheinungen und histologischen Läsionen, welche der lymphocytären Choriomeningitis eigen sind. Mäuse anderer Herkunft, welche in gleicher Weise behandelt wurden, blieben gesund. Andererseits wurden bei nicht geimpften Tieren, welche aus der gleichen Quelle stammten wie die zuerst benutzten, analoge, wenn auch weit weniger schwerwiegende Gewebsveränderungen festgestellt. Nach Anwendung gewisser Kunstgriffe, die aber leider nicht näher beschrieben werden, wurde schließlich ein Virus isoliert, das sich bei Mäusen in fortgesetzten Hirn-Hirn-Passagen übertragen ließ und mit den bekannten angelsächsischen Stämmen der lymphocytären Choriomeningitis immunologisch nahe verwandt, ja möglichenfalls sogar identisch war.

Der Verlauf der spontanen Krankheit der Mäuse wurde von TRAUB eingehend studiert. Die Symptome sind im allgemeinen recht geringfügig und nichts weniger als pathognomonisch. Es fiel lediglich eine Anzahl von 2—6 Wochen alten Tieren des verseuchten Bestandes durch ungepflegtes Aussehen, Abmagerung, Somnolenz und steife Bewegungen auf. Im Gegensatz dazu stehen die schweren und charakteristischen Erscheinungen nach experimentellen Übertragungen, die vor allem nach intracerebralen Impfungen gesetzmäßig auftreten, während sie nach intranasalen Instillationen selten und nach intraperitonealen und intravenösen Injektionen nicht so konstant und typisch sind, obschon die Infektion auch in diesen Fällen haftet. Die lymphocytäre Choriomeningitis der Mäuse ist vor allem eine Jungtierseuche. Das Virusträger- und -ausscheidertum ist von außerordentlich langer Dauer. Das Agens findet sich in großen Mengen im Blut und wird durch das Nasensekret und den Urin an die Außenwelt abgegeben. Nach den Untersuchungen von TRAUB wird die Infektion in der frühesten Jugend auf nasalem Wege erworben, es bestehen aber auch Anhalts-

punkte für das Vorkommen der intrauterinen, bzw. der germinalen Übertragung. Wir haben es hier mit einem Virus zu tun, welches an den Organismus der Maus weitgehend angepaßt ist. Dieses Gast-Wirt-Verhältnis bleibt unter natürlichen Bedingungen lange Zeit bestehen, kann aber durch bestimmte unspezifische Eingriffe am Wirt gestört werden.

Um die ätiologische Bedeutung muriner Choriomeningitisstämme für die humane Pathologie abzuklären, spritzten P. LÉPINE, P. MOLLARET und B. KREIS virulente Aufschwemmungen von Mäusehirn unter die Haut von Versuchspersonen. Nach einer Inkubation von 36 Stunden bis 3 Tagen trat eine febrile Störung auf, die gewöhnlich in 2—3 Schüben verlief und in einigen Fällen bis zu 3 Wochen dauerte. Die Temperaturerhöhung war von einem leichten, grippeähnlichen Zustand bis mäßiger Abgeschlagenheit begleitet. Bei einem Impfling stellte sich eine diffuse Bronchitis ein. Im Laufe des letzten Fieberanfalles entwickelte sich bei der Hälfte der Versuchspersonen ein meningeales Syndrom: Kopfschmerzen, Erbrechen, positives KERNIGSches Zeichen, Zellvermehrung im Liquor (vorwiegend Lymphocyten neben vereinzelt großen mononucleären Zellen), welches nach 2—3 Tagen wieder zu schwinden begann. Das Virus konnte durch Mäuse- und Meerschweinchenversuche sowohl im Blute als auch im Liquor der Kranken gefunden werden; ferner gelang die Übertragung der febrilen Affektion von Mensch zu Mensch durch intramuskuläre Injektion von Patientenblut.

2. Rolling disease.

Die Rollkrankheit der weißen Mäuse, eine in mannigfacher Hinsicht merkwürdige infektiöse Affektion, wurde erstmals im Jahre 1933 von G. M. FINDLAY, EMMY KLIENEGER, F. O. MACCALLUM und R. D. MACKENZIE beobachtet und im Jahre 1938 von diesen Autoren wie auch von A. SABIN beschrieben. Nach intracerebralen Injektionen eines wohlbekannten neurotrophen Gelbfiebervirusstammes entwickelte sich bei weißen Mäusen plötzlich ein Krankheitsbild, welches mit der Symptomatologie des experimentellen Gelbfiebers nicht die geringste Ähnlichkeit hatte. Die Tiere fingen an, sich seitwärts zu rollen. Von diesem hervorstechendsten Zeichen hat die Krankheit ihren Namen erhalten. Vorerst konnten aus dem Gehirn kranker Individuen weder unter aeroben, noch unter anaeroben Bedingungen Bakterien irgendwelcher Art gezüchtet werden, obschon nach GIEMSA gefärbte Hirnstriche neben zahlreichen polymorphkernigen Leucocyten vereinzelte winzige Granula erkennen ließen, welche etwas größer als Vaccinekörperchen waren. Diese Körnchen passierten Seitzfilter nicht. Das Agens konnte durch fortgesetzte Hirn-Hirn-Passagen während 8 Monaten auf Mäusen erhalten werden, ging dann aber infolge bakterieller Verunreinigungen zugrunde.

Im Jahre 1937 sahen FINDLAY, KLIENEGER, MACCALLUM und MACKENZIE dieselbe Krankheit zum zweiten Male auftreten, und zwar diesmal nicht nach intracerebralen Injektionen von neurotrophem Gelbfiebervirus, sondern nach Infektionen mit dem Stamm „S“ der lymphocytären Choriomeningitis. Aus dem Gehirn spontan erkrankter Mäuse stellten sie mit physiologischer Kochsalzlösung Suspensionen im Verhältnis 1:5 her und injizierten je 0,03 ccm davon in das Gehirn gesunder Tiere. 48 Stunden später erkrankten diese, sie wurden unruhig und sträubten das Fell. Einige führten um den Schwanz herum, als fixe Achse, kreisende Bewegungen aus. Das außerordentlich charakteristische seitliche Rollen wurde nur bei etwa 10% der infizierten Individuen beobachtet. Dasselbe trat teils spontan auf, konnte aber teils auch durch Reize irgendwelcher Art hervorgerufen werden. Dabei kam es zu 12—50 Umdrehungen hintereinander: Ähnliche Rollbewegungen sollen nach W. ZWICK hier und da bei Ratten

und Mäusen beobachtet werden, welche mit dem argentinischen Virus der Encephalomyelitis der Pferde intracerebral geimpft werden. Die Tiere gingen gewöhnlich 24 Stunden nach dem Auftreten des Rollsymptoms zugrunde. Von der Gesamtzahl der inokulierten Mäuse starben 75% im Laufe von 2—7 Tagen. Die Hälfte von den restlichen 25% bekam 8—14—21 Tage nach der Impfung Symptome von akutem Hydrocephalus, an welchen sie in der Regel nach 8—10 Tagen eingingen.

Zum Zwecke der pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchungen wurden infizierte Mäuse in verschiedenen Zeitabständen nach der Inokulation getötet. Die ersten Hirnveränderungen bestanden in einer leukocytären Reaktion um den Stichkanal. Von da aus breitete sich die Entzündung auf die unteren Abschnitte der Seitenventrikel, den Plexus chorioideus und in geringerem Maße auch auf die Hirnhäute aus. Bei Tieren, die getötet wurden, nachdem das Krankheitsbild voll ausgeprägt war, fand sich im Gehirn ein massives Leukocyteninfiltrat, das den Eindruck eines akuten Abszesses erweckte und sich von den Vorderlappen über die Seitenventrikel bis in den 3. und 4. Ventrikel hinein erstreckte. Das Mittelohr war stets frei von anatomisch und histologisch erfaßbaren Veränderungen. Die Fälle von akutem Hydrocephalus zeichneten sich durch eine gleichmäßige und beträchtliche Erweiterung der Seitenventrikel und eine Reduktion der Hirnrinde auf eine dünne Schicht aus. Im Raume der Seitenventrikel wurden in der Regel wenig zellige Elemente festgestellt, wohingegen der 4. Ventrikel durch massenhafte Zellansammlungen bisweilen völlig blockiert erschien. Die Meningen enthielten kleine herdförmige Infiltrate, an deren Aufbau sich vorwiegend polymorphkernige Leukocyten, aber auch Lymphocyten und Monocyten beteiligten.

Die Musterung von Hirnschnitten und -ausstrichen, die nach den gewöhnlichen Färbeverfahren behandelt worden waren, ergab keine Mikroorganismen, dagegen entdeckten die Autoren in nach GIEMSA gefärbten Ausstrichpräparaten wiederum die eingangs erwähnten Granula, welche teils intracellulär in polynucleären Leukocyten und Monocyten, teils extracellulär gelagert waren. Nachdem zahlreiche Versuche, das übertragbare Agens auf gebräuchlichen bakteriologischen Nährböden zu kultivieren, fehlgeschlagen hatten, konnte schließlich EMMY KLIENEBERGER aus dem Gehirn kranker Mäuse auf einem zur Züchtung des Erregers der Pleuropneumonie angefertigten Spezialnährmedium [E. KLIENEBERGER: J. Hyg. Camb. 38, 458 (1938)] einen pleuropneumonie-ähnlichen Mikroorganismus isolieren, den sie als L 5 bezeichnete. Nach intracerebralen Injektionen flüssiger Bouillonkulturen von L 5 stellten sich jedoch bei Mäusen keine Symptome ein, obschon L 5 selbst 21 Tage nach der Inokulation wieder aus dem Gehirn gezüchtet werden konnte. Andererseits wurde L 5 nur im Gehirn solcher Mäuse gefunden, welche mit dem Rolling-disease-Material geimpft worden waren, nicht aber bei Tieren, die mit neurotropem Gelbfiebervirus oder dem Virus des Lymphogranuloma inguinale infiziert oder überhaupt nicht vorbehandelt waren. Endlich wurde die ätiologische Beziehung von L 5 zur Rolling disease durch folgende aufschlußreiche Experimente abgeklärt: FINDLAY, KLIENEBERGER, MACCALLUM und MACKENZIE mischten eine L 5-Kultur mit dem Stamm „S“ des Virus der lymphocytären Choriomeningitis und erzeugten durch intracerebrale Inokulation dieser Bakterien-Virussuspension bei weißen Mäusen einen Symptomenkomplex, der mit dem Krankheitsbild der Rolling disease identisch war. Sie erzielten das gleiche Ergebnis, wenn sie an Stelle des Stammes „S“ andere Stämme der lymphocytären Choriomeningitis oder neurotropes Gelbfiebervirus oder das Virus der klimatischen Bubonen benutzten. Andererseits lieferten Versuche, bei welchen L 5 durch andere pleuropneumonie-ähnliche Organismen (L3

und L 4) ersetzt wurde, im Verein mit dem Stamm „S“ der lymphocytären Choriomeningitis negative Resultate. Dem Mikroben L 5 darf daher bei der Rolling disease eine spezifische ätiologische Rolle zugeschrieben werden. Diese Annahme wird auch durch den Ausfall der Immunitätsversuche gestützt. Mäuse, welche eine Infektion mit L 5 überstanden hatten, erwiesen sich als immun gegen eine nachfolgende intracerebrale Impfung mit dem originären Agens der Rollkrankheit und umgekehrt. Dabei ist in Erwägung zu ziehen, daß der Infektionsstoff der Rolling disease auch nach zahlreichen Hirnpassagen noch immer aus zwei Komponenten, nämlich aus dem mikrobiellen Faktor L 5 und aus dem Virusstamm „S“ der lymphocytären Choriomeningitis zusammengesetzt war (FINDLAY und Mitarbeiter). Das Überstehen der Rollkrankheit schützte aber auffallenderweise nicht gegen eine intracerebrale Injektion des Stammes „S“ der lymphocytären Choriomeningitis, obschon sich Mäuse sonst verhältnismäßig leicht gegen Choriomeningitis immunisieren lassen.

Die Deutung der von den zitierten Forschern erhobenen Befunde ist nicht leicht. In erster Linie denkt man naturgemäß an Relationen zu den „ätiologischen Assoziationen“. Der Tatsachenbestand ist kurz gefaßt folgender: Ein an und für sich unter Einhaltung des intracerebralen Infektionsweges für Mäuse apathogener pleuropneumonie-ähnlicher Keim wird in Gegenwart bestimmter Virusarten (neurotropes Gelbfiebervirus, verschiedene Stämme des Virus der lymphocytären Choriomeningitis, Virus des Lymphogranuloma inguinale) hochpathogen. Umgekehrt tritt die krankmachende Wirkung der von Haus aus pathogenen Virusarten weder klinisch noch histologisch in Erscheinung. *Bei der Überführung des apathogenen Organismus L 5 in das hochwirksame Agens der Rolling disease spielen die bezeichneten Virusarten insofern eine unspezifische Rolle, als sie sich gegenseitig vertreten können*, obschon sie zueinander nicht in engeren verwandtschaftlichen Beziehungen stehen. Übrigens ist zur Entfaltung des pathogenen Effekts von L 5 nicht einmal ein zusätzliches infektiöses Agens erforderlich, gelang doch FINDLAY und seinen Mitarbeitern der Nachweis, daß sich die gleiche Wirkung durch Zusatz von Agar zu Bouillonkulturen von L 5 erzeugen läßt. Die Rollkrankheit der Mäuse ist daher auch nicht auf eine gekuppelte Infektion zurückzuführen, wenn man den Begriff der ätiologischen Assoziation nicht derart erweitern will, daß darunter die heterogensten Phänomene verstanden werden können. Ein solches Bedürfnis besteht auch gar nicht mehr, nachdem L 5 durch intracerebrale Blindpassagen allmählich eine solche Pathogenitätssteigerung erfuhr, daß der pleuropneumonie-ähnliche Erreger nunmehr ohne Beihilfe anderer Infektionsstoffe oder indifferenter Substanzen den kompletten Symptomenkomplex der Rolling disease hervorzurufen vermag. Die zweite Feststellung, nämlich die Unterdrückung der Pathogenität des Virus der lymphocytären Choriomeningitis, eines neurotrophen Gelbfiebervirusstammes und des Virus des Lymphogranuloma inguinale durch die gleichzeitige Anwesenheit und pathogene Entfaltung von L 5 ist wohl von größtem Interesse, aber zur Zeit experimentell noch nicht so begründet, daß daraus weitgehende Schlüsse gezogen werden könnten. Immerhin mögen gewisse lose Beziehungen zum „Konkurrenzphänomen“ von MAGRASSI (F. MAGRASSI, R. DOERR und S. SEIDENBERG), wie auch zum „Interferenzphänomen“ von HOSKINS (M. HOSKINS, G. M. FINDLAY und F. O. MACCALLUM) bestehen. Das MAGRASSISCHE Phänomen äußert sich im wesentlichen in der gegenseitigen Annullierung zweier homologer Effekte hinsichtlich ihrer klinischen Auswirkung, das Interferenzphänomen zeigt sich in einem ähnlichen antagonistischen Effekt zweier homologer oder heterologer Infektionen. Bei der Rolling disease beeinflussen sich zwei heterologe Infekte, wobei nur die Wirkung der einen Komponente annulliert wird, während die andere eine

Pathogenitätssteigerung erfährt. Auf der anderen Seite ist jedoch auch die Möglichkeit der erworbenen Resistenzhöhung gegenüber bestimmten Virusinfektionen durch den heterologen Infekt mit L 5 nicht von der Hand zu weisen.

3. Encephalitis postvaccinalis.

Über die Pathogenese der Encephalitis postvaccinalis scheinen zur Zeit zwei Anschauungen vorzuherrschen: Die einen Autoren nehmen an, daß das Vaccinevirus als Krankheitsursache in Betracht gezogen werden müsse; andere Forscher stellen sich auf den Standpunkt, daß durch die Pockenschutzimpfung irgendein im Organismus des Impflings schlummerndes neurotropes Virus aktiviert werde. Nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse dürfte die erste Theorie mehr Anhänger zählen als die zweite, ist es doch mehrmals gelungen, Vaccinevirus aus dem Gehirn von Kindern zu isolieren, welche an Encephalitis postvaccinalis gestorben waren. Die Encephalitis postvaccinalis ist eine seltene Krankheit. Ihr Zustandekommen dürfte daher zweifellos an besondere prädisponierende Umstände gebunden sein, von denen die aktuelle Stoffwechsellage des Impflings einer der wichtigeren sein mag. Bekanntlich kommt es im Darm bei bestimmten Resorptions- und Ausscheidungsstörungen unter der Mitwirkung von Bakterien zu einem gesteigerten Eiweißzerfall, wobei schädliche Umsetzungsprodukte in den Kreislauf gelangen, welche, falls sie in der Leber nicht oder nicht hinreichend entgiftet werden, schließlich zu mehr oder minder deutlichen Autointoxikationserscheinungen führen. Einer dieser Stoffe ist das Guanidin, dessen Blutspiegel nach den Angaben erfahrener Pädiater bei einzelnen Formen von Säuglingsdurchfällen und von Tetanie erhöht sein kann.

Unter diesen Auspizien versuchte J. D. VERLINDE (1) die mögliche prädisponierende Rolle des Guanidins bei der Pathogenese der Encephalitis postvaccinalis experimentell zu begründen. Als Versuchstiere dienten Hunde, in der Meinung, daß diese Tiere für den angestrebten Zweck besonders geeignet seien, weil bei Hunden im Verlaufe von Staupe-Erkrankungen spontane Virusencephaliden vorkommen (W. GEIGER u. a.). Pockenlymphe wurde in die rasierte und scarifizierte Haut eingerieben. Dann wurden den Hunden 50—100 mg Guanidin pro Kilogramm Körpergewicht eingespritzt. Nichtvaccinierte Kontrolltiere ertrugen derartige Mengen von Guanidin ohne Nachteil, doch magerten sie während der Dauer des Versuches ab. Nach den Angaben von J. D. VERLINDE kommt es bei Hunden erst dann zu Vergiftungserscheinungen mit cerebralen Symptomen, wenn sie 250 mg Guanidin pro Kilogramm Körpergewicht erhalten (Guanidinecephalitis). Die Versuchstiere erkrankten nach einer Inkubation von durchschnittlich 11 Tagen an nervösen Erscheinungen: Opisthotonus, Somnolenz, Ataxie, Überempfindlichkeit gegen taktile Reize. Einzelne Tiere bekamen epileptiforme Anfälle und das BABINSKISCHE Zeichen wurde positiv.

Die histologischen Untersuchungen des Gehirns dieser Hunde ergaben ähnliche Veränderungen, wie sie im Gehirn von Kindern, die an Encephalitis postvaccinalis gestorben sind, gefunden werden. Die Unterschiede waren quantitativer Natur. Demyelinisation wurde nur in geringem Grade festgestellt und die Gliareaktion war, obschon stark, nicht so typisch. Die perivascularären Infiltrate, die beim Menschen sehr ausgedehnt sind, beschränken sich beim Hunde auf 1—2 Zellreihen.

VERLINDE weist in diesem Zusammenhange darauf hin, daß bei allen Formen der Encephalitis des Hundes die klinischen Erscheinungen mehr erwarten lassen, als die pathologischen und histologischen Befunde ergeben. Er schließt aus seinen Experimenten, die unseres Erachtens in mehr als einer Hinsicht ergänzungsbedürftig sind, daß das bei Hunden erzeugte Krankheitsbild als Encephalitis

post vaccinationem gedeutet werden dürfe. VERLINDE (2) konnte weiterhin zeigen, daß cutan vaccinierte Hunde an encephalitischen Erscheinungen erkranken, wenn man ihnen täglich 2,0 ccm eines bakterienfreien Extrakts aus faulendem Fleisch oder aus dem Darminhalt und aus dem Darmgewebe von Hunden pro Kilogramm Körpergewicht subcutan injiziert. Ein ähnliches Verfahren hatte bei cutan vaccinierten Affen Erfolg, wobei jeden Tag 5,0 ccm eines bakteriosterilen Extrakts aus dem Darminhalt und der Darmwand von Affen unter die Haut gespritzt wurden. Nicht geimpfte Hunde und Affen vertrugen subcutane Injektionen der erwähnten als Provokantien benutzten Extrakte gewöhnlich, ohne Schaden zu nehmen, nur der Auszug aus faulendem Fleisch verursachte Abmagerung und andere Zeichen mäßiger Giftwirkung.

4. Poliomyelitis.

Als sicherste Methode, um bei Affen eine Poliomyelitis hervorzurufen, gilt die intracerebrale Injektion infektiösen Materials. Auch von der Nase aus geht die Infektion ziemlich leicht an. Weniger erfolgreich sind intraperitoneale, subcutane und intravenöse Einspritzungen. Die Krankheit entwickelt sich dann gewöhnlich nur, wenn entweder sehr große Virusmengen oder mittlere und relativ kleine Virusdosen unter Anwendung besonderer Kunstgriffe einverleibt werden. Solche Verfahren sind von S. FLEXNER und H. L. AMOSS erprobt worden. Diese Forscher zeigten, daß sich Affen wesentlich leichter mit dem Virus der Poliomyelitis infizieren lassen, wenn am Tage vor der intravenösen, der intranasalen oder der subcutanen Infektion eine unspezifische Reizung des Zentralnervensystems, insbesondere der Meningen durch intraspinale Injektionen harmloser Flüssigkeiten vorgenommen wird. Als zweckmäßig erwiesen sich *Normalpferdeserum*, *Normalaffenserum*, *physiologische Kochsalzlösung*, *Ringerlösung*, *Lockelösung*, *Lockelösung mit 0,5% Gelatine*, *homologer Liquor*, wohingegen die intraspinale Injektion des autologen Liquors oder die bloße Lumbalpunktion unwirksam waren. Die Injektionsdosis betrug jeweils 2,0 ccm. Infolge derartiger Eingriffe kommt es zu geringfügigen entzündlichen Reaktionen im Zentralnervensystem und in den Meningen, welche offenbar genügen, um die im Blute kreisenden Viruselemente in den nervösen Erfolgsorganen zu „fixieren“, wohingegen einer möglichen Aufhebung oder Lockerung der hypothetischen Blut-Hirnschranken ein geringerer Einfluß zuzuschreiben wäre. Die unspezifische Reizung schafft einen *Locus minoris resistentiae*, welcher die Ansiedlung eines pathogenen, vermehrungsfähigen Stoffes begünstigt. Nach R. DOERR (5) nimmt die intravenöse Infektiosität neurotroper Virusarten in dem Maße ab, als ihre exquisite Neurotropie zunimmt. Es scheint daher verständlich, daß die Infektion der nervösen Zentren mit dem Poliomyelitisvirus, welches neben dem Neurotropismus anscheinend keine anderen Tropismen hat, nur schwer gelingt.

W. J. NUNGESTER berichtet, daß sich das Infektionsvermögen des Poliomyelitisvirus für weiße Mäuse steigern läßt, wenn man an Stelle von physiologischer Kochsalzlösung 5%ige Mucin-Kochsals-Lösung zur Herstellung der Virus-suspensionen benutzt. Bei einem Teil der mit je 1,0 ccm derartiger Virus-Mucin-Gemische intraperitoneal infizierten Mäuse kam es zu Krankheitserscheinungen, die entweder in einer deutlichen Schwäche der Hinterbeine oder in Lähmungen bestanden und öfters auch zum Tode führten. Die Versuche wurden mit verschiedenen Poliomyelitisvirusstämmen ausgeführt. Einer dieser Stämme war dadurch ausgezeichnet, daß auch Aufschwemmungen, die nur mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurden, Mäuse töteten. In 3 von 7 Versuchsreihen ist es NUNGESTER angeblich gelungen, das Virus in mehreren aufeinanderfolgenden Mäusepassagen fortzuführen. Histologische Untersuchungen

des Mäuserückenmarkes ergaben Anhaltspunkte für das Bestehen entzündlicher Veränderungen. Mäuse vertrugen die intraperitoneale Injektion von 5%igen Mucin-Kochsalz-Lösungen oder von Aufschwemmungen normalen Hunderückenmarkes in 5%iger Mucin-Kochsalz-Lösung ohne jegliche Reaktion.

J. A. TOOMEY und K. R. PHELPS bestätigten, daß die Pathogenität des Poliomyelitisvirus für weiße Mäuse durch den Zusatz von Mucin erhöht werden kann. Nach intraperitonealen Injektionen gingen 40% der Mäuse ein. Aber auch nach der Anwendung von Aufschwemmungen normalen Rückenmarkes in 5%iger Mucinlösung verendeten 13% der Versuchstiere.

Im Gegensatz von NUNGESTER, TOOMEY und PHELPS erzielte M. BRODIE keine Steigerung der Infektiosität des Poliomyelitisvirus für weiße Mäuse, wenn er die Virusemulsionen mit Mucin herstellte. Desgleichen gelang es ihm nicht, durch Blockade des reticuloendothelialen Systems mittels intravenöser Injektion von Thoriumdioxyd (Thorotrast) bei Kaninchen und Mäusen oder durch Hypophysectomie bei Ratten die natürliche Resistenz dieser Tiere gegenüber dem Poliomyelitisvirus so herabzusetzen, daß die Infektion anging.

F. J. DURAN-REYNALS [C. r. Soc. Biol. 99, 6 (1928) und J. exp. Med. (Am.) 50, 327 (1929)] zeigte, daß Hodenextrakte (*Spreading Factor*) die Ausdehnung der durch Vaccinevirus verursachten Veränderungen beim Kaninchen zu steigern vermögen, und D. C. HOFFMAN und F. J. DURAN-REYNALS [J. exp. Med. (Am.) 53, 43 (1931)] erbrachten den Nachweis, daß derartige Zusätze bei Infektionen mit Herpesvirus, mit dem Virus der Vesicularstomatitis und der BORNASCHEN Krankheit ähnliche Effekte ausüben. W. MACDOWELL HAMMON bestätigte diese Befunde hinsichtlich der herpetischen Infektion und stellte fest, daß sich der pathogene Effekt des Virus der lymphocytären Choriomeningitis durch Hodenextrakte erhöhen läßt, dagegen ergaben Versuche, das Haften des Poliomyelitisvirus im Organismus der Baumwollratte durch Anwendung des „*Spreading Factors*“ zu erleichtern, völlig negative Resultate (HAMMON, S. D. KRAMER, W. N. MACK und A. T. HIMES).

Nach Beobachtungen von W. MACDOWELL HAMMON und E. M. IZUMI wird die Mäuse- und wahrscheinlich auch die Affenpathogenität des von C. ARMSTRONG (1) an Baumwollratten und weiße Mäuse angepaßten „*Lansing*“-Poliomyelitisvirusstammes erheblich gesteigert, wenn man das infektiöse Agens in einem Medium mit *niedriger Wasserstoffionenkonzentration* suspendiert. Sonst gleiche Virusaufschwemmungen erwiesen sich, intracerebral einverleibt, bei einem pH-Wert der Suspension von 4,0 etwa 4—16mal wirksamer als Suspensionen vom üblichen pH-Wert von 7,0. Der Mechanismus dieser interessanten Erscheinung ist noch nicht genügend abgeklärt.

J. A. TOOMEY fand in den Faeces von Affen, welche mit Poliomyelitisvirus infiziert waren, während des paralytischen Stadiums toxische Substanzen, die vor dem Auftreten der Lähmungen nicht vorhanden gewesen waren. Mit dem Vorkommen dieser Stoffe in den Faeces synchron nahm der Agglutinintiter des Blutserums gegenüber verschiedenen im Darm parasitierenden Mikroorganismen deutlich zu. TOOMEY legte sich daher die Frage vor, ob die Zerstörung der Nervenzellen bei der Poliomyelitis nicht auf einer kombinierten Wirkung des Poliomyelitisvirus und der durch die verschiedenen Darmschmarotzer gebildeten Toxine beruhe. Er isolierte 23 verschiedene Stämme von Darmorganismen, züchtete sie in 0,5%iger Zuckerbouillon und gewann nach 10 Tagen die Toxine. Affen, die mit einem Gemisch aus virushaltiger Organemulsion und derartigen Enterotoxinen intracerebral geimpft wurden, *erkrankten wesentlich früher* an Lähmungen als Affen, welche nur eine intracerebrale Injektion des in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten virushaltigen Organbreies erhalten

hatten. Intracerebrale Injektionen von Enterotoxin allein wurden von Makaken reaktionslos ertragen.

Gestützt auf diese Ergebnisse, versuchten J. A. TOOMEY und W. S. TAKACS (2) den Poliomyelitisvirusstamm „Flexner M. V.“ an Baumwollratten anzupassen. Diese Experimente sind deshalb besonders bemerkenswert, weil sie eine seltsame *Kombination des Verfahrens der Blindpassagen mit der unspezifischen Provokation durch Einverleibung oligotoxischer Substanzen* darstellen. Als Injektionsgut dienten 10%ige Virusaufschwemmungen in Enterotoxin. Damit wurden 10 Baumwollratten intracerebral geimpft. 3 Tiere überlebten, 2 starben im Anschluß an die Injektion, 2 weitere gingen am 69. Tage zugrunde. Die restlichen 3 Tiere bekamen ein gesträubtes Fell, verloren an Gewicht und verendeten am 9. bzw. am 12. und am 18. Tage. Gehirn und Rückenmark dieser 3 Tiere wurden wiederum zu Suspensionen verarbeitet, mit Enterotoxin versetzt und weiteren 5 Baumwollratten intracerebral injiziert. Von dieser Serie starb 1 Tier am 11. Tage, jedoch ohne Lähmungen gezeigt zu haben. Die III. Passage wurde in gleicher Weise durch Verimpfung des Gehirns und Rückenmarkes dieser Baumwollratte auf 5 neue Versuchstiere vorgenommen. Davon erkrankte wiederum nur ein einziges Tier. Um die Haftung und die pathogene Entfaltung des Poliomyelitisvirus zu befördern, injizierten die Autoren nun jeden 3. Tag nach der intracerebralen Virus-Enterotoxin-Injektion 4mal je 0,5 ccm des Virus-Enterotoxin-Gemisches subcutan. Nach dieser Behandlung gingen alle 5 Tiere der IV. Passage ein. Bei der V. Passage beschränkten sich TOOMEY und TAKACS (2) wiederum auf eine intracerebrale Injektion des Virus-Enterotoxin-Gemisches. 4 von 5 Baumwollratten bekamen Lähmungen. Im Verlaufe weiterer Passagen traten stets Lähmungen auf. Bei der VII. Passage wurde das Enterotoxin durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Die beiden geimpften Baumwollratten erkrankten an Lähmungen, die Inkubation war aber im Vergleich zu den Versuchen mit Virus-Enterotoxin-Gemischen verlängert. Insgesamt wurden 9 Passagen durchgeführt. Von der VI. Passage an nahm die Impfkrankheit regelmäßig einen tödlichen Verlauf. Übertragungen des Baumwollrattenvirus der VII. und IX. Passage führten bei Affen zu charakteristischen poliomyelitischen Erscheinungen.

Ermutigt durch diese Ergebnisse machten J. A. TOOMEY und W. S. TAKACS (3) erneute Anstrengungen, die Anpassung des Poliomyelitisvirusstammes „Flexner M. V.“ an den Organismus der Baumwollratte zu erzwingen. Sie injizierten 10 Versuchstieren je 0,06 ccm einer 10%igen Aufschwemmung von infiziertem Affenrückenmark in Enterotoxin intracerebral, 0,06 ccm intranasal und 0,5 ccm subcutan. Alle Tiere gingen zwischen dem 16. und 30. Tage nach dieser energischen Behandlung ein, ohne Lähmungen gezeigt zu haben. Gehirn und Rückenmark der Baumwollratte, die am 16. Tage nach der Inokulation verendet war, dienten als Impfgut für die II. Passage. 3 Tiere wurden wiederum in der angegebenen Weise infiziert. Sie erlagen der Infektion zwischen dem 42. und 46. Tage. Gehirn und Rückenmark dieser 3 Baumwollratten wurden zu einer einzigen Aufschwemmung verarbeitet. Für die III. Passage benutzten TOOMEY und TAKACS (3) ebenfalls 3 Tiere; sie verabreichten diesen aber nicht nur je 0,06 ccm der Virusaufschwemmung intracerebral, 0,06 ccm intranasal und 0,5 ccm subcutan, sondern außerdem noch 1,0 ccm intraperitoneal. Der Organismus dieser Tiere wurde also geradezu mit Virus überschwemmt. Zwei starben am 3., eines am 5. Tage. Sie hatten zunehmenden Kräftezerfall, aber keine Lähmungen gezeigt. Bei der IV. Passage wurde eine 20%ige Suspension der Rückenmarksubstanz der Tiere der III. Passage in gleicher Weise 3 Baumwollratten eingespritzt. Der Tod trat am 2. bzw. am 3. und 5. Tage ein. Nur die letzten beiden Tiere waren vor dem Exitus sehr hilflos gewesen. Aus ihrem

Rückenmark wurde das Impfgut für die V. Passage zubereitet. Zur Abwechslung kam diesmal eine 10%ige Aufschwemmung in Kochsalzlösung bei 2 Tieren zur Anwendung. Das eine erkrankte am 6. Tage an Lähmungen, während das andere nur Zeichen allgemeiner Schwäche aufwies. Von der VI. Passage an traten regelmäßig Lähmungen auf. In analoger Weise konnten TOOMEY und TAKACS (3) einen weiteren Poliomyelitisvirusstamm, nämlich „Flexners Philadelphia“-Stamm, an Baumwollratten adaptieren. Rückübertragungen von „Flexners M. V.“-Stamm von der Baumwollratte auf Affen führten zu Quadriplegien. Dagegen bot die neuerliche Verimpfung von Affen auf Baumwollratten insofern Schwierigkeiten, als 2—3 hintereinanderfolgende intracerebrale Übertragungen von Baumwollratte zu Baumwollratte nötig waren, bis bei diesem Tier wiederum Lähmungen in Erscheinung traten [J. A. TOOMEY und W. S. TAKACS (4)]. Serologische Prüfungen lieferten Anhaltspunkte dafür, daß der an Baumwollratten angepaßte Stamm „Flexner M. V.“ noch immer ein echtes Poliomyelitisvirus ist [TOOMEY und TAKACS (4)].

Versuche von S. D. KRAMER, W. N. MACK und A. T. HIMES, die Anpassung von 7 Stämmen des Poliomyelitisvirus an Baumwollratten und weiße Mäuse durch rasch aufeinanderfolgende Blindpassagen, durch mechanische Reizung des Zentralnervensystems oder durch intracerebrale Injektionen von 0,2 ccm einer 2%igen Stärkelösung, durch periodische Reinokulationen, durch die Erzeugung von künstlichem Fieber oder durch starke Abkühlung zu erzwingen, schlugen fehl. Dergleichen erwiesen sich junge Tiere nicht als empfänglicher als ausgewachsene Baumwollratten.

5. BORNASche Krankheit.

Nach den Angaben von W. ZWICK, W. ZWICK, O. SEIFRIED und J. WITTE u. a. läßt sich die BORNASche Krankheit gewöhnlich nicht auf cutanem Wege auf Kaninchen übertragen. Trotz intensiver Scarifikation der Haut und energischen Einreibens virushaltiger Gehirnemulsionen erkrankten die Impftiere nicht. Gestützt auf die Erfahrungen von S. FLEXNER und H. L. AMOSS, wonach der Ausbruch der experimentellen Affenpoliomyelitis nach intravenösen, nasalen oder subcutanen Virusinjektionen durch eine unspezifische, simultane Reizung des Zentralnervensystems begünstigt wird, injizierten sie den Versuchstieren im Zeitpunkt der cutanen Impfung mit BORNA-Virus, sowohl intracerebral als auch intraspinal *Normalkaninchenserum*, *Normalpferdeserum* oder *physiologische Kochsalzlösung*. Als Kontrollen dienten Kaninchen, welche entweder lediglich mit den unspezifischen Substanzen behandelt oder nur mit dem BORNA-Virus cutan geimpft wurden.

Cutan mit dem Virus der BORNASchen Krankheit geimpfte Kaninchen erkrankten bei gleichzeitiger intracerebraler oder intraspinaler Injektion von physiologischer Kochsalzlösung in einem hohen Prozentsatz. Von 7 so behandelten Tieren verendeten 5 an den Zeichen der BORNASchen Krankheit. Wurde für die Reizung Pferdeserum verwandt, so haftete die Infektion bei cerebraler Reizung regelmäßig. Auch mit homologem Serum gelang der Versuch in 1 von 2 Fällen. Im Anschluß an die intraspinale Reizung mit Normalpferdeserum erkrankten die Kaninchen nicht, während die Infektion nach der intraspinalen Anwendung von physiologischer Kochsalzlösung in 2 von 3 Versuchen erfolgreich war. Das Krankheitsbild und die histologischen Veränderungen entsprachen im wesentlichen den Symptomen und geweblichen Läsionen, welche bei intracerebral mit dem BORNA-Virus geimpften Kaninchen festgestellt werden. Daß es sich tatsächlich um die BORNASche Krankheit handelte, wurde überdies in mehreren Fällen durch Passageimpfungen bestätigt. Die Kontrolltiere erkrankten nicht.

6. Ektromelie.

Auch die Ektromelie der Mäuse kann durch Injektionen an und für sich harmloser Flüssigkeiten erzeugt werden. G. HORNUS und P. THIBAUT entnahmen einem Patienten, der an einer unklaren, fieberhaften Affektion litt, zur Zeit des Fastigiums Blut und injizierten es in Mengen von je 0,5 ccm 8 Mäusen in die Bauchhöhle. 7 Tage später erkrankte ein Tier. Dasselbe wurde getötet. Milz und Leber dienten zur Zubereitung einer Organemulsion, welche in Dosen von je 0,5 ccm intraperitoneal auf eine Reihe von 4 Mäusen verimpft wurde. Diese Tiere gingen am dritten Tage ein. Das Herzblut war bakteriosteril. Die peritoneale Übertragung keimfreier Lebersuspensionen führte regelmäßig zum Tode der Mäuse. Das Agens passierte Filterkerzen der Porengröße L 1. In analoger Weise gelang die Provokation der Ektromelie durch intraperitoneale Injektion des Blutes eines zweiten Patienten. HORNUS und THIBAUT halten es für unwahrscheinlich, daß das Virus der Ektromelie aus dem Blute der beiden Patienten stammen könnte, glauben aber auch die Existenz einer latenten Infektion bei den benutzten Versuchstieren auf Grund des ausgezeichneten Gesundheitszustandes, der die Norm nicht überschreitenden Spontansterblichkeit und der hohen Empfänglichkeit für die künstliche Infektion mit Ektromelievirus verneinen zu müssen, sehen aber in ihren Beobachtungen eine gewisse Stütze der Theorie der endogenen Virusentstehung.

7. Influenza.

Bis heute liegen nur wenige Untersuchungen vor, welche uns darüber informieren, in welcher Weise die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Vermehrung des Influenzavirus in der Lunge der Maus, die Ausdehnung der Lungenläsionen und der Zeitpunkt des Todesintrittes von der Infektionsdosis abhängig sind. A. A. SMORODINTSEFF und S. M. OSTROVSKAYA [J. Path. and Bacter. 44, 559 (1937)] stellten fest, daß die maximale Viruskonzentration zwischen 24 und 48 Stunden nach der intranasalen Verimpfung letaler Dosen erreicht wird, obschon in diesem Zeitpunkt makroskopische Lungenveränderungen noch völlig fehlen. Gestützt auf diese Mitteilung führte R. M. TAYLOR intranasale Infektionen mit subletalen Dosen aus und ermittelte nach verschiedenen Intervallen den Virusgehalt der Lungen und den Grad der Lungenläsionen. Zu diesem Zwecke benutzte er den Influenzavirusstamm „PR 8“, der bis dahin bereits 333 Mauspassagen durchgemacht und dabei allmählich eine hohe und konstante Mäusepathogenität an den Tag gelegt hatte. Zur Verimpfung kamen Aufschwemmungen, die im Instillationsvolumen von 0,05 ccm rechnungsgemäß $\frac{1}{10}$ —300 000 M. L. D. oder mehr enthielten. Die infizierten Mäuse wurden in verschiedenen Zeitabständen getötet, um ihre Lungen auf den Virusgehalt prüfen zu können. Dabei ergab sich folgendes:

1. Nach der Verabreichung hoher Virusdosen erreichte der Virusgehalt der Lungen sein Maximum innerhalb von 24 Stunden.
2. Obschon der Anstieg des Virustiters nach der Einverleibung kleinerer Virusmengen während den ersten 24 Stunden verhältnismäßig größer war, wurde der maximale Virusgehalt nicht vor Ablauf von 48 Stunden erreicht.
3. In jedem Fall wurde aber der höchste Virustiter vor dem Auftreten makroskopischer Lungenveränderungen festgestellt.
4. Nach der Instillation einer letalen Dosis erreichte der Virusgehalt den Wert von $\log + 7$ M. L. D. und blieb ungefähr auf dieser Höhe bis zum Eintritt des Todes.
5. Nach der Einträufelung subletaler Mengen stieg der Titer höchstens auf den Wert von $\log + 4,9$ M. L. D. an. Die Lunge eines solchen Tieres enthielt

48 Stunden nach der Infektion genügend Virus, um damit 76000 Mäuse zu töten und trotzdem blieb es am Leben.

Nachdem nun TAYLOR über die Abhängigkeit der Geschwindigkeit und des Ausmaßes der Virusvermehrung in der Mäuselunge von der Infektionsdosis Bescheid wußte, prüfte er den Einfluß harmloser steriler Flüssigkeiten auf den Ablauf von Infektionen mit subletalen Virusmengen. Er instillierte Mäusen 0,06 M. L. D. in einem Volumen von 0,05 ccm in die Nase und träufelte den Tieren am 1., 2., 3., 4., 5., 7. und 10. Tage nach der Infektion je 0,05 ccm einer 10%igen Lösung von *Normalpferdeserum in Bouillon* in die Nase ein. Von den Tieren, die am 1. und 2. Tage nach der Übertragung des Influenzavirus dieser Nachbehandlung unterzogen worden waren, starb nur ein kleiner Teil. Dagegen erreichte die Zahl der Todesfälle bei jener Versuchsreihe, die am 4. Tage nach der Infektion intranasal Pferdeserum erhalten hatte, 90%. Spätere Nachbehandlungen waren wieder weniger erfolgreich und am 10. Tage nach der Virusinstillation übte die Einträufelung von Pferdeserum überhaupt keinen Einfluß mehr aus. Die Lungen der verendeten Mäuse wiesen alle Zeichen einer Influenza-Infektion auf. Titrations ergaben 24 Stunden nach der Einverleibung von Pferdeserum einen beträchtlichen Anstieg des Virusgehaltes der Lungen. Im Anschluß an diese Versuche infizierte TAYLOR weitere Mäuse intranasal mit 0,06 M. L. D. in 0,05 ccm Flüssigkeit und träufelte ihnen 4 Tage später 0,05 ccm *steriles, destilliertes Wasser*, 0,425-, 0,85- und 1,7%ige *Kochsalzlösung*, 10%ige Lösung von *Normalziegenserum* und 10%ige Lösung des Serums einer Ziege, die gegen Influenza immunisiert worden war, in die Nase. Die mit Ziegenantiserum behandelten Tiere blieben am Leben. Alle übrigen Flüssigkeiten erwiesen sich als höchst wirksame Provokantien. Der Virusgehalt der Lungen nahm erheblich zu und ein sehr großer Teil der Versuchstiere erlag der Infektion und zeigte bei der Obduktion, wie auch bei der histopathologischen Untersuchung die für die Influenza-Infektion der Maus charakteristischen Veränderungen.

8. Marmorlungenkrankheit der Maus.

K. HEINZMANN träufelte narkotisierten Mäusen *Serum von Masernkranken und von gesunden Menschen* in die Nase und sah bei einem Teil der Versuchstiere Krankheitssymptome auftreten, wie Mattigkeit, Bewegungsarmut, flache, stoßweise und frequente Atmung. Charakteristisch war der schleichende, subakute Verlauf der Krankheit. Bei der Sektion wurde eine eiterige Bronchitis festgestellt, die vom Hilus aus auf das Lungengewebe übergegriffen hatte. In den Lungen saßen zahlreiche, scharfbegrenzte, rotbraune oder bleigraue, unregelmäßige Herde, die dem Organ ein marmorartiges Aussehen verliehen. Die Lungenränder waren oft gebläht und infolgedessen grünlich und durchsichtig. Histologisch handelte es sich um eine schwere eitrig Bronchitis mit streckenweiser Ulceration der Epithelien, wechselnder entzündlicher Infiltration der Bronchialwand selbst und einer unmittelbar übergreifenden Entzündung auf das angrenzende Lungengewebe. Daneben bestand eine kleinherdige Bronchopneumonie mit vorwiegend leukocytärem, fibrinarmem Exsudat. Die Zellen der Alveolarwand waren größtenteils etwas geschwollen. In Ausstrich- und Tupfpräparaten fand HEINZMANN massenhaft extracellulär und intracellulär gelagerte Gebilde, welche Elementarkörperchen glichen. Sie waren etwas größer als die von R. GÖNNERT (1, 2) bei der Mäusebronchopneumonie gefundenen Elementarkörperchen. Filtrationsversuche mit Berkefeld V-Kerzen und Gradocollmembranen verliefen bisher negativ. Das Agens war nach intranasaler Verimpfung auch für Ratten pathogen, dagegen gelang weder die Übertragung auf Affen, Kaninchen, Meerschweinchen, Hamster noch die Züchtung auf der Chorioallantois des bebrüteten Hühnereis.

Tabelle 2. Übersicht über erfolgreiche Provokationen von Viruskrankheiten durch Injektion harmloser Flüssigkeiten.
Natürliche latente Infektionen.

Infektion	Provokans	Injektionsort	Autor	Datum
Lymphocytäre Choriomeningitis, Maus	Bouillon	Gehirn	E. TRAUB	1935
	Stärkelösung	„	G. M. FINDLAY, N. S. ALCOCK und R. O. STERN	1936
	Serum von Masernkranken	„	P. LÉPINE und V. SAUTTER	1936
Ektromelie, Maus	Patientenblut	Peritonealhöhle	G. HORNUS und P. THIBAUT	1939
Marmorlungen- krankheit, Maus	Serum von masern- kranken u. von ge- sunden Menschen	Nase	K. HEINZMANN	1941

Experimentelle latente Infektionen.

Infektion	Provokans	Injektionsort	Autor	Datum
Poliomyelitis, Affe	Physiol. NaCl- Lösung	Arachnoidealsack	S. FLEXNER und H. L. AMOSS	1917
	Ringerlösung	„		
	Lockelösung	„		
	Lockelösung mit 0,5% Gelatine	„		
	Homolog. Liquor	„		
	Normalaffenserum	„		
	Normalpferde- serum	„		
Poliomyelitis, Maus	5%ige Mucin- NaCl-Lösung	Peritonealhöhle	W. J. NUNGESTER	1933
			J. A. TOOMEY und U. R. PHELPS	1936
Poliomyelitis „Lansing“-Stamm, Maus, Affe	Phosphatpuffer- lösung von niedri- gem p _H -Wert	Gehirn	W. McDOWELL HAMMON und E. M. IZUMI	1941
BORNAsche Krankheit, Kaninchen	Physiol. NaCl- Lösung Normalkaninchen- serum Normalpferde- serum	Gehirn oder Arachnoidealsack	W. ZWICK, O. SEI- FRIED und J. WITTE	1929
Influenza, Maus	10%ige Lösung von Normal- pferdeserum in Bouillon Steriles dest. Wasser 0,425-, 0,85- und 1,7%ige NaCl- Lösung 10% Lösung von Normal-Ziegen- serum	Nase	R. M. TAYLOR	1941

Die Kultur auf unbelebten Nährmedien war erfolglos. HEINZMANN nimmt an, daß es sich hier um einen völlig neuen, mäuse-eigenen Infektionsstoff handelt. Über seine Zugehörigkeit zu den Virusarten wird aber erst auf Grund weiterer Untersuchungen endgültig entschieden werden können.

Neben diesen harmlosen Flüssigkeiten sind auch andere, zum Teil giftige Substanzen, als Beispiel haben wir Guanidin erwähnt, verwendet worden, um natürlicherweise latent ablaufende Virusinfektionen zu aktivieren oder um refraktäre Wirte für experimentelle Virusinfektionen empfänglich zu machen. Einzelne Forscher haben durch Kombination verschiedener Provokationsverfahren manchmal Verhältnisse geschaffen, die weder von erkenntnistheoretischem Wert noch von praktischer Bedeutung sind, weil sie eine Analyse des Einflusses der einzelnen Faktoren nicht mehr gestatten. Versuche, welche die Wirkung *physikalischer Einflüsse* (Abkühlung, Erwärmung, ultraviolettes Licht, Radium- und Röntgenstrahlen usw.) oder des *Hungerns*, der *Ernährungsweise*, des *Vitaminmangels* usw. auf den Ausbruch von Viruskrankheiten zum Gegenstand haben, werden in dieser Abhandlung aus Raumersparnisgründen nicht berührt.

9. Die provokatorische Funktion der bakteriellen Komponente bei bestimmten „gekuppelten“ Infektionen.

Bei den gekuppelten Infektionen wirken mindestens zwei verschiedenartige Ansteckungsstoffe gleichzeitig auf einen Wirtsorganismus ein und erzeugen gemeinsam einen anscheinend einheitlichen Effekt. Präsentiert sich dieser als nosologische Entität, wie das bei der Angina PLAUT-VINCENTI: Vergesellschaftung des *Fusobacterium PLAUT-VINCENTI* mit einer Spirochäte, bei der Schweineinfluenza: Kooperation des Schweine-Influenzavirus mit dem *Haemophilus influenzae suis*, und bei bestimmten Mosaikkrankheiten der Kartoffel: Assoziation zweier oder mehrerer Virusarten, der Fall ist, so wird dieses Zusammenspiel zweier oder mehrerer infektiöser Agentien als ätiologische Assoziation bezeichnet [R. DOERR (4)].

Während aber weder das *Fusobacterium PLAUT-VINCENTI* noch die zugehörige Spirochäte als Einzelfaktoren bei homologer Übertragung eine Krankheit auszulösen vermögen, führt die künstliche Verimpfung bestimmter pneumotroper Virusarten auf natürliche Wirte auch in Abwesenheit der bakteriellen Komponente zu pathologischen Erscheinungen, wohingegen der bakterielle Anteil allein keine Krankheit hervorzurufen vermag. In diesem Fall spielen die beiden Faktoren im Rahmen des Krankheitsgeschehens offenbar verschiedene Rollen.

Nach intranasaler Verimpfung des Schweine-Influenzavirus tritt beim Schwein eine äußerst milde, unbestimmte, meist afebrile Störung auf (Filtrate disease nach R. E. SHORP). Das Virus allein besitzt daher nur eine mäßige Schweinepathogenität. Werden Reinkulturen des *Haemophilus influenzae suis* allein intranasal injiziert, kommt es weder zu klinisch noch zu histologisch nachweisbaren Alterationen im Respirationstraktus des Schweines. Die bakterielle Komponente erweist sich also als vollkommen apathogen. Andererseits wird durch die intranasale Inokulation eines Gemisches aus Schweine-Influenzavirus und Reinkulturen des *Haemophilus influenzae suis* das typische klinische und pathologisch-anatomische Bild der Schweine-Influenza erzeugt. Aus diesen Tatsachen kann man den Schluß ziehen, daß der durch die Viruskomponente eingeleitete Krankheitsprozeß durch den Zusatz des bakteriellen Faktors *intensiviert* wird. Ähnlichen Verhältnissen begegnen wir bei der Ferkelgrippe: Vergesellschaftung des Ferkelgrippevirus mit dem *Bacterium influenzae suis* (K. KÖBE, O. WALDMANN), beim seuchenhaften Husten des Pferdes: Assoziation des Virus des seuchen-

haften Hustens des Pferdes mit hämolysierenden Streptokokken [WALDMANN und KÖBE, K. BELLER und E. TRAUB sowie E. TRAUB (7)] und bei der infektiösen Bronchitis des Rindes: Zusammenwirken des Virus der infektiösen Bronchitis des Rindes mit Streptokokken, Mikrokokken und Pasteurellen (ROSSI, WALDMANN und KÖBE, K. KÖBE). In allen diesen Fällen erkrankt der natürliche Wirt nach intranasaler Einverleibung des bakteriellen Faktors nicht, wohingegen die Viruskomponente bei gleichbleibendem Infektionsmodus stets mehr oder minder leichte Läsionen erzeugt. Die simultane Übertragung beider Ansteckungsstoffe führt jedoch regelmäßig zu schwereren klinischen und pathologisch-anatomischen Manifestationen als die Infektion mit dem Virus allein. Es scheint daher, daß die Schwere des Krankheitsverlaufes im wesentlichen durch den bakteriellen Anteil bestimmt wird. Daß dem tatsächlich so ist, hat R. E. SHOPE am Modell der Schweine-Influenza nachgewiesen. Er infizierte Schweine mit einem Gemisch aus Schweine-Influenzavirus und einer Kultur des Stammes Nr. 18 von *Haemophilus influenzae suis* und stellte fest, daß die mit den künstlich angesteckten Tieren in Kontakt lebenden, unbehandelten Ferkel spontan an schwerer Schweineinfluenza erkrankten. Wurde derselbe Virusstamm jedoch mit einem anderen Stamm (Nr. 451) von *Haemophilus influenzae suis* versetzt, so konnten die mit diesem Gemenge infizierten Schweine die Krankheit nur in ganz milder Form auf mit ihnen zusammengebrachte gesunde Tiere übertragen.

Der Begriff der ätiologischen Assoziation involviert streng genommen die Notwendigkeit der Konstanz der Vereinigung der Komponenten, genauer formuliert, es wäre zu erwarten, daß immer die gleichen infektiösen Agentien zusammen und nur diese ein einheitliches pathologisches Geschehen heraufzubeschwören vermögen. Das trifft wohl für die Fusospirochätose (Angina PLAUT-VINCENTI) und vielleicht auch noch für die Schweine-Influenza zu, nicht aber für die übrigen erwähnten kontagiösen Erkrankungen des Respirationsapparates. KÖBE gibt für die Ferkelgrippe an, daß am Krankheitsprozeß in den Lungen stets Bakterien, „vorwiegend“ Stäbchen aus der Gruppe der hämoglobinophilen Bakterien beteiligt seien. Beim seuchenhaften Husten des Pferdes können andere Bakterien die Rolle der hämolysierenden Streptokokken übernehmen; und bei der infektiösen Bronchitis des Rindes wird der bakterielle Faktor bald durch Streptokokken, bald durch Mikrokokken oder durch Pasteurellen repräsentiert. Die bakterielle Komponente ist also vertretbar, variabel. Diese Feststellung verträgt sich aber nicht mit unseren Anschauungen über die Spezifität der Infektionserreger. Von einer ätiologischen Assoziation sensu strictiori kann daher in diesen Fällen keine Rede sein. Dagegen darf man den Bakterien unseres Erachtens insofern eine mehr oder weniger *unspezifische, provokatorische Funktion* bei diesen Infektionskrankheiten zuschreiben, als sie den durch das Virus eingeleiteten, meist geringfügigen oder doch mäßigen pathologischen Prozeß *intensivieren*. In der Wirklichkeit mögen sich die Ereignisse wohl so abspielen, daß die spezifische Virusinfektion den Boden für die pathogene Entfaltung des mehr oder minder unspezifischen bakteriellen Faktors vorbereitet. Die an und für sich leichtere Viruskrankheit wird so zum Wegbereiter für eine schwerere Mischinfektion, und nach dem Verschwinden des Virus können die Bakterien unter Umständen persistieren und endlich die sich an die Virus-Bakterienaffektion anschließenden Komplikationen bedingen.

Das Virus der Schweine-Influenza kann auf das Frettchen und vom Frettchen auf weiße Mäuse übertragen werden; das humane Influenzavirus zeigt sowohl am Frettchen als auch an der weißen Maus das gleiche Verhalten. Beide Virusrasen erzeugen bei diesen Versuchstieren auffallenderweise *ohne bakterielle Zu-*

sätze Krankheitsbilder, welche der Schweine-Influenza bzw. der Influenza des Menschen ähnlich sind. Versuche, den reinen Viruseffekt durch hämoglobino-phile oder andere Bakterien zu modifizieren bzw. zu verstärken, ergaben nach R. DOERR (4) keine deutlichen oder keine konstanten Resultate. Das Virus der Schweine-Influenza verhält sich demnach im Organismus experimenteller Wirte anders als im Körper des natürlichen Wirtes. Die intranasale Inokulation hat beim Frettchen und bei der Maus eine schwere, beim Schwein nur eine ganz milde Erkrankung zur Folge. Ob die stärkere Reaktion bei den experimentellen Wirten auf eine höhere Pathogenität oder eine größere Speziesdisposition zurückgeführt wird, ist irrelevant; die Tatsache darf aber beim Versuch einer Klärung der Ätiologie und Pathogenese der menschlichen Influenza nicht außer acht gelassen werden; denn schließlich entscheidet die natürliche Gast-Wirt-Beziehung. Es ist daher nicht ohne Bedeutung, daß künstliche Rückübertragungen des isolierten humanen Influenzavirus bisher durchaus unbefriedigende Ergebnisse zeitigten. Soweit dabei Frettchen- oder Mäusepassagevirus zur Anwendung kam, kann man die negativen oder schwach positiven Ausfälle naturgemäß mit der Annahme eines Verlustes, bzw. einer Abschwächung der Menschenpathogenität oder einer Modifikation des Virus durch die Tierpassage erklären. Diese Argumentation ist aber nicht stichhaltig, wenn wir in Betracht ziehen, daß die direkte Übertragung bakterienfreier Filtrate aus Nasen-Rachen-Spülflüssigkeit Influenzankrankter auf gesunde Versuchspersonen keine Influenza, sondern bloß eine Erkältungskrankheit (Common cold) auslöste (DOCHEZ, MILLS und KNEELAND). Daraus scheint hervorzugehen, daß auch hier zur Erzeugung des vollständigen Syndroms ein zweiter, intensivierender, mehr oder minder unspezifischer bakterieller Faktor (PFEIFFERSche Influenzabazillen, Pneumokokken, Streptokokken, *Micrococcus catarrhalis*) notwendig ist. Mit dieser Möglichkeit stehen die vereinzelt erfolgreichen Rückübertragungen des isolierten Influenzavirus auf den Menschen nicht in Widerspruch, da ja die Versuchspersonen im Zeitpunkt des Experiments mit irgendeinem intensivierenden Mikroben infiziert gewesen sein können.

10. Der Einfluß des Virus der Erkältungskrankheit des Menschen (Common cold) auf die Nasen-Rachen-Flora des Schimpansen.

A. R. DOCHEZ, G. S. SHIBLEY und KATHERINE C. MILLS (1) nahmen bekanntlich die ersten Übertragungen der Erkältung auf Tiere, nämlich auf Schimpansen, vor. Bei dieser Gelegenheit bestimmten sie die Nasen-Rachen-Flora vor, während und nach der experimentellen Krankheit. Gesunde Schimpansen beherbergten im oberen Respirationstractus *Staphylococcus aureus et albus*, *B. Pfeifferi*, *B. diphtheroides*, Pneumokokken, sowie verschiedene Gram-negative und Gram-positive Kokken und Stäbchen. Diese Befunde stimmten auffallend mit der Nasen-Rachen-Flora gesunder Menschen überein. 36—48 Stunden nach intranasalen Instillationen von Schnupfenfiltrat erkrankte ein Teil der Affen an Schnupfensymptomen. Im Verlaufe der Erkältung trat in der Nase dieser Tiere eine bemerkenswerte Vermehrung von *Pneumokokken*, *Influenzabazillen* und teilweise auch von *hämolyisierenden Streptokokken* ein, eine Erscheinung, welche bei der künstlichen Übertragung des Schnupfens von Mensch zu Mensch nicht zutage trat [A. R. DOCHEZ, G. S. SHIBLEY und K. C. MILLS (2)], aber auch im Affenversuch ausblieb, wenn an Stelle des Schnupfenfiltrats Nasen-Rachen-Spülflüssigkeit gesunder Menschen verwendet wurde (G. S. SHIBLEY, K. C. MILLS und A. R. DOCHEZ). Die quantitative Änderung der Bakterienflora der oberen Luftwege als Effekt der intranasalen Infektion des Schimpansen mit dem Erkältungsvirus soll nach den Angaben der erwähnten Autoren entweder auf einer Akti-

vierung der potentiell pathogenen Saprophyten (Pneumokokken, B. PFEIFFER, hämolysierende Streptokokken) durch das Virus beruhen oder das Ergebnis ihrer Vermehrung und Ausbreitung auf einem durch das filtrierbare Agens primär geschädigten Substrat darstellen.

C. Die Eruierung latenter Virusinfektionen durch Überimpfung von Organemulsionen auf hochempfindliche Gewebe.

1. Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens.

1922 fand L. JACKSON in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen klinisch gesunder Meerschweinchen eigenartige Gebilde, die er für Protozoen hielt. R. COLE und A. G. KUTTNER erkannten diese im Jahre 1926 als Einschlußkörperchen, die nach ihren Angaben in den Submaxillardrüsen erwachsener Meerschweinchen außerordentlich häufig, in den Speicheldrüsen von Jungtieren aber nur sehr selten oder überhaupt nicht angetroffen werden. Die Veränderungen sind vornehmlich im Deckepithel der Ausführungsgänge des serösen Anteiles, weniger der mukösen Partien der Drüsen lokalisiert; die befallenen Zellen sind stark vergrößert, der Kern erscheint gebläht. In Schnitten, die mit Methylenblau und Eosin gefärbt sind, fallen die veränderten Zellen durch intensivere Blaufärbung des Cytoplasmas auf. Der Kern enthält eine leicht sichtbare tiefrot gefärbte Masse, welche durch einen hellen Hof von der Kernmembran getrennt ist; in der Hofzone selbst finden sich körnige basophile Elemente. In der Umgebung der Ausführungsgänge, welche so veränderte Zellen enthalten, wird in der Regel eine Gewebsreaktion festgestellt, an welcher sich Monocyten, Lymphocyten und große Zellen mit bläschenförmigen Kernen beteiligen. R. COLE und A. G. KUTTNER vermuteten hinter diesen Gewebsläsionen eine Virusinfektion und versuchten die Veränderungen bei jungen Meerschweinchen hervorzurufen, indem sie ihnen einschlußhaltiges Drüsengewebe in die Speicheldrüsen, in die Zunge, in die Lunge, in die Hoden oder ins Gehirn injizierten. In allen geimpften Organen bildeten sich, meist nicht sehr zahlreiche Einschlußkörperchen; *merkwürdigerweise führte aber nur die intracerebrale Impfung zu einer charakteristischen Erkrankung.* Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen, die noch nicht 4 Wochen alt waren. Die intracerebrale Injektion wurde in Äthernarkose vorgenommen. 48 Stunden nach der Impfung setzte ein Temperaturanstieg ein, nach 96 Stunden machten die Tiere einen kranken Eindruck. Sie saßen unbeweglich im Käfig und ihr Haarkleid war gestäubt. Schließlich begannen sie zu zittern und bekamen Krämpfe. Die Tiere gingen meistens zwischen dem 5. und 7. Tage nach der Impfung zugrunde. Die Obduktion ergab außer einer Schwellung und Hyperämie des Gehirnes keine pathologischen Veränderungen. Mikroskopisch bestand ein ausgedehntes meningeales Exsudat aus mononucleären Zellen, Lymphocyten und großen Zellen mit bläschenförmigen Kernen. Eine größere Anzahl von Zellen wies typische acidophile Kerneinschlüsse auf. Kontrollexperimente, bei welchen Emulsionen sicher einschlußfreier Speicheldrüsen oder von Pankreas jungen Meerschweinchen intracerebral eingespritzt wurden, bewiesen, daß die durch intracerebrale Injektion einschlußhaltigen Speicheldrüsenorgans erzeugte Meningitis spezifischen Charakter hatte. Es war indessen COLE und KUTTNER nur ausnahmsweise möglich, die Krankheit serienweise von Meerschweinchen zu Meerschweinchen zu übertragen. Wenn das überhaupt gelang, so erwies sich das Agens entweder schon nach 2 oder spätestens nach 3 Übertragungen als apathogen. Der Krankheitsstoff passierte jedoch Berkefeld N-Kerzen und wurde aus diesen und anderen Gründen von COLE und KUTTNER und später auch von anderen Autoren den Virusarten zugerechnet.

2. Kanarienvogelpocken.

Während chemotherapeutischen Versuchen an mit Vogel malaria infizierten Kanarienvögeln beobachtete W. KIKUTH eine plötzlich auftretende Pathogenitätssteigerung der von ihm benutzten Proteosomastämme, die in zahlreichen über viele Jahre sich erstreckenden Passagen keine Pathogenitätsschwankungen aufgewiesen hatten. Die Infektion verlief viel akuter und endigte nach fortgesetzten Übertragungen schließlich stets letal. Durch frühzeitige und dauernde Plasmochin- oder Atebrinbehandlung konnte die Malariainfektion unterdrückt werden, die Vögel gingen aber trotzdem zugrunde. Als Ursache dieser Erscheinung konnten W. KIKUTH und H. GOLLUB ein durch Berkefeld N-Kerzen filtrierbares Virus nachweisen. Werden gesunde Kanarienvögel mit Blut von kranken Tieren intramuskulär geimpft, so fangen sie zwischen dem 4. und dem 8. Tage nach dem Eingriff an, apathisch zu werden. Sie sitzen still auf der Stange und fressen nur noch wenig. Allmählich verschlimmert sich das Krankheitsbild. Das Gefieder sträubt sich, der Kopf wird zur Seite gelegt und wie beim Schläfe unter die Flügel gesteckt. Die Blutgerinnungszeit ist verlängert, die Temperatur sinkt unter die Norm ab und der Tod erfolgt zwischen dem 7. und 12. Tage. Charakteristisch ist der Obduktionsbefund im Bereiche des Inokulationsortes. Die normalerweise rote Brustmuskulatur nimmt einen mehr gelbbraunlichen Farbton an und wird ödematös und gallertig.

Kanarienvögel lassen sich auch auf enteralem Wege infizieren, wenn virus-haltiger Organbrei oder infiziertes Blut unter das Futter gemischt werden; dabei kommt es aber zu einem Krankheitsbild, das durch eine außerordentlich lange Inkubationszeit und einen verzögerten Ablauf gekennzeichnet ist. Ähnlich verhält sich das Virus bei spontan infizierten Kanarienvögeln. KIKUTH und GOLLUB isolierten mehrere Virusstämme und stellten dabei fest, daß die Kanarienvögel der ersten Passage nach der intramuskulären Überimpfung erst nach 20 Tagen oder noch später eingehen und bei der Sektion nicht sehr ausgesprochene Veränderungen der Muskulatur aufweisen. Im Laufe der folgenden Passagen kommt es dann zu einer beträchtlichen Pathogenitätssteigerung. Nach den Angaben von KIKUTH und GÖNNERT wird nur durch die intramuskuläre Überimpfung eine charakteristische, ausnahmslos zum Tode führende Krankheit hervorgerufen. Auf der anderen Seite kann dieses Virus bei organisch gesund aussehenden Reisküken (*Oryzornis oryzivora*) latent angetroffen werden. Durch die Untersuchungen von K. HERZBERG (1), H. GAEDE, F. M. BURNET u. a., auf die wir in diesem Zusammenhang nicht weiter einzugehen brauchen, wurde das von KIKUTH und GOLLUB beschriebene Kanarienvogelvirus der Gruppe der Geflügelpocken-virusarten zugeordnet.

3. Encephalomyelitis der Mäuse.

Im Jahre 1933 fand M. THEILER unter den gesunden Mäusen einer Laboratoriumszucht ein junges Exemplar mit schlaffen Lähmungen beider Hinterbeine. Durch cerebrale Verimpfung des bakteriosterilen Gehirns und Rückenmarkes dieses Tieres konnte die Krankheit auf andere Mäuse übertragen werden. Seither ist diese Affektion nicht nur in Amerika (M. THEILER, P. K. OLITSKY, M. THEILER und S. GARD), sondern auch in Deutschland (E. GILDEMEISTER und I. AHLFELD), in Japan (M. IGUCHI) und in Palästina (I. J. KLIGLER) beobachtet und studiert worden.

Die meisten der bis jetzt isolierten Virusstämme zeichnen sich dadurch aus, daß nur ihre cerebrale Übertragung regelmäßig Erfolg hat. Die intranasale Verimpfung führt lediglich dann zu Krankheitserscheinungen, wenn sehr große Virusmengen instilliert werden. Dagegen haftet die Infektion nach intraperitonealen

Virusinjektionen gewöhnlich nicht, es sei denn, daß besonders „virulente“ Stämme benutzt werden (M. THEILER und S. GARD). Aber auch unter solchen Bedingungen ist die Empfänglichkeit weißer Mäuse für cerebrale Infektionen etwa 100000mal höher als für nasale und etwa 1000000mal höher als für intraperitoneale Virusimpfungen (THEILER und GARD). Andere Infektionsmodi (Verfütterung des infektiösen Materials, cutane, subcutane, neurale und intravenöse Inokulationen) bewähren sich nicht (THEILER und GARD, OLITSKY). Für den Nachweis latenter Infektionen ist daher die cerebrale Impfung mit mutmaßlich infektiösen Organaufschwemmungen oder mit bakterienfreien Filtraten aus Exkreten usw. die Methode der Wahl.

Affen, Kaninchen und Meerschweinchen sind gegen das Virus der Mäuse-encephalomyelitis refraktär; dagegen sollen Baumwollratten nach einem Bericht von THEILER und GARD für die Infektion empfänglich sein. Das Agens ist also wohl den „oligophagen“ Krankheitserregern zuzurechnen.

Spontanerkrankungen scheinen bei weißen Mäusen außerordentlich selten zu sein. Die Morbidität wird von OLITSKY auf höchstens 0,2—0,5‰ geschätzt. Andererseits sind latente Infektionen außergewöhnlich häufig. In den befallenen Zuchten albinotischer Mäuse sind die 1—2 Monate alten Individuen in einem sehr hohen Prozentsatz (nach OLITSKY bis zu 100%) infiziert. Über das Vorkommen von Spontanerkrankungen und von latenten Infektionen bei freilebenden Mäuserassen liegen keine Angaben vor.

Die natürliche Infektion erfolgt vermutlich per os, und zwar bald nachdem die Jungtiere aufgehört haben, an der Mutter zu saugen (OLITSKY); die Gelegenheit zur Infektion per os ist jedenfalls in größtem Ausmaße vorhanden, da fast alle Mäuse, welche 3 Wochen alt oder älter sind, das Virus mit den Faeces ausscheiden und so ihre Umgebung kontinuierlich verunreinigen (THEILER und GARD). Das mit den Faeces abgesonderte Virus soll nach THEILER und GARD, sowie nach OLITSKY aus der Darmwand stammen, da das Virus nicht nur im Darminhalt, sondern auch in den Wänden des Verdauungstractus (Magen, Dünndarm, Coecum und Dickdarm) nachgewiesen werden konnte, während es in den Brust- und Bauchorganen, in den Speicheldrüsen sowie im Zentralnervensystem latent infizierter Tiere nie zu finden war. Wie es unter natürlichen Bedingungen zu einer Invasion des Virus in das sonst gemiedene Zentralnervensystem kommt, wollen THEILER und GARD nicht entscheiden, sie betonen aber, daß das Virus gelegentlich auch in den mesaraischen Lymphdrüsen klinisch gesunder Mäuse festgestellt wurde (THEILER und GARD, OLITSKY), was als Zeichen für seine invasive Fähigkeit gedeutet werden dürfe.

Der Verlauf der Krankheit nach intracerebralen Virusinjektionen hängt von verschiedenen Faktoren ab, vor allem von der Pathogenität des Virusstammes und vom Alter der verwendeten Versuchstiere. Mäuse, welche noch nicht 4 Wochen alt sind, erliegen gewöhnlich der künstlichen Infektion, ohne Lähmungen gezeigt zu haben. Etwas ältere Tiere erkranken nach einer Inkubation von 7—30 Tagen fast regelmäßig an Lähmungen der Hinterbeine, bisweilen auch an Lähmungen aller vier Extremitäten, wohingegen ausgewachsene Mäuse öfters nicht reagieren, aber gegen eine Zweitimpfung immun werden. Mäuse, die nur leichte Paresen bekommen, können von der Krankheit völlig genesen; schwer gelähmte Exemplare gehen meistens ein oder überleben mit schweren Dauerschäden des Bewegungsapparates (Verkürzungen der gelähmten Glieder, Muskelatrophie). An das akute Krankheitsstadium schließt sich ein langdauerndes Virusträgertum an. Das Agens wurde noch 1 Jahr nach der Impfung im Gehirn einer gelähmten Maus nachgewiesen (M. THEILER).

Bei der Obduktion gelähmter Tiere wird im allgemeinen am Gehirn und

Rückenmark wenig Abnormes festgestellt. Die histologische Untersuchung hingegen ergibt im ganzen Zentralnervensystem perivaskuläre Rundzellularinfiltrate. Auch die Hirnhäute sind von Rundzellen durchsetzt (GILDEMEISTER und AHLFELD). Die Ganglienzellen, vor allem diejenigen der Vorderhörner des Rückenmarkes verfallen der Nekrose. Weiterhin wird Neuronophagie beobachtet. Im ganzen begegnen wir dem mikroanatomischen Bild einer akuten Encephalomyelitis, bzw. einer Meningoencephalomyelitis.

Es fällt sofort auf, daß diese Mäusekrankheit in wesentlichen Punkten (Klinik, Pathologie, Epidemiologie) mit der Poliomyelitis des Menschen übereinstimmt. M. IGUCHI hat sie daher als „*poliomyelitis of mice*“ bezeichnet, und M. THEILER und S. GARD sowie P. K. OLITSKY sehen in ihr ein ausgezeichnetes Modell, um bestimmte, bei der Poliomyelitis noch ungeklärte Probleme zu studieren. Sie weisen hierbei auf den unbestreitbaren Vorteil hin, daß man in diesem Falle mit dem natürlichen Wirt des Infektionserregers operieren kann. Es ist sicher nicht ausgeschlossen, daß zwischen dem Virus der Mäuse-Encephalomyelitis und dem Agens der Poliomyelitis des Menschen nähere Beziehungen bestehen. Beide Virusarten gehören derselben Größenordnung an (THEILER und GARD, OLITSKY); beide lassen sich durch Erwärmen auf 50—55° C während 30 Minuten inaktivieren (OLITSKY). Versuche, die immunologischen Verhältnisse beider Infektionen gegeneinander abzugrenzen, wurden teils an untauglichen Objekten vorgenommen und erlauben deshalb vorläufig keine weitgehenden Schlußfolgerungen. Zweifellos dürften sich aus vergleichenden Untersuchungen des Virus der Encephalomyelitis der Mäuse und den an Baumwollratten und weiße Mäuse angepaßten Virusstämmen der Poliomyelitis (ARMSTRONG, JUNGEBLUT und SANDERS, TOOMEY und TAKACS) interessante und fruchtbringende Parallelen ergeben. THEILER und GARD, welche in dieser Richtung bereits einen Vorstoß wagten, erwähnen, daß Mäuse, welche eine experimentelle Infektion mit dem Virus der Mäuseencephalomyelitis überstanden hatten, gegen eine nachfolgende cerebrale Impfung mit dem „*Lansing*“-Stamm des Poliomyelitisvirus resistent waren.

4. Filtrierbare mesenchymotrope Mikroorganismen.

A. B. SABIN fand auf der Nasenschleimhaut und auf der Conjunctiva von normalen Mäusen, und zwar bei 80—100% der untersuchten Exemplare zwei immunologisch und auch hinsichtlich ihrer pathogenen Wirkung differente Stämme von filtrierbaren, pleuropneumonie-ähnlichen Mikroben. Die natürliche Infektion nimmt nach den Angaben des Autors stets einen latenten Verlauf, wohingegen die künstliche Infektion vornehmlich in den Gelenken lokalisierte pathologische Effekte ergibt.

Experimentell verimpft, erzeugt der Stamm A bei etwa 40% der Versuchstiere Polyarthritiden, von welchen die Mäuse in der Regel im Laufe von 4 bis 6 Wochen spontan genesen. Unter besonderen Bedingungen, welche A. B. SABIN nicht näher umschreibt, stellen sich nach der Injektion dieses Erregers choreiforme Symptome ein.

Ist der Stamm A durch besondere Affinitäten zu den Gelenken und zum Kleinhirn gekennzeichnet, so hat der Stamm B ausschließlich die Tendenz, seine krankmachende Wirkung in den Gelenken zum Ausdruck zu bringen. Dieser Organismus ruft bei praktisch 100% der geimpften Mäuse chronische, progressive, proliferative und ankylosierende Arthritiden hervor, welche große Ähnlichkeit mit der rheumatischen Arthritis des Menschen besitzen. 4—5 Tage nachdem den Tieren 24 Stunden alte Bouillonkulturen des Stammes B in Mengen von 0,5 ccm intravenös oder in Mengen von 1,0 ccm intraperitoneal einverleibt worden sind, treten Gelenkschwellungen auf, welche lange Zeit bestehen bleiben und leicht

zu Ankylosen, besonders der Kniegelenke führen. Im übrigen wird das Wohlbefinden der Tiere durch die Affektion nicht beeinträchtigt. D. M. ANGEVINE isolierte aus Mäusen ebenfalls verschiedene Stämme von pleuropneumonie-ähnlichen Organismen, welche im Experiment ähnliche Gelenkerkrankungen verursachten. Während aber A. B. SABIN die Lokalisation in den Gelenken durch die Annahme besonderer Gewebsaffinitäten der Erreger zu erklären versucht, neigt D. M. ANGEVINE zur Ansicht, daß die anatomischen Besonderheiten der Gefäßversorgung der Gelenkzotten für die Ansiedlung und die lokale Auswirkung derartiger Mikroben in den Gelenken ausschlaggebend seien. Wie sich das auch verhalten mag, ist die Tatsache, daß es nunmehr mühelos gelingt, bei Mäusen eine der Polyarthritidis rheumatica des Menschen weitgehend ähnliche Krankheit hervorzurufen, insofern nicht nur von akademischem Interesse, sondern auch von praktischem Werte, weil A. B. SABIN und J. WARREN neuerdings zeigen konnten, daß die künstlich arthritisch gemachte Maus auf chemotherapeutische Beeinflussungen (organische und anorganische Goldverbindungen) gleich reagiert wie der rheumatische Arthritiker.

D. Der Nachweis besonderer latenter Virusinfektionen durch Verimpfung von Organemulsionen auf hochempfindliche Wirte.

I. Das Mäusevirus von LAIGRET und DURAND.

Von der Entdeckung des Virus der lymphocytären Choriomeningitis bei der Maus und beim Menschen beeindruckt, nahmen P. MOLLARET und G. M. FINDLAY an, daß dieser Ansteckungsstoff wahrscheinlich für die benignen meningitischen Prozesse verantwortlich zu machen sei, welche sich manchmal beim Menschen nach der Schutzbehandlung mit Impfstoffen einstellen, zu deren Präparation Mäusehirn dient (Gelbfiebertvaccine). J. LAIGRET und R. DURAND griffen diese Vermutung auf, töteten anscheinend völlig gesunde Mäuse und verimpften das Gehirn intraperitoneal auf Meerschweinchen. Die Meerschweinchen reagierten auf diesen Eingriff nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von 6 Tagen mit einem ganz charakteristischen Fieber, welches etwa 6 Tage anhielt und mit starker Abmagerung vergesellschaftet war. Zur Zeit des Fieberanfalles gingen etwa 40% der Meerschweinchen ein; der Rest genes und erwies sich als immun gegen eine zweite Inokulation mit Gehirnsuspensionen kranker Meerschweinchen. Die Krankheit konnte durch intraperitoneale Einverleibung von Hirnbrei unbeschränkt von Meerschweinchen zu Meerschweinchen übertragen werden. LAIGRET und DURAND fanden das Agens bei Mäusen jeglichen Alters, ja sogar bei Embryonen und schlossen daraus auf eine Permanenz oder doch auf eine sehr lange Dauer der Infektion. Niemals wurde bei Mäusen, die Virusträger waren, irgendeine Beeinträchtigung des Wohlbefindens festgestellt. Das Agens passierte bakteriendichte Filter ebenso leicht wie das Gelbfiebertvirus.

Die Verimpfung des Liquors cerebros spinalis einer Person, welche nach Gelbfieberschutzimpfung an leichten meningitischen Symptomen erkrankt war, in die Bauchhöhle oder ins Gehirn von Meerschweinchen, führte zu einer analogen, serienweise von Meerschweinchen zu Meerschweinchen übertragbaren fieberhaften Affektion. Die Einverleibung von embryonalem Hühnergewebe hatte den gleichen Effekt. Meerschweinchen, welche eine Infektion mit den aus Mäusen isolierten Virusstämmen überstanden hatten, waren nicht nur immun gegen eine Zweitimpfung mit dem homologen Stamm, sondern auch gegen eine Infektion mit dem vom Menschen oder aus dem Hühnerembryo gewonnenen Virus geschützt et vice versa. Vier Versuchspersonen, die sich freiwillig zur Verfügung gestellt hatten, reagierten nicht auf die subcutane Injektion der Hirnemulsion eines mit

dem Mäusevirus infizierten Meerschweinchen. Kaninchen und Ratten erkrankten nicht nach der Einverleibung des vom Menschen, vom Hühnerembryo oder von der Maus stammenden Agens; ihr Gehirn war jedoch am 6. Tage nach der Impfung für Meerschweinchen noch hoch infektiös. Affen zeigten nur zum Teil fieberhafte Symptome.

LAIGRET und DURAND nannten den Infektionsstoff „*inframicrobe habitué des souris*“, verzichteten aber auf eingehende Erklärungen. Der Zuordnung dieses Mäusevirus zu einer der bekannten Virusarten stehen verschiedene Schwierigkeiten entgegen. Einerseits unterließen die beiden Forscher offenbar den Versuch, das Agens künstlich auf Mäuse unverseuchter Zuchten zu übertragen. Wir sind daher über das Verhalten des natürlichen Wirtes gegenüber experimentellen Infektionen nicht orientiert. Andererseits wurde nur die Versicherung abgegeben, daß Mäuse, mit deren Gehirn Meerschweinchen mit sichtlichem Erfolg infiziert werden konnten, klinisch völlig gesund gewesen seien. Bekanntlich hinterlassen aber inapparente Infekte häufig, wenn auch nicht immer, histologisch erfassbare Wegspuren. Untersuchungen in dieser Richtung sind anscheinend ebensowenig ausgeführt worden wie die Erhebung pathologisch-anatomischer oder histologischer Befunde bei Meerschweinchen, welche erkrankten und der Infektion erlagen. Dagegen wird die Virusnatur durch die Übertragbarkeit und die Filtrabilität wahrscheinlich gemacht. E. TRAUB (6) hält den von LAIGRET und DURAND isolierten Ansteckungsstoff für einen Stamm des Virus der lymphocytären Choriomeningitis. Da über gekreuzte Immunitätsversuche zwischen sicheren Stämmen des Virus der lymphocytären Choriomeningitis und dem Mäusevirus von LAIGRET und DURAND nichts mitgeteilt wird, stützt er seine Annahme wohl lediglich auf die Symptomatologie der experimentellen Meerschweinchenkrankheit. Eine Ähnlichkeit mit den nach Infektionen mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis bei Meerschweinchen auftretenden Symptomen läßt sich in der Tat nicht leugnen. Nach subcutanen, intracerebralen, intranasalen oder intraperitonealen Impfungen mit sicheren Stämmen des Virus der lymphocytären Choriomeningitis bekommen Meerschweinchen in der Hauptsache hohes Fieber und die Tiere mageren ab, nur in schweren Fällen werden Somnolenz, Speichelfluß, mühsames Atmen und seropurulente Conjunctivitiden beobachtet (THOMAS M. RIVERS und T. F. MACNAIR SCOTT, E. TRAUB). Bei der Obduktion findet man des öfteren mehr oder minder ausgedehnte verdichtete Herde in der Lunge, Vergrößerung und Dilatation des Herzens, kleine nekrotische Bezirke in der Leber, subcutane Ödeme im Bereiche des Unterbauches und gelegentlich eine Vermehrung des Liquor cerebrospinalis. Durch die histologische Untersuchung können jedoch bei allen Tieren, auch bei solchen, welche bei der Sektion keine Lungenveränderungen erkennen ließen, typische herdförmige Läsionen im Sinne einer Viruspneumonie, manchmal auch Lungenödem festgestellt werden. Im Herzen bestehen subendotheliale Rundzellularinfiltrationen sowie kleine Rundzellansammlungen im Myokard und in den subepikardialen Schichten. Die Leberveränderungen sind durch perivasculäre Lymphocytenmäntel und durch Nekrose oder vakuoläre Degeneration der angrenzenden Leberzellen gekennzeichnet. Darüber hinaus zeigt die Mehrzahl der untersuchten Tiere Infiltrationen der Meningen mit Lymphocyten und Monocyten, gleichgültig, ob sie subcutan, cerebral oder peritoneal geimpft worden waren (E. TRAUB). Die Identität des von LAIGRET und DURAND aus gesunden Mäusen isolierten infektiösen Agens mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis kann natürlich auf Grund des dargelegten Sachverhaltes nicht ausgeschlossen werden, vor allem wenn man in Betracht zieht, daß die Meerschweinchenpathogenität der bis jetzt gewonnenen Choriomeningitisvirusstämme stark variierte, ja daß sogar der aus einer und

derselben Maus zu verschiedenen Zeiten entnommene Ansteckungsstoff beim Meerschweinchen differente Krankheitsbilder erzeugte [E. TRAUB (6)]; sie ist aber auch nicht bewiesen. Schließlich muß man sich sogar fragen, ob das von LAIGRET und DURAND gewonnene Agens wirklich aus den Mäusen stammt oder ob durch die intraperitoneale Einverleibung von Mäusehirnemulsionen, menschlichem Liquor cerebrospinalis und embryonalem Hühnergewebe nicht etwa eine latente Virusinfektion des Meerschweinchens aktiviert worden ist.

2. Lyssa.

Unser Wissen über die Tollwut des Menschen weist noch immer einige schwer empfundene Lücken auf. Es sei in diesem Zusammenhange nur an das Rätsel der so überaus schwankenden Inkubation erinnert, welche im Minimum 5 bis 14 Tage, meist 8—12 Wochen, aber auch viele Monate (10, 12, 14, 20), ja in gut beglaubigten Fällen sogar mehrere Jahre betragen kann. Nicht minder seltsam ist es, daß die Lyssa beim Menschen immer tödlich verläuft, obschon das Tollwutvirus für den Menschen allem Anschein nach wenig pathogen ist. Von den von wütenden Tieren gebissenen Personen erkranken und sterben nach den Schätzungen verschiedener Autoren durchschnittlich weniger als 10%. Bei Hunden, Katzen, Pferden, Schweinen deckt sich die Zahl der gebissenen Individuen zwar auch nicht mit der Zahl der Erkrankenden, ist aber immerhin beträchtlich höher als beim Menschen. Als Erklärung für die Tatsache, daß nur wenige der gebissenen Personen tatsächlich von der Lyssa befallen werden, wird häufig angegeben, daß eben viele der beißenden Tiere nicht tollwütig gewesen seien. So naheliegend und bequem diese Annahme ist, so dürfte sie doch nicht in allen Beziehungen den wirklichen Vorkommnissen gerecht werden. Andererseits suchen wir in der Infektionspathologie wohl vergeblich nach Analogien zur Lyssa, bei welcher die Letalität 100% beträgt. Die Disposition des Menschen für Pocken und Pest ist sehr hochgradig. Zahlreiche der von diesen Krankheiten betroffenen Personen sterben, trotzdem finden wir immer neben wenigen unempfindlichen (resistenten) Individuen einen beträchtlichen Prozentsatz, welcher die Krankheit übersteht.

Was nun die wechselnde Inkubation der Lyssa anbelangt, so wird sie bald von der Lokalisation der Bißverletzung, bzw. von der Wegstrecke, welche das Virus von der Eintrittspforte bis zu seinen Angriffspunkten im Gehirn und Rückenmark zurückzulegen hat, bald von der Ausdehnung und Tiefe des Traumas, bald von der durch den Biß in den Körper des Menschen eingebrachten Virusmenge, dann von der „Virulenz“ des Erregers und schließlich noch vom Alter und der Konstitution des Gebissenen abhängig gemacht.

Die Wanderung des Lyssavirus, welche von der Bißstelle auf der „Schiene“ der peripheren Nerven zu den Erfolgsorganen vor sich gehen soll, ist selbstredend ein in der Zeit ablaufender Vorgang; aus der Dauer der Inkubation kann man aber keinen Schluß auf die Zeit ableiten, welche verstreicht, bis das pathogene Agens die fragliche Strecke durchlaufen hat; man kann nur sagen, daß diese Zeit nicht kürzer eingesetzt werden darf als die Inkubation [R. DOERR (2)]. Übrigens setzt sich die Inkubationsperiode peripher induzierter Encephalomyelitiden aus mehreren differenten und von verschiedenen Faktoren abhängigen Teilperioden zusammen, nämlich aus der *Adsorptionsperiode* (Aufnahme in die nervöse Bahn), der eigentlichen *Wanderungszeit*, der „zentralen Latenz“ (der Frist, welche vom Eintreffen des Virus in den Zentren bis zum Zeitpunkt seiner Haftung im Gewebe verstreicht) und aus der *klinischen Latenz* der erfolgten Haftung in den nervösen Zentralorganen [R. DOERR (2)]. Ohne auf diese Verhältnisse näher einzugehen, möchten wir hervorheben, daß wir ziemlich zuverlässige Anhaltspunkte haben,

um die wirkliche Dauer der zentripetalen Viruswanderung zahlenmäßig zu beurteilen. Auf Grund derartiger Daten sind wir zu der Überzeugung gelangt, daß die Wanderungsgeschwindigkeit viel geringer sein muß, als man gemeinhin anzunehmen geneigt wäre. So betrug sie nach der Verimpfung von Herpesvirus auf die Cornea von Kaninchen nur 0,35 mm pro Stunde (E. KOPPISCH). Immerhin mögen auch die Wirtsspezies, die Virusart und die anatomischen und funktionellen Verschiedenheiten der benutzten nervösen Schienen die Wanderungsgeschwindigkeit beeinflussen. Trotzdem spricht nichts gegen die Möglichkeit, daß das Lyssavirus von einer Bißstelle am Kopf früher in das Zentralnervensystem gelangt, als wenn sich die Eintrittspforte etwa im Bereich der unteren Extremitäten befindet.

Der zweite Faktor, mit welchem die Dauer der Inkubation der humanen Lyssa in Zusammenhang gebracht wird, die Ausdehnung und Tiefe der Bißwunde, bedarf wohl keiner weiteren Erklärung; die Aufnahme des infektiösen Agens wird in einer größeren Wunde leichter und wohl auch rascher vonstatten gehen als in einer geringfügigen Kontinuitätstrennung, welche sich nur auf das Integument bezieht. In der Tat ist festgestellt worden, daß der Prozentsatz der im Laufe der ersten 4 Wochen nach dem Biß auftretenden Lyssafälle bei schweren Verletzungen wesentlich höher ist als bei weniger bedenklichen Bißwunden.

In jenen Fällen, in welchen die Tollwut ausgesprochen spät auftritt, ist möglichenfalls mit dem Geifer des beißenden Tieres nur wenig Virus in den Körper eingebracht worden. Dafür spricht der Umstand, daß die Inkubationszeiten bei mit abgestuften Virusmengen infizierten Tieren im Falle der höheren und mittleren Dosen praktisch etwa gleich sind, aber erheblich zunehmen, wenn man sich der D. l. m. nähert (E. BOECKER). Dasselbe ist bekanntlich auch bei bestimmten bakteriellen Infektionen der Fall. B. FUST injizierte in Zehnerpotenzen abgestufte Mengen boviner Tuberkelbazillen in die große Liquorzisterne von Kaninchen und stellte fest, daß sowohl die Inkubationsperiode als auch die Lebensdauer der an einer tuberkulösen Meningitis erkrankenden Tiere mit absinkender Infektionsdosis zunahm.

Andererseits ergibt der mit Gehirnmateriale von spät an Lyssa erkrankten Menschen angesetzte Tierversuch in der Regel eine normale Inkubationszeit (E. BOECKER). Die lange Dauer der Inkubation dürfte also kaum mit einer herabgesetzten „Virulenz“ des Virus zusammenhängen.

Kinder und Jugendliche sollen weit eher und nach kürzeren Inkubationsfristen an der Lyssa erkranken als Erwachsene. Ob das mehr einer erhöhten Gefährdung, von umherirrenden Hunden gebissen zu werden oder eher dem Mangel an sog. natürlichen Abwehrkräften zuzuschreiben ist, soll hier nicht entschieden werden.

Uns interessiert vor allem die Frage, weshalb von 100 Personen, die von tollwütigen Hunden gebissen werden, nur etwa 10 oder noch weniger von der Lyssa befallen werden. Diesem Problem ist R. PALTAUF nachgegangen. Er hatte Gelegenheit, 4 Personen zu sezieren, welche im Laufe der Wutschutzbehandlung an interkurrenten Erkrankungen starben. In allen 4 Fällen ergab nun die subdurale Verimpfung der Medulla oblongata bei Kaninchen paralytische Wut; es war also das Wutvirus nicht nur bis ins Gehirn gewandert, sondern es hatte sich dort wahrscheinlich auch vermehrt. Da weniger als 10% der von wütenden Tieren gebissenen Personen an Tollwut erkranken, ist die Meinung abzulehnen, daß in allen diesen 4 Fällen eine Infektion im Sinne des Inkubationsstadiums bestanden habe. Die Impfkrankheit bei den Kaninchen war durch eine sehr lange Inkubation gekennzeichnet, sie betrug 40 Tage und mehr, während gewöhnlich die Symptome 15—17 Tage nach der Inokulation von menschlichem Lyssamaterial

auftreten. Da der Tod bei den in Frage stehenden 4 Personen zwischen dem 22. und 27. Tage nach dem Biß eingetreten war, so könnte man daran denken, daß der geringe Virusgehalt die Ursache der langen Inkubationsdauer der Impfrkrankheit der Kaninchen wäre, ähnlich wie bei der Verimpfung des 4 oder 5 Tage getrockneten Markes des Virus fixe die Inkubation auch verlängert ist. Während aber in einem solchen Fall sich die kurze Inkubation bei der zweiten Übertragung wieder einstellt, blieb die lange Inkubation in den von PALTAUF beschriebenen Fällen erhalten; ja das Virus erwies sich sogar als durchaus nicht konstant infektiös, indem einzelne Tiere überhaupt nicht erkrankten.

Dieses Verhalten spricht auch gegen die Möglichkeit, daß es sich um Infektionen mit dem abgeschwächten Virus fixe der Schutzimpfung gehandelt haben könnte, denn, wie bereits erwähnt, kehrt seine kurze Inkubation im Laufe weiterer Passagen sofort wieder. Endlich war auch die Krankheit bei den geimpften Tieren durchaus nicht immer ganz typisch, sondern entsprach mehr der sog. konsumptiven Wut, bei welcher Abmagerung, Fröñlust und wenig charakteristische Ataxien dem paralytischen Endstadium vorangehen. Das sind nun vollends Eigenschaften eines stark abgeschwächten Lyssavirus, welche PASTEUR bei der Überimpfung auf Affen beobachtet hat und wie sie nach der Passage durch das Huhn konstatiert worden sind. Schon PASTEUR betonte, daß die Abschwächung nach wenigen Passagen eintritt, daß sie dauernd ist und auch bei der Übertragung auf hochempfindliche Tiere, wie Kaninchen und Hunde, bestehen bleibt. Es kann demnach kein Zweifel bestehen, daß wir es hier mit einem im menschlichen Organismus abgeschwächten Lyssavirus zu tun haben, welches *durch die Übertragung auf das hochempfindliche Kaninchen eben noch zur pathogenen Entfaltung gebracht und dadurch nachgewiesen werden konnte.* Damit würde die Beobachtung PALTAUF'S übereinstimmen, daß die Verimpfung der Nerven aus der Gegend der Verletzung zu negativen Ergebnissen führte, während sie bei der Lyssaerkrankung erfolgreich ist, wie auch das Fehlen NEGRISCHER Körperchen, welche bei der Lyssa humana sonst konstant gefunden werden. Aus diesen Befunden wurde der Schluß gezogen, daß das Wutvirus beim Menschen nach der Verletzung ebenso wie bei Versuchstieren in die nervösen Erfolgsorgane gelangt. Während es aber im Tierexperiment gesetzmäßig zur pathogenen Auswirkung kommt, wird es im Gehirn und Rückenmark des Menschen abgeschwächt und geht schließlich zugrunde. Dabei erliegt es nicht einer direkten Zerstörung durch rabizide Substanzen, die im Serum normaler Menschen nicht oder nur in sehr beschränktem Umfange nachgewiesen werden konnten, sondern einer allmählichen Abschwächung wie im Organismus der wenig empfänglichen Affen und Hühner, in deren Serum ja auch keine viruliziden Stoffe entdeckt wurden. Der Vorgang dürfte so häufig erfolgen, daß darin die Erklärung für das so paradoxe Mißverhältnis zwischen der offensichtlich geringen Empfänglichkeit und der stets letal verlaufenden Krankheit liegt (R. PALTAUF); der größte Teil der von wütenden Tieren gebissenen Menschen macht also eine latente Lyssainfektion durch.

Literaturverzeichnis.

- ANDREWES, C. H.: (1) A study of virus III. J. Path. a. Bacter. **31**, 461 (1928).
 — (2) Virus diseases of rabbits and guineapigs. System Bacter. **7**, 308 (1930).
 — (3) Latent virus infections and their possible relevance to the cancer problem. Proc. Soc. Med., Lond. **33**, 75 (1939).
 ANDREWES, C. H., P. P. LAIDLAW and W. SMITH: The susceptibility of mice to the viruses of human and swine influenza. Lancet **1934**, 859.
 ANDREWES, C. H. and C. P. MILLER: A filtrable virus infection of rabbits. II. Its occurrence in apparently normal rabbits. J. exper. Med. (Am.) **40**, 789 (1924).

- ANGEVINE, D. M.: Diskussionsbemerkung. Third international congress for microbiology, New York, 1939, S. 183 (1940).
- ARMSTRONG, C.: (1) The experimental transmission of poliomyelitis to the eastern cotton rat, *Sigmodon hispidus hispidus*. Publ. Health Rep. (Am.) **54**, 1719 (1939).
— (2) Successful transfer of the LANSING strain of poliomyelitis virus from the cotton rat to the white mouse. Publ. Health Rep. (Am.) **54**, 2302 (1939).
- ARMSTRONG, C. and P. F. DICKENS: Benign lymphocytic choriomeningitis (acute aseptic meningitis) a new disease entity. Publ. Health Rep. (Am.) **50**, 831 (1935).
- ARMSTRONG, C. and R. D. LILLIE: Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. Publ. Health Rep. (Am.) **49**, 1019 (1934).
- ARMSTRONG, C. and J. G. WOOLEY: Studies on the origin of a newly discovered virus which causes lymphocytic choriomeningitis in experimental animals. Publ. Health Rep. (Am.) **50**, 537 (1935).
- BEEUWKES, H.: Über eine Viruskrankheit des Meerschweinchens. Schweiz. Z. allg. Path. u. Bakter. **3**, 65 (1940).
- BELLER, K. u. E. TRAUB: Stand und Aussichten der Erforschung des ansteckenden Katarrhs der Luftwege beim Pferd. Z. Vet. med. **53**, 88 (1941).
- BIELING, R. u. L. OELRICHS: Spontane grippeartige Erkrankung des Frettchens. Behringwerk-Mitteilungen, H. 9, S. 47 (1938).
- BOECKER, E.: Tollwut. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 217. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- BRODIE, M.: Attempts to produce poliomyelitis in refractory laboratory animals. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 852 (1935).
- BURNET, F. M.: A virus disease of the canary of the fowl pox group. J. Path. **37**, 107 (1933).
- BURNET, F. M. and D. LUSH: The immunological relationship between KIKUTH's canary virus and fowl pox. Brit. J. exper. Path. **17**, 302 (1936).
- CLAMPIT, J. M. and F. B. GORDON: Recovery of influenza virus from the Chicago epidemic. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 747 (1936).
- COLE, R. and A. G. KÜTTNER: A filtrable virus present in the submaxillary glands of guinea-pigs. J. exper. Med. (Am.) **44**, 855 (1926).
- DOCHEZ, A. R., K. C. MILLS and Y. KNEELAND jr.: Studies on the etiology of influenza. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **30**, 101 (1932/33).
- DOCHEZ, A. R., K. C. MILLS and B. MULLIKEN: A virus disease of Swiss mice transmissible by intranasal inoculation. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 683 (1937).
- DOCHEZ, A. R., G. S. SHIBLEY and K. C. MILLS: (1) A study of acute infection of the respiratory tract in ape. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **26**, 562 (1929).
— (2) Studies on the common cold. IV. Experimental transmission of the common cold to anthropoid apes and human beings by means of a filtrable agent. J. exper. Med. (Am.) **52**, 781 (1931).
- DOERR, R.: (1) Die Lehre von den Infektionskrankheiten in allgemeiner Darstellung. Lehrbuch der inneren Medizin, 3. Aufl., S. 67. Berlin: Springer, 1936.
— (2) Wanderungen von Toxin und Virus in peripheren Nerven. Schweiz. med. Wschr. **67**, 329 (1937).
— (3) Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik. Handbuch der Virusforschung I. Wien: Springer, 1938.
— (4) Die Virusarten als infektiöse Agenzien. Handbuch der Virusforschung **2**, 547. Wien: Springer, 1939.
— (5) Die Impermeabilität der Blut-Hirnschranken in der Infektionspathologie. Schweiz. med. Wschr. **70**, 504 (1940).
— (6) Die Infektion als Gast-Wirtbeziehung mit besonderer Berücksichtigung der tierpathogenen Virusarten. Arch. Virusforsch. **2**, 87 (1941).
— (7) Herpes und Encephalitis. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **97**, 76*, Ref. (1926).
- DOERR, R. u. W. GRÜNINGER: Studien zum Bakteriophagenproblem. Z. Hyg. **97**, 209 (1923).

- DOERR, R., S. SEIDENBERG u. L. WHITMAN: Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest. IV. Z. Hyg. **112**, 732 (1931).
- DOERR, R. u. S. SEIDENBERG: Die Konkurrenz von Virusinfektionen im Zentralnervensystem (Phänomen von FL. MAGRASSI). Z. Hyg. **119**, 135 (1937).
- DREGUSS, M.: Versuche zum direkten Nachweis des Influenzavirus durch Impfung von Hamstern und Mäusen. Arch. Virusforsch. **2**, 306 (1942).
- ECKSTEIN, A.: (1) Epidemische Meningitis serosa. Klin. Wschr. **10**, 22 (1931).
— (2) Epidemische Meningitis serosa. Z. Kinderhk. **50**, 564 (1931).
- EYER, H.: Virus III. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 454. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- FINDLAY, G. M., N. S. ALCOCK and R. O. STERN: The virus etiology of one form of lymphocytic meningitis. Lancet **1936**, 650.
- FINDLAY, G. M. and F. O. MACCALLUM: An interference phenomenon in relation to yellow fever and other viruses. J. Path. a. Bacter. **44**, 405 (1937).
- FINDLAY, G. M., EMMY KLIENEBERGER, F. O. MACCALLUM and R. D. MACKENZIE: Rolling disease. New syndrome in mice associated with a pleuropneumonia-like organism. Lancet **1938**, 1511.
- FINDLAY, G. M. and R. O. STERN: Pathological changes due to infection with the virus of lymphocytic choriomeningitis. J. Path. **43**, 327 (1936).
- FLEXNER, S. and H. L. AMOSS: The relation of the meninges and choroid plexus to poliomyelitic infection. J. exper. Med. (Am.) **25**, 525 (1917).
- FRANCIS, TH. jr. and F. P. MAGILL: (1) Direct transmission of human influenza-virus to mice. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 132 (1937).
— (2) An unidentified virus producing acute meningitis and pneumonitis in experimental animals. J. exper. Med. (Am.) **68**, 147 (1938).
- FRANCIS, TH. jr. and A. E. MOORE: A study of the neurotropic tendency in strains of the virus of epidemic influenza. J. exper. Med. (Am.) **72**, 717 (1940).
- FUST, B.: (1) Eine Kaninchenpocken-Epizootie und Untersuchungen über die immunologischen Beziehungen zwischen Kaninchenpocken, Vaccine und einem durch Hoden-Blindpassagen gewonnenen übertragbaren Agens. Arch. Virusforsch. **1**, 313 (1940).
— (2) Tuberkulöse Meningitis nach intracisternaler Injektion von Tuberkelbazillen; anatomische Fernwirkung des meningealen Infektes. Z. Hyg. **120**, 128 (1938).
- GAEDE, H.: Über die Natur des KIKUTHschen Kanarienvogelvirus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **135**, 342 (1935/36).
- GARD, S.: Encephalomyelitis of mice. II. A method for the measurement of virus activity. J. exper. Med. (Am.) **72**, 69 (1940).
- GAVRILOV, W. et A. FESTER: Etude du virus de la poliomyélite. Arch. Virusforsch. **1**, 404 (1940).
- GEIGER, W.: Hundestaupe. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 365. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- GILDEMEISTER, E. u. I. AHLFELD: Über eine bei der weißen Maus spontan aufgetretene Meningo-Encephalomyelitis. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **142**, 144 (1938).
- GILDEMEISTER, E. u. G. HEUER: Untersuchungen über die Entstehung des von ALDERSHOFF und PONDMAN beschriebenen Neurocidins. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **111**, 151 (1929).
- GÖNNERT, R.: (1) Die Bronchopneumonie, eine neue Viruskrankheit der Maus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **147**, 161 (1941).
— (2) Über ein neues, dem Erreger des Lymphogranuloma inguinale ähnliches Mäusevirus. Klin. Wschr. **1941**, 76.
— (3) Über einige Eigenschaften des Bronchopneumonievirus der Maus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **148**, 331 (1942).
— (4) Weitere Untersuchungen über die Ektromelie. Zbl. Bakter. usw., I. Orig. **148**, 294 (1942).
- GORDON, F. B., G. FREEMAN and J. M. CLAMPIT: A pneumonia-producing filtrable agent from stock mice. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **39**, 450 (1938).

- GROSS, W. O.: (1) Eine Mäusepneumonie und ihr Erreger „Schandau“. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 366 (1942).
- (2) Der Mäusepneumonieerreger „Greifswald“. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 380 (1942).
- (3) Der Ursprung des von HERZBERG und GROSS auf Mäuselungen isolierten Erregers „Ib“. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 389 (1942).
- (4) Erwägungen zur Isolierung eines Virus vom Menschen auf die Lunge der Maus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 396 (1942).
- HAAGEN, E.: Die Papageienkrankheit (Psittacosis). Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 1. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- HAAGEN, E. und DU DSCHENG-HSING: Versuche mit einem in Deutschland isolierten Influenzavirusstamm. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **144**, 345 (1939).
- HAAGEN, E. u. G. MAUER: Epidemische Influenza des Menschen. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 25. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- HAAS, V. H. and CH. ARMSTRONG: Immunity to the LANSING strain of poliomyelitis as revealed by the protection test in white mice. Publ. Health Rep. (Am.) **55**, 1061 (1940).
- HALLAUER, C.: Die erworbene Immunität gegen Virusinfektionen. Handbuch der Virusforschung **2**, 1147. Wien: Springer, 1939.
- HAMMON, MACDOWELL, W.: Attempts to propagate poliomyelitis-virus through serial passage in cotton rats by „spreading factor of DURAN-REYNALS“. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **45**, 124 (1940).
- HAMMON, MACDOWELL, W. and E. M. IZUMI: Armstrong mouse adapted poliomyelitis virus: effect of pH of inoculum and of „enteritis organism filtrat“. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **48**, 579 (1941).
- HARFORD, C. G. and J. BRONFENBRENNER: Serum protection tests with the LANSING strain of murine poliomyelitis virus. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **47**, 211 (1941).
- HEINZMANN, K.: Über einen neuen, bei Mäuseübertragungsversuchen in der weißen Maus gefundenen Erreger. Klin. Wschr. **1941**, 910.
- HERZBERG, K.: (1) Kultur und mikroskopische Darstellung des von KIKUTH beschriebenen Vogelvirus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **130**, 183 (1933/34).
- (2) Untersuchungen über Influenza. III. Darstellung des filtrierbaren Pneumonieerregers. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **146**, 177 (1940).
- (3) Kultur des filtrierbaren Mäusepneumonieerregers „Ib“. IV. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 362 (1942).
- (4) Mikroskopische Darstellung des filtrierbaren Mäusepneumonieerregers „Greifswald“. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **149**, 386 (1942).
- HERZBERG, K. u. W. GROSS: Untersuchungen über Influenza. II. Isolierung eines filtrierbaren Pneumonieerregers durch den Mäuseversuch. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **146**, 129 (1940).
- HOFMANN, W.: Weitere Untersuchungen über den Neurotropismus des Maul- und Klauenseuchevirus. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **148**, 69 (1941).
- HORNUS, G. et P. THIBAUT: Ectromelie de la souris après inoculation de sang humain. C. r. Soc. Biol. **130**, 640 (1939).
- HORSFALL, F. L. jr. and R. G. HAHN: A pneumonia-virus of Swiss mice. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **40**, 684 (1939).
- HORSFALL, F. L., R. G. HAHN and E. R. RICKARD: Four recent influenza epidemics: an experimental study. J. clin. Invest. (Am.) **19**, 379 (1940).
- HORSTER, H.: Über den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Wirksamkeit und die Zunahme des übertragbaren Lysins. Z. Hyg. **112**, 178 (1931).
- HOSKINS, M.: A protective action of neurotropic against viscerotropic yellow fever virus in macacus rhesus. Amer. J. trop. Med. **15**, 675 (1935).
- IMAMURA, A., H. ONO, T. ENDO and I. KAWAMURA: (1) Studies on the etiology of scarlet fever. I. Jap. J. of exper. Med. **12**, 601 (1934).
- (2) Studies on the etiology of scarlet fever. II. Jap. J. of exper. Med. **13**, 341 (1935).
- JACKSON, L.: An intracellular protozoan parasite of the ducts of the salivary glands of the guinea-pig. J. infect. Dis. (Am.) **26**, 347 (1920).

- JUNGBLUT, C. W. and M. SANDERS: (1) Isolation of a murine neurotropic virus by passage of monkey poliomyelitis virus to cotton rats and white mice. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **44**, 375 (1940).
- (2) Studies of a murine strain of poliomyelitis virus in cotton rats and white mice. J. exper. Med. (Am.) **72**, 407 (1940).
- (3) Transmission of a murine strain of poliomyelitis virus to guinea pigs and rhesus monkeys. J. amer. med. Assoc. **116**, 2136 (1941).
- KIKUTH, W.: Über ein filtrierbares Virus bei einer übertragbaren Kanarienvogelkrankheit. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **127**, 185 (1933).
- KIKUTH, W. u. R. GÖNNERT: Erzeugung von Ektromelie durch Provokation. Arch. Virusforsch. **1**, 295 (1940).
- KIKUTH, W. u. H. GOLLUB: Versuche mit einem filtrierbaren Virus bei einer übertragbaren Kanarienvogelkrankheit. Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **125**, 313 (1932).
- KING, LESTER, S.: Experimental encephalitis. Some factors affecting infection with certain neurotropic viruses. J. exper. Med. (Am.) **72**, 573 (1940).
- KÖBE, K.: (1) Die Ätiologie der Ferkelgrippe (enzootische Pneumonie des Ferkels). Zbl. Bakter. usw. I. Orig. **129**, 161 (1933).
- (2) Die Ferkelgrippe. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1934**, 603.
- (3) Schweineinfluenza und Ferkelgrippe. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 70. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- (4) Die infektiöse Bronchitis des Rindes. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 101. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- (5) Der seuchenhafte Husten (infektiöse Bronchitis) des Pferdes. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 93. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- KOPPISCH, E.: Zur Wanderungsgeschwindigkeit neurotroper Virusarten in peripheren Nerven. Z. Hyg. **117**, 386 (1936).
- KRAMER, S. D.: Protection in white mice with human convalescent serum against infection with poliomyelitis virus (ARMSTRONG strain). Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **48**, 287 (1941).
- KRAMER, S. D., W. N. MACK and A. T. HIMES: The use of a variety of laboratory techniques in efforts to establish seven strains of poliomyelitis virus in the cotton rat. Publ. Health Rep. (Am.) **56**, 581 (1941).
- KREIS, B.: La maladie d'ARMSTRONG. Paris: J. B. Baillière et Fils, 1937.
- LAIGRET, J. et R. DURAND: Virus isolé des souris et retrouvé chez l'homme au cours de la vaccination contre la fièvre jaune. C. r. Acad. Sci. **203**, 282 (1936).
- LANDSTEINER, K. u. E. POPPER: Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. Z. Immunit.forsch. **2**, 377 (1909).
- LÉPINE, P., P. MOLLARET et B. KREIS: Réceptivité de l'homme au virus murin de la chorioméningite lymphocytaire bénigne. C. r. Acad. Sci. **204**, 1846 (1937).
- LÉPINE, P. et V. SAUTTER: Existence en France du virus murin de la chorioméningite lymphocytaire. C. r. Acad. Sci. **202**, 1624 (1936).
- LEVADITI, C.: Taille du virus poliomyélique souche LANSING mesurée d'après les données fournies par l'ultrafiltration. C. r. Soc. Biol. **136**, 96 (1942).
- LEVADITI, C., R. MARTIN, R. SCHOEN et ROUESSE: Etude expérimentale de la fièvre scarlatine. Presse méd. **1936**, 1369.
- LILLIE, R. D. and C. ARMSTRONG: The pathology of poliomyelitis experimentally induced in the eastern cotton rat, *Sigmodon hispidus hispidus*. Publ. Health Rep. (Am.) **55**, 115 (1940).
- MACCARTNEY, I. E.: Attempts to demonstrate a virus as the etiological agent of scarlet fever. Amer. Rep. Metr. Asyl. Board **1925**, 152.
- MAGRASSI, FL.: (1) Studii sull'infezione e sull'immunità da virus erpetico. II. Z. Hyg. **117**, 501 (1935).
- (2) Studii sull'infezione e sull'immunità da virus erpetico. III. Z. Hyg. **117**, 573 (1935).
- MAHAFFY, LLOYD and PENNA: Two years' experience with the intraperitoneal protection test in mice in epidemiological studies of yellow fever. Amer. J. Hyg. **18**, 618 (1933).

- MARCHAL, J.: Infectious ectromelia. *J. Path.* **33**, 713 (1930).
- MEYER, K. F.: Pigeons and barn yard fowls as possible sources of human psittacosis or ornithosis. *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 1377 (1941).
- MEYER, K. F. and B. EDDIE: Spontaneous ornithosis (psittacosis) in chickens the cause of human infection. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **49**, 522 (1942).
- MEYER, K. F., B. EDDIE and H. Y. YANAMURA: Ornithosis (psittacosis) in pigeons and its relation to human pneumonitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **49**, 609 (1942).
- MILLER, C. P., C. H. ANDREWES and H. R. SWIFT: A filtrable virus infection of rabbits. I. Its occurrence in animals inoculated with rheumatic fever material. *J. exper. Med. (Am.)* **40**, 773 (1924).
- MOLLARET, P. (avec collaboration de G. M. FINDLAY): Etude étiologique et microbiologique d'un cas de méningo-encéphalite au cours de la séro-vaccination anti-amarile. *Bull. Soc. Path. exot.* **29**, 177 (1936).
- MUCKENFUSS, R. S., C. ARMSTRONG and H. A. MACCORDOCK: Encephalitis: Studies on experimental transmission. *Publ. Health Rep. (Am.)* **48**, 1341 (1933).
- NAGEL, H. C.: Untersuchungen über das Verhalten des Maul- und Klauenseuche-Virus im Zentralnervensystem kleiner Versuchstiere. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **45**, 624 (1937).
- NUNGESTER, W. J.: Results of inoculation of poliomyelitis virus into mice. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **30**, 1128 (1933).
- OHTAWARA, T.: Experimental studies on the process of formation of vaccinal immunity. Especially on the invasion of the cutan inserted vaccine virus into the blood circulation I. *Sci. Rep. Inst. infect. Dis. Univ. Tokyo* **1**, 203 (1922).
- OLITSKY, P. K.: (1) Viral effect produced by intestinal contents of normal mice and those of having spontaneous encephalomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **41**, 434 (1939).
- (2) Further studies of the agent in intestines of normal mice which induces encephalomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **43**, 296 (1940).
- (3) A transmissible agent (THEILER'S virus) in the intestines of normal mice. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 113 (1940).
- PALTAUF, R.: Zur Pathologie der Wutkrankheit des Menschen. *Wien. klin. Wschr.* **22**, 1023 (1909).
- PATOČKA, F.: Über eine erfolgreiche Übertragung des Poliomyelitisvirus vom Menschen auf das Frettchen. *Zbl. Bakter. usw. I. Orig.* **148**, 15 (1941).
- RIVERS, T. M. and W. S. TILLET: (1) Studies on varicella. The susceptibility of rabbits to the virus of varicella. *J. exper. Med. (Am.)* **38**, 673 (1923).
- (2) Further observations on the phenomena encountered in attempting to transmit varicella to rabbits. *J. exper. Med. (Am.)* **39**, 777 (1924).
- (3) The lesions in rabbits experimentally infected by a virus encountered in the attempted transmission of varicella. *J. exper. Med. (Am.)* **40**, 281 (1924).
- RIVERS, T. M. and T. F. MCNAIR SCOTT: (1) Meningitis in man caused by a filtrable virus. *Science* **81**, 439 (1935).
- (2) Meningitis in man caused by a filtrable virus. II. Identification of the etiological agent. *J. exper. Med. (Am.)* **63**, 415 (1936).
- RIVERS, T. M. and F. W. STEWART: Virus III encephalitis. *J. exper. Med. (Am.)* **48**, 603 (1928).
- ROSSI, P.: La broncho-pneumonie infectieuse ou influenza des bovidés ne serait-elle pas due à un virus filtrant? *C. r. Soc. Biol.* **125**, 104 (1937).
- RUPPERT, R. u. W. COLLIER: Über ultraviolette Krankheitserreger. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1927**, 861.
- SABIN, A. B.: (1) Isolation of a filtrable, transmissible agent with „neurolytic“ properties from toxoplasma-infected tissues. *Science* **88**, 189 (1938).
- (2) Filtrable mesenchymotropic microorganisms producing polyarthritides and choreiform syndroms in mice. Third international congress for microbiology, New York, 1939, S. 182 (1940).

- SABIN, A. B. and J. WARREN: The therapeutic effectiveness of a practically nontoxic new compound (calcium aurothiomalate) in experimental, proliferative, chronic arthritis of mice. *Science* **92**, 535 (1940).
- SAWYER u. LLOYD: The use of mice in tests of immunity against yellow fever. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 535 (1931).
- SCHOEN, R.: La pneumopathie lymphogranulomateuse expérimentale des souris blanches. Transmission de l'infection par voie nasale. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **65**, 336 (1940).
- SCOTT, T. F. MACNAIR and T. M. RIVERS: Meningitis in man caused by a filtrable virus. I. Two cases and the method of obtaining a virus from their spinal fluids. *J. exper. Med. (Am.)* **63**, 397 (1936).
- SHIBLEY, G. S., K. C. MILLS and A. R. DOCHEZ: Further considerations of transmissibility of human upper respiratory infections (common cold) to the ape. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **27**, 59 (1929).
- SHOPE, R. E.: (1) Swine influenza. I. Experimental transmission and pathology. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 349 (1931).
 — (2) Swine influenza. III. Filtration experiments and etiology. *J. exper. Med. (Am.)* **54**, 373 (1931).
 — (3) Studies on immunity to swine influenza. *J. exper. Med. (Am.)* **56**, 575 (1932).
 — (4) Swine influenza. V. Studies on contagion. *J. exper. Med. (Am.)* **59**, 201 (1934).
- SMITH, W. and C. H. STUART-HARRIS: Influenza infection of man from the ferret. *Lancet* **1936**, 121.
- STAFFORD, J.: Susceptibility of infantile paralysis. *Science* **92**, Nr. 2389 Suppl. 8 (1940).
- STUART-HARRIS, C. H.: (1) The transmission of influenza virus to hedgehogs. *Brit. J. exper. Path.* **17**, 324 (1936).
 — (2) A neurotropic strain of human influenza virus. *Lancet* **1939**, 497.
- TALIAFERRO, W. H. and L. G.: Alteration in the time of sporulation of plasmodium brasilianum in monkeys by reversal of light and dark. *Amer. J. Hyg.* **20**, 50 (1934).
- TAYLOR, R. M.: Experimental infection with influenza. A virus in mice. The increase in intrapulmonary virus after inoculation and the influence of various factors thereon. *J. exp. Med. (Am.)* **73**, 43 (1941).
- TAYLOR, R. M. and A. S. PARODI: Use of hamster (*Cricetus auratus*) for detection of influenza virus in throat washings. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **49**, 105 (1942).
- TECOZ, H.: La chorioméningite lymphocytaire. *Praxis* **30**, 898 (1941).
- THEILER, M.: (1) Spontaneous encephalomyelitis of mice — a new virus disease. *Science* **80**, 122 (1934).
 — (2) Spontaneous encephalomyelitis of mice, a new virus disease. *J. exper. Med. (Am.)* **65**, 705 (1937).
- THEILER, M. and S. GARD: (1) Encephalomyelitis of mice. I. Characteristics and pathogenesis of the virus. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 49 (1940).
 — (2) Encephalomyelitis of mice. III. Epidemiology. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 79 (1940).
- TOOMEY, J. A.: Accelerated production of poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **31**, 1015 (1934).
- TOOMEY, J. A. and K. R. PHELPS: Inoculation of mice with poliomyelitis virus. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **33**, 624 (1936).
- TOOMEY, J. A. and W. S. TAKACS: (1) Poliomyelitis in *Sigmodon hispidus littoralis* rats. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **43**, 536 (1940).
 — (2) Attempts to produce poliomyelitis in eastern cotton rats with FLEXNER's M. V. strain. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **45**, 364 (1940).
 — (3) Poliomyelitis virus acclimated to small laboratory animals. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **46**, 22 (1941).
 — (4) Further experiments with poliomyelitis virus in cotton rats. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **46**, 319 (1941).
- TRAUB, E.: (1) A filtrable virus recovered from white mice. *Science* **81**, 298 (1935).

- TRAUB, E.: (2) An epidemic in a mouse colony due to the virus of acute lymphocytic choriomeningitis. *J. exper. Med. (Am.)* **63**, 533 (1936).
- (3) Persistence of lymphocytic choriomeningitis virus in immune animals and its relation to immunity. *J. exper. Med. (Am.)* **63**, 847 (1936).
- (4) The epidemiology of lymphocytic choriomeningitis in white mice. *J. exper. Med. (Am.)* **64**, 183 (1936).
- (5) Factors influencing the persistence of choriomeningitis virus in the blood of mice after clinical recovery. *J. exper. Med. (Am.)* **68**, 229 (1938).
- (6) Choriomeningitis der Mäuse. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 355. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- (7) Ansteckender Katarrh der Luftwege im Pferdebestande einer Veterinärkompagnie. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1941**, 439.
- VERLINDE, J. D.: (1) Over de pathogenese van de encephalitis postvaccinalis. *M Schr. Kindergeneesk. (Nd.)* **9**, 368 (1940).
- (2) Fortsetzung der Untersuchungen über den Einfluß des Stoffwechsels auf die Entstehung der postvakzinalen Encephalitis. *Zbl. Bakter. usw. I. Orig.* **146**, 319 (1941).
- WALDMANN, O.: Epidemiologie und Bekämpfung der Ferkelgrippe. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1936**, 847.
- WALDMANN, O. u. K. KÖBE: (1) Der seuchenhafte Husten (infektiöse Bronchitis) des Pferdes. *Zbl. Bakter. usw. I. Orig.* **133**, 49 (1934).
- (2) Experimentelle Untersuchungen über die infektiöse Bronchitis des Rindes. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1935**, 2.
- WALLGREN, A.: (1) Une nouvelle maladie infectieuse du système nerveux central? *Méningite aseptique aiguë. Acta paediatr. (Schwd.)* **4**, 158 (1925).
- (2) Eine eigenartige Form von epidemischer Meningitis (Meningitis „aseptica“ acuta). *Wien. Arch. inn. Med.* **12**, 297 (1926).
- WOOLEY, J. G., C. ARMSTRONG and R. H. ONSTOTT: The occurrence in the sera of man and monkeys of protective antibodies against the virus of lymphocytic choriomeningitis as determined by the serum-virus protection test in mice. *Publ. Health Rep. (Am.)* **52**, 1105 (1935).
- ZWICK, W.: (1) Die BORNASche Krankheit. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 254. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- (2) Die seuchenhafte Encephalomyelitis der Pferde in Argentinien. *Handbuch der Viruskrankheiten* **2**, 334. Jena: Gustav Fischer, 1939.
- ZWICK, W., O. SEIFRIED und J. WITTE: Weitere Beiträge zur Erforschung der BORNASchen Krankheit des Pferdes. *Arch. Tierheilk.* **59**, 511 (1929).

Vierter Abschnitt.

Die Chemotherapie der durch Virusarten hervorgerufenen Infektionskrankheiten.

Von

R. DOERR, Basel.

Im Gegensatze zu den Infektionsprozessen, welche durch Protozoën, Spirochäten oder Bakterien hervorgerufen werden, hat die chemische Prophylaxe und Therapie virusbedingter Krankheiten nur sehr wenige anerkannte Erfolge aufzuweisen. Wer — der herrschenden Strömung folgend — die Virusarten als eine biologisch einheitliche Gruppe auffaßt, wird naturgemäß geneigt sein, das refraktäre Verhalten dieser infektiösen Agenzien gegen chemotherapeutisch aktive Substanzen auf gemeinsame Eigenschaften zurückzuführen, z. B. auf die Vermehrung im Binnenraum von Wirtszellen, auf die makromolekulare Beschaffenheit der Viruselemente oder auf die Unfähigkeit gelöster Stoffe, in das Innere dieser Elemente einzudringen (A. S. McFARLANE, M. G. MACFARLANE, C. R. AMIES und G. H. EAGLES). Dieser Standpunkt, der zu einem vorzeitigen Verzicht führen könnte, ist jedoch nicht berechtigt. Die biologische Einheitlichkeit der Virusarten läßt sich im Hinblick auf die Forschungsergebnisse der letzten Jahre nicht mehr aufrechterhalten (siehe S. 6f.); selbst wenn man an der unwahrscheinlich gewordenen Fiktion festhalten wollte, daß das Wort „Virus“ ein in sich geschlossenes, scharf abgegrenztes und homogenes Reich vermehrungsfähiger Wirkstoffe umspannt, könnte man damit das fast vollständige Versagen der Chemotherapie auf diesem Gebiete nicht erklären. Es hat sich bei den parasitischen Protozoën, Spirochäten und Bakterien immer wieder gezeigt, daß selbst nahe verwandte Mikroben „in vitro“ und namentlich auch „in vivo“ auf ein und dieselbe Substanz ganz verschieden reagieren. Die asexuellen Formen der Malariaplasmodien verhalten sich gegen Chinin, Atebrin, Plasmochin und Certuna anders als die Gameten und die Gameten der Tertiana und Quartana unterscheiden sich wieder von jenen der Tropica. Man kennt allerdings Verbindungen, deren therapeutischer Wirkungsbereich einen größeren Umfang hat und sich vorzugsweise auf Infektionen mit untereinander verwandten Mikroben erstreckt, wie z. B. die spirochätiziden Arsenpräparate und die antibakteriellen Sulfanilamide; doch deckt sich auch in diesen Fällen der Wirkungsbereich nie völlig mit bestimmten Kategorien der Mikrobensystematik und oft genug entscheidet über die chemotherapeutische Beeinflußbarkeit des Erregers nicht seine Artzugehörigkeit, sondern spezielle, seiner „Rasse“ anhaftende Eigenschaften.

Die *Möglichkeit* der Entdeckung von chemotherapeutischen Mitteln, deren Aktivität sich gegen eine größere Zahl virusbedingter Krankheiten, wenn auch sicher nicht gegen alle, richten würde, kann nicht bezweifelt werden; wenn sie

sich bisher nicht realisiert hat, braucht die Ursache durchaus nicht in der Sonderstellung der Virusarten zu liegen, ebensowenig wie die chemotherapeutische Unzugänglichkeit der bakteriellen Infektionen, wie sie bis 1935 de facto bestand, den Schluß gerechtfertigt hätte, daß die Natur des bakteriellen Infektes ihn zu einem a priori aussichtslosen Objekt stempelt. Wie die Dinge jetzt stehen, beschränken sich die chemotherapeutischen Bestrebungen im Virusgebiete auf Versuche, ob sich Substanzen, welche sich bei Prozessen anderer Ätiologie bereits bewährt haben, nicht auch hier mit Vorteil verwenden lassen — ein Weg, den man ja auch sonst sehr häufig eingeschlagen hat (wie beispielsweise bei der Abtastung des Wirkungsbereiches der Chininderivate) und der ganz im Charakter dieses so eminent empirischen Forschungszweiges liegt. Insbesondere mußte die Vielseitigkeit der antibakteriellen Aktivität der Sulfanilamide als Ansporn wirken, über diese Grenzen noch hinauszugehen und einen Exkurs in den Bereich der virusbedingten Infektionen zu wagen, wobei vielleicht auch die Unsicherheit über die Natur und Einheitlichkeit der Virusarten förderlich war, indem sie manche Hemmung hinweggeräumt haben mag. In der Tat konnten durch Derivate des Sulfanilamids einige positive Resultate erzielt werden, welche nicht einfach als Produkte optimistischer Selbsttäuschung aufzufassen sind und die außerdem die mit anderen Verbindungen erreichten Ergebnisse erheblich überragen. In theoretischer Hinsicht gibt gerade die Therapie virusbedingter Infekte mit Sulfanilamiden Anlaß zu interessanten Überlegungen, so daß es sich auch aus diesem Grunde empfiehlt, dieses Kapitel in den Vordergrund zu stellen und das wenige, was sonst noch bekannt ist, anhangsweise zu behandeln.

Ein bloßer Bericht über das umfangreiche Schrifttum, welches die Therapie von Viruskrankheiten mit Sulfanilamiden betrifft, würde den Tendenzen des Handbuches der Virusforschung nicht entsprechen. Um der theoretischen Bedeutung des Themas gerecht zu werden, mußte dem speziellen, nach einzelnen Krankheiten geordneten Teil eine *allgemein gehaltene Darstellung der Geschichte, Theorie und Methodik der Chemotherapie mit Sulfanilamiden* vorangestellt werden. Es existieren zwar schon zahlreiche, zum Teil sehr eingehende Abhandlungen über dieses Gebiet; sie sind jedoch vorwiegend klinisch orientiert und beschäftigen sich fast ausschließlich mit den durch Bakterien hervorgerufenen Infektionen. Hier soll hingegen die Sulfanilamidtherapie der bakteriellen Prozesse als Modell dienen, aus welchem die für die Virusinfektionen wichtigen Gesichtspunkte abgeleitet werden können, und dieser Zweck wird den Umfang und Inhalt der allgemeinen Auseinandersetzungen bestimmen.

I. Die Sulfanilamidtherapie.

A. Allgemeiner Teil.

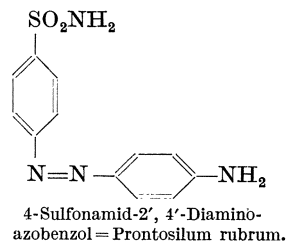
1. Beginn und Werdegang.

Die Auswirkungen der ersten Veröffentlichungen von G. DOMAGK über die therapeutische Beeinflussung experimenteller Streptokokkeninfektionen durch sulfonamidhaltige Azoverbindungen (Dtsch. med. Wschr. 1935, 250, und Angew. Chemie 48, 657, 1935) setzten nach einer überraschend kurzen „Inkubationsperiode“ ein und haben in den folgenden acht Jahren einen — auch für unsere Zeit und für Probleme der chemischen Beherrschung infektiöser Prozesse — erstaunlichen Umfang angenommen. Zwei Motive waren für diese stürmische und vorwiegend extensive Entwicklung maßgebend: die Vielzahl der nächsten erreichbaren Ziele und die Unmöglichkeit, das empirische Vorgehen im erwünschten Ausmaß durch eine rationale Erschließung des eroberten Neulandes zu ersetzen.

G. DOMAGK hatte sich schon seit langer Zeit mit der Chemotherapie bakterieller Infektionen beschäftigt und nach seiner eigenen Aussage [siehe G. DOMAGK und C. HEGLER (1), S. 1] Präparate von sehr verschiedener chemischer Beschaffenheit (Goldverbindungen, organische Arsen-, Antimon- und Zinnverbindungen) geprüft, war aber von den Ergebnissen nicht befriedigt, zum Teil weil die Streptokokkeninfektion der weißen Maus auf diese Substanzen nicht stark genug reagierte, zum Teil weil Nebenwirkungen beobachtet wurden, welche eine praktische Verwendung beim Menschen ausschlossen. DOMAGK wandte sich daher, an der grundsätzlichen Lösbarkeit der Aufgabe festhaltend, metallfreien organischen Verbindungen zu, und zwar den Azo- und Acridinverbindungen, stieß aber hier auf die Tatsache, daß die Stoffe, die er zunächst untersuchte, zwar *in vitro* noch in höheren Verdünnungen bakterizid und bakteriostatisch wirkten, daß sie dagegen im Tierversuch fast vollständig versagten. Schließlich fand er aber in dem von MIETZSCH und J. KLARER in den Laboratorien der I. G. Farbenindustrie synthetisierten Prontosilum rubrum (dem salzsauren Salz des 4-Sulfonamid-2',4'-Diaminoazobenzols¹) und dem Prontosil solubile (Dinatriumsalz der 4'-Sulfonamido-phenylazo-7-acetylamino-1-oxynaphthalin-3,6-disulfosäure¹) zwei Azofarbstoffe, bei welchen sich das Verhältnis zwischen der abtötenden Wirkung auf Kulturstreptokokken und der antagonistischen Beeinflussung von Streptokokkeninfektionen lebender Tiere (Mäuse und Kaninchen) durchaus zugunsten des therapeutischen Effekts verschob, wozu sich als wichtige Eigenschaft eine relativ geringe Toxizität hinzugesellte.

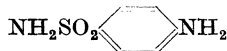
Die Entdeckung der chemotherapeutischen Leistungen der Prontosilpräparate war der erste erfolgreiche Schritt auf einer Bahn, zu welcher R. KOCH, G. BACCCELLI, E. v. BEHRING, J. MORGENROTH u. a. vergeblich Zutritt gesucht hatten (vgl. hierzu die Abhandlung von E. FOURNEAU), und sie ist bis heute die Voraussetzung für alle weiteren Fortschritte auf diesem Gebiete geblieben, nicht etwa nur in historischer Beziehung als ermutigender Impuls, sondern auch als Grundlage für die Bestrebungen, durch Variierung der chemischen Struktur die antinfektiöse Wirkung nach der quantitativen Seite zu steigern und nach der qualitativen durch Ausdehnung auf andere Bakterienarten zu erweitern.

Im Pasteur-Institut wurden die Angaben DOMAGKS von C. LEVADITI und A. VAISMAN sowie von F. NITTI und D. BOVET sofort nachgeprüft und bestätigt. Unverzüglich wurde hier auch die naheliegende Frage in Angriff genommen, ob die beiden Prontosile mit ihrer immerhin komplizierteren Gesamtstruktur die eigentlichen Träger der Wirkung auf die Streptokokken seien. Da sich nun J. und Mme. J. TRÉFOUËL, F. NITTI und D. BOVET überzeugt hatten, daß einerseits andere Diazoverbindungen des Aminobenzolsulfamids mit verschiedenen Mono- und Polyphenolen dieselbe Eigenschaft besitzen, obwohl sie sich vom Prontosil in physikalischer und chemischer Beziehung unterscheiden, und daß andererseits die Substitution des p-Aminobenzolsulfamids durch Aminobenzamid, Aminobenzonitril, Phenetidin den Verlust der therapeutischen Wirkung zur Folge hat, kamen sie auf die Vermutung, daß das Prontosil im tierischen Organismus eine Reihe von Veränderungen durchmacht, deren erste in der Sprengung der doppelten Bindung des Prontosils bestehen könnte, wodurch



¹ Diese Lesarten sind den Abhandlungen von G. DOMAGK und C. HEGLER (1, 2) entnommen; sie weichen von den Bezeichnungen in der Tabelle I etwas ab, entsprechen aber selbstverständlich identischen Konstitutionsformeln.

das p-Aminobenzolsulfamid (Sulfanilamid)



als der eigentlich wirksame Stoff frei würde. In der Tat konnten die TRÉFOUËLS NITTI und BOVER schon in der Sitzung der Pariser biologischen Gesellschaft vom 23. November 1935 berichten, daß das salzsaure Sulfanilamid die Infektion von Mäusen oder Kaninchen mit hämolytischen Streptokokken ungefähr im gleichen Ausmaß abzubremsen vermag wie das Prontosilum rubrum. Die Bedeutung dieser Feststellung erblickten die französischen Autoren darin, daß ein so einfach gebautes Molekül, das an sich *nicht* zu den Farbstoffen gehört, eine Heilwirkung auf experimentelle Streptokokkeninfektionen entfaltet, und daß sich auf diese Weise ein Weg für die systematische Erforschung der chemotherapeutischen Leistungen eröffne, vergleichbar der Richtung, die sich beim Studium des fünfwertigen Arsens bereits bewährt hatte. Es wurde auch angekündigt, daß sich aus dem Sulfanilamid zahlreiche wirksame Derivate ableiten lassen.

Von dieser Möglichkeit wurde in der Folge ein ausgedehnter und zum Teil auch erfolgreicher Gebrauch gemacht. In der nachstehenden Tabelle sind die wichtigeren Präparate nach ihren Beziehungen zum Sulfanilamid geordnet, wobei als Grundlage die vor kurzem veröffentlichten Zusammenstellungen von R. MEIER und von J. DRUEY (mit einigen unwesentlichen Änderungen) benützt wurden.

In die nachstehende Tabelle sind nur jene Substanzen aufgenommen, welche sich in der praktischen Heilkunde durchzusetzen vermochten; von dem „Rennen nach dem besten Präparat“ vermittelt sie daher keine zutreffende Vorstellung. Wenn man aber aus einem Bericht von E. H. NORTHEY erfährt, daß bis zum April 1940 nicht weniger als 1300 Sulfonamidverbindungen synthetisiert wurden und daß diese Zahl jetzt auf mehr als 4000 gestiegen ist (P. LÄUGER und H. MARTIN), ist man im Bilde. Man kann aber zu diesem Resultat auch auf einem anderen Wege gelangen. Das p-Aminobenzolsulfamid, der einfachste Körper, von dem man ausgehen konnte, bot bereits durch seine beiden Seitenketten, durch ihre gegenseitige Stellung im Molekül und durch die Fülle der in ihnen durchführbaren Substitutionen eine fast unbegrenzte Variierungsmöglichkeit, wozu noch Substitutionen des H an den vier übrigen C-Atomen des Benzolringes hinzukamen. Und diese Möglichkeit mußte, soweit überhaupt Aussicht auf Erfolg vorhanden war, aus folgenden Gründen ausgeschöpft werden:

1. Die antagonistischen Wirkungen der ersten Präparate (Prontosil rubrum, Prontosil solubile, Sulfanilamid) auf experimentelle Infektionen der Laboratoriumstiere waren, obwohl sie alle bisherigen, d. h. mit anderen Stoffen erzielten Resultate in Schatten stellten, doch in mancher Hinsicht unbefriedigend.

2. Die Versuche, durch Änderungen der chemischen Struktur die Leistung zu steigern, wurden daher bald nach G. DOMAGKS erster Publikation von ihm selbst und anderen Autoren eingeleitet und lieferten schon nach kurzer Zeit eindeutige Ergebnisse, nicht bloß im Sinne einer Intensivierung der Dynamik bei Infektionen, auf welche schon die ersten Präparate starken Einfluß hatten, sondern auch in der Richtung, daß bisher schwer angreifbare Infekte mit großer Regelmäßigkeit gehemmt und geheilt werden konnten. Die von J. KLARER und MIETZSCH dargestellten Diseptale, insbesondere das Neo-Uliron und das Uliron C, wirken auf Gonokokken- und Meningokokken-Infektionen weit stärker als das Prontosil rubrum und die Einführung der N₁-heterocyklisch substituierten Sulfanilamide (Dagénan, Cibazol) bedeutete einen wesentlichen Fortschritt in der Bekämpfung der Pneumokokkeninfektionen.

Tabelle 1. Bis Ende Mai 1943 als wirksam erkannte Derivate des Sulfanilamids und verwandter Verbindungen.¹

<i>Grundkörper:</i>		
	p-Aminobenzol- sulfamid Sulfanilamid	Prontalbin
<i>Im Sulfamid-Stickstoff (N₁) durch einen Säurerest substituierte Derivate:</i>		
	N ₁ -Acetyl- sulfanilamid	Albucid
	N ₁ -(Dimethyl- acryloyl-) sulfanilamid	Irgamid
	N ₁ -3,4-Dimethyl- benzoylderivat des Sulfanilamids	Irgafen
<i>N₁-heterozyklisch substituierte Sulfanilamide:</i>		
	2-Sulfanilamido- thiazol, Sulfathiazol	Cibazol, Eleudron
	2-Sulfanilamido- 5-äthyl-thiodiazol	Globucid
	2 Sulfanilamido- 4-methyl-thiazol	Sulfamethyl- thiazol Ultraseptyl

¹ Die Bezeichnungen der Derivate des Sulfanilamids, welche in der Sulfonamidgruppe (SO₂NH₂) substituiert sind, als N₁-Derivate, und der in der Aminogruppe (NH₂) substituierten als N₄-Derivate stammt von M. L. CROSSLEY, NORTHEY und HULTQUIST. Auf dieselben Autoren ist auch der Ausdruck „Sulfanilyl“ zurückzuführen, womit das Radikal NH₂-C₆H₄-SO₂- gemeint ist. Das Radikal NH₂-C₆H₄-SO₂NH- kann als „Sulfanilylamino“ (oder „Sulfanilamido“) gelesen werden; das Cibazol kann man daher als 2-Sulfanilylaminothiazol oder — praktischer, wenn man die Herkunft vom Sulfanilamid zum Ausdruck bringen will — als 2-Sulfanilamido-thiazol bezeichnen. Heterozyklische Verbindungen sind bekanntlich ringförmige Verbindungen, bei denen der Ring im Gegensatz zu den homo- oder isozyklischen nicht ausschließlic aus Kohlenstoffatomen besteht, sondern noch andere Elemente enthält. Die in der Tabelle verwendete Numerierung der Stellen der heterozyklischen Ringe ist beim Cibazol eingetragen; der Ring ist somit hier wie bei den meisten aktiven Präparaten dieser Gruppe mit dem Sulfamidorest an der Stelle 2 verbunden (vgl. hierzu auch E. H. NORTHEY, S. 91 und K. A. JENSEN und KAI SCHMITH, S. 269 f.).

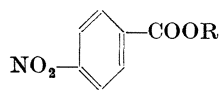
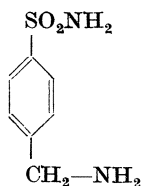
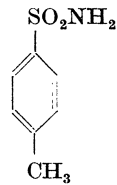
(Fortsetzung der Tabelle 1.)

	2-Sulfanilamido-5-methyl-thiodiazol-(1, 3, 4)	Lucosil
	2-Sulfanilamido-pyridin, Sulfapyridin	Dagénan (M + B 693, Eubasinum, Haptocil)
	2-Sulfanilamido-pyrimidin Sulfadiazin	Sulfadiazin Pyrimal
<i>Andere N₁-substituierte Derivate:</i>		
	Sulfanilyl-guanidin, Sulfaguanidin	Sulfaguanidin
<i>Gruppe der Diseptale:</i>		
	N ₁ -Dimethyl-N ₄ -sulfanilyl-sulfanilamid	Diseptal A, Uliron
	N ₁ -Methyl-N ₄ -sulfanilyl-sulfanilamid	Diseptal B, Neo-Uliron
	N ₄ -Sulfanilyl-sulfanilamid	Diseptal C, Uliron C, Disulon
<i>N₄-substituierte Derivate:</i>		
	2,4-Diaminoazo-benzol-4'-sulfonamid	Prontosil, Prontosil rubrum

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

	<p>4'-Sulfamido-phenyl-2-azo-7-acetylamino-1-Oxynaphthalin-3,6-disulfosaures Natrium</p>	<p>Prontosil solubile, Neoprontosil</p>
	<p>2,4-Diamino-6-carboxyazobenzol-4'-sulfonamid</p>	<p>Rubiazol</p>
	<p>N₄-Benzyl-sulfanilamid</p>	<p>Septazin</p>
	<p>N₄-(α, γ-Disulfo-γ-phenyl-propyl)-sulfanilamid, Di-Natriumsalz</p>	<p>Soluseptazin</p>
<i>Derivate des Diaminodiphenylsulfons:</i>		
	<p>Galaktosid des 4,4'-diaminodiphenyl-sulfons</p>	<p>Tibatin</p>
	<p>4,4'-Diaminodiphenylsulfon-N,N'-bis-glucosido-sulfosaures Natrium</p>	<p>Promin</p>
	<p>4,4'-Diacetyl-amino-Diphenyl-sulfon</p>	<p>Rodilon</p>

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

p-Nitrobenzoesäureester:		
	p-Nitrobenzoesäure-n-Hexylester	Amonal (der Name gilt für R = C ₁₂ H ₂₅ oder C ₆ H ₁₃)
	p-Aminomethylbenzol-sulfonamide, salzsaures Salz	Marfanil (früher als Mesudin bezeichnet)
	p-Methylbenzol-sulfonamid (p-Toluolsulfonamid) Natriumsalz	

3. Der Erfolg einer Veränderung der chemischen Konstitution konnte nicht vorausgesehen werden. Es stellte sich allerdings bald heraus, daß bestimmte Operationen zu einer starken Reduktion oder zum völligen Verlust der therapeutischen Wirksamkeit führen. So mußte z. B. die Parastellung beibehalten werden und Substitutionen ließen sich nur in den beiden, in dieser Stellung befindlichen Seitenketten des Sulfanilamids durchführen (N₁- und N₄-Derivate), aber nicht am Kern; ferner zeigte es sich, daß N₄-Derivate, in welchen der N der Aminogruppe durch Substitution von Alkyl-, Aryl- oder Sulfonyl-Radikalen blockiert wird, so daß die Aminogruppe im Organismus nicht mehr regeneriert werden kann, keine antiinfektiöse Aktivität entfalten. Aus diesen und anderen negativen Erfahrungen über „dystherapeutische“ Änderungen der chemischen Struktur, die selbst auch nur auf empirischem Wege gewonnen werden konnten, ergaben sich gewisse Einschränkungen in der Auswahl der noch zu prüfenden Varianten; sie wurden aber dadurch kompensiert, daß man in der Folge therapeutisch aktive Verbindungen auch durch mehr oder minder starke Abweichungen vom Typus des Sulfanilamids erhielt (Marfanil, p-Toluolsulfonamid, Amonal, Derivate des Diaminodiphenylsulfons), Verbindungen, welche eben durch ihre verschiedene chemische Struktur, zum Teil auch den Nachweis eines differenten Wirkungsmechanismus (K. A. JENSEN, KAI SCHMITH und P. BRANDT, A. GARDLIČIČ, H. TH. SCHREUS) neue Ausblicke eröffneten und den Kreis der Untersuchungen wieder erweiterten.

Drei Jahre vor dem Bekanntwerden der Entdeckung DOMAGKS hatte sich L. BENDA über die „Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung“ mit folgenden Worten geäußert: „Die ... Frage, ob wir heute chemotherapeutisch zielen können, wird *verneinend* beantwortet; denn nicht einer hohen Treffsicherheit, sondern einem ungeheuren Aufwand an Munition ist es zu danken, wenn einige gute Treffer erzielt worden sind. Deren Zahl ist im Verhältnis zu der Zahl der hergestellten Präparate außerordentlich klein. So wurden seit der Auffindung des Salvarsans über 6000 neue aromatische Arsenverbindungen synthetisiert und geprüft, von denen sich

noch nicht ein halbes Dutzend als wertvoll erwies. Andererseits erlebt man neben vielen Enttäuschungen bisweilen auch angenehme Überraschungen.“ Zum andern Male hat sich das, was hier so objektiv charakterisiert wird, beim Prontosil und seiner chemischen Gefolgschaft wiederholt. Es gibt allerdings Autoren, welche durch retrospektive Betrachtungen ein planmäßiges Lossteuern auf vor auszusehende Konjunkturen glaubhaft machen wollen, wie u. a. R. KUHN; aber die Art, wie man neuen Ergebnissen nachjagt, beweist das Gegenteil und gibt jenen Recht, welche die auch jetzt noch bestehende Unmöglichkeit, eine bestimmte Wirkung vor auszuberechnen, offen zugestehen (P. LÄUGER und H. MARTIN).

4. Schon im Tierexperiment, in verstärktem Ausmaß bei der Chemotherapie der spontanen Infektionen des Menschen, spielen außer der antiinfektiösen Wirkungsstärke der Präparate die unerwünschten Nebenwirkungen eine Rolle, die man, obwohl sie verschiedenartig bedingt sein können, zusammenfassend als „Toxizität“ bezeichnet. Angestrebt wird die Kombination von optimaler Wirkung mit minimaler Nebenwirkung, ein Ziel, das schon E. v. BEHRING — von anderen Voraussetzungen ausgehend — durch die Formulierung des Begriffes der „relativen Giftigkeit“ fixiert hatte; v. BEHRING (l. c., S. 29) sprach sich ganz klar in dem Sinne aus, daß man bei der „inneren Desinfektion“, der Abtötung der krankheitserregenden Parasiten im infizierten Organismus, einem giftigeren Mittel den Vorzug geben dürfe, wenn es den Erreger in weit kleineren Dosen unschädlich macht als eine minder toxische Substanz von erheblich geringerer desinfizierender Kraft, weil bei dieser die therapeutische Wirkung durch massive und den Wirt in höherem Maße gefährdende Gaben erkauft werden müßte. Der Vergleich zwischen Sublimat und Carbolsäure, durch welchen v. BEHRING den Unterschied zwischen absoluter und relativer Giftigkeit illustrierte, erscheint uns heute primitiv; aber am Wesen dieser an chemotherapeutische Präparate zu stellenden Anforderungen hat sich nichts geändert. VONKENNEL hat für diese Postulate die Fassung vorgeschlagen: „1. Kleine Dosis — maximale Wirkung; 2. große Dosis — minimale Nebenwirkung.“ Das ist jedoch nicht ganz zutreffend. Das Fehlen von Nebenwirkungen oder ihre Reduktion auf ein tragbares Minimum wird nicht für große, sondern für die therapeutisch wirksamen Dosen verlangt; es ist nicht ohne weiteres einzusehen, warum große Dosen unschädlich sein sollen, wenn kleine maximal wirken, und warum umgekehrt kleine Dosen maximal wirken müssen, wenn große ohne Bedenken gegeben werden können. Die Aufgabe, die für jedes neue Präparat besonders gelöst werden muß, besteht gerade in der genauen Ermittlung der Nebenwirkungen der therapeutisch leistungsfähigen Dosen, und kann — wenn man von einigen Feststellungen physikalischer Eigenschaften absieht — wieder nur empirisch erledigt werden, provisorisch durch quantitativ abgestufte Tierversuche und definitiv durch die klinische Erprobung, da sich die Tierspezies untereinander sowie Tier und Mensch in Beziehung auf die Nebenwirkungen (die „Toxizität“) unterscheiden.

So ist der Weg zu verstehen, den die Forschung seit DOMAGKS Entdeckung, bzw. seit ihrem Bekanntwerden genommen hat.

2. Die antibakterielle Wirkung der Sulfonamid-Derivate als Erkenntnisquelle für die Möglichkeit einer Sulfonamidtherapie der Virusinfektionen.

Wenn man die Derivate des Sulfanilamids oder verwandte Präparate auf ihre Wirksamkeit gegenüber *Bakterien* mit quantitativen Methoden prüfen will, stehen im allgemeinen drei Verfahren zur Verfügung:

1. Die Feststellung der wachstumshemmenden (antiseptischen oder bakterio-statischen) Wirkung *in vitro*.

2. Die Untersuchung des antagonistischen Einflusses auf experimentelle Infektionen der Laboratoriumstiere (meist als Wirkung „in vivo“ der Wirkung „in vitro“ gegenübergestellt).

3. Die klinische Erprobung an Menschen oder Tieren, welche sich auf natürlichem Wege infiziert haben, als der medizinisch wichtigste und in dieser Hinsicht entscheidende Spezialfall der Eichung in vivo.

Die Virusarten konnten bisher auf unbelebten Nährböden nicht gezüchtet werden; eine Bestimmung des bakteriostatischen Titers, wie sie bei Bakterien durchgeführt werden kann, ist daher bei dieser Kategorie infektiöser Agenzien nicht möglich. Die über die bakteriostatischen Effekte der Sulfanilamide und anderer Chemotherapeutica gemachten Erfahrungen gestatten indes gewisse Nutzanwendungen auf das Gebiet der virusbedingten Infekte und sollen daher von diesem Standpunkt aus hier besprochen werden, bevor die Erprobung in vivo, die in einer oder der anderen Form auch bei den Virusarten vorgenommen werden kann, behandelt wird.

a) Der bakteriostatische Effekt.

Was man früher als desinfizierende und antiseptische Wirkung bezeichnete, wird heute, soweit es sich um Bakterien handelt, *Bakterizidie* und *Bakteriostase* genannt. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß Sulfonamidderivate Bakterien abtöten können; aber das Hauptgewicht wird allgemein auf den bakteriostatischen Effekt gelegt und dieser als „Wachstumshemmung“ definiert. Was man jedoch beobachtet, ist nicht die Verzögerung des Wachstums der Bakterienzellen, sondern die *Unterdrückung der Vermehrung*. Infolge der kurzen Generationsdauer der Bakterien und der Unmöglichkeit, die Volumszunahme der Individuen optisch zu verfolgen, fließen Wachstum und Vermehrung scheinbar in einen Vorgang zusammen und bilden daher in der Ideenwelt der meisten Bakteriologen einen einheitlichen Begriff. Das ist aber jedenfalls ein grundsätzlicher Irrtum, wenn auch seine Tragweite noch nicht in ihrem vollen Umfange erfaßt werden kann.

Bei anderen infektiösen Mikroben sind individuelles Wachstum und Vermehrung schon in rein zeitlicher Beziehung wie auch in morphologischer Hinsicht und mit Rücksicht auf die pathogene Auswirkung auf den Wirt so scharf voneinander geschieden, daß eine Identifizierung der beiden Phänomene als absurd gelten würde. Das Plasmodium der Malaria quartana braucht nahezu 3×24 Stunden, bevor es sich aus dem Merozoiten bis zum ausgewachsenen Parasiten entwickelt; die fieberauslösende Schizogonie beansprucht dagegen nur eine kurze Zeitspanne. Vermehrung und Wachstum lassen sich auch experimentell dissoziieren, wie dies A. LACASSAGNE 1933 gezeigt hat. Mit ionisierenden Strahlen behandelte Infusorien blieben unter bestimmten Bedingungen beweglich und nahmen an Größe bis auf das Doppelte des normalen Durchmessers zu, vermochten sich aber nicht mehr zu teilen. Bei bestrahlten Hefezellen sprachen die mikroskopischen Beobachtungen dafür, daß noch eine einzige weitere Teilung erfolgte, dann aber nur noch ein Größenwachstum bei anscheinend erhaltenem Leben, bis endlich vom 3. Tag angefangen das Absterben einsetzte (von A. LACASSAGNE als Phänomen des „hinausgeschobenen Todes“ bezeichnet). Man könnte gegen diese Versuche einwenden, daß die Dissoziation von individuellem Wachstum und Reproduktion nur an besonderen Objekten und durch besondere Eingriffe erreicht werden konnte; entscheidend ist aber nicht der experimentelle Weg, sondern die prinzipielle Bedeutung der Dissoziierbarkeit. Übrigens werden unter den Veränderungen, welche Bakterien unter der Einwirkung der Sulfonamide erfahren, auch Volumszunahmen von Kokken (ADOLPH und LOKWOOD), Ersatz von kurzen durch lange Kokkenketten [G. DOMAGK, (2, 3), F. P. GAY und A. R. CLARK, J. S. LOKWOOD] angeführt, Bilder, welche sich zwanglos als Ausdruck gestörter Reproduktion deuten lassen. Konnte doch S. LURIA durch Röntgenbestrahlung Schädigungen von Colibakterien ohne Abtötung der Bakterienzellen erzeugen, welche

sich als Riesenwachstum und als gänzlich ausbleibende oder später wieder spontan in Gang kommende Teilung zu erkennen gaben. Man sollte solchen Auswirkungen auch bei den Sulfonamiden genauer nachgehen, eventuell mit Zuhilfenahme elektronenoptischer Untersuchungsmethoden.

Wenn man nun, die Tatsachen korrekt umschreibend, den bakteriostatischen Effekt nicht als Wachstumshemmung, sondern als Störung oder Aufhebung der Vermehrungsfähigkeit definiert, ergibt sich die selbstverständliche Konsequenz, daß die Versuche unter Bedingungen vorgenommen werden müssen, welche die Vermehrung der lebenden Keime erlauben und die Interferenz anderer Faktorengruppen, speziell die Kräfte eines Wirtsorganismus ausschalten. Bei den Bakterien läßt sich dieses Postulat durch die Verwendung unbelebter (zellfreier) Nährmedien erfüllen, denen man aber häufig Sera verschiedener Provenienz, Ascitesflüssigkeit oder Blut, das auch funktionsfähige Leukocyten enthalten kann [G. DOMAGK (2), G. DOMAGK und HEGLER u. a.], zusetzt. Die Ansprüche, welche manche infektiöse (parasitierende) Bakterienarten an das Nährsubstrat stellen, wie z. B. die Gonokokken, zwingen zu derartigen verbessernden Zusätzen; sie werden aber von vielen Autoren auch dann verwendet, wenn keine solche Notwendigkeit besteht, weil man sich auf den Standpunkt stellt, daß sich das bakteriostatische Experiment der Prüfung „in vivo“ so weit als möglich annähern soll und daß dieses Ziel erreicht wird, wenn man Nährsubstrate benutzt, die mit dem infizierbaren Organismus sozusagen eine „humorale Komponente“ wie Blut gemein haben. Ob diese Auffassung, welche übrigens nicht von allen Untersuchern geteilt wird, richtig ist, soll hier nicht erörtert werden. Eine stattliche Zahl von Arbeiten (siehe die Zusammenstellung von R. MEIER) lehrt, daß schon geringfügige Änderungen das Resultat der Feststellung und quantitativen Auswertung der bakteriostatischen bzw. bakteriziden Wirkung in hohem Grade beeinflussen können; die maßgebenden Faktoren sind vermutlich nur zum Teil bekannt, aber die Zusammensetzung der Nährböden spielt naturgemäß eine hervorragende Rolle. Da trotz dieser Erfahrungen die Methodik der Untersuchung in der mannigfachsten Weise variiert wurde, ist es durchaus begreiflich, daß die Ergebnisse, welche verschiedene Autoren mit demselben Präparat und mit dem gleichen Testobjekt (Bacterium) erzielten, differieren (siehe die Literaturangaben bei R. MEIER und bei K. A. JENSEN und KAI SCHMITH). Eine durchgreifende Standardisierung der Technik ist allerdings nicht durchführbar, einerseits wegen der großen biologischen Verschiedenheiten der Bakterienspezies, welche besondere Nährmedien erfordern, andererseits weil selbst die einfacheren üblichen Nährmedien, wie z. B. die Nährbouillon, keineswegs stets die gleiche und reproduzierbare Beschaffenheit haben, was auch durch genaue Vorschriften nicht zu erreichen wäre, solange man zur Herstellung Fleischextrakte verschiedener Art, die „Peptone“ des Handels usw., benutzt; synthetische Nährsubstrate, welche die Gewähr für konstante Zusammensetzung bieten und das Prinzip der Ausschaltung des Wirtsorganismus am vollkommensten wahren würden, lassen sich nur in beschränktem Umfange anwenden [P. FILDES (2), McILWAIN (1, 2), E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ].

Dadurch wird die Beurteilung und Verwertbarkeit der Angaben über das Vorhandensein und die Intensität der bakteriostatischen Wirkungen erheblich eingeschränkt, besonders auch, wenn Vergleiche zwischen verschiedenen Präparaten oder zwischen den Reaktionen verschiedener Bakterien auf dasselbe Präparat angestellt werden sollen. Für das hier zur Diskussion gestellte Problem besitzen jedoch Unstimmigkeiten, wie sie bei den komparativen Bewertungen zutage getreten sind, keine Bedeutung; es sind Tatsachen und Fragen allgemeinen Charakters, welche sich in den Vordergrund schieben.

b) Die Beziehungen der Sulfanilamide zu den Bakterien.

Wäre die Empfindlichkeit gegen Sulfanilamidderivate eine Eigenschaft, welche allen Bakterien zukommt, so läge der Schluß nahe, daß sie durch die besondere Beschaffenheit dieser Organismen begründet ist, und die Aussichten auf eine analoge Therapie jener Infektionskrankheiten, welche durch Protozoën, Spirochäten, Rickettsien oder Virusarten hervorgerufen werden, würden sich a priori sehr ungünstig gestalten.

Nun läßt sich derzeit die Frage, ob die Beeinflußbarkeit der Vermehrung durch Sulfanilamidderivate eine allgemeine Eigenschaft sämtlicher Bakterien ist oder ob eine mehr oder minder große Zahl refraktärer Spezies existiert, auf Grund der vorliegenden experimentellen Untersuchungen nicht erschöpfend beantworten. Von Anfang an bestimmte der medizinische Zweck den Umfang der Versuche, so daß „Erreger“, und zwar hauptsächlich für den Menschen infektiöse Keime als Testobjekte benutzt wurden und nur ausnahmsweise apathogene oder saprophytische Arten, wie Milchsäurebakterien (*Streptobacterium plantarum*), *Clostridium acetobutyricum*, *B. coli*, *B. lactis aërogenes*, *Proteus vulgaris*, Hefezellen usw. [P. FIELDS (2), McILWAIN (1, 2), M. LANDY und D. M. DICKEN, O. WYSS und Mitarbeiter, E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ, R. KUHN und K. SCHWARZ, R. KUHN, W. B. WOOD jun.]. Wahrscheinlich ist die Existenz eines biochemischen Bandes, welches das ganze Reich der Bakterien umfaßt, nicht; die unübersehbare Fülle der Arten sowie die großen Verschiedenheiten ihrer Lebensbedingungen und Leistungen — man braucht nur an infektiöse und saprophytische, an aërobe und anaërobe, an autotrophe und heterotrophe Spezies zu denken — lassen diese Vorstellung eher als abwegig erscheinen. Es gibt aber zwei Argumente, welche doch dafür zu sprechen scheinen, daß den Bakterien hinsichtlich ihres Verhältnisses zu den Sulfanilamidderivaten eine Sonderstellung zukommt. Das eine ist die Tatsache, daß diese Verbindungen nichtbakterielle Infektionen der verschiedensten Ätiologie nicht antagonistisch beeinflussen; die wenigen sichergestellten Ausnahmen, bei welchen weder ein Zweifel über die therapeutische Wirkung noch über die nichtbakterielle Natur des Erregers möglich ist, fallen gegenüber der Anwendungsbreite im bakteriologischen Gebiet nicht ins Gewicht. Denn hier konstatiert man eine weitgehende Unabhängigkeit der Beeinflussung durch Sulfanilamide von den besonderen Eigenschaften der Keime; Gram-negative und Gram-positive, infektiöse und saprophytische, aërobe und anaërobe, bei der Kultur in vitro anspruchsvolle und relativ anspruchslose Arten, verschiedene Kokken, Vertreter der Salmonellengruppe, Gasbrand- und Tuberkelbazillen erweisen sich als empfindlich, wenn auch nicht in gleichem Grade. Das zweite Argument hat hypothetischen Charakter; *es sucht das einigende Band in der Störung des Bakterienstoffwechsels durch die Sulfanilamide*, also in einem auf die Bakterien eingestellten Wirkungsmechanismus dieser Substanzen. Um diese Formulierung zu verstehen, erscheint es notwendig, auf das Wesen der sog. „Inhibitoren“ genauer einzugehen.

Die Inhibitoren der bakteriostatischen Wirkung.

J. S. LOKWOOD hatte gefunden, daß Sulfanilamid die Vermehrung junger Streptokokken in peptonfreiem Serum vollständig zu verhindern und häufig sogar kleine Einsaatmengen (weniger als 500 Ketten pro Kubikzentimeter) binnen 24 Stunden aufzulösen vermag. Die Anwesenheit von peptonartigen Stoffen beeinträchtigte dagegen die bakteriostatische und bakteriolytische Wirkung des Sulfanilamids, eine Angabe, welche von A. FLEMING sowie von J. McINTOSH und WHITBY bestätigt wurde. Da LOKWOOD keinen direkten Neutralisationsvorgang zwischen Sulfanilamid und Pepton nachzuweisen vermochte,

äußerte er die Vermutung, daß das Sulfanilamid in den Stoffwechsel der Streptokokken eingreift, indem es die Wirkung proteolytischer Enzyme dieser Bakterien hemmt und dadurch die Verwertung der Proteine des die Bakterien umgebenden Milieus verhindert. Da aber solche proteolytische Enzyme nicht nachweisbar waren, vermochte sich die Hypothese von LOKWOOD in dieser Form nicht durchzusetzen.

Der Gedanke jedoch, daß Substanzen, welche die Vermehrung von Bakterien hemmen, dadurch wirken, daß sie in irgendeiner Weise mit Stoffen reagieren, welche für die Reproduktion (für das „Wachstum“) notwendig sind, wurde aufgegriffen, in seiner allgemeinsten Form von P. FILDES (3) und mit spezieller Anwendung auf die Sulfanilamide von D. D. WOODS.

P. FILDES (3) beschäftigte sich mit der desinfizierenden Wirkung des Sublimats auf Staphylokokken. V. GEGENBAUER hatte schon 1922 mitgeteilt, daß Staphylokokken, welche durch Einwirkung von Sublimat die Vermehrungsfähigkeit in vivo und in vitro verloren haben, durch Behandlung mit Sulfiden „geheilt“ werden können. Auf Grund ausgedehnter Modellversuche nahm GEGENBAUER an, daß die Sublimatmoleküle in der Bakterienzelle gespalten werden, und daß sich das Hg mit dem Eiweiß verbindet, während der austretende H mit Cl Salzsäure liefert, die sich ebenfalls mit dem Protein — zu Salzsäureprotein — kombiniert. Die Regeneration der Vermehrungsfähigkeit führte GEGENBAUER einfach darauf zurück, daß die Verbindung des Mikrobeneiweiß mit Hg durch H₂S bzw. durch Sulfide gesprengt wird. FILDES war diese Arbeit offenbar völlig unbekannt. Er entdeckte das Phänomen des Scheintodes der mit HgCl₂ behandelten Staphylokokken und ihrer Wiederbelebung durch —SH-Verbindungen zum zweiten Male, erklärte jedoch dasselbe auf andere Weise. Nach seiner Ansicht verbindet sich das Hg in der Bakterienzelle mit —SH und beraubt auf diese Weise die Zelle gewisser Substanzen, welche sie für ihren Stoffwechsel unbedingt braucht; die Unentbehrlichkeit von —SH-Verbindungen für die Vermehrung des Staphylococcus aureus hatte P. FILDES in Gemeinschaft mit M. G. RICHARDSON schon früher nachgewiesen und die Auffassung zu begründen versucht, daß diese Verbindungen das Wachstum nicht direkt beeinflussen, sondern durch ihre Fähigkeit, als Bausteine für die Synthese des Cystins im Binnenraum der Mikrobenzelle zu dienen.

Warum aber die hemmende Wirkung des Hg reversibel ist und warum der Verlust der Vermehrungsfähigkeit gerade durch jene Sulfhydrylgruppen rückgängig gemacht werden kann, deren Bindung durch Hg — laut Hypothese — die Inaktivierung bewirken soll, hat FILDES nicht befriedigend beantwortet. Er meint nur, daß man aus der Tatsache der Reversibilität den Schluß ziehen müsse, daß sich der Einfluß des Hg unter bestimmten Bedingungen auf die Bindung der —SH-Gruppen im Mikrobenleib beschränkt, ohne die Zelle sonst irgendwie zu schädigen. Daß die sistierte Vermehrungsfähigkeit durch Sulfhydrylgruppen wieder in Gang gebracht wird, hält FILDES überhaupt nicht für merkwürdig. Nach seiner Ansicht kommt es auf dasselbe hinaus, ob man Sublimat und Sulfhydrylverbindungen einer Nährlösung zusetzt und dann die Bakterien einimpft, oder ob man die Bakterien zuerst mit Sublimat vergiftet und nach einem längeren Zeitintervall (bis zu 4 Tagen in den Versuchen von FILDES) mit —SH entgiftet. Diese Gleichstellung von „Mischversuch“ und „Heilversuch“ ist jedoch nicht gerechtfertigt. Wenn man Sublimat mit H₂S vermischt, wird es unwirksam, weil unlösliche Quecksilbersulfide entstehen. FILDES verwendete allerdings bei seinen Experimenten nicht H₂S, sondern Sulfhydrylverbindungen, wie z. B. Glutathion, welche mit Hg lösliche Produkte liefern, Produkte, welche die Sulfhydrylgruppe nicht mehr enthalten; für die Aussage, daß es gleichgültig sei, ob man das HgCl₂ vor oder nach seiner Einwirkung auf die Staphylokokken entgiftet, war der Umstand maßgebend, daß dieser Effekt in beiden Fällen zustande kam, wenn das Verhältnis von 1 mol Hg : 2 mol —SH eingehalten wurde.

Das ändert aber nichts an der Tatsache, daß man die von FILDES benutzten Sulphydrylverbindungen gar nicht braucht, um das Phänomen des reversiblen Verlustes der Vermehrungsfähigkeit zu reproduzieren; V. GEGENBAUER hat dieselben Resultate mit H_2S bzw. mit Sulfiden erzielt, welche mit Hg unlösliche Produkte geben, und auf diese im Effekt gleichwertigen Versuchsanordnungen läßt sich der Gedankengang von FILDES nicht anwenden.

D. D. WOODS, der demselben Arbeitskreis angehörte wie FILDES, wollte die Gültigkeit der Hypothese, daß antibakterielle Substanzen durch Interferenz mit wichtigen Metaboliten der Mikrobenzellen wirken, auf das Sulfanilamid ausdehnen. Zunächst ergab die Prüfung verschiedener Stoffe, deren Bedeutung für den Stoffwechsel der Bakterien bekannt war, negative Resultate, indem in keinem Falle eine antagonistische Wirkung auf das Sulfanilamid festgestellt werden konnte nach Art des Modells —SH und Hg. Wohl¹ aber fanden um diese Zeit F. C. STAMP, H. N. GREEN sowie D. D. WOODS und FILDES, daß Extrakte aus Streptokokken, aus *Brucella abortus* und aus Hefe die antibakteriellen Eigenschaften des Sulfanilamids hemmen oder aufheben und die chemische Untersuchung der Hefeextrakte leitete auf die Vermutung, daß der in demselben enthaltene „Inhibitor“ ähnlich gebaut sein dürfte wie das Sulfanilamid selbst. Dies gab die Veranlassung, die *p*-Aminobenzoësäure an erster Stelle zu untersuchen, und diese Wahl erwies sich als ein Volltreffer, indem die Substanz die Wirkung des Sulfanilamids in besonders hohem Grade zu hemmen vermochte. Bald darauf konnte gezeigt werden, daß der in Hefeextrakten vorhandene Faktor, welcher sich gegen Sulfanilamid so wie *p*-Aminobenzoësäure verhält, mit dieser Substanz identisch ist (S. D. RUBBO und GILLESPIE, R. KUHN und K. SCHWARZ), ein Ergebnis, das D. D. WOODS vorausgesehen hatte.

Zu erklären war nur noch, warum sich zwei Substanzen in Beziehung auf die Bakterienvermehrung antagonistisch verhalten, obwohl sie einander strukturell so nahe stehen wie *p*-Aminobenzolsulfamid (Sulfanilamid) und *p*-Aminobenzoësäure. Hierüber gab das Modell von FILDES — die Hemmung des Staphylokokkenwachstums durch $HgCl_2$ und die Aufhebung dieser Wirkung durch Sulphydrylverbindungen — keinen Aufschluß, selbst wenn man die von FILDES vorgeschlagene Interpretation akzeptieren wollte; Sublimat und Sulphydrylverbindungen sind ja total verschiedene Stoffe, die im Reagenzglase miteinander derart reagieren, daß die Toxizität des Sublimats für Bakterien ausgelöscht wird. Davon konnte bei dem Paar „*p*-Aminobenzoësäure versus Sulfanilamid“ natürlich keine Rede sein. Aber in einem Punkte ließ sich die Analogie aufrechterhalten: die *p*-Aminobenzoësäure konnte ein „essentieller Metabolit“, d. h. für die Vermehrung der Bakterien irgendwie notwendig sein. WOODS nahm an, daß die Verwertung der *p*-Aminobenzoësäure im Stoffwechsel der Bakterien durch eine Fermentreaktion ermöglicht werde; diese Reaktion werde durch Sulfanilamid gestört, indem es die *p*-Aminobenzoësäure wegen seiner chemischen Ähnlichkeit „verdrängt“, ohne die Fähigkeit zu besitzen, sie funktionell zu ersetzen. Für die Erscheinung, daß Enzymreaktionen durch Substanzen gehemmt werden können, welche entweder mit dem Substrat oder mit dem Produkt der Reaktion chemisch verwandt sind, zitierte WOODS mehrere, aus anderen Gebieten entlehnte Beispiele wie die Hemmung der Bernsteinsäuredehydrogenase durch Malonsäure, die Hemmung der Invertase durch α - und β -Galaktose und β -l-Arabinose u. a. m.

Das ist die Entstehungsgeschichte der „Verdrängungshypothese“ oder, wie WOODS den supponierten Vorgang genannt hat, der „competitive inhibition“. Das Bestreben ihrer Anhänger war darauf gerichtet, die von WOODS zur Diskussion gestellten Gedanken bestimmter zu formulieren und durch neue experimentelle Ergebnisse zu stützen.

P. FILDÉS (4) definierte zunächst den „essentiellen Metaboliten“ als eine Substanz oder eine chemische Gruppe, welche an den für das Bakterienwachstum notwendigen Syntheseketten als wesentlicher Faktor beteiligt ist. Kann die Bakterienzelle einen essentiellen Metaboliten nicht selbst synthetisieren, so gewinnt er die Bedeutung eines „Wuchsstoffes“, der dem Nährmedium zugesetzt werden muß, wenn die Vermehrung ermöglicht werden soll. Nur in diesem Falle können die essentiellen Metaboliten direkt als solche erkannt und ermittelt werden; es ist daher denkbar, daß essentielle Metaboliten existieren, die vorläufig unbekannt sind und unbekannt bleiben werden, bis man ein Bacterium findet, welches sie nicht zu synthetisieren vermag. Wachstumshemmende (antibakterielle) Verbindungen könnten auf verschiedene Weise mit essentiellen Metaboliten interferieren und so die Vermehrung verhindern; P. FILDÉS zieht folgende Mechanismen in Betracht: 1. Oxydationen von Substanzen, welche reduziert werden sollten; 2. Bildung von chemischen inaktiven Reaktionsprodukten und 3. den Wettbewerb (die competitive inhibition) um ein mit einem essentiellen Metaboliten gekoppeltes Enzym. Diese dritte Klasse der Wachstumshemmungen erfordere einen Inhibitor (einen Hemmstoff), der chemisch mit dem essentiellen Metaboliten genügend verwandt ist, um sich an dasselbe Enzym anzulagern, aber doch so weit verschieden, daß eine aktive Beteiligung am Stoffwechsel der Bakterienzelle ausgeschlossen erscheint. Schon WOODS vermutete, daß die Empfindlichkeit der verschiedenen Bakterien gegen Sulfanilamid in einem von p-Aminobenzoësäure völlig freien Medium davon abhängen dürfte, ob und in welchem Umfange die Bakterien diese Substanz selbst synthetisieren können oder ob sie diese Fähigkeit überhaupt nicht besitzen und P. FILDÉS (4) vertrat die gleiche Auffassung, welche verschiedene Beobachtungen zu erklären vermag, wie z. B. die Abhängigkeit der hemmenden Wirkung des Sulfanilamids auf das Bakterienwachstum von der Größe des Inoculums und von dem Umstand, ob der Nährboden eine rasche Vermehrung gestattet oder an und für sich ungünstigere Ernährungsbedingungen bietet. WOODS wie auch FILDÉS betonen, daß das Sulfanilamid auch auf Bakterien wirken kann, welche, wie z. B. *Bact. coli*, die p-Aminobenzoësäure selbst bilden können; erforderlich ist nur, daß das Sulfanilamid mit dem essentiellen Metaboliten unter den gegebenen Bedingungen reagieren und so die enzymatischen Prozesse in den Bakterien stören kann.

Das Verhältnis, das nach den Untersuchungen von WOODS zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoësäure besteht, konnte alsbald auch bei anderen Stoffpaaren festgestellt werden, die miteinander, nach der chemischen Formel beurteilt, verwandt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Vermehrung von Bakterien antagonistisch eingestellt waren, indem ein Partner wachstumshemmende Eigenschaften besaß (Hemmstoff oder „inhibitor“), während der andere die Hemmung partiell oder total beseitigte (Wuchsstoff oder „promotor“). Über solche Kombinationen berichteten in der Folge H. McILWAIN (1, 2, 3), P. FILDÉS (1) u. a. (siehe S. 290).

Unklar ist aber die Rolle der p-Aminobenzoësäure bei der Vermehrung der Bakterien geblieben. Auf Grund der Versuche von S. D. RUBBO und J. M. GILLESPIE an *Clostridium acetobutylicum* und der späteren Arbeiten von R. KUHN und K. SCHWARZ sowie E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ, welche das *Streptobacterium plantarum* als Testobjekt verwendeten, wurde die p-Aminobenzoësäure als Wuchsstoff (Vitamin H'), das Sulfanilamid als Hemmstoff (Antivitamin) definiert. Aber die p-Aminobenzoësäure sollte nicht als solche in der Bakterienzelle wirken, sondern dadurch, daß sie sich als prosthetische Gruppe (als Coferment) an ein spezifisches Bakterienprotein (Apoenzym) anlagert und dieses zu einem vollaktiven Holoenzym ergänzt. Die „Verdrängung“ wurde — in

Anlehnung an WOODS — darauf zurückgeführt, daß die p-Aminobenzoësäure im Holoenzym gegen die ähnlich gebaute Sulfonsäure ausgetauscht werden kann (gleiche „Matrizen“), wobei jedoch ein fermentativ unwirksamer Komplex entsteht (R. KUHN, R. KUHN, WIELAND und MÖLLER, K. A. JENSEN und KAI SCHMITH, C. LEVADITI, MENZER und R. PÉRAULT). Dem Verdrängungsprozeß wurde ein reversibler Charakter zugeschrieben, d. h. das Sulfanilamid kann wieder durch die p-Aminobenzoësäure substituiert werden und R. KUHN hat sogar die Affinitäten der beiden Substanzen zum gemeinsamen Eiweißträger (zum spezifischen Apoenzym) auf Grund von Experimenten am *Streptobacterium plantarum* (E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ) berechnet.

Gegen diese präzisen Formulierungen hat neuerdings H. v. EULER Stellung genommen. Er hält zwar das Prinzip antagonistischer Eingriffe in die enzymatische Kinetik der Bakterienzellen im allgemeinen für richtig, setzt aber auseinander, daß der Mechanismus ein ganz anderer sein könnte, als R. KUHN annehmen zu müssen glaubt: „Die Frage, an welchen enzymatischen Systemen der Hemmstoff als Antivitamin in Konkurrenz mit dem als Wuchsstoff fungierenden Vitamin eintritt, ist bis jetzt noch in keinem Falle beantwortet worden“ (l. c., S. 1878). W. BARRY, WOOD und R. AUSTRIAN, welche sich nicht ohne Geschick bemühten, den Mechanismus der bakteriostatischen Wirkung der Sulfonamide auf die Verdrängung der p-Aminobenzoësäure aus einem Fermentsystem zurückzuführen und widersprechende Tatsachen in diesem Sinne umzudeuten, geben ebenfalls schließlich zu, daß man den exakten Beweis für eine derartige „unitarische Hypothese“ nicht erbringen kann, bevor das Fermentsystem identifiziert ist und man zu zeigen vermag, daß die bakteriostatische Kraft der Sulfonamide ihrer Fähigkeit, in dieses Fermentsystem hemmend einzugreifen, direkt proportional ist. Übrigens hatten sich D. D. WOODS selbst, P. FILDES (4) und H. McILWAIN (1) keineswegs auf den Standpunkt gestellt, daß die Beziehungen zwischen Wuchsstoffen und Hemmstoffen nur eine einzige Erklärung zulassen. Dagegen sprachen schon die außerordentlich verschiedenen quantitativen Bedingungen, unter welchen der Antagonismus im bakteriostatischen Experiment in Erscheinung tritt. Bei den Staphylokokken fand P. FILDES (3) ein Verhältnis von 1 mol Hg: 2 mol —SH, was der supponierten chemischen Bindung (siehe S. 283) entspricht; für den *Streptococcus haemolyticus* stellte dagegen D. D. WOODS fest, daß sich die molare Konzentration des Sulfanilamids zu der molaren Konzentration der Aminobenzoësäure, welche notwendig war, um die Wachstumshemmung aufzuheben, so wie 1:5000—25000 verhielt, und für das *Clostridium acetobutylicum* war 1 Molekül p-Aminobenzoësäure ausreichend, um 23000 Moleküle Sulfanilamid zu paralysieren (S. D. RUBBO und J. M. GILLESPIE). Allerdings läßt sich die Regeneration der mit Sublimat „andesinfizierten“ Staphylokokken durch Sulphydrylverbindungen mit dem Antagonismus „Sulfanilamid → → p-Aminobenzoësäure“ nicht vergleichen bzw. in Gegensatz bringen, da die beiden Partner wohl im ersten, aber nicht im zweiten Fall miteinander chemisch reagieren. Man kann aber in Anbetracht des quantitativen Mißverhältnisses zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoësäure auch nicht annehmen, daß diese beiden Stoffe auf Grund ihrer chemischen Ähnlichkeit von einem in der Bakterienzelle vorhandenen Akzeptor gebunden und gegenseitig einfach ausgetauscht werden können, worauf auch RUBBO und GILLESPIE aufmerksam gemacht haben; um die Verdrängungshypothese aufrechtzuerhalten, müßte man die Hilfsannahme verschiedener Affinitäten (R. KUHN) heranziehen.

Wie die Dinge jetzt liegen, kann man demnach nicht mit Sicherheit behaupten, daß die Wirkung der Sulfonamide auf einer Eigenart des Bakterienstoffwechsels beruht, welche im Antagonismus der p-Aminobenzoësäure ihren Ausdruck

findet, und das ist, wie auf S. 282 auseinandergesetzt wurde, der springende Punkt.

K. A. JENSEN und KAI SCHMITH meinen zwar (l. c., S. 265), die p-Aminobenzoësäure sei „eine für die Stoffwechselprozesse vieler, wahrscheinlich aller Bakterien notwendige Substanz“. Dieser Satz bedarf indes eines Beweises; die vorliegenden Untersuchungen reichen jedenfalls nicht aus, um ihn zu rechtfertigen. Was man direkt beobachtet, ist lediglich die wachstumshemmende Wirkung der Sulfanilamide und der Antagonismus der p-Aminobenzoësäure *in vitro* und, wie F. R. SELBIE zuerst gezeigt hat, „*in vivo*“; die Rolle, die man der p-Aminobenzoësäure beim Wachstum und bei der Vermehrung der Bakterien zuschreibt, ist eine hypothetische Ableitung aus den unmittelbar festgestellten Tatsachen. Daß sich die Bakterien *nicht* gleich verhalten, geht schon daraus hervor, daß die p-Aminobenzoësäure für manche Arten ein „Wachsstoff“, für andere bloß ein „essentieller Metabolit“ ist (siehe S. 285), d. h. daß die p-Aminobenzoësäure entweder präformiert im Nährsubstrat vorhanden sein muß oder daß sie von den Bakterien im eigenen Haushalt produziert werden kann. Hierzu kommt, daß die Unterschiede der (durch p-Aminobenzoësäure paralyisierbaren) Empfindlichkeit gegen Sulfanilamide keineswegs ausschließlich durch die Artzugehörigkeit der Bakterien bedingt werden, sondern daß es innerhalb jeder Art Rassen-, ja Stammesunterschiede gibt, welche sich zwischen den Extremen einer hochgradigen Resistenz und großer Sensibilität bewegen.

So haben u. a. G. MIESCHER und A. SCHNETZ zahlreiche Gonokokkenstämme auf Ascitesagar gezüchtet, dem Cibazol in geometrisch fallenden Konzentrationen von 1 : 600 bis 1 : 1000000) zugesetzt war, und die Wachstumsgrenze bestimmt; es ergab sich, daß die Chemoresistenz der Stämme zwischen den genannten Extremwerten schwankte, d. h. daß die bakteriostatistische Minimalkonzentration für manche Stämme nur 1 : > 1000000 betrug, während andere erst durch eine weit stärkere Konzentration (1 : 600) gehemmt wurden. Da MIESCHER und SCHNETZ das Material für ihre Züchtungen *vor der Behandlung* entnahmen und nur in Versagerfällen nach der Behandlung, war es ausgeschlossen, daß es sich bei den resistenten Stämmen um eine angezüchtete, unter dem Einfluß des Mittels erworbene Arzneifestigkeit gehandelt hatte, vielmehr mußte eine genuine, den Stämmen schon zur Zeit der Probenentnahme adhärierende Eigenschaft angenommen werden.

Nicht einmal bei ein und demselben Stamm ist die Beziehung zur p-Aminobenzoësäure konstant. So berichten E. F. MÖLLER und L. BIRKOFER (1), daß Stämme von *Proteus vulgaris* und *Streptobacterium plantarum* plötzlich und ohne nachweisbaren Grund ihr Verhalten ändern können, indem sie in Nährmedien normales Wachstum zeigen, welche p-Aminobenzoësäure, ohne welche sie sich ursprünglich nicht zu vermehren vermochten, nicht mehr enthalten. Auch andere „Wachsstoffe“, wie Nicotinsäure, Adermin und Adenin können nach den Beobachtungen von MÖLLER und BIRKOFER entbehrlich werden und ebenso ihre frühere Bedeutung wieder zurückgewinnen. Es ist belanglos, daß solche spontane Veränderungen des Bakterienstoffwechsels bisher nur an Stämmen von *Proteus vulgaris* und *Streptobacterium plantarum* festgestellt wurden; daß sie überhaupt möglich sind, läßt es als fraglich erscheinen, ob die scharfe Unterscheidung zwischen essentiellen Metaboliten und Wachsstoffen [P. FILDÉS (4)] berechtigt ist, und ob man aus Versuchen, in welchen sich eine bestimmte Substanz als notwendiger Zusatz zum Nährboden, also definitionsgemäß als Wachsstoff (Wachstumsfaktor) erwiesen hat, schließen darf, daß sie für das verwendete Bacterium oder gar für alle Bakterien ein essentieller Metabolit, d. h. ein chemisches Stadium ist, welches die im Bakterienplasma ablaufenden Kettenreaktionen durchlaufen müssen. Die Differenzierung von Metaboliten

und Wuchsstoffen erinnert an die Einteilung der für den Stoffwechsel von Tieren in Betracht kommenden Aminosäuren in „unentbehrliche“ und „entbehrliche“, eine Einteilung, welcher S. EDLBACHER (l. c., S. 236) nur einen „durchaus provisorischen Wert“ zuerkennt.

Die Sulfanilamide beeinflussen nicht nur Bakterien, sondern auch Chlorophyceen, Diatomeen und sogar höhere Pflanzen (N. H. GRACE, A. P. TRAUB, J. M. BEAL, G. MANGENOT und S. CARPENTIER, G. BONEZZI und G. ORSENIGO, STEN WIEDLING). Keimlinge von Erbsen, Lupinen, Gerste, Ricinus, Kartoffeln, welche in Nährlösungen mit Zusatz verschiedener Sulfamide gezogen werden, zeigen eine von der Konzentration dieser Substanzen abhängige Hemmung des Wachstums der Sprossen und der Wurzeln, und dieser Effekt kann (wie bei den niedrig organisierten pflanzlichen Testobjekten die gehemmte Vermehrung) durch p-Aminobenzoësäure in mehr oder minder hohem Grade paralysiert werden. Es liegt nun naturgemäß nahe, noch über den Standpunkt von JENSEN und SCHMITH hinauszugehen und die Empfindlichkeit der Bakterien gegen Sulfamide auf ihre pflanzliche Natur zu beziehen bzw. auf die Rolle der p-Aminobenzoësäure im pflanzlichen Stoffwechsel, womit sich dann automatisch die Unwirksamkeit der Sulfamide gegenüber von Erregern erklären würde, die einen anderen (nicht-pflanzlichen) Stoffwechsel haben. Aber wir wissen nicht, in welchem Umfange sich die wachstumshemmende Wirkung der Sulfamide einschließlich ihrer Beeinflussung durch p-Aminobenzoësäure auf Pflanzenzellen erstreckt, wie dies bereits für den Spezialfall der Bakterien auseinandergesetzt wurde; auch ist man vorläufig nicht imstande, anzugeben, wie die tatsächlich beobachteten Phänomene dieser Art miteinander mechanistisch verknüpft sind. Ob die Verdrängungshypothese auf die bei höheren Pflanzen beobachteten Erscheinungen angewendet werden darf, ist fraglich; denn hier wurden Veränderungen der Mitosen gefunden, welche den durch Colchicin ausgelösten ähnlich waren, Verstärkungen der wachstumsfördernden Wirkungen der p-Aminobenzoësäure durch β -Indolylessigsäure, das Heteroauxin von KÖGL (G. MAGENOT und S. CARPENTIER) — Tatsachen, welchen bei den Bakterien keine Analoga gegenüberstehen. Übrigens nahm P. FILDERS (4) an, daß die p-Aminobenzoësäure auch ein essentieller Metabolit für die Zellen der Tiere sei, und in einem speziellen Fall (Wirkung auf die Haarfarbe) ist ihre Rolle als Vitamin gesichert (S. ANSBACHER, G. J. MARTIN und ANSBACHER).

Spezifität der Beziehungen der verschiedenen Sulfanilamid-Derivate zu bestimmten Bakterien.

Als unerläßliches Kriterium für eine typische bakteriostatische Sulfanilamidwirkung bezeichnen JENSEN und SCHMITH eine kernständige Aminogruppe in Parastellung zur Sulfongruppe. Ist diese Bedingung nicht erfüllt, so sind die Verbindungen — nach JENSEN und SCHMITH — entweder unwirksam oder ihre bakteriostatische Wirkung kann durch p-Aminobenzoësäure nicht aufgehoben werden.

Geht man von der Voraussetzung aus, daß sämtliche Sulfanilamid-Derivate, bei welchen der Antagonismus der p-Aminobenzoësäure nachgewiesen werden kann und die sich außerdem durch gewisse gemeinsame Kriterien der chemischen Struktur (siehe oben) auszeichnen, denselben Wirkungsmechanismus haben müssen, so wäre die Folgerung logisch, daß Variierungen des chemischen Baues, welche die identische Grundlage nicht antasten, keine qualitativen Änderungen der antibakteriellen Eigenschaften bewirken werden, sondern daß nur quantitative Leistungssteigerungen zu erwarten sind.

Diesen Standpunkt vertritt KAI SCHMITH (vgl. auch JENSEN und KAI SCHMITH). Die von vielen Autoren verfochtene Auffassung, daß sich die Wirkung

der verschiedenen Sulfonamide spezifisch gegen bestimmte Bakterienarten kehrt, wird nicht anerkannt. Wenn sich eine Verbindung im bakteriostatischen Versuch gegenüber einer bestimmten Bakterienart als besonders wirksam erweist, soll sie diese Superiorität auch gegen alle anderen Bakterienarten, soweit sie überhaupt beeinflussbar sind, bekunden. KAI SCHMITH stellte solche Vergleiche an, indem er Gonokokken, Meningokokken, hämolytische Streptokokken, Colibakterien, Salmonellaarten und Pneumokokken auf ihr Verhalten gegen verschiedene heterocyclisch substituierte Sulfanilamidderivate prüfte; er fand, daß z. B. Sulfathiazol stets viermal stärker wirkte als Sulfapyridin, gleichgültig, ob man diese oder jene Bakterienart verwendete. *Dies würde bedeuten, daß man durch Änderungen der chemischen Struktur keine neuen Einstellungen auf Mikroben, die sich bisher als unbeeinflussbar erwiesen haben, erzielen kann — es wäre denn, daß durch die bloße Steigerung der Intensität unterschwellige Effekte in den Bereich der experimentellen Nachweisbarkeit gerückt würden.* Praktisch würde sich hieraus die Maxime ergeben, jeweils nur eine Verbindung mit bekannt hoher Leistung, etwa das Sulfathiazol nach einer neuen Richtung hin z. B. bei einer virusbedingten Infektion zu erproben und im Falle eines negativen Resultats alle Versuche mit Verbindungen von geringerer Leistungsstärke als a priori aussichtslos zu unterlassen.

KAI SCHMITH bzw. JENSEN und KAI SCHMITH stehen mit dieser Auffassung keineswegs vereinzelt da. H. N. GREEN und T. PARKIN bezeichnen die weitverbreitete Ansicht, daß bestimmte Bakterienarten durch bestimmte Sulfonamide spezifisch beeinflusst werden, geradezu als einen Irrtum; sie fanden, daß Sulfanilamid, Sulfapyridin und Sulfathiazol steigende Mengen von p-Aminobenzoësäure benötigen, um ihre bakteriostatischen Wirkungen zu hemmen, und daß die hemmenden Konzentrationen der p-Aminobenzoësäure für die drei genannten Verbindungen ungefähr im Verhältnis von 1 : 5 : 50 standen, gleichgültig, welche Bakterienart zum Versuch benutzt wurde. O. WYSS, GRUBAUGH und SCHEMELKES stellten die Konzentrationen von sechs Sulfonamiden (Sulfanilamid, Sulfaguanidin, Sulfapyridin, Sulfacetimid, Sulfadiazin und Sulfathiazol) fest, welche notwendig waren, um die Wachstumsintensität von *Staphylococcus aureus* und *B. coli* auf die Hälfte des Maximums zu reduzieren; die Werte zeigten keine Abhängigkeit von der Bakterienart, sondern lediglich von der Beschaffenheit des verwendeten Sulfonamids. Ferner bestimmten O. WYSS und seine Mitarbeiter das Verhältnis der hemmenden (bakteriostatischen) Konzentrationen zu den enthemmenden Konzentrationen der p-Aminobenzoësäure in Versuchen mit sieben verschiedenen Bakterien (*B. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus*, *B. typhi murium*, *Proteus vulgaris*, *B. lactis aërogenes* und *Ps. aeruginosa*); auch hier trat kein Anhaltspunkt für die Existenz eines spezifischen, in der Keimart begründeten Faktors zutage.

Gegen die von KAI SCHMITH mitgeteilten Versuchsergebnisse könnte man einwenden, daß sich dieser Autor auf heterocyclisch substituierte Verbindungen beschränkte und in diesem eingeengten Feld hauptsächlich das Sulfathiazol und das isostere Sulfapyridin berücksichtigte. In den Experimenten von H. N. GREEN und T. MARTIN sowie von O. WYSS und seinen Mitarbeitern wurden aber die beiden genannten Substanzen mit Sulfanilamid, Sulfaguanidin, Sulfacetimid und Sulfadiazin verglichen, also mit Verbindungen von sehr verschiedener chemischer Konstitution. Übrigens wurde schon auf S. 288 betont, daß sich aus der Verdrängungshypothese — ihre Richtigkeit vorausgesetzt — die logische Konsequenz ergeben würde, daß zwar die p-Aminobenzoësäure in gewissem Sinne als „spezifisch“ bezeichnet werden könnte, indem sie sich im Neutralisationsversuch nicht oder nicht leicht durch Stoffe von ähnlichem Bau ersetzen läßt

(M. LANDY und J. WYENO, K. A. JENSEN und KAI SCHMITH u. a.), daß dagegen eine spezifische Beziehung zwischen der individuellen chemischen Konstitution der Sulfonamide und den durch sie beeinflussbaren Bakterienarten a limine auszuschließen ist, wenigstens insoweit, als der bakteriostatische Effekt durch p-Aminobenzoëssäure paralytisiert werden kann.

Kliniker und die in der pharmazeutischen Industrie tätigen Chemiker sind freilich entgegengesetzter Meinung. Es ist aber stets im Auge zu behalten, daß sich die zitierten Feststellungen und die aus ihnen abgeleiteten Folgerungen auf Versuche gründen, in welchen das Wachstum bzw. die Vermehrung von Bakterien unter dem Einfluß von Sulfonamiden „*in vitro*“ geprüft wurde. Für die Wirkung im Tierexperiment und ganz besonders für die Therapie natürlicher Infektionen ist eine Schar von anderen Faktoren maßgebend. Es bedeutet durchaus keinen Widerspruch, daß beispielsweise nach KAI SCHMITH Sulfathiazol auf verschiedene Bakterien viermal stärker wirkt als Sulfapyridin, und zwar auch auf Strepto- und Pneumokokken, während sich diese zwei Präparate in Experimenten an Mäusen und Meerschweinchen als dosologisch gleichwertig erwiesen (R. MEIER, O. ALLEMANN und E. MERZ). Daß die Ärzte bei der Behandlung der Gonorrhoe ein bestimmtes Präparat, für die Therapie der Pneumonie ein anderes, bei Staphylokokkeninfektionen ein drittes bevorzugen, beweist — sofern für die Wahl lediglich die Erfahrung maßgebend ist und die Urteile zumindest per maioritatem übereinstimmen — zunächst nur, daß Gonorrhoe, Pneumonie und Staphylokokkeninfektionen, auch wenn man von der differentiellen Ätiologie absieht, drei verschiedenartige Prozesse sind und berechtigt nicht zu einer Aussage über spezifische Beziehungen zwischen Sulfonamiden und Bakterienarten. Besonders die Chemiker stellen sich zu diesen Fragen zu „bakteriologisch“ ein, mehr noch als die Bakteriologen von Fach, und vernachlässigen über dem Erreger die physio-pathologische Eigenart der Krankheitsformen.

Am weitesten gehen hier P. LÄUGER und H. MARTIN vor, welche vorschlagen, „den Begriff der ‚Sulfanilamide‘ als etwas *Einheitliches* aufzugeben“ und „jede Verbindung als solche als selbständiges und ganzes chemisches Individuum zu betrachten, auf einzelne Bakterienarten zu untersuchen und auch ihre Wirkungen einzeln auszulegen“. Es wurde zwar auf S. 278f. auseinandergesetzt, daß chemotherapeutische Fortschritte auf empirischem Wege erzielt werden und daß am Gelingen weit mehr der Zufall als ein planmäßiges Vorgehen beteiligt ist. Man braucht aber den Radikalismus nicht auf die Spitze zu treiben. Das Zurückgehen vom Prontosil rubrum auf das p-Aminobenzolsulfamid war das Ergebnis einer rationalen Fragestellung und hat zu den heterocyclisch substituierten Verbindungen geführt, die sich nach dem allgemeinen Urteil der Ärzteschaft vielseitig bewährten. Was die „Verdrängungshypothese“ anlangt, darf sie wohl bis jetzt als der beste Versuch bezeichnet werden, den Wirkungsmechanismus der Sulfonamide aufzuklären. Der Antagonismus der p-Aminobenzoëssäure erstreckt sich über eine große Zahl von Verbindungen; er konnte für die Grundsubstanz (das Sulfanilamid) nachgewiesen werden wie auch die N₁-heterocyclisch substituierten Derivate desselben, das Sulfathiazol, das Sulfapyridin, das Sulfadiazin, aber auch für Stoffe von abweichendem Bau wie für das N₁-Acetylsulfanilamid (Albucid) [O. WYSS, K. GRUBAUGH und F. C. SCHMELKES, W. BARRY WOOD jun.], für die Diaminodiphenylsulfone [W. BARRY WOOD jun, R. KUHN, E. F. MÖLLER, G. WENDT und H. BEINERT], für das Lutazol (siehe die Formel auf S. 305) [C. LEVADITI, C. MENTZER, und R. PÉRAULT]. Die bloße Tatsache, daß die p-Aminobenzoëssäure auf so viele und untereinander verschiedene Substanzen der Gruppe wirkt, spricht dafür, daß ein gemeinsames Band existieren muß, welches die Zusammenfassung rechtfertigt. Es konnte aber noch weiter gezeigt

werden, daß zwischen den hemmenden Konzentrationen der Sulfonamide und den enthemmenden Konzentrationen der p-Aminobenzoësäure bestimmte, für jedes Sulfonamid konstante und von der Bakterienart unabhängige Beziehungen bestehen (O. WYSS und seine Mitarbeiter, W. BARRY WOOD jun., KAI SCHMITH, K. A. JENSEN und SCHMITH), so daß auch quantitative Momente auf einen einheitlichen Mechanismus hindeuten.

Es wurde an anderer Stelle (siehe S. 286 f.) erwähnt, daß manche Beobachtungen nicht ohne weiteres mit der Verdrängungshypothese in Einklang gebracht werden können. Die Hypothese ist aber als ein noch unfertiger erster Entwurf zu bewerten; in welchen Richtungen sie ausgebaut werden könnte, haben W. BARRY WOOD jun. und R. AUSTRIAN auseinandergesetzt, auf deren interessante Arbeit hier nur kurz verwiesen werden kann. Dagegen soll die Tatsache kurz besprochen werden, daß es Verbindungen gibt, welche starke antibakterielle Wirkungen in vitro und in vivo entfalten und durch p-Aminobenzoësäure nicht beeinflußt werden, die also den von JENSEN und KAI SCHMITH präzisierten Bedingungen der typischen Sulfonamidwirkung nicht entsprechen.

Verbindungen, deren bakteriostatische Wirkung durch p-Aminobenzoësäure nicht beeinflußt wird.

Als bekanntere Beispiele seien das Amonal, das Marfanil und das p-Methylbenzolsulfonamid gewählt.

Inwiefern diese Stoffe vom Sulfanilamid chemisch abweichen, ist aus der Tabelle auf S. 275ff. ohne weiteres zu entnehmen. Beim Amonal ist die NH_2 -Gruppe durch NO_2 ersetzt und an Stelle der Sulfongruppe steht eine COOR -Gruppe; das Alkyl kann übrigens wegfallen da R. L. MAYER und CH. ÖCHSLIN auch mit reiner p-Nitrobenzoësäure Strepto- und Pneumokokkeninfektionen von weißen Mäusen zu heilen vermochten. Beim Marfanil und beim p-Methylbenzol-sulfonamid ist zwar die SO_2NH_2 -Gruppe vorhanden und die Parastellung gewahrt; beim Marfanil hängt aber die Aminogruppe nicht direkt am Kern und beim p-Methylbenzol-sulfonamid ist sie durch ein Alkyl ersetzt.

Weder das Marfanil (G. DOMAGK, H. TH. SCHREUS, K. A. JENSEN, KAI SCHMITH und P. BRANDT) noch das p-Toluol-sulfonamid (A. GARDILČIČ) wird durch p-Aminobenzoësäure antagonistisch beeinflußt. JENSEN und seinen Mitarbeitern ist es bis zur Zeit der Veröffentlichung der zitierten Mitteilung (1942) überhaupt nicht gelungen, einen chemischen Antagonisten des Marfanils ausfindig zu machen, obzwar zahlreiche Analoga der Beziehung zwischen p-Aminobenzolsulfamid und p-Aminobenzoësäure festgestellt werden konnten [H. McILWAIN (1—3), P. FILDES (1), A. DORFMAN, RICE, KOSER und SAUNDERS, R. WEST und A. F. COBURN, G. IVÁNOVICS, R. KUHN, WIELAND und MÖLLER, HARRIS und KOHN u. a.], wobei allerdings die von der Verdrängungshypothese geforderte chemische Ähnlichkeit von Wuchsstoff und Hemmstoff keineswegs immer zu konstatieren war. KAI SCHMITH hatte ferner gefunden, daß ein Pneumokokkenstamm nicht nur gegen diese Verbindung, sondern auch gegen andere Sulfanilamidderivate resistent wird, wenn man ihn in sulfapyridinhaltiger Serumbouillon züchtet, daß er aber gegen Marfanil (bzw. gegen ein Präparat, welches die von J. KLARER für Marfanil angegebene Zusammensetzung und den gleichen Schmelzpunkt [153°C] besaß), seine ursprüngliche Empfindlichkeit bewahrte.¹

¹ TH. LINK, der die obigen Angaben bestätigte, glaubt, daß sie nur für Versuche in vitro gelten, nicht aber für den tierischen Organismus. Er infizierte Meerschweinchen subcutan mit Pararanschbrandbazillen und stellte zunächst fest, daß Globucid und Marfanil die Infektion hemmen, daß aber p-Aminobenzoësäure — mit den

Auf Grund dieser Daten konnte man schließen, daß das Marfanil einen anderen Wirkungsmechanismus hat als die eigentlichen (zur p-Aminobenzoësäure in antagonistischem Verhältnis stehenden) Sulfanilamidderivate, und durfte demgemäß erwarten, daß auch der durch das Mittel beeinflussbare Kreis infektiöser Mikroben eine Änderung erfahren haben könnte. *Das scheint nun, soweit die vorliegenden Untersuchungen hierüber Aufschluß geben, nicht zuzutreffen.*

Zwar halten DOMAGK und HEGLER noch in der 2. Auflage ihrer Monographie über die „Chemotherapie bakterieller Infektionen“ daran fest, daß das Marfanil in seiner Wirkung auf Anaërobierinfektionen (mit Pararauschbrandbazillen, FRÄNKELschen Gasbrandbazillen, *B. histolyticus*, NOVYschen Bazillen) allen anderen Präparaten, zum Teil sogar weit überlegen sei. Diese Bewertung wurde jedoch von H. TH. SCHREUS und H. SCHÜMMER, SCHREUS, BRAUNS und SCHÜMMER sowie von JENSEN, SCHMITH und BRANDT angefochten. Nach den Untersuchungen von JENSEN und seinen Mitarbeitern entspricht die Wirkung des Marfanils (p-Aminomethylbenzolsulfamids) auf anaërobe Keime (genannt werden Pararauschbrandbazillen, FRÄNKELsche Bazillen und *B. histolyticus*) der Größenordnung nach dem Sulfapyridin und Sulfathiazol. Für die widersprechende Beurteilung der Wirkung des Marfanils auf Anaërobier werden von beiden Seiten Fehler der experimentellen Auswertung verantwortlich gemacht [DOMAGK und HEGLER (l. c., S. 35), JENSEN, SCHMITH und BRANDT].

Der Streit, ob das Marfanil auf Anaërobier stärker wirkt als Sulfapyridin und Sulfathiazol, besitzt jedenfalls keine überragende Bedeutung. Wichtig ist dagegen

1. daß alle drei Verbindungen auf Anaërobier wirken;
2. daß sie sämtlich aërobe Keime stark beeinflussen. Marfanil hemmt das Wachstum von Pneumokokken (Typus 1) noch in der Verdünnung von 1 : 40 000, also in derselben Konzentration, in welcher auch Sulfapyridin bakteriostatisch wirkt (JENSEN, SCHMITH und BRANDT);
3. daß die hemmende Wirkung von Sulfapyridin und Sulfathiazol durch p-Aminobenzoësäure aufgehoben wird, gleichgültig, ob man als Testobjekt Pneumokokken oder Anaërobier benutzt, und daß die p-Aminobenzoësäure das Marfanil nicht beeinflusst, wobei wieder die Natur der verwendeten Bakterien keine Rolle spielt (JENSEN, SCHMITH und BRANDT, H. TH. SCHREUS).

Bringt man die antagonistische Wirkung in ursächlichen Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus der Sulfanilamidderivate auf Bakterien, so stößt man auf die Tatsache, daß es Verbindungen gibt, welche in vitro und in vivo die gleichen antibakteriellen Eigenschaften entfalten, die aber durch p-Aminobenzoësäure nicht beeinflusst werden und, soweit dies bisher festgestellt werden konnte, auch nicht durch andere Substanzen. Natürlich kann ein und derselbe Effekt, im vorliegenden Falle die Hemmung der Bakterienvermehrung, auf sehr verschiedene Art zustande kommen. In synthetischen Nährmedien brauchen Milchsäurebakterien (*Streptobacterium plantarum* ORLA-JENSEN) zahlreiche Wuchsstoffe, wie Lactoflavin, Adermin, Nicotinsäure, Pantothen-säure, Adenin, Biotin und p-Aminobenzoësäure [E. F. MÖLLER (1, 2), E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ]; jedes dieser Erfordernisse ist ein Angriffspunkt für wachstumshemmende Stoffe oder könnte zumindest die Bedeutung eines solchen gewinnen.

Bakterien gemischt injiziert — die antiinfektionelle Wirkung beider Verbindungen aufhebt. Ohne einen Beweis zu erbringen, nimmt LINK an, daß das Marfanil im Tierkörper in irgendeiner Weise umgebaut wird, so daß es dem Antagonismus der p-Aminobenzoësäure im veränderten Zustand ebenso unterliegt wie das Globucid. Da der Autor selbst hervorhebt, daß eine Reihe derartiger Experimente kein klares Ergebnis lieferten, müssen Nachprüfungen abgewartet werden, bevor man zu der an sich nicht wahrscheinlichen Behauptung Stellung nimmt.

Wenn daher die Sulfanilamide die Vermehrung der Milchsäurebakterien in einem sonst geeigneten Medium verhindern und wenn diese Wirkung durch p-Aminobenzoësäure aufgehoben werden kann (E. F. MÖLLER und K. SCHWARZ), so folgt hieraus keineswegs, daß es keine anderen Arten wachstumshemmender Stoffe gibt, ebensowenig wie die Annahme, daß jedem Hemmstoff eine Substanz zugeordnet sein muß, welche die Wirkung des Hemmstoffes paralyisiert. Selbst wenn man von der Voraussetzung ausgeht, daß der Hemmstoff die Funktion eines Wuchsstoffes im Bakterienstoffwechsel lahmlegt, wäre der Schluß strenge genommen nicht gerechtfertigt, daß der Zusatz eben dieses Wuchsstoffes zum Nährsubstrat die Wirkung des Hemmstoffes antagonistisch beeinflussen müßte. Es ist daher sehr wohl möglich, daß das Marfanil „ähnlich wie die anderen Sulfonamide auf einen Wachstumsfaktor der Bakterien wirkt“ (JENSEN, SCHMITH und BRANDT) und daß die Bemühungen um ein Analogon der p-Aminobenzoësäure in diesem Falle trotzdem resultatlos bleiben werden.

Immerhin muß es auffallen, daß Verbindungen wie das Marfanil, welche vom Bau der Sulfanilsäure bzw. des p-Aminobenzolsulfamids relativ wenig abweichen, durch p-Aminobenzoësäure nicht mehr beeinflusst werden. Merkwürdig ist ferner, daß alle so außerordentlich zahlreichen Variierungen der chemischen Struktur des Sulfanilamids, sofern sie nicht wenig wirksame oder ganz unwirksame Produkte lieferten, immer wieder nur Präparate ergaben, welche ausschließlich oder hauptsächlich das Bakterienwachstum beeinflussten. Von den tierpathogenen Virusarten und einigen Erregern, deren Zugehörigkeit zur Virusgruppe zweifelhaft ist, sei hier zunächst abgesehen, da dieses Kapitel als eigentliches Thema der Darstellung ohnehin eingehend behandelt werden muß. Auf dem Gebiete der Spirochätosen und Protozoëinfektionen wurde jedenfalls kein einziger sicherer Erfolg registriert und vereinzelte optimistische Berichte, an denen es bei diesen Expansionsbestrebungen nicht gerade gefehlt hat, wurden, wie z. B. die Angaben über eine Sulfanilamidtherapie der Malaria (Lit. bei J. A. SINTON, HUTTON und SHUTE), auf Grund gewissenhafter Nachprüfungen (W. MENK und M. MOHR, J. C. NIVEN u. a.) mehr oder minder dezidiert abgelehnt.

Intracelluläre Bakterien und Viruselemente.

Die Untersuchungen von G. MIESCHER und A. SCHNETZ haben gelehrt, daß Fälle von Gonorrhoe, bei denen ein gegen Cibazol resistenter Stamm durch die Prüfung in vitro nachgewiesen worden war, durch dieses Mittel prompt geheilt werden konnten, und daß umgekehrt hohe Empfindlichkeit gegen die bakterio-statische Wirkung in vitro mit einem refraktären Verhalten der Infektion gegen die Cibazoltherapie einhergehen kann. Um dieses „paradoxe“ Verhalten zu erklären, untersuchten die Autoren zunächst die Blutspiegelwerte, d. h. die Konzentrationen des freien Cibazols im Blute in den ersten 8 Stunden nach dem Einnehmen des Medikaments, mußten aber in Übereinstimmung mit früheren Angaben feststellen, daß solche Bestimmungen keinen Aufschluß über Erfolg oder Mißerfolg der Therapie geben. Es wurde daher die antibakterielle Wirkung des Patientenserums geprüft, und zwar in der Weise, daß das vor Beginn der Behandlung gewonnene Serum mit einer kleinen und stets gleichen Menge Gonokokken vermischt, im Brutschrank gehalten, und das Gemisch nach 1, 3 und 6 Stunden auf Ascitesagar ausgestrichen wurde; die Serumempfindlichkeit der verschiedenen Stämme differierte, aber es konnten auch große Unterschiede der antibakteriellen Wirkung der Patientensera festgestellt werden, und in vielen Fällen lag die Sache so, daß sich Heilbarkeit des gonorrhoeischen Infekts mit hoher antibakterieller Serumwirkung, refraktäres Verhalten mit niedriger Serumwirkung deckte. Über die Bedeutung der antibakteriellen Serumeigenschaften für die Erfolge der Chemotherapie der Gonorrhoe sprechen sich MIESCHER und SCHNETZ nicht ganz bestimmt aus, halten es aber für wahrscheinlich, daß sie wichtiger sind als die Chemo-resistenz der Bakterien und die Höhe der Blutspiegelwerte, und für sicher, daß der

therapeutische Effekt nur durch das Zusammenwirken dieser und „vermutlich noch anderer“ Faktoren zustande kommt. Da die Heilbarkeit gonorrhöischer Infektionen von der Dauer ihres Bestehens weitgehend unabhängig ist, werden unspezifische (nicht immunisatorisch entstandene) Serumstoffe als Träger der antibakteriellen Wirkungen angenommen.

Daß die Arbeit von MIESCHER und SCHNETZ über den Mechanismus der Heilwirkung des Cibazols auf die gonorrhöischen Infektionen des Menschen an dieser Stelle ausführlich zitiert wird, ist nicht so zu verstehen, als ob die vorgeschlagene Lösung als endgültig, weil durchaus befriedigend, hingestellt werden soll, sei es für den betrachteten Spezialfall oder gar für beliebige Infektionen und sämtliche Sulfanilamidpräparate. Wissen wir doch seit der ersten Mitteilung von J. und Mme. TRÉFOUËL, NITTI und BOVET (siehe S. 273), daß manche Verbindungen, wie die Azofarbstoffe Prontosil rubrum und Prontosil solubile, im Organismus nicht als solche in Aktion treten, sondern erst nach ihrer Umsetzung in den eigentlichen Wirkstoff, das Sulfanilamid; wenn daher die Azofarbstoffe auf Gonokokken *in vitro* gar nicht wirken, im infizierten Menschen aber gleichwohl eine beschränkte kurative Leistung entfalten, kann dies nicht befremden, da Sulfanilamid noch in der Verdünnung von 1 : 80000 das Gonokokkenwachstum in der Kultur hemmt (J. KIMMIG, l. c., S. 418). Veränderungen, welche die Chemotherapeutica im lebenden Organismus erleiden, bieten natürlich Erklärungsmöglichkeiten, die auf einer ganz anderen Linie liegen. Aber die Untersuchungen von MIESCHER und SCHNETZ können in mehrfacher Hinsicht als ein Beispiel oder Modell gelten, *weil das Bestreben, den Organismus für alles verantwortlich zu machen, was durch die Wirkung in vitro nicht begründet werden kann, und die daraus abgeleiteten prüfungstechnischen Konsequenzen in einer unübersehbaren Schar von Publikationen als stereotype Motive in Erscheinung treten.*

Was die *Mitwirkung des infizierten Organismus* anlangt, so spielen nicht — wie in den Ausführungen von MIESCHER und SCHNETZ — humorale, sondern cellulare Abwehrfunktionen, und zwar *phagozytäre Vorgänge*, die hypothetische Hauptrolle. Die Keime sollen durch das Chemotherapeutikum zunächst geschädigt, gewissermaßen „andesinfiziert“ und erst in diesem Zustande von Phagozyten aufgenommen und verdaut werden. Gegen diese Auffassung wurden jedoch schwerwiegende Bedenken ins Treffen geführt, u. a. auch die Tatsache, daß die experimentelle Ausschaltung der Phagozyten die Abtötung empfindlicher Keime nicht hindert.

A. H. HARRIS und J. K. MILLER brachten große Mengen hämolytischer Streptokokken, welche in dialysierter Peptonlösung suspendiert und in Collodiumsäckchen eingeschlossen waren, in die Bauchhöhle von Kaninchen. Bei den unbehandelten Kontrollen erfolgte eine starke Vermehrung der Kokken, welche durch die Permeabilität der Collodiummembranen, die einen Stoffaustausch gestattete, ermöglicht wurde; bei Kaninchen, denen man subcutan Sulfanilamid injizierte, wurden dagegen die Kokken innerhalb der Säckchen abgetötet, obwohl die Intervention zelliger Elemente und in den meisten Versuchen auch die Mitwirkung bakterizider Serumstoffe der Kaninchen — der Sackinhalt gab meist keine Reaktion mit präzipitierendem Antikaninchen Serum vom Huhn — ausgeschlossen war.

Gono- und Meningokokken, auch heute noch optimale Objekte der Sulfanilamidtherapie, werden bekanntlich leicht und in großen Mengen von polymorphkernigen Leukocyten aufgenommen. Wie die intracelluläre Lagerung der Gonokokken im akuten Stadium der Infektion zustande kommt, ist eine seit den Zeiten von NEISSER und BUMM umstrittene Frage; die Ansicht, daß die Aufnahme der Gonokokken durch Leukocyten fast ausschließlich im freien Sekret und höchst selten im Gewebe stattfindet (J. KOCH und A. COHN, S. 675), scheint nach den

an Schnittpräparaten ausgeführten Untersuchungen von B. LIPSCHÜTZ (l. c., S. 6) nicht richtig zu sein. Sicher ist, daß die ausgiebige „Phagozytose“ dem Infektionsprozeß nicht Einhalt gebietet und daß die Gonokokken im Cytoplasma der Leukocyten nicht absterben, sondern vermehrungsfähig bleiben, sehr wahrscheinlich, daß sie sich in den Leukocyten sogar vermehren, eine Vermutung, welche bereits ältere Autoren geäußert und teils experimentell, teils durch die Deutung des mikroskopischen Bildes der Ausstrichpräparate begründet hatten (J. KOCH und A. COHN, S. 675). Von einer Abwehrreaktion im Sinne von E. METSCHNIKOFF kann somit nicht gut die Rede sein.

Die Auffassung, daß die Lage von infektiösen Keimen in Wirtszellen nur als optischer Ausdruck eines obligaten Zellparasitismus oder als eine die Vernichtung der Erreger bezweckende „echte“ Phagozytose gedeutet werden dürfe, ist, obzwar sie noch immer vereinzelte Anhänger findet, als prinzipieller Irrtum abzulehnen. Zwischen die genannten Extreme schalten sich mannigfache Übergänge von „fakultativem Cytotropismus“ ein, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß die pathogenen Mikroben im Inneren von Wirtszellen Schutz finden (P. ROUS und F. S. JONES) und sich in denselben auch vermehren. Auf diese Beziehungen hier nochmals ausführlich einzugehen, besteht keine Veranlassung; es sei jedoch auf die Arbeiten von J. A. ARKWRIGHT, E. W. GOODPASTURE, E. W. GOODPASTURE und K. ANDERSON, R. DOERR (1—3) verwiesen.

In seinen Ausführungen über den „Wirkungsmechanismus der Sulfonamide bei verschiedenen Kokkeninfektionen“ kommt J. KIMMIG zu dem Schluß, daß der entscheidende Faktor für die therapeutischen Leistungen dieser Präparate in der direkten Einwirkung auf die Erreger gesucht werden müsse. „Die dann einsetzende Phagozytose ist ein Geschehen, dem eine viel allgemeinere Bedeutung zukommt und das eigentlich mit Chemotherapie nichts zu tun hat; denn ob die alveolaren Phagozyten Kohlenstaub oder durch Sulfonamide unschädlich gemachte Kokken zu verdauen und abzutransportieren haben, ist immer der gleiche Vorgang“ (l. c., S. 447). Aus diesem Satze geht klar hervor, daß KIMMIG eine zeitliche Aufeinanderfolge von zwei Prozessen vor Augen hat, die direkte Einwirkung der Sulfonamide auf extracelluläre Kokken und die sekundäre Aufnahme derselben durch Freßzellen. Die Gonorrhoe kann aber durch die Verbindungen dieser Gruppe auch dann prompt geheilt werden, wenn die Gonokokken zum großen Teil bereits in den Leukocyten liegen; wenn nun diese intracellulären Kokken lebens- und infektionsfähig sind (siehe oben), so erhebt sich die Frage, wie sie in dieser Lage von den Sulfonamiden beeinflußt werden. Daß in 1—2 Tagen keine kokkenhaltigen Zellen zu finden sind, ist eine Tatsache. Wie jedoch dieser Effekt zustande kommt, ist nicht klar; nur eines läßt sich mit großer Bestimmtheit behaupten, nämlich daß humorale antibakterielle Stoffe keinen Zutritt zu intracellulären Kokken gewinnen können, wie dies die Hypothese von MIESCHER und SCHNETZ fordern würde.

Die Beziehungen der extracellulären zu den intracellulären Gonokokken und Meningokokken) und die besonderen Eigenschaften dieser beiden Zustandsformen sind noch nicht im wünschenswerten Ausmaß aufgeklärt. Man kann vor allem nicht sicher beurteilen, inwiefern sich die intracellulären Kokken an der Aufrechterhaltung des Infektionsprozesses beteiligen, d. h. ob die Vernichtung dieser Kokken für den Erfolg der Chemotherapie notwendig ist oder ob der Untergang der zur Zeit des chemotherapeutischen Eingriffes noch außerhalb von Wirtszellen liegenden Kokken genügt. Unseres Wissens liegen bisher keine Versuche darüber vor, wie sich in Eiterzellen eingeschlossene Gono- und Meningokokken gegen die Einwirkung von Sulfonamiden verhalten; da es nachgewiesen ist, daß Erythrocyten und Gewebszellen für diese Substanzen, wenn auch nicht

für alle in gleicher Weise, permeabel sind (E. K. MARSHALL, EMERSON und CUTTING, L. HANSEN, J. G. REINHOLD, SCHWARTZ, FLIPPIN und BETHLAMY), wäre eine Voraussetzung für die Beeinflussung der intracellularen Formen erfüllt; nach den sorgfältigen Experimenten von MARSHALL und seinen Mitarbeitern breitet sich speziell das Sulfanilamid rasch im Organismus aus und dringt in alle Gewebe und Körperflüssigkeiten ein, so daß sein Verhalten mit dem des Harnstoffes und des Äthylalkohols verglichen wird. Rein äußerlich betrachtet stellt sich die Sachlage so dar, daß die Sulfonamide auf Bakterien, welche schon unter normalen Verhältnissen in großem Umfange phagocytiert werden, ebenso wirken wie auf Bakterien, bei denen dies nicht der Fall ist.

Bei den durch Virusarten hervorgerufenen Infektionen ist die Situation insofern präziser umschrieben, als die Elemente dieser infektiösen Agenzien nach der herrschenden Lehre *nur* im Inneren von Wirtszellen zu proliferieren vermögen. Ob dieser Satz ausnahmslos gültig ist, erscheint allerdings zweifelhaft [R. DOERR (1, 2)]; jedenfalls aber findet nur die *Virusvermehrung* in Zellen statt und es müssen auch freie extracelluläre Elemente vorhanden sein, einmal um die Überwanderung tierpathogener Virusarten von infizierten Zellen auf gesunde zu ermöglichen, und zweitens in allen jenen Fällen, in welchen sich die zellfreie Blutflüssigkeit in hohem Grade, d. h. in sehr starken Verdünnungen als infektiös erweist (Gelbfieber, Dengue, Phlebotomusfieber, Hühnerpest usw.). Soll ein chemotherapeutischer Eingriff erfolgreich sein, so müßte sich die Wirkung sowohl auf die intra- als auch auf die extracellulären Viruselemente erstrecken und die Dinge würden dann ganz analog liegen wie bei den Gonokokken, auch wenn man sich auf den theoretischen Standpunkt stellt, daß sich das Virus außerhalb der Wirtszellen zum Unterschiede von den Bakterien nicht vermehrt, sondern nur potentiell vermehrungsfähig bleibt.

c) Der antagonistische Einfluß der Sulfanilamidderivate auf experimentelle Infektionen der Laboratoriumstiere.

Die Feststellung und quantitative Bestimmung der bakteriostatischen Wirkung wird in neueren Arbeiten nicht mehr so geringgeschätzt beurteilt wie in der ersten Zeit des Studiums der Sulfanilamidderivate, wo die Neigung bestand, die Existenz der Beeinflussung von Kulturbakterien überhaupt zu leugnen. Der Umschwung wurde hauptsächlich durch den Nachweis charakteristischer Degenerationserscheinungen herbeigeführt, welche die Bakterien in Gegenwart der Sulfanilamide erleiden, sodann auch durch erhebliche Verbesserungen der Methodik des Experiments „in vitro“ und durch die Synthetisierung von Verbindungen, welche die bisher geprüften durch ihre Wirkungsstärke weit übertrugen; die Untersuchung im Reagenzglas empfahl sich ferner wegen des geringeren Aufwandes an Zeit und Kosten als orientierende Prüfung für neu hergestellte Präparate und wird außer diesem praktischen Zweck ihre theoretische Bedeutung für die Analyse des Wirkungsmechanismus dieser Gruppe antibakterieller Chemotherapeutica wohl auch in Hinkunft bewahren.

Die Intensität der bakteriostatischen Wirkung in vitro — gemessen an der wirksamen Minimalkonzentration der geprüften Verbindung — ist aber kein verlässlicher Maßstab für die antiinfektiöse Wirkung im Experiment am infizierten Tiere. Im allgemeinen können die Differenzen, auch wenn man zunächst davon absieht, daß der Wirkungsmechanismus der Sulfonamide in vivo noch nicht in allseits anerkannter und befriedigender Weise aufgeklärt ist, weniger befremden als die Tatsache, daß in manchen Kombinationen ein weitgehender Parallelismus zu konstatieren ist. Die zugeführten Substanzen erleiden im Körper des infizierten Tieres Umsetzungen in andere Verbindungen, die wirksamer, aber auch

weniger wirksam sein können als der einverleibte Stoff, ihre Konzentration schwankt infolgedessen sowie durch die Ausscheidungsprozesse innerhalb kurzer Frist in erheblichem Ausmaß, sie werden in vielen Versuchsanordnungen nicht einmal, sondern wiederholt zugeführt, während man zu den Nährböden bestimmte Mengen der Chemikalien zusetzt, so daß die resultierenden Konzentrationen schon die ersten Teilungen der nachträglich eingepfunden Bakterien beeinflussen usw. Diese Gegensätze und Unterschiede sollen hier nicht im Detail erörtert werden. Selbstverständlich wird unter diesen Umständen im Hinblick auf das Ziel einer leistungsfähigen und durch Nebenerscheinungen nicht komplizierten Therapie bakterieller Infektionen dem Tierversuch eine höhere Bedeutung zuerkannt als der Prüfung *in vitro*. Gleich gut begründet erscheint die Forderung, den experimentell erzeugten Infektionsprozeß des Versuchstieres soweit als möglich der natürlichen Infektion des Menschen anzugleichen. Da sind jedoch dem Experimentator sehr enge Grenzen gezogen, die man, um den Versuch „*in vivo*“ überhaupt durchführen zu können, oft genug hemmungslos überschreitet, so daß der Sinn des alten Scherzwortes, welches die Infektionskrankheiten den Injektionskrankheiten gegenüberstellt, aufs neue aufscheint.

So wurde beispielsweise der gonorrhöischen Infektion des Menschen die intraperitoneale Injektion weißer Mäuse mit Gonokokkenreinkulturen substituiert (G. DOMAGK), und, da die Pathogenität der Gonokokken versuchstechnisch nicht befriedigte, setzte man zu den Kokkenemulsionen 5% Mucin zu, das aus dem Magen und Darm von Schweinen dargestellt worden war [C. LEVADITI und A. VAISMAN (2)]. Auf den Vorschlag von LEVADITI und VAISMAN (4) wurde dasselbe Verfahren auch bei der tiereperimentellen Prüfung der Chemotherapie der Meningokokkeninfektionen angewendet. Daß man die Pathogenität von Bakterien, welche weißen Mäusen intraperitoneal injiziert werden, durch Mucin-zusatz erheblich steigern kann, hatten W. J. NUNGESTER, A. A. WOLF und L. F. JOURDONAIS schon früher festgestellt und C. PH. MILLER konstatierte kurze Zeit darauf, daß schon wenige Meningokokkenexemplare genügen, um eine Maus zu töten, wenn man sie mit Mucin versetzt in die Bauchhöhle einspritzt. Im chemotherapeutischen Versuch verfolgt der Mucin-zusatz den Zweck, einen möglichst scharfen Kontrast zwischen den nichtbehandelten Kontrollmäusen und den behandelten Versuchsmäusen herzustellen; daß dies gelingt, d. h. daß die Sulfonamide die infizierten Mäuse trotz der Wirkung des Mucins heilen, ändert nichts an der Tatsache, daß sich das experimentelle Modell weit von der natürlichen Infektion des Menschen entfernt, und daß daher auch der Fall eintreten kann, daß es die Frage, über welche es Auskunft geben soll, weder im positiven noch im negativen Sinne zu entscheiden vermag.

Diese Beispiele sind aber auch insofern bedeutungsvoll, als sie zeigen, daß man sich über die Mannigfaltigkeit der Infektionsprozesse, welche ein und derselbe Keim im natürlichen Wirt hervorrufen kann, hinwegsetzt. Gono- und Meningokokken können sich in verschiedenen Organen ansiedeln, der Infekt kann akut oder protrahiert verlaufen, er kompliziert sich durch Bakteriämie, durch hämatogene Metastasen, durch Ausbreitung *per continuitatem* usw.; im Tierversuch ist das alles eingeebnet und auf die peritoneale Infektion oder richtiger auf die peritoneale Injektion der Maus reduziert. Denn — und dies wird von C. LEVADITI und A. VAISMAN (2) ausdrücklich hervorgehoben — die mit Mucin + Gonokokken gespritzten Mäuse sterben wohl zum Teil mit dem Befund einer Infektion (reichliche freie oder phagozytierte Kokken im Peritoneum und Kokken im Blute), zum Teil aber sind die Kokken gelöst und der Exitus soll dann auf eine Endotoxinvergiftung („*toxi-infection gonococcique*“) bezogen werden.

d) Die klinische Erprobung am infizierten Menschen.

Dieser Teil der Eichung chemotherapeutischer Mittel entscheidet natürlich über die therapeutische Leistungsfähigkeit und das Fehlen unerwünschter Nebenwirkungen. Doch ist gerade hier die Gefahr ungewollter oder halbge wollter Selbsttäuschung besonders groß; das ergibt sich schon aus der Tatsache, daß die vergleichende Bewertung der Präparate, bezogen auf das gleiche ätiologische Objekt, zu verschiedenen Ergebnissen geführt hat und daß die Widersprüche, wie z. B. auf dem Gebiete der Anaerobierinfektionen, trotz aller Auseinandersetzungen nicht ausgeglichen werden konnten. Zweifellos spielen auch sachliche Faktoren eine Rolle. Das klinische Material ist eben nie homogen, nicht vom Parasiten aus betrachtet (Verschiedenheit der Typen und Stämme, Schwankungen der Infektiosität, Entstehung chemoresistenter Rassen während der Behandlung) und noch weniger vom Wirt aus gesehen, was aus dem so verschiedenen Verlauf der therapeutisch nicht beeinflussten Infektionen gleichen ätiologischen Vorzeichens klar hervorgeht. Daher sind die Prüfung der bakteriostatischen Wirkung und das schematisierte Tierexperiment auch vom Standpunkte des Klinikers als stützende und korrigierende Methoden wichtig, trotz der Mängel, die ihnen anhaften; wo sie beide versagen oder undurchführbar sind, wächst die Unsicherheit und die Versuchung, Erfolge zu verzeichnen, wofür der folgende spezielle Teil manchen Beleg liefern wird.

B. Spezieller Teil.

a) Lymphogranuloma inguinale.

Das Virus des Lymphogranuloma inguinale läßt sich auf verschiedene Affenarten, auf weiße und graue Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Eichhörnchen, Erdhörnchen, auf junge Katzen, Hunde, Kaninchen übertragen (siehe die zusammenfassenden Darstellungen von H. SCHLOSSBERGER sowie von C. und J. LEVADITI). Für die Prüfung chemotherapeutischer Wirkungen kommt jedoch diese scheinbar so große Auswahl nicht in Betracht. Die Empfänglichkeit des Kaninchens, von J. CAMINOPETROS (1, 2), J. CAMINOPETROS und B. PHOTAKIS behauptet, wurde von C. und J. LEVADITI (l. c., S. 935) auf Grund eigener Erfahrungen angezweifelt und viele andere Tierspezies (Meerschweinchen, Ratten, Katzen, Eichhörnchen) reagieren entweder ganz unregelmäßig oder — auf intracerebrale Impfungen — oft mit völlig latenten Infektionen des Zentralnervensystems, so daß kein überzeugender Gegensatz zwischen den unbehandelten Kontrollen und den chemotherapeutisch beeinflussten Versuchstieren in Erscheinung tritt.

Nach dem übereinstimmenden Zeugnis der Experimentatoren geben die besten d. h. die konstantesten Resultate *Affen* und *weiße Mäuse*, aber nur unter der gemeinsamen Voraussetzung, daß man das virushaltige Material intracerebral injiziert. Der Prozeß, den man auf diese Art erzeugt, wird allerdings durch das Virus und nicht durch das Substrat, in welchem es enthalten ist, hervorgerufen; außer diesem ätiologischen Band verknüpft ihn aber nichts mit der Krankheit von NICOLAS-FAVRE, vielmehr bestehen hinsichtlich der Eintrittspforte, der Ausbreitung im Organismus, der Lokalisation, der anatomischen und klinischen Auswirkung die größten Verschiedenheiten. Das ist aber nicht der einzige Preis, um welchen die Durchführbarkeit der chemotherapeutischen Tierversuche erkauft werden muß. Intracerebral infizierte Affen und weiße Mäuse reagieren keineswegs *gleichmäßig*, sondern nur *gleichmäßiger als andere Tierarten*; auch hier gibt es Versager und latente Infektionen, so daß man schon beim qualitativen Virusnachweis gezwungen ist, durch eine größere Zahl von Versuchen jenen Grad von Sicherheit anzustreben, der durch ein einziges Experi-

ment nicht zu erreichen ist (siehe S. 131). In erhöhtem Ausmaß gilt dies für die Feststellung und Titrierung der Heilwirkung einer chemischen Verbindung, und da man die Zahl der Tiere nicht beliebig erhöhen kann, wenn man Affen verwenden will, so bleibt schließlich die intracerebrale Infektion der weißen Maus übrig, die auch so gut wie ausschließlich benutzt wurde.

Versuche an Affen wurden von C. LEVADITI, A. VAISMAN und L. REINIÉ in folgender Form ausgeführt: Zwei *Cynocephalus babuin* wurden durch Injektion von 0,5 ccm virushaltiger Mäusehirnemulsion in die beidseitigen inguinalen Lymphdrüsen infiziert. Das eine Tier diente als Kontrolle, das andere erhielt 12 Dosen des Präparats 33 (siehe S. 305) per os und 5 Injektionen derselben Substanz zu 0,05 g in die linke Leistendrüse, welche anschwell und vereiterte. 14 Tage nach der Infektion wurden die Leistendrüsen bei beiden Affen excidiert und histologisch untersucht. Bei der Kontrolle wurde eine Adenitis mit kleinen nekrotischen Herden und zahlreichen polymorphkernigen Leukocyten mit den Zeichen der Karyolyse festgestellt, bei dem behandelten Affen nur eine „leichte periganglionäre Sklerose“; doch vermißt man die Angabe, ob der Befund bei dem behandelten Tier rechts und links der gleiche war, da sich ja auf der linken Seite infolge der Injektionen des Medikaments ein Abszeß entwickelt hatte.

Der Versuch ist in mehrfacher Hinsicht instruktiv. Erstens, weil die Autoren die Verhältnisse der natürlichen Infektion des Menschen nachzuahmen suchten, zweitens weil sie sich infolge der Wahl des Versuchstieres auf ein behandeltes Exemplar und eine Kontrolle beschränkten, und drittens weil das Ergebnis kaum zu dem Schluß berechtigte, daß das Präparat 33 für die Therapie des Lymphogranuloma inguinale zu empfehlen sei; die Wirksamkeit der Verbindung konnte nur aus Parallelversuchen an weißen Mäusen erschlossen werden. Bezeichnend ist in diesem Sinne die Tatsache, daß C. LEVADITI und A. VAISMAN 1935 ein Experiment an einem intrazerebral infizierten Affen mitgeteilt hatten, in welchem sich Rubiazol als unwirksam erwies, während spätere Versuche von C. LEVADITI (3, 4), an weißen Mäusen, mit derselben Substanz angestellt, zu einem positiven Ergebnis führten.

Erwähnt seien die Versuche von C. LEVADITI (2) an inguinal infizierten Meerschweinchen und von P. CERUTTI an intracerebral geimpften albinotischen Ratten, die zu besonderen Bemerkungen keinen Anlaß geben. Dagegen erfordern die Auswertungen an weißen Mäusen eine eingehendere Besprechung, schon aus dem Grunde, weil sie das weitaus am häufigsten verwendete Verfahren darstellen (siehe oben). Was hier zu sagen ist, läßt sich am besten an veröffentlichte Versuchsprotokolle anlehnen.

a) *Chemotherapeutisches Experiment von C. LEVADITI, VAISMAN und REINIÉ* (l. c., S. 41).

60 Mäuse wurden intracerebral mit dem Lymphogranulomstamm „Kam“ (Emulsion von virushaltigem Mäusehirn) intracerebral geimpft. 30 dienten als Kontrollen, 30 erhielten an 11 aufeinanderfolgenden Tagen je 20 mg des Präparats 33 pro 20 g Mausgewicht per os. Alle Mäuse, welche den 13. bis 14. Tag überlebten, wurden getötet und ihre Gehirne teils für die mikroskopische Untersuchung, teils für die Anlegung weiterer cerebraler Passagen verwendet. Der Grad der anatomischen Läsionen wurde durch die Zeichen 0, +, ++, ++++, +++++ markiert und ebenso wie die Sterblichkeit (vor dem 13. bis 14. Tag) in Prozente der Gesamtzahl (30 behandelte und 30 unbehandelte Mäuse) umgerechnet. Das Ergebnis hatte folgende Form wie Tabelle 2 zeigt (S. 300).

Ein deutlicher Gegensatz zwischen behandelten und unbehandelten Tieren war somit nur in einzelnen Positionen festgestellt worden, wobei man sich noch fragen muß, ob die Unterscheidung zwischen 0 und + (völliges Fehlen von Veränderungen oder spurweise Läsionen) oder zwischen +++ und +++++

Tabelle 2.

Grad der Läsionen	Behandelte Mäuse	Kontrollmäuse
	in Prozenten	
0	47	3
+	11	13
++	16	13
+++	20	17
++++	6	54
Mortalität	0	10
Totale Sterilität der Gehirne (negative Passagen)	23	0

(„ausgesprochene“ und „intensive“ Läsionen) so sicher getroffen werden konnte, daß die registrierten Ziffern beweiskräftig sind. Die Mortalität der Kontrollen aber betrug in einem anderen, an gleicher Stelle publizierten Experiment an 20 Mäusen 70%, so daß dem Umstand, ob die Mäuse vor dem 14. Tag eingingen, offenbar keine Bedeutung beigelegt werden durfte.

b) *Zwei Versuche von G. M. FINDLAY (1, S. 359).*

Diese Versuche bieten insofern spezielles Interesse, als nicht nur oder nicht so sehr die kurative Wirkung einer chemischen Substanz (Sulfanilamid), sondern die antagonistische Beeinflussung derselben durch p-Aminobenzoësäure nachgewiesen werden sollte. Jeder der beiden Versuche umfaßte 150 Mäuse, welche mit virushaltigem Mäusehirn (0,03 ccm einer 10%igen Emulsion) cerebral infiziert wurden. 50 Mäuse dienten als Kontrollen, 50 erhielten täglich 10 mg Sulfanilamid per os, und 50 bekamen eine Mischung von 10 mg Sulfanilamid und 10 mg p-Aminobenzoësäure. Das Protokoll, das hier in toto wiedergegeben wird, um eine Wiederholung an späterer Stelle zu vermeiden, gibt über beide Versuchsreihen Auskunft.

Tabelle 3.

	Mit Sulfanilamid behandelte Mäuse			Mäuse, beh. mit Sulfanilamid plus p-Aminobenzoësäure			Kontrollen		
	1. Exp.	2. Exp.	Total	1. Exp.	2. Exp.	Total	1. Exp.	2. Exp.	Total
Zahl der Mäuse.....	50	50	100	50	50	100	50	50	100
Mit Symptomen reagierten	32	40	72	47	50	97	47	48	95
Intervall zwischen Infektion und Auftreten der Sympt. ¹	3,5	4,39	3,94	4,53	2,10	3,31	3,02	2,04	2,53
Mortalität.....	23	26	49	38	41	79	36	48	84
Intervall zwischen Infektion und Exitus ¹	5,52	4,92	5,22	5,97	4,30	5,13	4,75	3,86	4,30
Symptomlos blieben..	18	10	28	3	0	3	3	2	5
Gesamtzahl der Überlebenden.....	27	24	51	12	9	21	14	2	16

G. M. FINDLAY benützte im Gegensatz zu C. LEVADITI und seinen Mitarbeitern Kriterien, bei welchen das subjektive Ermessen des Experimentators entweder keine oder, wie bei der Beurteilung der Symptome, eine geringere

¹ Durchschnittliche Dauer in Tagen.

Rolle spielte. Er verwendete ferner in jedem Versuche eine sehr große Zahl von Mäusen und ebensoviele Kontrollen. Aber die Differenzen sind im allgemeinen sehr gering, sowohl jene, aus welchen die therapeutische Leistung des Sulfanilamids hervorgehen soll, als auch jene, welche den Beweis zu liefern hätten, daß die antiinfektiöse Kraft des Sulfanilamids durch p-Aminobenzoësäure aufgehoben wird. FINDLAY hat die Ergebnisse der beiden Experimente in der 3., 6. und 9. Vertikalkolumne seines Protokolls addiert und meint, daß der Antagonismus zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoësäure in diesen kombinierten Ziffern besonders deutlich zum Ausdruck komme; doch ändert dieser Kunstgriff nichts an dem Sachverhalt, da die Differenzen Verhältniswerte sind, die nicht dadurch wachsen, daß man sie auf ein doppelt so großes Beobachtungsmaterial bezieht.

Um zu derartigen Resultaten Stellung zu nehmen, muß man sie mit Tierexperimenten vergleichen, welche die Aufgabe hatten, die antiinfektiöse Wirkung von Sulfanilamiden bei *bakteriellen* Prozessen zu prüfen. Als Muster sei eine Tabelle von R. MEIER, O. ALLEMANN und E. MERZ (l. c., S. 339) ausgewählt. Die Autoren infizierten weiße Mäuse intraperitoneal mit Streptokokken oder mit Pneumokokken, und zwar mit der 1000fachen MLD. Von den unbehandelten Kontrollen starben innerhalb 24 Stunden 40—50%, innerhalb von 3 Tagen zirka 95%. Zur Behandlung (per os) wurden Sulfanilamid, Sulfathiazol und Sulfapyridin verwendet, und zwar so, daß die Mäuse am ersten Tage zwei Einzeldosen (2 und 6 Stunden nach der Infektion) und an den folgenden 5 Tagen je eine Einzeldosis erhielten. Als geheilt wurden jene Tiere betrachtet, welche nach Abschluß der 6tägigen Behandlung noch 4 Tage, im ganzen also 10 Tage überlebten; die absoluten Zahlen der geheilten Mäuse wurden auch in Prozente umgerechnet. Alles andere ist der Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 4. (Nach R. MEIER, O. ALLEMANN und E. MERZ.)

Dosis g/kg	Sulfanilamid			Sulfathiazol			Sulfapyridin		
	Zahl der Tiere	nach 10 Tagen überlebende Tiere		Zahl der Tiere	nach 10 Tagen überlebende Tiere		Zahl der Tiere	nach 10 Tagen überlebende Tiere	
		Zahl	in Proz.		Zahl	in Proz.		Zahl	in Proz.
<i>I. Streptokokken.</i>									
0,2	32	20	62,5	24	24	100	22	21	96
0,1	16	5	31	30	29	97	38	35	92
0,05	16	3	19	32	27	85	24	20	83
0,025	8	1	12,5	31	20	64	24	12	50
0,012	—	—	—	8	2	25	8	2	25
Kontrollen:	31	1	3,2	32	1	3,2	24	1	4,2
<i>II. Pneumokokken.</i>									
0,2	24	12	50	8	8	100	24	21	88
0,1	24	9	37,5	32	30	94	32	29	91
0,05	16	3	19	31	23	74	24	16	67
0,025	8	1	12,5	32	20	62	24	13	54
0,012	—	—	—	8	3	37,5	8	3	37,5
Kontrollen:	23	1	4,4	31	2	6,4	16	1	6,3

Das ist ein ganz anderes Bild! Über die Wirksamkeit der drei Präparate ist man keinen Augenblick im Zweifel und eine komparative Bewertung läßt sich ohne weiteres durchführen, wenn auch zunächst nur auf rein dosologischer Basis, neben welcher noch andere wichtige Momente berücksichtigt werden müssen.

Die mit Strepto- oder Pneumokokken intraperitoneal infizierten Mäuse reagieren eben so gleichmäßig, daß der Kontrast der Kontrollen zu den behandelten Exemplaren auch bei bescheidenem Tieraufwand groß genug ist, um zu überzeugen. Bei der mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale intracerebral geimpften Maus ist das, wie gezeigt wurde, nicht der Fall, und darüber helfen auch sehr umfangreiche Versuchsserien nur unvollkommen hinweg. Will man sich aber bei der tiereperimentellen Prüfung verschiedener Verbindungen nur mit kleinen Versuchsgruppen behelfen, so wird man vom Zufall abhängig, und eine vergleichende Einschätzung der Präparate auf Grund von Resultaten, welche so gewonnen wurden, kann nicht den Anspruch auf unbedingte Zuverlässigkeit erheben.

F. BÄR z. B. verwendete jeweils nur 4 Versuchsmäuse und 4 Kontrollen, diese oft so, daß nur eine Kontrollgruppe auf 4—5 Versuchsgruppen entfiel, von denen jede mit einem anderen Präparat behandelt worden war (siehe auch H. SCHLOSSBERGER und F. BÄR). Wie später FINDLAY benutzte auch BÄR als Kriterien der therapeutischen Wirkung die Überlebensdauer (bei einer Beobachtungszeit von 30 Tagen) und das Ausbleiben von Krankheitserscheinungen. Die Sterblichkeit der Kontrollen schwankte von einer Versuchsgruppe zur anderen, was nach BÄR auf der Unmöglichkeit beruhen soll, die intracerebral verimpfte Virusmenge exakt zu dosieren. Dagegen erkrankten nach seinen Angaben alle unbehandelten Kontrolltiere „vom 3. bis 4. Tag ab charakteristisch unter den Erscheinungen einer Meningoencephalitis“, während eine auffallend große Zahl der behandelten Mäuse symptomfrei blieb, und zwar auch dann, wenn die Tiere früher oder später eingingen, was an sich unwahrscheinlich ist und mit den Angaben anderer Autoren nicht übereinstimmt.

Für die intracerebrale Infektion der Mäuse verwendeten die Autoren zunächst immer Emulsionen des Gehirnes von Passagemäusen. Es liegt an der geringen Infektiosität und Pathogenität dieser Virusform, die auch von C. LEVADITI, RAVAUT, SCHOEN und J. LEVADITI sowie von F. O. MACCALLUM und G. M. FINDLAY ausdrücklich hervorgehoben wurde, daß die Kontrollen nicht hinreichend regelmäßig reagieren; um diese Schwierigkeit aus dem Wege zu räumen, könnte man versuchen, die „Mäuse-Virulenz“ des Keimes zu steigern. Intracerebrale Mauspassagen haben diese Wirkung offenbar nicht und die serienweise fortgesetzte Züchtung in der Chorionallantois (G. RAKE, MCKEE und SHAFFER) hatte ebenfalls keinen Erfolg. Dagegen soll die Aktivität des Virus beträchtlich zunehmen, wenn man es längere Zeit nach einer von H. R. COX angegebenen Methode im Dottersack des wachsenden Hühnerembryos kultiviert (G. RAKE, MCKEE und SHAFFER, H. P. JONES, RAKE und MCKEE). Durch Zerreiben oder Zerschütteln des stark infizierten Dottersackes mit Bouillon erhält man 10%ige Suspensionen, welche in der Dosis von 0,03 ccm, cerebral verimpft, weiße Mäuse akut, d. h. innerhalb von 10 Tagen töten (siehe S. 300). Kleinere Mengen wirken nicht mehr so sicher; so sterben z. B. nur 75% der Mäuse, die man mit 0,03 ccm einer 50fachen Verdünnung infiziert hat. Durch die Dottersackpassagen wird also vermutlich nicht die „Mäusevirulenz“ des Virus erhöht, sondern seine Konzentration und die cerebral eingeführte Virusmenge ist es, welche den raschen Ablauf und die Letalität der experimentell erzeugten Meningoencephalitis bestimmt. Damit würde die Vermutung von F. BÄR übereinstimmen, daß die schwankende Letalität der Mäuse nach intracerebralen Impfungen mit virushaltigem Mäusegehirn auf der Unmöglichkeit einer exakten Dosierung beruht; wenn dieses Material nur wenig Virus enthält, müssen sich kleine quantitative Abweichungen stärker auswirken als bei der Verwendung konzentrierter Virussuspensionen.

Bei den bakteriellen Infektionen der Versuchstiere ist man, seit E. K. MARSHALL und seine Mitarbeiter auf diese Verhältnisse aufmerksam gemacht haben,

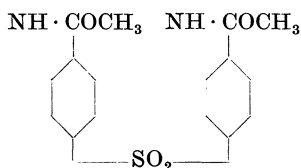
einig, daß die per os verabreichten Minimaldosen eines Chemotherapeutikums noch keine sichere Bewertung gestatten, sondern daß die Resorption (die Aufnahme in das Blut) und die Ausscheidung aus dem Blute bzw. aus dem Organismus berücksichtigt werden müssen. Bei der mit Lymphogranulovirus cerebral infizierten Maus entsteht aber eine Meningoencephalitis, und die Bluttiterkurve entscheidet nicht oder höchstens mittelbar über die chemotherapeutische Leistung, sondern man hat als maßgebend die Konzentration im Liquor, im Gewebe der Meningen und im Parenchym des Zentralnervensystems zu betrachten. Darüber ist aber wenig bekannt. F. BÄR (2, S. 352) meint nur, daß in seinen Experimenten die durch die Molekülgröße bedingte geringere Diffusionsgeschwindigkeit der Sulfonamidfarbstoffe (Prontosil rubrum, Prontosil solubile und Rubiazol) kein Hindernis für den chemotherapeutischen Effekt bildete, während C. LEVADITI (1) einen Unterschied zwischen Sulfanilamid und Rubiazol konstatierte, den er auf die leichtere Diffusibilität der erstgenannten Verbindung bezog. Für die Maus wurde die Verteilung zwischen Blut und Liquor bzw. Nervengewebe jedenfalls nicht experimentell untersucht und Angaben, welche sich auf andere Tiere oder auf den Menschen beziehen (E. K. MARSHALL, EMERSON und CUTTING, M. JANBON, CHAPTAL und LAZERGES), können nicht ohne weiteres auf die Maus übertragen werden. Für die Therapie der natürlichen Infektion des Menschen ist die Permeabilität der Bluthirnschranken für die verschiedenen Sulfonamidverbindungen belanglos; sollte sie bei der cerebral infizierten Maus eine Rolle spielen, so könnten die an diesem Objekt erzielten Resultate keinen verlässlichen Maßstab für die Leistungsfähigkeit beim Menschen abgeben.

Mäuse, welche die cerebrale Infektion mit Lymphogranulomvirus infolge der eingeleiteten chemotherapeutischen Behandlung symptomfrei überleben, sind keineswegs immer als im ätiologischen Sinne geheilt zu betrachten. Im Gehirn solcher Mäuse läßt sich nämlich relativ oft und noch längere Zeit (bis zu 43 Tagen) nach der Infektion bzw. dem Aussetzen der Behandlung aktives Virus durch Übertragung auf andere Tiere nachweisen [F. O. MACCALLUM und G. M. FINDLAY, C. LEVADITI (5), H. SCHLOSSBERGER und F. BÄR]; auch bei überlebenden Kontrollmäusen konnte eine so lange Persistenz des Virus im Gehirn festgestellt werden. H. P. JONES, G. RAKE und MCKEE ließen unbehandelte und mit Sulfaguanidin oder Sulfathiazol behandelte Mäuse, welche die Infektion überstanden hatten, 3 $\frac{1}{2}$ Monate am Leben. Die Tiere entwickelten sich normal und zeugten gesunde Nachkommen; als sie aber schließlich getötet wurden, ergab die Autopsie geringere Grade von Hydrocephalus bei einigen Exemplaren und im Gehirn konnte Virus (durch Eihautimpfung) festgestellt werden; die aus solchem Material isolierten Virusstämme besaßen eine im Verhältnis zum Ausgangsvirus verminderte Infektiosität, eine Erfahrung, die auch SCHLOSSBERGER und BÄR gemacht hatten. Was hier vorliegt, ist eine bloße Behinderung der Vermehrung, eine „*virostatische Wirkung in vivo*“, und es erhebt sich naturgemäß die wichtige Frage, ob man solche therapeutisch induzierte latente Infektionen auch bei der Behandlung der Erkrankung des Menschen in Kauf zu nehmen hat oder ob es sich um ein Phänomen handelt, das durch die infizierte Tierart (die Maus) oder durch das infizierte Gewebe (das Zentralnervensystem) bedingt ist. A priori ist es wahrscheinlicher, daß man auch beim Menschen durch die Sulfanilamidtherapie nicht immer eine Sterilisation im ersten Anlauf („Stoßtherapie“) erzwingen kann, sondern daß man sich unter Umständen mit einer Verhinderung der Vermehrung und einer Beschränkung des Virus auf bevorzugte Verweilorgane (siehe S. 133) bescheiden muß, welche ein späteres Wiederaufflackern des Prozesses und Übertragungen auf andere Personen nicht ausschließen. In chemotherapeutisch nicht beeinflussten Fällen beobachtet man dieses Verhalten

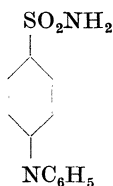
— gerade so wie bei unbehandelten Kontrollmäusen (siehe oben) — nicht selten, und sein Zustandekommen unter Beihilfe einer insuffizienten Therapie kann daher kaum bezweifelt werden. In diesem Sinne sprechen auch die Erfahrungen, welche von mehreren Spezialisten veröffentlicht wurden. Daß der FREISCHE Test und die Komplementbindungsreaktion nach einer klinisch erfolgreichen Sulfonamidtherapie häufig positiv bleiben (G. HARROP, RAKE und SHAFFER), beweist die Persistenz des Virus im Organismus nicht, mahnt aber, wie H. P. JONES und ihre Mitarbeiter mit Recht betonen, zu vorsichtiger Beantwortung der Frage, ob sich die klinische und ätiologische Heilung in jedem Falle decken.

Im Tierexperiment wurde eine große Anzahl von Sulfanilamidderivaten geprüft, zum Teil mit negativem, zum Teil mit positivem Ergebnis. Die negativen Resultate beziehen sich auf Verbindungen, welche sich auch bei Bakterien als unwirksam erwiesen hatten und die wohl meist aus dem Grunde untersucht wurden, weil man gerade wegen ihrer fehlenden antibakteriellen Eigenschaften eine spezifische Beeinflussung von Virusarten, speziell des Virus des Lymphogranuloma inguinale, erhoffte. Sie sollen hier nicht angeführt werden; einige Angaben hierüber findet man bei F. BÄR (2, S. 353f.) sowie bei G. M. FINDLAY (2), in einigen Publikationen von C. LEVADITI und anderwärts. Als wirksam erwiesen sich das Prontosil rubrum und eine Variante desselben, das französische Rubiazol [C. LEVADITI (2), F. BÄR (2)], das Prontosil album und das Prontosil soluble [F. BÄR (1, 2)], das Sulfanilamid [LEVADITI (1, 3—5), G. M. FINDLAY (1, 2), F. O. MACCALLUM und G. M. FINDLAY, H. P. JONES, RAKE und MCKEE], das Albucid [F. BÄR (2)], das Sulfapyridin [SCHLOSSBERGER und BÄR, MCKEE, RAKE, GREEP und VAN DYKE, G. M. FINDLAY (2), H. P. JONES, RAKE und MCKEE], das Sulfathiazol [MCKEE, RAKE, GREEP und VAN DYKE, H. P. JONES, RAKE und MCKEE], das Sulfamethyldiazol [G. M. FINDLAY (2), H. P. JONES, RAKE und MCKEE], das Sulfaguanidin [H. P. JONES, RAKE und MCKEE], die Diseptale A, B und C (Uliron, Neouliron und Disulon) [SCHLOSSBERGER und BÄR, F. BÄR (2), C. LEVADITI (5)], das Sulfadiazin [H. P. JONES, RAKE und MCKEE], das Septazin und Soluseptazin [F. BÄR (2)], das Rodilon [SCHLOSSBERGER und BÄR], das Iloin [F. BÄR (2)], eine Kombination von 4,4'-Diaminodiphenylsulfon mit Glukose [F. O. MACCALLUM und G. M. FINDLAY], das Präparat G 111 = p-Acetylaminophenylsulfondimethylamin [C. LEVADITI (5)], der Azokörper 33 = Lutazol [LEVADITI, VAISMAN und REINIÉ, G. M. FINDLAY (2)] u. a.

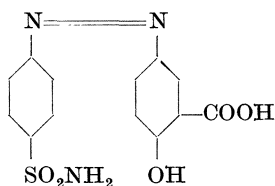
Die Formeln und die chemischen Bezeichnungen für die meisten der oben genannten Präparate findet man in der tabellarischen Übersicht auf S. 275ff. — *Rodilon* [Di(p-acetylaminophenyl)sulfon hat die Formel



Iloin (Sulfanilsäure-4-acetoanilid] entspricht der Formel



und das Präparat 33, synthetisiert von GOISSEDET, DESPOIS, GAILLOT und R. MAYER wird als 4'-Sulfonamido-benzolazo-4-oxybenzol-3-carbonsäure bezeichnet; seine Formel wird wie folgt angegeben:



Es wurde also „nichts unversucht gelassen“, und bei der großen Zahl der wirksamen Verbindungen stellte sich naturgemäß auch das Bedürfnis ein, experimentelle Vergleiche ihrer Leistungsfähigkeit vorzunehmen.

F. BÄR (siehe auch H. SCHLOSSBERGER und F. BÄR), dessen Methode schon auf S. 302 kurz besprochen wurde, faßte die Ergebnisse seiner Untersuchungen dahin zusammen, daß im allgemeinen jene Sulfamidpräparate, welche sich bei verschiedenen bakteriellen Infektionen bewährt haben, auch die cerebrale Infektion der weißen Maus mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale beeinflussen, ja daß sogar ein gewisser Parallelismus beider Wirkungsrichtungen zu konstatieren war, indem Verbindungen mit hoher therapeutischer Leistung gegenüber Gonokokken, Streptokokken und Pneumokokken auch in der mit Lymphogranuloma inguinale inokulierten Maus die stärksten Wirkungen entfalten. Der von KAI SCHMITH (siehe S. 288 f.) formulierte Satz, daß die antibakteriellen Effekte der Sulfamidpräparate unspezifisch, d. h. nicht gegen bestimmte Bakterienarten gerichtet sind, sondern nur Intensitätsabstufungen zeigen, welche im ganzen Wirkungsbereich zum Ausdruck kommen, schien also auch hier gültig zu sein. In den Versuchen von F. BÄR zeigten aber doch die Diseptale und unter diesen wieder das Uliron eine deutliche Überlegenheit, wobei jedoch betont werden muß, daß nicht alle miteinander verglichenen Präparate in gleichem Umfange geprüft wurden, und daß sich auch die Behandlung der infizierten Mäuse nicht in allen Versuchsserien gleich gestaltete, sondern daß die Zahl der Dosen sowie die Zeitdauer der Therapie vielfach variierten [F. BÄR, 2, S. 348—351].

G. M. FINDLAY (2) suchte den relativen therapeutischen Wert von Sulfamethylthiazol, Sulfapyridin, Sulfathiazol, Sulfanilamid und Lutazol zu bestimmen und fand, daß derselbe in dieser Reihe von links nach rechts abnimmt. FINDLAY verwendete für jede Substanz je 100 Versuchs- und 100 Kontrollmäuse, und verabreichte jeder Versuchsm Maus 10 mg pro 20 g Körpergewicht pro die in zwei gleichen Dosen per os (mit Schlundsonde) durch 6 Tage hindurch; nur das an fünfter Stelle genannte Präparat wurde subcutan appliziert. Als Vergleichsmaßstab diente das Verhältnis der überlebenden behandelten Mäuse zur Zahl der überlebenden Kontrollmäuse bei einer Beobachtungsdauer von 14 Tagen. Mit geringerem Tieraufwand (je 12 Versuchs- und 12 Kontrollmäuse) untersuchte FINDLAY noch 11 weitere Verbindungen; 8 waren unwirksam, 2 (Ammonium-4-nitrobenzolsulfonat und 4,4'-Dinitrodiphenylsulfon) zeigten eine geringe und eine schwach angedeutete Aktivität. Auffallend ist, daß das Lutazol in der von FINDLAY bestimmten Rangordnung an letzter Stelle steht, während LEVADITI, VAISMAN und REINIÉ diesem Stoff eine ganz besondere Wirksamkeit zuerkannten, allerdings, was FINDLAY betont, auf Grund eines einzigen Experiments an einem Affen (siehe S. 299) und einer nicht ganz einwandfreien Auswertung an Mäusen (siehe S. 299).

H. P. JONES, G. RAKE und MCKEE verglichen ebenfalls mehrere Präparate miteinander und fanden das Sulfadiazin am stärksten wirksam, an welches sich, nach abnehmender Aktivität geordnet, Sulfathiazol, Sulfaguanidin, Sulfanilamid und Sulfapyridin anschlossen; in einer anderen Versuchsreihe gab Sulfaguanidin die besten Resultate, worauf Sulfathiazol, Sulfanilamid und Sulfapyridin folgten. Das Sulfapyridin hatte also nicht den gleichen Rang wie bei FINDLAY. Doch war die Methodik bei JONES und ihren Mitarbeitern eine andere. Die Mäuse wurden nicht mit virushaltigem Gehirn (von der Maus oder vom Affen) intracerebral infiziert, sondern mit einem Viruspräparat aus Eikulturen, welches in genügenden Dosen alle Kontrollmäuse akut, d. h. innerhalb von 10 Tagen tötete, wodurch naturgemäß die Beurteilung des therapeutischen Effekts der untersuchten Chemotherapeutika erleichtert bzw. gesichert wurde (vgl. S. 297). Auch die Behandlung, mit welcher schon 24—48 Stunden vor der Infektion begonnen wurde, erfolgte in anderer Art, nämlich so, daß die zu prüfenden Substanzen in 1%iger Konzentration dem von SHERMAN angegebenen Trockenfutter für Mäuse bis zum 10. Tage nach der Infektion zugesetzt wurden. Es gelang in einem von der therapeutischen Substanz abhängigen Prozentsatz den akut tödlichen Verlauf der Infektion zu verhindern, doch zeigten auch die behandelten Mäuse fast ausnahmslos Symptome, die sich allerdings meist binnen zwei Wochen wieder völlig zurückbildeten, wenn sich nicht nachträglich ein Hydrocephalus einstellte (kenntlich an der Vorwölbung des Schädels), der unter Gewichtsverlust zum Tode führte.

1940 hatten M. F. SHAFFER, G. RAKE und C. M. MCKEE (Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 44, 408) mitgeteilt, daß sich das Virus des Lymphogranuloma inguinale an die Lunge von weißen Mäusen anpassen läßt, und daß solche pneumotrope Stämme, wenn sie intranasal verimpft werden, Hepatisationen der Lungen oder, falls die instillierten Virusmengen niedriger sind, auch zirkumskripte, makroskopisch sichtbare Herde hervorrufen können. G. RAKE, H. JONES und CLARA NIGG fanden, daß sich die auf diesem Wege erzeugte Erkrankung durch Verfütterung von Sulfadiazin und Sulfathiazol verhindern läßt, auch wenn die Mäuse mit sehr großen Dosen (1000 MID) geimpft wurden. Schließlich versuchten M. VAN DEN ENDE und DORA LUSH diese Methode für quantitative Bestimmungen auszubauen, indem sie die Herde zählten, welche in den Lungen weißer Mäuse nach Instillation von geeigneten Virusverdünnungen entstanden, ein Verfahren, daß G. V. RUDD und F. M. BURNET für die Titrierung der Infektiosität von Verdünnungen des Psittacosevirus benutzt hatten. VAN DEN ENDE und LUSH überzeugten sich von der Brauchbarkeit der „Lungentitration“ beim Lymphogranulomvirus und stellten dann vergleichende Auswertungen verschiedener Sulfonamidderivate an. Uliron und Sulfadiazin wirkten am stärksten, Sulfapyridin, Sulfathiazol, Di-Sulfanilamid und 2-p-Nitrobenzolsulfonamidopyridin mäßig gut, Guanylsulfanilamid sehr schwach; Sulfanilamid, Ammonium-p-nitrobenzolsulfonat und N-acetyl-p-nitrobenzolsulfonamid gar nicht. *Selbst die besten Präparate waren jedoch nicht imstande, das Virus in den Lungen vollständig zu vernichten, wenn auch das Zustandekommen makroskopischer Läsionen verhindert wurde; denn mit den Emulsionen solcher anscheinend normaler Lungen konnten Passagen angelegt werden, welche mit typischen Herden oder mit ausgedehnter Konsolidierung des Lungengewebes reagierten.* VAN DEN ENDE und LUSH betonen, daß ihre vergleichende Bewertung mit den Reihen von G. M. FINDLAY sowie von H. P. JONES, RAKE und MCKEE (siehe oben) nicht übereinstimmt und meinen, daß dies in Anbetracht der verschiedenen Versuchsanordnungen auch nicht zu erwarten sei. Möglich, wenn auch keineswegs sicher; aber die Differenzen lassen die Frage auf jeden Fall als berechtigt erscheinen, ob man nicht vorerst

die Methoden „bewerten“ sollte, bevor man sie zu der theoretisch und praktisch gleich wichtigen vergleichenden Bewertung der chemischen Präparate verwendet.

Welchen Nutzen die praktische Medizin aus diesen experimentellen Untersuchungen gezogen hat, soll später erörtert werden. Hier sei vorerst die Frage diskutiert, ob man aus der Beeinflußbarkeit des Virus des Lymphogranuloma inguinale Schlüsse auf die Natur dieses infektiösen Agens ableiten darf. RAKE, JONES und NIGG legen besonders Gewicht auf den Umstand, daß die Sulfonamidtherapie bei den virusbedingten Infektionen fast durchwegs versagt und daß die Krankheit von NICOLAS und FAVRE in dieser Hinsicht eine auffallende Ausnahme bildet. Sie wollen diesem Sachverhalt durch die Annahme Rechnung tragen, daß das Virus des Lymphogranuloms nicht zu den „wahren“ Virusarten gehört, sondern zusammen mit dem Virus der Psittacose, dem Virus der Meningopneumonie (T. FRANCIS und T. P. MAGILL) und einem von CLARA NIGG isolierten Virus der Mäusepneumonie in eine besondere Gruppe eingereiht werden muß. Die Zusammengehörigkeit des Lymphogranulovirus, des Virus der Meningopneumonie und der Psittacose soll aus morphologischen und tinktoriellen Ähnlichkeiten, aus der Existenz von Entwicklungszyklen und partieller Identität ihrer Antigenfunktionen, die sich durch Komplementbindungsreaktionen nachweisen läßt, hervorgehen (G. RAKE, EATON und F. SHAFFER). Von den vier aufgezählten Virusarten sind aber nur zwei gegen Sulfamidpräparate empfindlich, nämlich das Lymphogranulovirus und — nach Versuchen von G. RAKE, H. JONES und C. NIGG — das NIGGSche Virus der Mäusepneumonie; die beiden anderen sind völlig refraktär, so daß die Abtrennung einer „Lymphogranulom-Psittacose-Gruppe“ von den „wahren Virusarten“ das Verhalten des Lymphogranulovirus in keiner Weise verständlicher macht. Wie sollte man übrigens ein „wahres Virus“ definieren? Hinter solchen Bezeichnungen steht eben nur der unausrottbare Glaube an die Existenz einer biologisch homogenen Klasse von Infektionsstoffen, welche den Namen „Virus“ verdienen; werden Eigenschaften festgestellt, welche sich bei anderen Virusarten nicht finden, so werden solche Agenzien ausgeschieden, wie das ja schon früher bei den Erregern der Pleuropneumonie der Rinder und der Agalaktie der Ziegen geschah. Daß die Sulfamidverbindungen auf Infektionen mit dem Keim des Lymphogranuloma inguinale wirken, auf andere virusbedingte Infektionen nicht, beweist nicht, daß dieser Erreger nicht zu den Virusarten zu zählen ist, ebensowenig natürlich, daß er zu den Bakterien zu stellen wäre, sondern kann nur als ein weiteres Argument dafür gewertet werden, daß der Name „Virus“ derzeit eine biologische Mannigfaltigkeit umspannt (siehe S. 7).

G. M. FINDLAY hat sich in dieser Beziehung weit sachlicher eingestellt, indem er davon ausgeht, daß — nach seinen Untersuchungen (siehe S. 300) — die Infektion mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale nicht nur durch Sulfanilamid gehemmt wird, sondern daß dieser Hemmung die p-Aminobenzoësäure entgegenwirkt, wenn auch nicht so deutlich, wie dies beispielsweise bei den hämolytischen Streptokokken der Fall ist. Unter der Voraussetzung, daß die Verdrängungshypothese von D. D. WOODS richtig ist (siehe S. 284ff.), sieht FINDLAY zwei hypothetische Möglichkeiten, um den Gegensatz zwischen Lymphogranuloma inguinale und Trachom einerseits und allen übrigen Viruserkrankheiten andererseits zu erklären: entweder ist die p-Aminobenzoësäure für alle Virusarten, mit Ausnahme der zwei erstgenannten, kein essentieller Metabolit, oder sie wird von ihnen in einem derartigen Überschuß produziert, daß die Wirkung des Sulfanilamids und verwandter Verbindungen nicht zur Geltung kommen kann. Vielleicht liegt indes beim Lymphogranuloma inguinale die Sache so wie bei den bakteriellen Infektionen, daß nämlich auch chemische Verbindungen, welche

dem Antagonismus der p-Aminobenzoësäure gar nicht unterworfen sind, therapeutisch wirken, in welchem Falle beide Erklärungen FINDLAYS nicht mehr anwendbar wären; ob in dieser Richtung Versuche angestellt wurden, ist mir nicht bekannt.

FINDLAY (1) nannte das Lymphogranuloma inguinale und das Trachom nebeneinander, weil es zur Zeit der Veröffentlichung seiner Arbeit die einzigen nichtbakteriellen Infektionen waren, bei welchen die Wirksamkeit der Sulfamidtherapie als gesichert galt. F. BÄR (2) hat aber darauf aufmerksam gemacht, daß zwischen diesen beiden Infektionen noch ein anderer Zusammenhang konstruiert werden könnte. Morphologisch und durch ihre ausgeprägte Affinität zum Methylenazur bei der Giemsa-Färbung gleichen beide Erreger den Rickettsien. Für die Elemente des Lymphogranuloma inguinale wurden diese Verhältnisse wohl zuerst von MIYAGAWA, MITAMURA, YAOI, ISHII und OKANISHI 1935/36 festgestellt und später von J. CAMINOPETROS (3) bestätigt; sowohl CAMINOPETROS wie etwas früher E. BRUMPT gaben ihrer Überzeugung Ausdruck, daß die Keime des Lymphogranuloms in die Gruppe der Rickettsien einzuordnen seien und BRUMPT schlug die Bezeichnungen „Rickettsia lymphogranulomatis n. sp.“ oder „Miyagawanella lymphogranulomatis n. sp.“ vor. Daß das Trachom durch eine Rickettsienart hervorgerufen wird, ist wohl noch nicht einwandfrei bewiesen; es sprechen aber zahlreiche Argumente für die Richtigkeit dieser Auffassung (siehe das Referat von L. POLEFF, in welchem der aktuelle Stand des Problems der Trachomätiologie objektiv dargestellt ist). Da die Sulfamidtherapie auch bei anderen Rickettsiosen mit Erfolg angewendet wurde, so bei der Herzwasser- oder Buschkrankheit der Wiederkäuer (W. O. NEITZ) und der Rickettsien-Keratoconjunctivitis der Schafe (E. MITSCHERLICH), gewinnt man den Eindruck, als ob die Sulfamidempfindlichkeit bei den Rickettsienarten häufiger anzutreffen sei als bei anderen nichtbakteriellen Erregern. Mehr kann man jedoch nicht sagen, erstens weil die Rickettsienätiologie bei den vier angeführten Infektionen nicht außer Zweifel steht, zweitens weil es sich um solche allgemein anerkannte Rickettsieninfektionen gibt, bei welchen die Sulfamidtherapie völlig versagt hat, so namentlich die verschiedenen Formen des Fleckfiebers (N. TOPPING) und manche ätiologisch noch nicht ganz aufgeklärte Einschlußblenorrhoen (R. KIRK, MCKELVIE und H. A. HUSSEIN).

In einer 1942 erschienenen Übersicht über die Viruskrankheiten der Haus- und Laboratoriumstiere erwähnen K. BELLER und R. BIELING (l. c., S. 198ff.) eine Krankheit der Hunde, welche in England und in den Vereinigten Staaten beobachtet und unter dem Namen „Venerisches Granulom“ oder „Lymphosarkom“ beschrieben wurde. Diese Infektion wird wie das Lymphogranuloma inguinale durch den Geschlechtsakt übertragen; der Primäraffekt sitzt beim Hunde an der Glans penis und am Präputium, bei der Hündin am Boden der Scheide und bietet das Bild von sehr langsam wachsenden, brüchigen und leicht blutenden Granulomen, von denen aus die Infektion auf die Inguinaldrüsen und andere Lymphknoten sowie auf innere Organe übergreift. Da das Virus des Lymphogranuloma inguinale (der Erreger der Krankheit von NICOLAS und FAVRE) auf Hunde mit Erfolg übertragen werden kann [C. T. NICOLAU, G. M. FINDLAY (3)], vermuten BELLER und BIELING eine ätiologische Verwandtschaft, vielleicht sogar eine Identität des venerischen Granuloms der Hunde mit dem Lymphogranuloma inguinale des Menschen. Therapeutische Versuche mit Sulfanilamidderivaten wurden bei der Krankheit der Hunde unseres Wissens noch nicht angestellt. Sie würden besonders für den Fall eindeutig positiver Resultate aus einem zweifachen Grunde Beachtung verdienen, einmal wegen der Beziehungen der beiden Infektionen zueinander, dann aber auch im Hin-

blick auf die so günstig lautenden Berichte über die Behandlung des *Ulcus molle* mit diesen Verbindungen (BRUNS, O. CANIZARES und J. A. COHEN, H. JÄRNECKE, J. LANG, ST. V. PASTINSZKY, A. V. POLONY, A. SÉZARY, E. DE GREGORIO, L. CHARGIN, E. CORTELLA und M. FORCHI, A. HUTCHINSON, CL. SPADA, J. PONHOLD, D. V. KÉMERI u. a.).

Die Behandlung des Lymphogranuloma inguinale mit Sulfanilamidpräparaten setzte ein, bevor noch die tierexperimentellen Untersuchungen genügend ausgebaut waren, um die Einführung dieser Therapie in die Praxis zu rechtfertigen. Der erste Bericht über erzielte Erfolge erschien im Jahre 1938 [N. J. GJURIĆ (1)] und hatte, wie F. BÄR (2) später betonte, sozusagen eine negative theoretische Vorgeschichte. Denn die Versuche, welche C. LEVADITI und A. VAISMAN 1935 an Affen angestellt hatten, waren negativ verlaufen (siehe S. 299), und die ersten positiven Experimente an Mäusen und Meerschweinchen [F. BÄR (1), C. LEVADITI (2)] wurden im Laufe des Jahres 1938 veröffentlicht und konnten GJURIĆ noch nicht bekannt sein, als er die Erprobung am Menschen begann. Auch in der ganzen Folgezeit hat die Therapie des Lymphogranuloma inguinale ihren empirischen Charakter gewahrt, was vor allem darin seinen Ausdruck fand, daß von den Spezialisten alle möglichen Verbindungen dieser chemotherapeutischen Gruppe innerhalb kurzer Zeit „ausprobiert“ wurden und daß noch immer Vorschläge auftauchen, um die kurative Leistung durch die Wahl besonderer Präparate zu verbessern. Um die komparative Bewertung im Tierexperiment [F. BÄR (2), G. M. FINDLAY (2), C. LEVADITI (1), C. LEVADITI, VAISMAN und REINIÉ] hat man sich dabei nicht gekümmert. Vielmehr wurden und werden aufs Geratewohl verwendet: Sulfanilamid (N. J. GJURIĆ, O. CANIZARES und J. A. COHEN, L. CHARGIN, L. A. GRAY und M. L. BARNES, A. A. KNIGHT und V. C. DAVID, G. R. HAMILTON, J. J. KRIJNEN, LÉPINAY, GRÉVIN und DANON, A. MIDANA, A. M. MARINO, TURELL, BUDA und NERB, B. PONTOPPIDAN, A. RADAELI, L. W. SHAFFER und E. ARNOLD, I. L. SCHAMBERG, R. O. STEIN, J. A. TRAUTMAN und H. A. THOMASON, R.-J. WEISSENBACH und Mitarbeiter, R. TURELL und L. NERB), Prontosil (N. J. GJURIĆ, KUBITZKI, A. PHYLACTOS, H. LÖHE, N. DIACONESCU und Mitarbeiter, SÁINZ DE AJA), Rubiazol (BREUIL und GUILLERM, W. MENK und W. MOHR, P. MOULONGET, MOULONGET und MOUZON, A. SÉZARY und Mitarbeiter), Uliron (N. J. GJURIĆ, D. C. CASAux, GAY PRIETO, GÓMEZ und LÓPEZ, J. MARCULESCU und M. COLUMBAN, SANCHEZ BARRIGA, C. TATARU und Mitarbeiter, W. MENK und W. MOHR, F. L. MARTINEZ), Sulfapyridin (DANBOLT, GUNDERSON und HELLAND-HENSEN, P. DUREL, LINGLIN und DESMAZES, K. V. EARLE, P. HILLEMAND, I. JESPERSON, A. MUTER, G. SANTORI, S. ZAHARI und F. AKRAWI), Sulfaguanidin (O. CAÑIZARES und G. E. MORRIS, W. L. PALMER und Mitarbeiter), Sulfathiazol (P. GALVÃO PEIXOTO), Albucid (G. MOLINARI), Elektyl = Diphenylsulfonamid (L. NEBENFÜHRER), Na-Sulfanilat (A. HEBB, SULLIVAN und FELTON), Ultraseptyl (FR. MÜLLER), Septazin (L.-R. MONTEL und NGUYEN-VAN-THO), Streptosil, als „Uliron-ähnliches“ Präparat bezeichnet (M. SIBIRANI), Thioseptal, eine Kombination von Sulfamid und Pyridin (A. CORDERO), Lutazol (C. LEVADITI, VAISMAN und L. REINIÉ).

Die vorstehende Liste ist nicht vollständig, weder mit Beziehung auf die vorliegenden Veröffentlichungen noch auch hinsichtlich der Zahl der tatsächlich benutzten Verbindungen der Sulfonamidgruppe. Auch spiegelt sich in ihr die Kombination von Empirismus und therapeutischer Polypragmasie nur unvollkommen ab. Erstens wurden nicht nur die Chemotherapeutica variiert, sondern auch ihre Dosierung und die Art der Verabreichung (per os, Injektionen, lokale Applikation, z. B. in Form von Salben), und zweitens wurden die Patienten

nicht mit immer einem einzigen Präparat, sondern mit zwei Sulfonamiden oder mit einem Sulfonamid und einem Arsenpräparat behandelt oder es wurden verschiedene, aus der Zeit vor der Einführung der Sulfonamide stammende Heilverfahren herangezogen. Man findet bei vielen Fachleuten die Behauptung, daß die Verwendung der Sulfonamide einen Wendepunkt in der Therapie des Lymphogranuloma inguinale bedeute. Dies ist aber keinesfalls so zu verstehen, daß alle die zahlreichen früher üblichen Methoden gänzlich aus der venerologischen Praxis verschwanden. Man greift noch immer zu den Arsen- und Antimonverbindungen (Anthiomalin, Fuadin), zur Fiebertherapie (Pyriker), zur Jodmedikation, zur Diathermie, zu Injektionen mit dem FREISCHEN Antigen, besonders wenn die Sulfonamide versagen, aber auch ohne solche Nötigung. W. MENK und W. MOHR empfahlen noch 1940, Prontosil oder Uiron mit einer Fiebertherapie (Pyriker) zu verbinden, und C. POPESCO-HERASCA trat 1941 auf Grund seiner Erfahrungen an 59 Fällen für die Behandlung mit Jod-Gold-Verbindungen ein, die nur 20—30 Tage beanspruche und sowohl bei nicht erweichten als auch bei eitrig einschmelzenden Lymphdrüenschwellungen zum Ziele führe. Die Hoffnung, daß die Sulfonamidtherapie chirurgische Eingriffe überflüssig machen würde, hat sich ebenfalls nicht realisiert. In Fällen, in welchen es zu Strikturen des Rectums mit ihren Folgen gekommen ist, müssen auch heute noch Operationen ausgeführt werden und die Darreichung von Sulfonamiden kann nur den Erfolg sichern, bzw. die Heilung beschleunigen (AMÉLINE und HUET, W. H. BARBER und W. B. MURPHY, S. BLONDIN und A. BOCAGE, J. KRÜGER, A. MIDANA u. a.); es bestehen allerdings Meinungsverschiedenheiten, ob man bei gegebener Indikation sofort operativ vorgehen oder zunächst eine konservative Behandlung mit Sulfonamiden und verschiedenen Hilfsmitteln versuchen soll, auf die Gefahr hin, daß nach Monaten doch noch das notwendig wird, was man gerne vermieden hätte.

Es ist unter den geschilderten Verhältnissen nicht leicht, die Erfolge der Sulfonamidtherapie beim Lymphogranuloma inguinale objektiv und richtig einzuschätzen. Eine bisher noch nicht erwähnte, aber sehr ins Gewicht fallende Schwierigkeit liegt darin, daß das Lymphogranuloma inguinale keine cyclisch ablaufende Infektion darstellt, sondern einen Prozeß, der zur chronischen Einnistung in bestimmten Geweben und zu Rezidiven neigt. Es ist fast als selbstverständlich anzusehen, daß die Aussichten auf rasche Heilung um so größer sein werden, je früher die Kranken in die Behandlung kommen, was bei Männern häufiger ist als bei Frauen (siehe S. 133). Verschleppte Fälle, welche schon lange bestehen, welche vorgeschrittene ganglionäre und periproctale Veränderungen, fibröse Indurationen, Mastdarmstrikturen aufweisen, sind entweder völlig refraktär oder erfordern eine mehrere Monate beanspruchende Behandlungsdauer (AMÉLINE und HUET, S. BLONDIN und A. BOCAGE, P. GALVÃO PEIXOTO, J. KRÜGER, A. RADAËLI, E. PAVANATI, MOULONGET und MOUZON, A. SÉZARY, W. MENK und W. MOHR, R.-J. WEISSENBACH und DI MATTEO, S. ZAHARI und F. AKRAWI u. a.). Faßt man das Lymphogranuloma inguinale nicht bloß als eine ätiologische, sondern auch als eine klinische Einheit auf oder verfügt man vorwiegend über ein chemotherapeutisch ungünstiges Krankenmaterial, so kann man daher zu einem recht absprechenden Urteil über die Sulfonamidtherapie gelangen. In Summa darf man aber wohl konstatieren, daß diese Verbindungen eine wertvolle Bereicherung des therapeutischen Könnens darstellen, und daß auch vorhandene Darmveränderungen durchaus keine Kontraindikation gegen die Einleitung einer Sulfonamidbehandlung darstellen (P. MOULONGET, A. SÉZARY und R. WALTHER).

Wie bei Infektionen von andersartiger Ätiologie hat die relativ geringe Toxizität der Sulfonamide dazu geführt, diese Verbindungen auch beim Lympho-

granuloma inguinale im Beginne der Behandlung in sehr großen Dosen zu geben („Stoßtherapie“) und, falls der Erfolg ausbleibt, mit kleineren Dosen die chemotherapeutische Kur Monate hindurch fortzusetzen. So verabreichen beispielsweise A. W. M. MARINO, R. TURELL, A. M. BUDA und L. NERB in den ersten vier Tagen mindestens 24 g Sulfanilamid, und, da ambulante Patienten solche Quantitäten schlecht vertragen, verlangen sie, daß jeder Fall hospitalisiert werde, um bei unerwünschten und bedrohlichen Reaktionen sofort eingreifen zu können; sodann geben die genannten Autoren täglich 3 g, und zwar drei Monate hindurch. Da sie der Ansicht sind, daß für die Heilwirkung eine Minimalkonzentration im Blute (5 mg oder mehr pro 100 ccm Blut) erforderlich ist (vgl. auch E. CORTELLA und M. TORCHI), empfehlen sie, den Sulfanilamidspiegel im Blute täglich zu bestimmen, was selbstverständlich nur in einer gut eingerichteten Klinik durchführbar ist. An vielen Orten und gerade an solchen, wo das Lymphogranulom häufiger ist, können so hochgespannte Forderungen nicht befriedigt werden. Es ist übrigens auffallend, daß man bei den von zahlreichen Spezialisten empfohlenen und durchgeführten protrahierten Behandlungen nicht an die Möglichkeit der Entstehung chemoresistenter Stämme gedacht hat; bei den Bakterien sind solche Veränderungen sicher nachgewiesen und spielen bei den Erwägungen über optimale Behandlungsmethoden eine wichtige Rolle (siehe u. a. R. HEGGLIN).

Wie schon an anderer Stelle betont wurde, darf man auch aus der völligen Rückbildung aller klinischen Erscheinungen nicht mit Sicherheit schließen, daß eine Heilung im ätiologischen Sinn erzielt wurde. Daß die Reaktivität auf das FREISCHE Antigen erhalten bleiben kann, und daß man mit dem Serum der Rekonvaleszenten positive Komplementbindungsreaktionen bekommt (B. SHAFFER, FONDE und GOLDBERG, G. HARROP, RAKE und SHAFFER, A. CORDERO, R. O. STEIN u. v. a.), würde allerdings nicht sicher beweisen, daß der Organismus noch das aktive Virus des Lymphogranuloms beherbergt, wie auch andererseits das Schwinden oder allmähliche Abblässen der Allergie gegen das FREISCHE Antigen kein zuverlässiges Kriterium für die erfolgte chemische Sterilisation ist. Die Bedeutung einer positiven Reaktion auf das FREISCHE Antigen ist übrigens nicht nur zweifelhaft, wenn es sich um klinisch geheilte Fälle handelt; die Diskussionen, ob man Prostituierte ohne charakteristische Krankheitserscheinungen auf Grund eines positiven Reaktionsausfalles als latent infizierte Individuen oder Keimträgerinnen zu betrachten habe, oder ob die Allergie als Residuum einer früher durchgemachten Infektion aufzufassen sei, lehren dies unzweideutig (siehe S. 135; vgl. außerdem E. DE GREGORIO und T. CISNERIS). Aber es wurden Rezidive beobachtet; sie sind höchstwahrscheinlich weit häufiger, als man aus den Angaben im Schrifttum schließen würde, da anzunehmen ist, daß der Patient im Falle eines Rückfalls nicht immer den gleichen Arzt aufsucht.

In den meisten Statistiken, welche über umfangreichere Erfahrungen berichten, wird zugegeben, daß man nicht immer klinische Heilungen erzielen kann, sondern daß man mehr oder minder erhebliche Besserungen und auch komplette Versager in Kauf nehmen muß, und zwar nicht nur in Fällen, welche wegen der langen Dauer des Bestehens der Infektion oder wegen der Art und der Lokalisation der pathologischen Gewebsveränderungen von vornherein eine ungünstige Prognose bieten. Es gibt allerdings auch enthusiastische Berichte, in denen von Mißerfolgen nicht die Rede ist. Dem ist entgegenzuhalten, daß auch andere Heilverfahren des Lymphogranuloma inguinale so stark überwertet wurden, wie z. B. die Behandlungen mit Fuadin, Anthiomalin, mit Jod-Gold-Verbindungen, mit welchen C. CIACALOPOL in 18 Fällen keinen Versager zu verzeichnen hatte, oder die Injektionskuren mit FREISCHEM Antigen, wo M. A. ACOULINE bei einer

Behandlungsdauer von nur 8—30 Tagen und eventueller, aber selten notwendiger Nachbehandlung 94,8% Gesundungen registrierte. Zweitens kann generell festgestellt werden, daß eine Chemotherapie mit hundertprozentigem Erfolg bis jetzt nicht bekannt ist, und daß man speziell bei der Verwendung der Sulfonamid-derivate auch bei Infektionen Mißerfolge beobachtet hat, bei welchen die kurative Leistung dieser Präparate optimal ist wie bei der Gonorrhoe.

b) Das Trachom.

In einer 1942 erschienenen Abhandlung über den gegenwärtigen Stand des Problems der Ätiologie des Trachoms kommt L. POLEFF (2) zu dem Schluß, daß vorläufig noch keine zuverlässige Aussage über die Natur des spezifischen Agens möglich sei. Wohl zähle die Ansicht, daß es sich um eine Rickettsie handelt, viele Anhänger; ihre endgültige Anerkennung müsse aber von weiteren Untersuchungen abhängig gemacht werden, und die vorliegenden Angaben über das Auftreten von Agglutininen für die Proteusstämmen OX 19 und OXK im Serum von Trachomkranken (Reaktion von WEIL-FELIX) seien ebenfalls nicht geeignet, eine Entscheidung herbeizuführen, solange die Spezifität der X-Agglutinine zur Diskussion steht. Die bestehende Unsicherheit drückt sich in der von vielen Trachomatologen erörterten Alternative „Trachom oder Virus“ aus, welche PH. THYGESON (1, 2) so zu lösen sucht, daß er dem Trachomerreger eine Mittelstellung zwischen den Rickettsien und den „eigentlichen“ Virusarten anwies.

Diese Sachlage rechtfertigt eine kurze Besprechung der Chemotherapie, speziell der Sulfonamidtherapie des Trachoms an dieser Stelle. Die Einführung der Sulfonamide erfolgte — wie auch beim Lymphogranuloma inguinale — ohne tierexperimentelle Vorversuche; doch besteht zwischen beiden Fällen insofern ein Unterschied, als diese Lücke beim Trachom auch nachträglich nicht ausgefüllt wurde. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Verhältnisse beim Trachom in dieser Beziehung noch schwieriger lagen, als dies für das Lymphogranuloma inguinale auf S. 298ff. geschildert wurde. Kleine Laboratoriumstiere sind größtenteils nicht empfänglich; die positiven Resultate, die man beim Kaninchen durch intraokulare, intratestikuläre und intracerebrale Impfungen erzielt haben will (siehe L. POLEFF, 2, S. 242), sind inkonstant und symptomatologisch so uncharakteristisch, daß die Wirkung chemotherapeutischer Mittel durch den Vergleich mit unbeeinflussten Kontrollen nicht ersichtlich gemacht werden könnte. Auf die Bindehaut verschiedener Affenarten (Schimpansen, *Macacus rhesus*, *M. cynomolgus*, *M. sylvanus*, *M. inuus*) kann das Trachom des Menschen übertragen werden. Aber die Ergebnisse sind unregelmäßig und man vermißt, wenn die Impfung haftet, stets die Zelleinschlüsse, so daß man nur auf Grund erfolgreicher Rückübertragungen auf den Menschen (G. BLANC, PAGÈS und MARTIN) die Gewißheit erlangt hat, daß die erzeugten, in der Regel geringfügigen Veränderungen der Bindehaut durch das spezifische Agens des Trachoms hervorgerufen werden. Dazu kommt der hohe Preis und die schwere Manipulierbarkeit der Affen sowie der Umstand, daß diese Tiere auch an spontanen Follikulosen erkranken können.

So setzte die Behandlung des Trachoms mit Sulfonamiden als Erprobung an spontan infizierten Menschen ein. HEINEMANN berichtete 1937, daß er drei Trachomfälle mit Septazin und Sulfanilamid behandelt habe und daß das Resultat bei allen drei Patienten „brillant“ gewesen sei. An diese erste Mitteilung schloß sich seit 1938 eine außerordentlich große Zahl von Veröffentlichungen an, die sich bald auf einzelne oder einige wenige Fälle, bald auf ein mehr oder minder umfangreiches Material bezogen. Die Bewertung der neuen Medikation war keineswegs einheitlich und es war auch nicht möglich, aus dem Studium des Schrifttums ein eigenes Urteil abzuleiten. Im Februarheft des American Journal of

Ophthalmology 1941 unterzogen J. E. SMITH, L. A. JULIANELLE und J. H. GAMET die 36 Publikationen, welche bis etwa Mitte 1940 erschienen waren, einer kritischen Besprechung, deren sorgfältiges Studium, obzwar sie naturgemäß nicht mehr aktuell ist, angelegentlich empfohlen werden kann, weil sie ein charakteristisches Bild von dem Zustand entwirft, den eine therapeutische Kasuistik heraufbeschwört, die sich von der Verpflichtung zu wissenschaftlicher Exaktheit lossagt. Um einige Punkte aus den Ausführungen von J. E. SMITH und seinen Mitarbeitern herauszugreifen, haben mehrere Autoren die Sulfonamidtherapie nicht allein, sondern in Kombination mit verschiedenen Formen der Lokalbehandlung angewendet, so daß es unentschieden blieb, welchen Anteil das chemische Mittel an den beobachteten Erfolgen hatte; oder es wurden die Zahlen der behandelten Patienten nicht genannt oder keine Angaben über die klinischen Symptome und die Dauer des Leidens gemacht. Die Gesamtmenge der im Einzelfall verabreichten Sulfonamide, die Tagesdosen und die Dauer der Behandlung wurden in den weitesten Grenzen variiert; so schwankten beispielsweise die Tagesdosen zwischen 1 und 6 g, die Behandlungsdauer zwischen wenigen bis zu 70 Tagen und mehr. Die oft nur summarische Beurteilung der Erfolge fiel sehr verschieden aus und zeigte alle Nuancen von enthusiastischer Zustimmung bis zu völliger Ablehnung.

In der gleichen Publikation berichteten J. E. SMITH, JULIANELLE und GAMET auch über eigene Erfahrungen. Sie wendeten zum Teil Sulfanilamid in mittleren Dosen per os, zum Teil Protosil solubile in Form von Instillationen an und konstatierten, wie fast alle Spezialisten vor ihnen, daß in erster Linie die subjektiven Symptome (Lichtscheu, Sekretion, Juckreiz usw.) gebessert werden und in wechselndem Grade auch der klinische Befund, daß aber Beweise für eine Heilwirkung im engeren (ätiologischen) Sinne noch ausstehen. Eine völlige Genesung gehöre jedenfalls zu den Ausnahmen; in der Regel sei nur eine Besserung oder ein Stillstand des Prozesses festzustellen. Es erscheine daher ratsam, die Sulfonamidtherapie durch eine der üblichen Arten der Lokalbehandlung zu unterstützen.

Schon in dieser ersten Periode der Sulfonamidtherapie des Trachoms taucht bei manchen Autoren die Vorstellung auf, daß sich die Wirkung dieser Verbindungen nicht gegen das spezifische Agens des Trachoms, sondern gegen die beim Trachom so häufigen sekundären Infektionen des Bindehautsackes richte (L. A. JULIANELLE, J. F. LANE und W. P. WHITEP, BURNIER, R. KIRK, MCKELVIE und HUSSEIN, A. BUSACCA, V. CAVARA, G. HATSCHKE, N. J. SHIMKIN, A. F. MACCALLAN, A. B. RECA). Die fast allseits anerkannte Tatsache, daß gerade die subjektiven (unspezifischen) Beschwerden so rasch und gründlich gebessert werden, daß dagegen die Bindehautveränderungen weit langsamer und unregelmäßiger reagieren, leisteten dieser Auffassung Vorschub, wie auch der Umstand, daß man alsbald auch andere Conjunctivitiden nichttrachomatöser Ätiologie (Einschlußblenorrhoen, bakterielle Conjunctivitiden verschiedener Art) mit Sulfonamiden behandelte und Heilerfolge konstatierte, in diesem Sinne sprach. Allerdings bemerkten MCKELVIE, KICK und HALDER hierzu, daß eben doch nicht nur die subjektiven Symptome beeinflußt werden, sondern daß sich auch die Veränderungen an der Cornea (Keratitis, Ulcerationen, Pannus) bessern und zurückbilden, so daß man alle ernstesten Manifestationen des Trachoms in konsequenter Durchführung der präzisierten Hypothese auf sekundäre Infektionen zurückführen und im Trachom einen klinisch milden Prozeß von an sich geringer pathologischer Auswirkung erblicken müßte. Obgleich MCKELVIE und seine Mitarbeiter meinen, daß die zu ihrer Zeit vorliegenden Beobachtungen mit diesem Standpunkt vereinbar wären, bezweifeln sie doch, daß sich alle Spezialisten

zu so weitgehenden Folgerungen entschließen würden, bevor die Beweise nicht eindeutiger würden. Wahrscheinlich könne dieses Problem erst definitiv gelöst werden, bis das Agens des Trachoms isoliert ist oder bis es wenigstens unter ähnlichen experimentellen Bedingungen studiert werden kann wie das Virus des Lymphogranuloma inguinale. In der Tat nahmen L. POLEFF (1) und PH. THYGESON (4) gegen die Hypothese der superponierten Mischinfektionen Stellung.

Die Lokalisation des Trachoms läßt die Frage als berechtigt erscheinen, ob man nicht mit der lokalen Anwendung geeigneter Sulfonamidverbindungen dasselbe erreichen kann, wie mit der Zufuhr solcher Präparate per os. J. E. SMITH, JULIANELLE und GAMET behandelten neun Patienten mit Instillationen einer 2 $\frac{1}{2}$ %igen Lösung von Neoprontosil (Prontosil solubile), welche 4mal täglich von den Kranken selbst eingeträufelt wurde, und zwar durch 2—3 Wochen; es war stets eine rasche subjektive und objektive (klinische) Besserung festzustellen, aber der Zustand wurde vom Ende der ersten Woche ab stationär und es mußte daher eine Behandlung mit Metallsalzen eingeleitet werden, um die Symptome völlig zum Schwinden zu bringen. L. POLEFF (1) stellte vergleichende Versuche an: bei Kranken, denen er Sulfamidpräparate instillierte oder subconjunctival einspritzte, trat keine Änderung der pathologischen Bindehautflora oder der Menge der Trachomkörperchen ein, während eine Allgemeinbehandlung (per os oder durch Injektionen) binnen 14 Tagen die Keimzahl und die Zahl der Trachomkörperchen erheblich reduzierte. In der Folge hat auch G. BIETTI die rein örtliche Behandlung des Trachoms mit Sulfonamiden als wenig wirksam bezeichnet.

So wie beim Lymphogranuloma inguinale wurden die verschiedenen Präparate der Sulfonamidgruppe nach Maßgabe ihres Bekantwerdens und ihrer Bewährung bei anderen Infektionen benutzt und zum Teil auch nebeneinander vom gleichen Spezialisten verwendet, wobei sich jedoch keine Anhaltspunkte für die überragende Wirkung einer bestimmten Verbindung ergaben. Wie beim Lymphogranulom hat die Sulfanilamidtherapie auch beim Trachom die bisherigen Behandlungsmethoden nicht mit einem Schläge verdrängt. Wo sie zunächst ausschließlich angewendet wurde, geschah dies, um ihre Leistungsfähigkeit ohne anderweitige Beihilfe kennenzulernen. Auch in den günstig lautenden Berichten wurde aber auf Versager und auf die Möglichkeit hingewiesen, daß sich bei scheinbar geheilten Fällen Rezidiven einstellen können (nach W. L. COOPER noch nach 6—30 Monaten), daß die subjektiven Beschwerden sehr schnell und oft radikal gebessert werden, in zweiter Linie auch die Veränderungen an der Cornea, daß dagegen die Prozesse an der Bindehaut nicht so prompt reagieren [V. CAVARA (1, 2), G. HATSCHKE, L. JUNIOR, L. POLEFF, (1) H. ROSSBERG, J. SÉDAN, R. SEIDENARI u. a.], und daß man die chemotherapeutische Kur oft über Monate verlängern (L. JUNIOR, G. HATSCHKE, C. TITA u. a.) und zu anderen medikamentös-chirurgischen Methoden Zuflucht nehmen muß.

Was hat sich nun an der so umrissenen Ausgangssituation geändert? Darüber gibt ein Juli/August 1942 im 108. Bande der Klinischen Monatsblätter für Augenheilkunde abgedrucktes Sammelreferat Aufschluß. Der Vorsitzende der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft hatte sich an eine Reihe von deutschen Augenkliniken mit der Bitte gewendet, nach Ablauf eines Jahres über ihre Erfahrungen mit der Sulfonamidtherapie des Trachoms zu berichten. Von den eingelaufenen Mitteilungen wurden die wichtigeren (E. GÖGLER und S. MIELKE, R. LORENZ, R. SCHINDLER, W. ROHRSCHEIDER, H. SCHEYHING, E. PURTSCHER, I. FISCHER, F. GLOWATZKY, W. MEISNER, H. LAUBER, A. MEESMANN und A. M. BRUHN, R. SEEFELDER, A. BOTTERI und P. SOKOLIĆ, G. v. LU-GOSSY, G. MIRANDA) am bezeichneten Orte veröffentlicht.

Das Krankenmaterial umfaßte mehr als 1000 Fälle in verschiedenen Stadien, war also reichhaltig genug. Die Mehrzahl der Kliniker verwendete das Albucid; von anderen Verbindungen wurden Cibazol, Eubasin (Sulfapyridin), Salosept (Bayer), Be 1034 (Bayer), Uliron und Prontosil benutzt, und zwar fast ausschließlich per os; nur A. BOTTERI und P. SOKOLIĆ sowie G. MIRANDA kombinierten die Behandlung per os mit einer lokalen Applikation des gleichen Präparates. Auch in der Dosierung herrschte eine gewisse Einheitlichkeit, indem mit Rücksicht auf die Möglichkeit der Entstehung sulfamidfester Stämme die sog. Stoßtherapie bevorzugt wurde, welche darin besteht, daß man die Sulfonamide einige Tage hindurch in relativ großer Dosis verabreicht und nach einer mehrtägigen Pause den chemotherapeutischen Ictus wiederholt, um, wenn dies erwünscht, noch weitere Stöße im gleichen Rhythmus folgen zu lassen. E. GOGLER und S. MIELKE gaben bei Erwachsenen

Albucid (nach der Vorschrift von V. HANKE): 3mal täglich 3 Tabletten à 0,5 g durch 7 Tage „pro Stoß“; 10 Tage Pause.

Eubasin: 3mal täglich 2 Tabletten à 0,5 g, 5 Tage lang; 10—14 Tage Pause.

Cibazol: 2mal 4 Tabletten à 0,5 g durch 2 Tage, 3mal 2 Tabletten durch 4 Tage, dann 8—14 Tage Pause.

Die anderen Kliniker verfahren in gleicher oder analoger Art. Alle beteiligten Autoren kannten die bereits vorliegende Literatur und die so außerordentlich widersprechenden Urteile, welche über den Wert der Sulfonamidtherapie des Trachoms gefällt worden waren. Von dieser neuen und unter günstigen Bedingungen gestarteten Enquete war daher eine Klärung der Sachlage zu erwarten. Das ist nun nicht eingetreten; vielmehr ist alles beim alten geblieben.

Allgemein zugegeben wird nur, was man schon vorher wußte, daß hochgradige Reizzustände und frische Hornhautveränderungen unter dem Einfluß der resorbierten und im Blute kreisenden Sulfonamide meist rasch zurückgehen, wodurch die Leiden der Kranken schnell und nachhaltig gelindert werden (E. GOGLER und S. MIELKE, R. SCHINDLER, E. PURTSCHER, I. FISCHER, H. LAUBER, G. V. LUGOSSY, G. MIRANDA, A. GARDIČIĆ). Hinsichtlich der Heilwirkung lauten die Aussagen dagegen widersprechend. A. BOTTERI und P. SOKOLIĆ stellen sich „im Prinzip“ auf den Standpunkt, daß das Trachom mit Albucid heilbar sei, und R. SCHINDLER stellt fest, daß sich das Albucid als Heilmittel des Trachoms voll bewährt hat; diese Autoren bestätigen also in vollem Umfange die ausgezeichneten Erfahrungen, über welche vor ihnen V. HANKE und K. LINDNER berichtet hatten. So verzeichnete auch F. GLOWATZKY nahezu 93% klinische Heilungen bei 145 Trachompatienten und nur 3 Versager. W. ROHR-SCHNEIDER beobachtete aber nur bei einem Drittel der behandelten Trachome (53 Fälle) eine günstige Einwirkung auf die trachomatösen Veränderungen, die als klinische Heilung eingeschätzt werden durften, und H. SCHEYHING konnte zwar ein Drittel der frischen (19) und zirka zwei Drittel der älteren Trachome (18) klinisch heilen, doch stellten sich von diesen 37 „geheilten“ Personen 13 nach 2—7 Monaten wieder mit einem Rezidiv zur Behandlung ein. E. PURTSCHER konnte mit bloßer Albucidbehandlung überhaupt kein Trachom zur Abheilung bringen, betont aber, daß in seinem Material ganz frische Fälle und Kinder fehlten. I. FISCHER erklärt dezidiert, daß „die Albucidmedikation allein auch in starken Dosen und auch lokal angewendet nicht imstande ist, das Trachom zu heilen“, und W. MEISNER ist von der Sulfonamidtherapie enttäuscht, weil er sich auf Grund einzelner Angaben in der Literatur ganz andere Erfolge als die von ihm erreichten versprochen hatte.

E. GOGLER und S. MIELKE (l. c., S. 413), welche allein 568 Trachomfälle mit Sulfonamiden behandelt haben, kommen zum Schluß: „Die Sulfonamide

sind also zweifellos eine Bereicherung unseres Rüstzeuges im Kampf gegen das Trachom. Daß sie aber einen grundlegenden Wandel in der Trachombehandlung bedeuten, das kann man nicht behaupten.“ Dieses Urteil entspricht den Tatsachen jedenfalls besser, als die optimistischen Berichte aus früherer und neuerer Zeit, ist aber andererseits, wie die Dinge jetzt liegen, einer durchaus negativistischen Einstellung (K. KUBINCOVÁ, W. A. WILSON, A. F. MACCALLAN, A. BUSACCA, E. JOHANSSON u. a.) vorzuziehen. Die Beeinflussung der subjektiven Beschwerden ist ja fast allgemein anerkannt. Wo Reizerscheinungen fehlen, raten GÖGLER und MIELKE, die vorhandenen Follikel mechanisch zu behandeln, da man sonst nur Zeit verlieren würde. Ob man in solchen Fällen *nebenher* noch chemotherapeutisch vorgehen soll, wollen die genannten Autoren vorläufig noch nicht entscheiden, sondern halten weitere Beobachtungen für notwendig; daß die Sulfonamide auf das Agens des Trachoms spezifisch abtötend wirken, wird also offenbar noch nicht als gesichert betrachtet.

R. LORENZ hat bei seinen mit Albucid behandelten Fällen, soweit sie einer Nachkontrolle unterworfen werden konnten, kein *Rezidiv* beobachtet. Das ist aber wohl auf die geringe Zahl der Kranken und auf die zu kurze Beobachtungsdauer zurückzuführen, Faktoren, die auch bei früheren Angaben (HATSCHEK, T. H. LUO und E. CHANG, RICHARDS, FORSTER und THYGESON) über rezidivfreie Behandlungsergebnisse mitgewirkt haben dürften; man kann die Patienten nicht lange genug im Spital zurückhalten, und im Falle eines Rezidivs wird zweifellos nicht immer der erste Arzt wieder aufgesucht. Sehr viele Augenärzte haben jedenfalls Rezidive festgestellt, darunter auch solche, welche an der deutschen Enquete beteiligt waren (E. GÖGLER und S. MIELKE, H. SCHEYHNG, W. L. COOPER, E. JOHANSSON, V. CAVARA, MACCALLAN, J. E. SMITH, L. A. JULIANELLE und J. H. GAMET u. v. a.), und es lassen sich keine Anhaltspunkte dafür ausfindig machen, daß diese Mißerfolge quoad Dauerheilung dem angewendeten Präparat oder dem Schema der Behandlung zur Last zu legen sind. A. R. MCKELVIE, R. KIRK und H. J. HOLDER vertraten schon 1941 die Ansicht, daß die Sulfonamide das Trachom nicht heilen, sondern nur ein aktives florides Trachom in ein inaktives verwandeln; ob dieser Zustand einer Dauerheilung gleichkommt, kann nicht danach beurteilt werden, daß sich Zelleinschlüsse in den Epithelien nicht mehr nachweisen lassen, da MCKELVIE und seine Mitarbeiter bei drei Personen, bei welchen dieser Befund negativ geworden war, das Wiederauftreten trachomatöser Symptome feststellten. Es gibt daher, wie E. GÖGLER und S. MIELKE betonen, nur ein sicheres Kriterium der Dauerheilung, nämlich das lebenslängliche Freibleiben von Rezidiven. Wird dieser Zustand im Gefolge einer Sulfonamidtherapie erreicht, so darf er nicht ohne weiteres als chemotherapeutische Sterilisation gedeutet werden, da beim Trachom auch Spontanheilungen vorkommen (FR. K. SMITMANS, E. GÖGLER) und da man klinische Heilung und Ausbleiben von Rückfällen auch nach anderen Arten der Behandlung in befriedigendem Umfang beobachtet hat [vgl. u. a. W. ROHRSCHEIDER (1)].

Eine interessante Erfahrung von E. GÖGLER (siehe GÖGLER und MIELKE) beleuchtet das Verhältnis von klinischer Heilung und Dauerheilung von einer besonderen Seite. In die Augenklinik, welche GÖGLER unterstellt war, wurde durch neu aufgenommene Patienten eine infektiöse, durch KOCH-WEEKSSche Bazillen hervorgerufene Conjunctivitis eingeschleppt. 37 Trachomkranke, welche gerade in Albucidbehandlung standen und bei denen der Prozeß stationär geworden war, infizierten sich; die KOCH-WEEKS-Infektion verlief bei ihnen unter den gleichen intensiven Erscheinungen wie bei den frisch aufgenommenen und noch nicht mit Albucid behandelten Personen, und mit dem Auftreten dieser heterologen Infektion setzten plötzlich akute Trachomsymptome ein (wie

schleimig-eitrige Sekretion, papilläre Wucherungen, Aufbrechen von bereits epithelisierten Hornhautgeschwüren). Wie E. GÖGLER betont, zeigte „dieses ungewollte Experiment eindeutig, daß das Trachom durch die Albucidbehandlung nicht beseitigt war“, da die Infektion mit allen ihren Erscheinungen wieder ausgelöst wurde. Man erkennt ferner, daß es vom Zufall abhängen kann, ob eine Exazerbation eines ruhenden Trachoms provoziert wird; zweifellos haben nicht alle Reize dieselbe provozierende Wirkung. Der Schluß von dem Ausbleiben von Rezidiven auf eine erfolgte Dauerheilung hat somit bedingten Wert (siehe oben). Endlich scheint ein Widerspruch zu bestehen zwischen der Erfahrung, daß die Sulfonamide die Reizerscheinungen des Trachoms zum Schwinden bringen, und der Beobachtung von GÖGLER, daß gerade diese Reizerscheinungen ungehemmt wieder aufflammen, obwohl der Organismus unter dem Einfluß dieser Mittel steht; einige der Personen, bei welchen GÖGLER die Exazerbation des Trachoms konstatierte, befanden sich zur Zeit gerade im „3. Albucidstoß“. Eine Erklärung ist vorderhand nicht möglich; man könnte ebensogut annehmen, daß die Reizerscheinungen nicht zu den spezifischen Auswirkungen des Trachomerregers gehören, wie auch, daß die Sulfonamide das spezifische Agens des Trachoms nicht beeinflussen.

Auffallen könnte auch die Angabe, daß sich die Trachompatienten, während sie mit Albucid behandelt wurden, ebenso leicht und intensiv mit KOCH-WEEKS infizierten wie nichtbehandelte Individuen (siehe E. GÖGLER und S. MIELKE, S. 405). Die Sulfonamide wurden und werden ja von vielen Augenärzten als Universalheilmittel gegen akute Conjunctivitiden der verschiedensten Ätiologie empfohlen, und speziell die Infektion mit den KOCH-WEEKSschen Bazillen soll, gleichgültig, ob sie als selbständiger Prozeß auftritt oder als Komplikation des Trachoms, rasch geheilt werden (ET. BURNET, A. CUENOD und R. NATAF, N. DI FEDE, R. SCHINDLER, A. R. MCKELVIE, R. KIRK und H. J. HOLDER u. a.). Allerdings wurden diese Behauptungen nicht allseits anerkannt (V. CAVARA, J. S. GUYTON); mögen jedoch die Sulfonamide die KOCH-WEEKS-Infektion der Bindehaut therapeutisch beeinflussen oder nicht, chemische Prophylactica sind sie nach den Beobachtungen von E. GÖGLER nicht.

Die Gonorrhoe ist seit der Einführung der Sulfonamidtherapie weit seltener geworden, weil die Dauer des infektiösen Stadiums — von den chemoresistenten Fällen abgesehen, welche epidemiologisch nicht ins Gewicht fallen — so stark reduziert wurde, und weil die hospitalisierten Patienten die Heilanstalten in ätiologisch geheiltem Zustande verlassen. Diese Wirkung kann die Sulfonamidtherapie beim Trachom nicht haben. Die Trachomkranken sollen allerdings nicht ambulant behandelt, sondern ins Spital aufgenommen werden, weil man sich nur dann die Gewißheit verschaffen kann, daß die Mittel regelmäßig und in den verordneten Dosen eingenommen werden, und weil Nebenwirkungen, wie sie bei der Stoßtherapie auftreten können, stetige ärztliche Aufsicht erfordern; starke Reizerscheinungen machen den Aufenthalt im Spital ohnehin notwendig (E. GÖGLER und S. MIELKE). Solange die Trachomkranken in einer Anstalt oder Abteilung bleiben, welche nur für solche Patienten bestimmt ist, kommen sie als Infektionsquellen natürlich nicht in Betracht. Aber die Spitalsbehandlung kann eben nicht in allen Fällen bis zur klinischen Heilung verlängert werden, besonders wenn die Patienten aus dem Rekrutierungsbezirk des Spitals in zu großer Zahl zuströmen; ein zuweilen erheblicher Prozentsatz wird dann als ungeheilt, gebessert oder stationär entlassen und bei den klinisch Geheilten können Rezidive auftreten, so daß mit einer mehr oder minder beträchtlichen Streuung durch solche Personen zu rechnen ist. Es sind dies Verhältnisse, wie sie auch bei anderen Infektionen bestehen, und die es als äußerst fragwürdig erscheinen

lassen, ob eine Entseuchung erreicht werden kann, selbst wenn es sich nicht um freizügige Menschenmassen, sondern um Internierte handelt und ausreichende Mittel für die Bekämpfung zu Gebote stehen.

c) Lymphocytäre Choriomeningitis.

S. M. ROSENTHAL, J. G. WOOLEY und H. BAUER impften weiße Mäuse mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis intracerebral und behandelten die Tiere sodann mit Prontosil. Die Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren waren gering und traten nur in Erscheinung, wenn die Mäuse mit kleinen Virusmengen infiziert und mit großen Prontosilgaben in Form von subcutanen Injektionen möglichst bald nach dem Zeitpunkt der intracerebralen Impfung behandelt wurden. Prontosil solubile und Sulfonamidverbindungen ohne Azogruppe, welche bakterielle Infektionen heilen, hatten überhaupt keine Wirkung, eine Angabe, welche auch die unter extremen Bedingungen erzielten positiven Resultate in Frage stellt. In der Tat konnten C. LEVADITI (2), M. RONSE sowie G. M. FINDLAY und MACCALLUM die Angaben von ROSENTHAL und seinen Mitarbeitern nicht bestätigen.

H. LEICHENGER, A. MILZER und H. LACK behandelten einen 24jährigen Neger, der im Zeitraume von 4 Monaten 4 Anfälle von recurrierender lymphocytärer Choriomeningitis hatte, mit Sulfanilamid, im ganzen mit nicht weniger als 453 g. Das Virus wurde erst beim 4. Anfall im Liquor tierexperimentell nachgewiesen, aber der Verlauf bewies, daß auch die ersten 3 Anfälle durch dieses Virus hervorgerufen wurden. Die Darreichung des Sulfanilamids wurde zeitweilig unterbrochen und 2—3 Tage nach jeder Unterbrechung kam es wieder zu einem Anfall, bis endlich nach dem 4. Relaps die Temperatur dauernd zur Norm zurückkehrte und Antikörper im Blute nachweisbar wurden. P. LÉPINE (Bull. de l'Institut Pasteur, 1942, S. 188) meint hierzu, das Sulfanilamid hätte zwar günstig gewirkt, sei aber nicht imstande gewesen, das Virus im Organismus abzutöten; vielleicht ist indes auch dieses Urteil zu optimistisch.

d) Herpes corneae.

Wird durch Sulfonamide nicht beeinflusst [V. CAVARA (2), A. BRÜCKNER]. Auch im Tierexperiment versagen die Sulfonamide. J. FLEXNER, M. CHASSIN und I. S. WRIGHT infizierten 7 Kaninchen mit einem sicher encephalitogenen Stamm von Herpes simplex corneal; den Tieren wurde 2 g Sulfanilamid auf 4 Tagesdosen verteilt mit der Schlundsonde eingegeben, und zwar begann die Behandlung schon 24 Stunden vor der cornealen Impfung; doch war keine Differenz gegenüber nichtbehandelten Kontrollkaninchen zu konstatieren, weder hinsichtlich der Keratoconjunctivitis noch in Beziehung auf die letal verlaufende Encephalitis. Über analoge Resultate haben auch F. BÄR, C. LEVADITI und VAISMANN (5) und D. HÖGGER berichtet.

e) Herpes zoster (Zona).

Über erfolgreiche Behandlung des Herpes zoster mit Prontosil hat schon 1938 H. LAMERS berichtet. LAMERS pinselte die betroffenen Hautflächen mit einer Lösung von Prontosil in Acetonalkohol, gab aber außerdem in manchen Fällen 3 Tabletten Prontosil rubrum pro die per os. Die Reaktion erfolgte prompt; in 2—3, höchstens in 4 Tagen waren nicht nur alle subjektiven Beschwerden geschwunden, sondern es hatten sich auch die Hautveränderungen fast vollständig zurückgebildet. Es handelte sich um ausgeprägte Fälle (im ganzen sieben) mit handbreiten, halbseitig lokalisierten Ausschlägen, die „von Bläschen, Krusten und allerdings auch deutlichen Kratzeffekten übersät waren“. Die

schnelle Heilung überraschte LAMERS um so mehr, als er mit anderen Behandlungsarten, auch wenn sie lange Zeit hindurch fortgesetzt wurden, schlechte Erfahrungen gemacht hatte.

Kann man hier im Zweifel sein, ob der therapeutische Effekt vorwiegend durch die örtliche Anwendung des Präparates oder durch die innere Medikation oder auch durch die Kombination der beiden Verfahren bedingt war, so gilt dies nicht von der Mitteilung von G. ROASENDA, welcher 3 Fälle von schwerem und subacutem Zoster intern mit Sulfanilamid behandelte (0,3 g dreimal täglich bei subacuten Fällen, in schweren Fällen in Abständen von 6 Stunden 3 Tage hindurch, sodann noch 2mal täglich 0,6 g während einer Woche). Die Wirkung war nicht ganz so glänzend, wie sie LAMERS schildert, vermutlich weil die Fälle schwerer waren (zum Teil bestanden gangränartige Hautveränderungen); immerhin hörten die Schmerzen auf, das Fieber schwand in 3 Tagen, die Ausbreitung des Ausschlages wurde gehemmt und die Hautveränderungen heilten innerhalb der ersten Behandlungswoche ab.

Auch K. BLUM verwendete Sulfanilamid (3 g durch 5 Tage hindurch), aber in Kombination mit Vitamininjektionen (B₁ und C) und kochsalzfreier Diät, was natürlich die Beurteilung erschwert; aber man darf im Hinblick auf die Erfahrungen von LAMERS und ROASENDA mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit annehmen, daß an den bei 4 Fällen erzielten befriedigenden Erfolgen das Sulfanilamid beteiligt war. Besondere Beachtung verdient der zweite der von K. BLUM mitgeteilten Fälle, weil hier der Ausschlag im Gesicht lokalisiert und weil das rechte Auge beteiligt war (Conjunctivitis, Keratitis). 7 Tage nach dem Beginn der Erkrankung wurde die Sulfonamidbehandlung begonnen und schon 4 Tage später war der „Lokalbefund, besonders am Auge, gut“. Bei der Entlassung und schon einige Tage vorher (etwa 14 Tage nach dem Beginn der Behandlung) war das Auge symptomfrei.

N. MARKOFF erwähnt kurz, daß er Zonafälle mit Irgamid erfolgreich behandelt habe.

Der Gegensatz, der zwischen Herpes simplex und Herpes zoster (Zona) hinsichtlich ihres Verhaltens gegen die Sulfonamide zu bestehen scheint, legt den Gedanken nahe, ob man die Frage nach den ätiologischen Beziehungen der beiden Prozesse nicht „ex therapia“ lösen könnte, wie das LAMERS im Titel seiner oben zitierten Mitteilung andeutet. Die Behauptung, daß das Agens der Zona mit dem Virus des Herpes simplex identisch sei, ist zwar längst widerlegt [R. DOERR (4)]; es werden aber noch immer die alten, als irrig oder unzureichend erkannten Argumente hervorgeholt, um dieser These Geltung zu verschaffen. So hat z. B. R. WEIZEL mitgeteilt, daß bei einem Manne nach einer Bluttransfusion ein typischer Herpes zoster der linken Thoraxhälfte auftrat; da eine nachträgliche Untersuchung der Blutspenderin einen in Abheilung begriffenen Herpes labialis und eine Herpeseruption der Wangenschleimhaut ergab, hielt WEIZEL die Annahme für berechtigt, „daß der Zoster und Herpes simplex bezüglich ihres Erregers identische Erkrankungen sind“, obwohl es ihm nicht möglich war, bei Kaninchen mit dem Inhalt der Zosterblasen eine Keratoconjunctivitis zu erzeugen. De facto hat WEIZEL durch das negative Ergebnis der Übertragung des Zosterblaseninhaltes auf die Kaninchencornea das Gegenteil von dem bewiesen, was er schließen zu dürfen glaubte. Denn es war ja klar, daß die Zostereruption nicht auf die Transfusion von Herpesvirus zurückgeführt werden durfte, sondern daß es sich um einen Fall von symptomatischem Zoster gehandelt haben muß, wie er durch verschiedene aspezifische Vorgänge, u. a. auch merkwürdigerweise durch eine Behandlung mit Sulfanilamid (J. ALTMAYER) ausgelöst bzw. provoziert werden kann.

Immerhin wäre es angezeigt, die chemotherapeutische Differenzierung des Herpes simplex und der Zona weiter zu verfolgen und auf der anderen Seite zu versuchen, ob nicht auf diesem Wege neue Anhaltspunkte für die Verwandtschaft zwischen Zona und Varicellen gewonnen werden können.

f) Hundestaube.

Die Infektion mit dem von CARRÉ (1905) festgestellten spezifischen Virus kombiniert sich fast regelmäßig mit bakteriellen Infektionen, wobei bestimmte Bakterienarten (*Bact. bronchisepticum*, hämolytische Streptokokken, Enteritiskakterien) vorherrschen und den Verlauf der Krankheit in hohem Grade beeinflussen. Man kann daher bei der Staube von einer komplexen Ätiologie oder von einer ätiologischen Assoziation sprechen, wenn auch nicht mit gleicher Berechtigung wie etwa bei der Schweineinfluenza, weil es ja nicht immer das gleiche Bacterium ist, welches sich als pathogener Faktor zum Virus hinzugesellt.

Diese Verhältnisse müssen die Beurteilung jeder Art von Chemotherapie, insbesondere auch der mit Sulfanilamiden erzielten Resultate außerordentlich erschweren. Erzielt man Erfolge, so wird es zweifelhaft bleiben, ob die basale Virusinfektion gehemmt oder aufgehoben wurde, oder ob eine der bakteriellen Mischinfektionen ausgeschaltet werden konnte und welche Mischinfektion es im Einzelfalle war, deren Eliminierung am günstigen Resultat vorwiegend beteiligt war. Aus denselben Gründen sind natürlich auch Versager vieldeutig; widersprechende Erfahrungen verschiedener Autoren können darauf beruhen, daß das Beobachtungsmaterial in Beziehung auf die komplizierenden bakteriellen Infektionen nicht gleichartig war. Unter diesen Vorbehalten seien nachstehend einige Mitteilungen kurz angeführt.

DAVIAUD und FOURNEAUX behandelten staupekranken Hunde mit Solutseptazin intravenös (bis zu 1 g pro Kilogramm Körpergewicht, mehrmals injiziert bis zur völligen Heilung). Beginnt man mit den Injektionen sofort beim Auftreten der ersten Erscheinungen, so kann man nach den Erfahrungen der Autoren die durch Streptokokken verursachten Lungenentzündungen verhindern oder abschwächen, während die nervösen Symptome nicht beeinflußt werden. Über gute Resultate an spontan erkrankten Hunden und experimentell infizierten Frettchen berichteten später A. R. DOCHEZ und C. A. SLANETZ, welche Natrium-sulfanilyl-sulfanilat (täglich 2mal 1 g per os) anwendeten, sowie PH. M. MARCUS und NECHELES mit Sulfanilamid per os und mit Prontosil intramuskulär. M. L. MORRIS und T. J. MURRAY versuchten, die als Komplikation besonders gefürchtete Meningoencephalitis mit Sulfanilamid, das per os und subcutan in sehr großen Dosen verabreicht wurde, zu heilen; von 14 Hunden, welche dieses Syndrom zeigten, genasen 13 vollständig, und zwar innerhalb von 48 bis 96 Stunden. F. LÖFSTEDT empfiehlt Sulfonamid (4mal täglich 0,5 g bei kleinen, 4mal täglich 1 g per os bei großen Hunden), aber nur neben einer spezifischen Serotherapie als Mittel gegen Mischinfektionen. W. GEIGER, der nur die Publikation von DOCHEZ und SLANETZ zitiert, konnte die Angaben dieser Autoren in eigenen Versuchen an Hunden und Frettchen nicht bestätigen, weder wenn er Natrium-Sulfanilyl-Sulfanilat noch auch ähnlich zusammengesetzte Mittel benutzte. Ebenso wenig konnten sich V. C. DICKERSON und L. F. WHITNEY davon überzeugen, daß Prontosil oder Sulfanilamid den Verlauf der Hundestaube zu beeinflussen vermögen, und MACINTYRE und MONTGOMERIE kamen gleichfalls zu einem ablehnenden Urteil.

g) Influenza.

In mancher Hinsicht besteht hier für die Einschätzung der therapeutischen Leistung irgendwelcher chemischer Verbindungen eine ähnliche Situation wie

bei der Hundestaupe, da Mischinfektionen mit verschiedenen Bakterien (PFEIFFERsche Bazillen, Strepto- und Pneumokokken u. a.) häufig sind und den Verlauf der basalen Infektion beeinflussen, und zwar sowohl bei der sporadischen „Grippe“ wie bei der epidemischen Influenza, für welche die Virusätiologie als gesichert gilt. Es ist jedoch insofern eine Differenz vorhanden, als sich an der Pathogenese der Hundestaupe stets ein bestimmtes Virus als ätiologisches Agens beteiligt, während nach den herrschenden Auffassungen nicht alle Erkrankungen, welche der Praktikus als Grippe oder Influenza bezeichnet, virusbedingt sind, sondern nur die epidemisch oder pandemisch auftretenden Formen. Stellt man sich vorläufig auf diesen Standpunkt, so eröffnen sich nur zwei Wege, um die chemotherapeutische Beeinflussbarkeit des Virusfaktors bei der Influenza zu ermitteln, nämlich 1. die Erprobung am Menschen während eines epidemischen oder pandemischen Seuchezuges, wobei die experimentelle Isolierung des Virus, auch mit Rücksicht auf das Vorkommen differenter Virusstämme, gefordert werden müßte, wenn auch nicht für jeden behandelten Fall, so doch für eine genügende Zahl von Fällen, um den ätiologisch homogenen Charakter des Seuchenausbruches zu sichern; 2. die Prüfung im Tierversuch am Frettchen oder an der weißen Maus. Das zweite Verfahren ist eine von der Seuchelage unabhängige Angelegenheit spezialisierter Laboratorien.

Dementsprechend sehen wir, daß chemotherapeutische Tierversuche schon 1937/38 aufgenommen wurden, von S. M. ROSENTHAL, J. G. WOOLEY und H. BAUER, von C. L. OAKLEY, C. LEVADITI (2), M. L. CROSSLEY, NORTHEY und HULTQUIST. Die mit verschiedenen Derivaten des Sulfonamids ausgeführten Experimente ergaben nicht gerade ermutigende Resultate. OAKLEY, der Tibatin verwendete, konstatierte nur eine geringe Schutzwirkung gegen mäßige Dosen Influenzavirus, und C. LEVADITI kam (mit 4-nitro-4'-aminodiphenylsulfoxyd) zu einem analogen Ergebnis, obwohl er die Mäuse mit einem abgeschwächten Stamm impfte. Mit größerem Tieraufwand arbeiteten D. R. CLIMENKO, M. L. CROSSLEY und E. H. NORTHEY; sie fanden, daß Disulfanilamid (Diseptal C) einen Schutz gegen mäßige Virusdosen gewährt, für weiße Mäuse nur wenig toxisch ist und sehr rasch durch die Nieren ausgeschieden wird; die Angabe, daß das Disulfanilamid und andere Derivate das Influenzavirus in vitro zu neutralisieren vermögen, wurde bald darauf von D. R. CLIMENKO widerrufen. M. PEREZ infizierte Mäuse mit dem Stamm von LAIDLAW, ANDREWS und SMITH durch intranasale Instillation von Suspensionen zerriebener Lungen und injizierte dann täglich Lösungen der auf ihre therapeutische Wirkung zu prüfenden Verbindungen; von drei Präparaten erwiesen sich zwei als wirkungslos und das dritte (p-Aminobenzolsulfamid) vermochte das Leben der Mäuse nur etwas zu verlängern (auf 103 Stunden gegen 70 Stunden bei den Kontrolltieren), wenn die Tagesdosis 2,5 mg betrug, während halb so große Dosen ganz versagten und höhere nicht vertragen wurden.

Auf Grund dieser experimentellen Erfahrungen kann man mit großer Wahrscheinlichkeit voraussagen, daß die Sulfamide bei unkomplizierter Virusinfluenza des Menschen keine nennenswerte Heilwirkung entfalten werden. G. DOMAGK und C. HEGLER [(2), S. 299] möchten diese Frage noch offen lassen, da in den letzten Jahren „kaum Gelegenheit zur Beobachtung schwerer echter Grippeinfektionen“ gegeben war. Indes konnte sich NILS RAHM in Schweden doch überzeugen, daß frische, unkomplizierte Influenzafälle durch Sulfonamid, Sulfapyridin und Sulfathiazol nicht beeinflußt werden, und verwirft daher die Anwendung dieser Mittel, die nichts leisten, teuer sind und überdies noch unangenehme Nebenwirkungen haben können. Ebenso fanden I. D. ADAMSON und R. O. FLETT Sulfapyridin bei Influenza wirkungslos. Selbstverständlich muß

man jedoch, wie dies I. GABRIELSON betont, zwischen reiner Influenza und Influenzafällen, welche durch Pneumonien kompliziert sind, unterscheiden, und zweitens darf man nicht jeden beliebigen fieberhaften Bronchialkatarrh, der sich in epidemiefreier Zeit ereignet, als „Grippe“ oder „Influenza“ registrieren und dann aus den Erfolgen einer chemotherapeutischen Medikation Indikationen für die Therapie der Influenza im allgemeinen ableiten. Daß bakterielle Mischinfektionen der Virusinfluenza durch Sulfanilamide günstig beeinflußt werden können und daß bakterielle Infektionen der Atemwege, an welchen das Virus ätiologisch nicht beteiligt ist, einer solchen Therapie zugänglich sind, würde ja nur dem sichergestellten Aktionsradius dieser Verbindungen entsprechen. In den meisten Berichten über erfolgreiche Behandlung „grippaler Infektionen“ mit Sulfonamiden kommt es klar zum Ausdruck, daß gar nicht die Influenza sensu strictiori gemeint ist, sondern Prozesse mit bakterieller Ätiologie, so bei K. SIGG, K. STENGER, FR. RETHI, K. JANIK, I. TELEGDI u. a. und viele Autoren haben sich zu den präzisierten prinzipiellen Fragen nicht geäußert, so daß ihre Mitteilungen nicht verwertet werden können. Der Nachweis des Influenzavirus durch intranasale Übertragung von Sputum oder Spülflüssigkeiten des Mundes und des Rachens auf Frettchen, weiße Mäuse und Hamster ist allerdings noch so kompliziert, daß seine Anwendung in Untersuchungsämtern oder in den Laboratorien kleinerer Krankenanstalten ausgeschlossen erscheint.

h) Masern.

Es ist als sicher anzusehen, daß die Maserninfektion auf die Behandlung mit Sulfonamiden nicht reagiert (TH. ANDERSON). Wie bei der Influenza könnte man jedoch daran denken, das Auftreten von Komplikationen zu verhüten oder bereits vorhandene Komplikationen therapeutisch zu beeinflussen, insbesondere die häufigen Pneumonien und Bronchopneumonien. Versuche dieser Art sind in der Tat gemacht worden zum Teil in kleinerem, zum Teil in größerem Maßstab (J. C. HOGARTH, I. TELEGDI, HODES, LONG und BLISS, OPITZ und HERTZBERG, A. R. THOMPSON und GREENFIELD, V. KOSSLER u. a.). Die Frage, ob man ausnahmslos bei jedem Masernfall Sulfonamid prophylaktisch geben soll d. h. bevor sich Komplikationen eingestellt haben, ist wohl noch nicht definitiv zu bejahen. I. TELEGDI sah zwar bei 512 Kranken, welche noch vor dem Auftreten des Exanthems und dann fortlaufend Ultraseptyl erhielten, nur 8,2% Komplikationen gegen 19,8% bei einer hinreichend großen Kontrollgruppe und die Letalität war von 4,3% auf 0,2% reduziert. Auch J. C. HOGARTH, der bei 156 Masernfällen 10 Tage hindurch, von der Aufnahme im Spital an gerechnet, 1,5—4g Proseptasin (je nach dem Alter der Kinder) verordnete, konstatierte, daß die Komplikationen, insbesondere Mittelohreiterungen und Lungenentzündungen, speziell wenn es sich um reine Streptokokkeninfektionen handelte, verringert wurden, und analoge Angaben machten A. R. THOMPSON und GREENFIELD. Auch will I. TELEGDI bessere Resultate mit der prophylaktischen Methode erzielt haben, als wenn die chemische Medikation erst nach dem Auftreten pneumonischer Symptome eingeleitet wurde. Andererseits gibt es Masernepidemien, in welchen Komplikationen selten sind (J. C. HOGARTH), und die Komplikationen, namentlich die Pneumonien, werden auch durch die prophylaktische Anwendung der Sulfonamide keineswegs sicher verhindert, sondern es soll eben nur eine statistisch faßbare Differenz in der Häufigkeit ihres Auftretens bestehen, je nachdem die Chemoprophylaxe oder die Chemotherapie angewendet wird; das scheint nun doch eine zu unsichere Basis zu sein, um die Kinder sozusagen aufs Geratewohl erhebliche Dosen von immerhin nicht ganz harmlosen Chemikalien schlucken zu lassen. In manchen Gebieten ist es bereits schwer geworden, Ge-

brauch und Mißbrauch der Sulfonamide voneinander abzugrenzen. Man wird sich also wohl, wenn nicht besondere epidemiologische Verhältnisse eine andere Einstellung verlangen, gegen die Sulfonamidprophylaxe ablehnend verhalten, bei den Masern wie auch bei anderen Infektionen, bei welchen sie empfohlen wurde (Varicellen, Keuchhusten, Scarlatina), ein Urteil, das in letzter Zeit auch von erfahrenen Pädiatern gefällt wurde (vgl. hierzu L. DOXIADIS).

i) Pocken.

Einen anderen Maßstab wie bei den Masern muß man an die Sulfonamidtherapie bei den Pocken anlegen.

Daß die Sulfonamide auf das Variolavirus selbst einwirken, ist allerdings nicht anzunehmen. Versuche von F. OSBERGHAUS ergaben in unzweideutiger Weise, daß die Vaccineinfektion des Kaninchens, wenn man vom Tage der Impfung an intravenöse Injektionen von Alucid oder intramuskuläre Einspritzungen von Prontosil vornimmt, ebenso verläuft wie bei unbehandelten Kontrollen. Gleiche Ergebnisse erzielten auch J. A. KOLMER und H. BROWN sowie A. BRUNI und L. BUDA. PELLEGRINI konstatierte bei 20 Kindern, die er unmittelbar vor der Schutzpockenimpfung mit verschiedenen Sulfonamiden (0,1—0,15 pro Kilogramm an vier aufeinanderfolgenden Tagen) behandelt hatte, einen durchaus normalen Ablauf des Impfprozesses.

V. KOSZLER hat im Gegensatz zu PELLEGRINI mitgeteilt, daß die Vakzination durch vorausgehende Darreichung von Prontosil (3 Tabletten täglich während einer Woche) beeinflußt werden kann. Von 20 so vorbehandelten Kindern reagierten 8 auf die Impfung überhaupt nicht, 4 stark abgeschwächt und nur 8 so wie unvorbehandelte Kontrollkinder. Es fällt zunächst auf, daß sich die mit Prontosil vorbehandelten Kinder so verschieden verhielten, was indes damit zusammenhängen könnte, daß Resorption und Ausscheidung der Sulfonamide und damit auch der Verlauf der Bluttiterkurve von individuellen Faktoren abhängig sind. Die ersten Prontosildosen wurden jedoch 10—8 Tage, die letzten 3—4 Tage vor der Impfung verabfolgt und die Dosen waren auch nicht hoch, so daß der Organismus zur Zeit der Inokulierung des Vaccinevirus nicht mehr unter voller Auswirkung des Prontosils stehen konnte. Mit Rücksicht auf diese Umstände und die gegenteiligen Angaben von PELLEGRINI erscheint eine Nachprüfung erwünscht, die auch von F. OSBERGHAUS in Aussicht gestellt wurde. Die im Literaturverzeichnis zitierte einschlägige Publikation von M. D. URIARTE konnte weder im Original noch als Referat beschafft werden. Übrigens liegen Berichte über die therapeutische Wirkung von Sulfonamiden auf spontan entstandene Kuhpocken bzw. Melkerknoten vor (FR. DEMUTH, H. NAGELL), die im Zusammenhang mit der hier diskutierten prinzipiellen Frage ebenfalls weiter verfolgt und überprüft werden müßten.

Wenn aber auch die Sulfonamide ihre Wirkung nicht gegen das Pockenvirus als solches kehren, ist doch das Stadium suppurationis, die Vereiterung der Bläschen ein gesetzmäßiges Phänomen im Krankheitsgeschehen und nicht bloß eine fakultative Komplikation; und diese Vereiterung, an der sich Strepto- und Staphylokokken als kausale Faktoren beteiligen können, ist es auch, welche die Patienten in der Regel stärker gefährdet als die vorausgehenden Phasen und von der die entstellende Narbenbildung bestimmt wird. Da nun Streptokokken und Staphylokokken in den Wirkungsbereich der Sulfonamide fallen, könnte man versuchen, alle Pockenfälle, zumindest in Epidemien mit schwererem Krankheitsverlauf, ausnahmslos mit solchen Verbindungen zu behandeln, mit größerem Recht, als ein derartiges Vorgehen bei den Masern für sich in Anspruch nehmen dürfte. Es muß aber betont werden, daß der Zusammenhang zwischen

der unmittelbaren Viruswirkung und der bakteriellen Infektion des Pustelinhaltes nicht so aufzufassen ist, als ob die Mitwirkung der Bakterien für die Vereiterung der Pockeneffloreszenzen erforderlich wäre. Für die Vereiterung der Effloreszenzen sowie für die Intensität der dadurch bedingten lokalen und allgemeinen Schädigungen ist in erster Linie die Virusinfektion und ihre Schwere maßgebend; sonst könnte die Malignität der Pockenepidemien nicht innerhalb so weiter Grenzen schwanken. Es vereitert und vernarbt ja auch ganz gesetzmäßig jede lokale Pustel, die wir bei den Schutzimpfungen erzeugen, gleichgültig, welchen Impfstoff wir verwenden, was nicht möglich wäre, wenn die Vereiterung von einer sekundären bakteriellen Infektion abhängen würde. Man wird also wohl die Erwartungen nicht allzu hoch spannen dürfen.

Die ersten Berichte stammen aus den Jahren 1938 und 1939 (C. KING und DE ROZARIO, G. GASPERINI und G. L'ABBATE, W. O. MCCAMMON, S. PIERNA), beziehen sich aber nur auf wenige und zum Teil (W. O. MCCAMMON) gutartige Fälle. Verwendet wurde Prontosil per os oder in Form von Injektionen oder auch so, daß beide Arten der Behandlung miteinander kombiniert wurden (GASPERINI und L'ABBATE). Die Erfolge waren befriedigend, indem die Krankheitsdauer verkürzt, das subjektive Befinden gebessert und die Narbenbildung herabgesetzt wurde; auch konnte der zweite Fieberanstieg verhindert werden (KING und ROZARIO). Die Notwendigkeit, mit der Sulfonamidtherapie möglichst früh zu beginnen und nicht zu rasch aufzuhören, wurde mehrfach betont.

Ein großes Krankenmaterial stand G. HINOJAR und A. CERVACHO zur Verfügung. Bei einer Pockenepidemie in Saragossa konnten sie 151 Fälle in spitalsmäßige Behandlung nehmen, darunter auch 51 Fälle mit confluierenden und 5 Fälle mit hämorrhagischen Blattern. Die Autoren benutzten diese Gelegenheit, um verschiedene therapeutische Verfahren zu erproben und miteinander zu vergleichen, so die Xylolbehandlung nach ZUELWER, Injektionen von Rekonvaleszentenserum, die Methode nach DU CASTEL (Äther plus Opium), den Lichtausschluß und eine Reihe von chemotherapeutischen Substanzen, unter denen neben Urotropin, Neosalvarsan, Goldpräparaten auch einige Sulfonamidverbindungen figurierten. Die Verteilung der Fälle auf die verschiedenen Behandlungsarten war sehr ungleich. Mit Xylol (allein oder in diversen Kombinationen) wurden 34 Fälle behandelt, mit Prontosil 101 Fälle, mit allen übrigen Mitteln nur je 1—3 Patienten, so daß die vergleichende Bewertung nicht auf einer zahlenmäßig gleichartigen Basis erfolgte. HINOJAR und CERVACHO fassen ihre Erfahrungen dahin zusammen, daß alle bisher üblichen Methoden der Pockenbehandlung unwirksam seien und daß das Prontosil als das einzige Medikament zu gelten habe, mit welchem man gute klinische Resultate erzielen kann. Daß das Prontosil eine Sonderstellung unter den Sulfonamiden einnimmt, ist jedoch unwahrscheinlich und, wie eben angedeutet wurde, durch die Erfahrungen der spanischen Autoren auch nicht bewiesen, da 101 Fälle mit Prontosil behandelt wurden, aber nur zwei mit Uliron, zwei mit Sulfanilamid und einer mit Piosin (als „4-Amino-phenyl-sulfoamid“ bezeichnet).

Das Prontosil wurde per os gegeben (Tagesmenge 6—7 g) und außerdem noch intramuskulär injiziert; nebenher wurde die Haut noch mit Lösungen von Prontosil solubile gepinselt. Trotz der großen Dosen wollen HINOJAR und CERVACHO keine schädlichen Nebenwirkungen beobachtet haben. Sie erklären eine so intensive Behandlung vielmehr zur Erzielung eines optimalen Resultates für notwendig, ebenso die Kombination der intramuskulären Injektionen mit der Darreichung per os sowie namentlich auch das frühzeitige Einsetzen der Kur.

Das Prontosil kürzte die verschiedenen Krankheitsphasen erheblich ab, insbesondere auch das Stadium suppurationis, so daß die Haut nur relativ

wenig geschädigt und die Narbenbildung in der Mehrzahl der Fälle auf ein Minimum reduziert wird, was in der Arbeit von HINOJAR und CERVACHO durch zahlreiche Photographien, welche die Patienten während ihrer Erkrankung und nach erfolgter Heilung darstellen, beglaubigt wird. Die Körpertemperatur wurde zum Absinken gebracht und an die Stelle von Lymphocytose und Monocytose trat im Blutbild ein Überwiegen der Neutrophilen. Die Entstehung von Abszessen, welche zu den gefürchteten Komplikationen der Pocken gehören, wurde verhindert. Es war hauptsächlich dieser Umstand, welcher die Autoren veranlaßte, die Ursache der guten Wirkung des Prontosils in seiner bakterio-statischen, gegen Streptokokken und Staphylokokken gerichteten Eigenschaft zu suchen. Spezifisch virulicide Fähigkeiten wollen HINOJAR und CERVACHO dem Prontosil nicht zuerkennen, bezeichnen es aber als auffällig, daß in zwei Fällen der Infektionsprozeß durch das Prontosil coupiert wurde.

Es handelte sich um zwei Männer im Alter von 26 und 33 Jahren, welche nie geimpft worden waren. Die Krankheit hatte den Charakter einer Variola confluens. Das Prontosil wurde vom Tage des Fieberbeginnes an gegeben, also vor dem Aufschließen des Exanthems. Bei einem Patienten kam es nur zur Bildung von Papeln, beim anderen entstanden wohl noch Bläschen, aber die Temperatur sank rasch ab, und die Genesung erfolgte — nach den Krankengeschichten und Fieberkurven zu urteilen — überraschend schnell.

Von den Patienten, bei welchen die Prontosiltherapie früh genug eingeleitet wurde, starb keiner. Hierzu ist zu bemerken, daß die Letalität, bezogen auf die Gesamtzahl der Fälle (also mit Einrechnung der *nicht* mit Prontosil behandelten), niedrig war, nämlich 5,9%, und zweitens, daß sich unter den 151 Kranken 56 befanden, die mit positivem Resultat, meist im Kindesalter, geimpft worden waren, 29, bei welchen ein negatives Impfergebnis verzeichnet ist, und 66, die als Ungeimpfte registriert werden. Wie d. h. in welchem Verhältnis Geimpfte und Ungeimpfte unter den mit Prontosil behandelten Patienten vertreten waren, ist nicht angegeben; aus den Krankengeschichten, welche die Autoren mitgeteilt haben, ist indes zu entnehmen, daß auch viele Ungeimpfte erfolgreich mit Prontosil behandelt wurden (siehe oben).

Nicht so unbedingt zustimmend äußern sich T. B. PATEL und B. P. B. NAIDU auf Grund ihrer in Indien gemachten Erfahrungen. Ihr Krankenmaterial setzte sich jedoch durchschnittlich aus schwereren Fällen zusammen als jenes der spanischen Autoren, bestand hauptsächlich aus confluierenden septischen Pocken und ließ unbeeinflusst eine Letalität von 93% erwarten. Leider kann keine Angabe gemacht werden, wie es um den Imp fzustand der Patienten bestellt war; die Mitteilungen der indischen Ärzte standen nur in Form eines kurzen Referates zur Verfügung. Bemerkenswert erscheint, daß PATEL und NAIDU Uliron, in einigen wenigen Fällen auch Sulfapyridin und im übrigen Sulfanilamid verwendeten, und daß sie dem letztgenannten Präparat den Vorzug gaben; Uliron wirkte toxisch und das Sulfapyridin vermochte, soweit die geringe Zahl der behandelten Fälle ein Urteil erlaubte, weder die Krankheit zu coupiieren noch die Entwicklung der Pusteln zu verhindern. Das Sulfanilamid wurde in einer Gesamtmenge von 44—75 g verabreicht, während der ersten Woche in vierstündigen Intervallen zu 2 Tabletten, sodann eine weitere Woche in den gleichen Intervallen zu 1 Tablette. Nebenwirkungen waren wohl auch zu verzeichnen (38% Erbrechen, 3mal Cyanose, 1mal Hämaturie), zeigten aber im allgemeinen leichten Charakter. Bei hämorrhagischen Pocken war auch das Sulfanilamid wirkungslos; sonst kam seine therapeutische Leistung in der Herabsetzung der Letalität der confluierenden septischen Pocken von 93 auf 50% und in der Milderung des Krankheitsverlaufes sowie in der therapeutischen

Beeinflussung gefährlicher Komplikationen (Sepsis, Arthritis, Furunkulose, Pneumonien) zum Ausdruck.

N. G. CHAKRABARTY erzielte bei einer Patientin, die ein schweres Krankheitsbild mit hohem Fieber darbot, mit Sulfanilamid (5 Tage hindurch 3mal 2 Tabletten täglich) einen Erfolg, obwohl die Behandlung erst im papulösen Stadium eingeleitet wurde. Die Temperatur ging langsam zurück, ebenso die subjektiven Beschwerden, und der zweite Fieberanstieg blieb aus. Die Papeln verwandelten sich in Bläschen, die aber eintrockneten, bevor der Inhalt eitrig wurde, und keine tiefen Narben hinterließen. Der Säugling, der von der Mutter während ihrer Erkrankung gestillt wurde, blieb verschont.

j) Poliomyelitis.

Daß man bei einer so gefährlichen und therapeutisch so wenig zugänglichen Krankheit, wie sie die Poliomyelitis vorstellt, nach vielen vergeblichen Bemühungen auch die Sulfonamide erproben würde, stand zu erwarten. Die Übertragbarkeit des Poliomyelitisvirus auf Affen und die Tatsache, daß diese Tiere mit einem Syndrom reagieren, welches dem Erscheinungsbild der natürlichen Erkrankung des Menschen so ähnlich ist, ließ es als angezeigt erscheinen, zuerst das Experiment über die Aussichten einer so orientierten Chemotherapie zu befragen.

Schon 1937 erschien eine Mitteilung von S. R. KELSON über Versuche an *Macacus rhesus*. In einer ersten Serie wurden vier Affen intranasal mit einer frischen, virushaltigen Markemulsion infiziert; zwei erhielten 50 ccm einer 1%igen Lösung von Sulfanilamid zweimal täglich subcutan, und zwar wurde die erste Injektion schon 3—4 Stunden vor der intranasalen Impfung vorgenommen. In einer zweiten Serie, die aus sechs Affen bestand, welche ebenfalls intranasal infiziert worden waren, wurden vier in gleicher Weise mit Sulfanilamid behandelt. Die übrigen Tiere dienten als Kontrollen. Zwei Affen überlebten, ein behandelter und ein Kontrollaffe, beide nach transitorischer Lähmung. Eine Differenz zugunsten der Sulfonamidtherapie war nicht zu verzeichnen, weder hinsichtlich des Zeitpunktes des Einsetzens und des weiteren Verlaufes der Lähmungen noch auch in Beziehung auf die Überlebensdauer. Die Ergebnisse dieser Versuche, meinte KELSON, geben keinen Anhaltspunkt, dem Sulfanilamid irgendeinen therapeutischen Einfluß auf die Affenpoliomyelitis zuzuschreiben, wobei noch betont wird, daß die Dosierung doppelt so groß war, als sie bei der Behandlung von bakteriellen Infektionen des Menschen üblich ist.

Ebenso negativ verliefen die Versuche von E. B. MCKINLEY, ACREE und MECK an intranasal infizierten Affen, denen sie Prontylin (Sulfanilamid) 5 Tage hindurch in der Menge von 0,5 g pro Kilogramm Körpergewicht (im ganzen 6—12 g, je nach der Größe der Tiere) subcutan injizierten, wobei zwischen intranasaler Impfung und erster Injektion ein Intervall von 48 Stunden eingehalten wurde; alle Tiere verendeten so wie die Kontrollen binnen 10—14 Tagen, mit Ausnahme eines einzigen, das 9,1 g Sulfanilamid erhalten hatte und erst am 27. Tage einging.

E. C. ROSENOW konstatierte bei acht Affen, welche mit Poliomyelitisvirus infiziert und mit Sulfapyridin behandelt worden waren, nicht nur keine Besserung, sondern eine Verschlimmerung der Symptome. Ebenso mußten sich J. A. TOOMEY und W. S. TAKACS in zwei Versuchsreihen überzeugen, daß weder Sulfanilamid, in den für klinische Zwecke üblichen Dosen subcutan injiziert, noch Sulfapyridin (0,5 g 2mal täglich durch 7—10 Tage gegeben) die Entwicklung der Poliomyelitis bei intracerebral geimpften Affen (*Macacus rhesus*) zu verhindern oder den Verlauf der Krankheit zu beeinflussen vermag.

Diese experimentellen Mißerfolge haben jedoch nicht von Versuchen am Menschen abgehalten. W. S. SAKO, R. L. WILDER und A. V. STOEßER behandelten 17 Fälle mit großen Dosen Sulfanilamid, ohne eine günstige Wirkung zu erzielen. Andere Autoren berichteten, daß sich die Krankheit unter der Behandlung mit Sulfapyridin oder Uliron gebessert habe und daß keine Lähmungen aufgetreten seien; aber es handelt sich wie bei J. C. WAGNER, B. E. A. BATT, OHNSORGE um einzelne Fälle, was selbstverständlich keine Schlüsse erlaubt. Sowohl sporadische als auch gehäuft auftretende Erkrankungen an Poliomyelitis können bekanntlich alle Abstufungen der Schwere des Verlaufes zeigen, die aparytischen Fälle haben an Häufigkeit prozentuell zugenommen und Prozesse, welche mit schweren Erscheinungen einsetzen, können ausheilen, Lähmungen können sich vollständig zurückbilden. Man muß daher gerade bei der Poliomyelitis des Menschen Erfahrungen verlangen, welche sich auf ein großes Krankenmaterial beziehen und zudem so geartet sind, daß Täuschungen, wie sie die Vielgestaltigkeit des Infektionsprozesses mit sich bringt ausgeschlossen werden können. Die beiden Berichte von SINCLAIR MILLER und ST. WRAY vermögen diese Forderungen nicht zu befriedigen. Vor allem wurde das Sulfonamid (Sulfapyridin) nicht als einziges Mittel angewendet, sondern mit Injektionen von Rekonvaleszentenserum kombiniert, das Sulfapyridin wurde, solange die Diagnose noch nicht gesichert war, per os, sonst intravenös, zum Teil mit Serum zusammen zugeführt, und alle diese Kombinationen und Variationen erschweren naturgemäß die Beurteilung. Sowohl die Sero- als auch die Chemotherapie wurden forciert; so erhielten Erwachsene am 1. Tag der Behandlung 2mal 20 ccm Rekonvaleszentenserum und insgesamt 8 g Sulfapyridin, am 2. Tage wurden dieselben Mengen Serum und Sulfapyridin verabfolgt und bei schweren Fällen auch noch am 3. Tage. MILLER und WRAY betonen, daß sie seit Einführung dieser Behandlungsmethode keine Todesfälle zu verzeichnen hatten und daß die Lähmungen leichter und seltener waren. Die Epidemie, welche MILLER und WRAY beschreiben, war aber nur klein, und die Beobachtungen der Autoren erstreckten sich bloß auf 48 Fälle von welchen ein Teil (18) im Beginn des Seuchenausbruches symptomatisch behandelt wurden; wenn sich seit der Anwendung des Sulfapyridins kein weiterer Todesfall ereignete, kann der Zufall tätig gewesen sein, da Poliomyelitisepidemien mit sehr niedriger Sterblichkeit (8% und weniger) registriert werden sind. Wenn ferner die Lähmungen tatsächlich leichter und seltener gewesen sein sollten, was sich an einem so kleinen Material schwer beurteilen läßt, verhindert wurden sie nicht, und dies scheint der springende Punkt zu sein.

Übrigens sind nicht nur SAKO und Mitarbeiter zu einer ablehnenden Bewertung der Sulfonamidtherapie bei der Poliomyelitis gekommen, sondern auch G. FANCONI und ZELLWEGER, welche diese Verbindungen in Serienversuchen gegenüber Kontrollen als unwirksam erkannten. Selbst eindeutig positive und einwandfreie Ergebnisse der Sulfonamidtherapie der menschlichen Poliomyelitis müßten sich mit den durchaus negativen Resultaten dieser Medikation bei der experimentellen Affenpoliomyelitis auseinandersetzen. Es sind zwar in der letzten Zeit Untersuchungen veröffentlicht worden, die es als zweifelhaft erscheinen lassen, ob man diese beiden Prozesse so restlos miteinander identifizieren darf, wie dies früher der Fall war (vgl. S. 154—157 dieses Ergänzungsbandes). Aber die Differenzen, welche man jetzt mit mehr oder minder großer Berechtigung feststellen will, sind jedenfalls nicht von solcher Art, um die chemotherapeutischen Mißerfolge bei der Affenpoliomyelitis als bedeutungslos hinstellen zu dürfen; insbesondere sind die nervöse Schienenleitung zum Zentralnervensystem sowie die Lokalisation und pathogene Auswirkung des Virus in demselben auch heute allgemein anerkannt, und für die chemotherapeutische Beeinflussbarkeit dieses

Prozeßanteiles müssen die gleichen Bedingungen gültig sein wie für die Polio-myelitis des Menschen.

k) Rabies.

In Versuchen an mit Virus fixe intracerebral infizierten Ratten konnten P. GROSS, F. B. COOPER und M. LEWIS durch Behandlung mit Sulfanilamid und Sulfanilyl-sulfanilat nicht mehr erzielen als eine geringfügige Verlängerung der Überlebensdauer und auch dies nur bei einigen, nicht bei allen Versuchstieren; gegenüber den Kontrollen bestand jedenfalls kein durchgreifender Unterschied, und der Exitus erfolgte in jedem Falle bis zum 10. Tage post infectionem. Die Versuche von R. KIRK verliefen völlig negativ (Kaninchen, infiziert mit Virus fixe, behandelt mit Prontosil solubile).

Bei einem an Rabies erkrankten Menschen wendeten B. F. HART und E. EVANS Sulfanilamid an, 1,3 g intramuskulär 3mal in Intervallen von 2 Stunden, dann alle 4 Stunden, bis eine Gesamtmenge von 9 g erreicht war. Der letale Verlauf der Krankheit wurde in keiner Weise beeinflußt. Der Mann war 22 Tage vor dem Beginn der Symptome an der Unterlippe von einem Hunde gebissen worden, der 6 Monate vorher gegen Lyssa (durch eine einzige Injektion) geimpft worden war; im Vertrauen darauf hatte der Mann keinen Arzt konsultiert. Der Hund hatte übrigens auch den Hund des Patienten gebissen, der nach demselben Verfahren vacciniert worden war; dieser Hund erkrankte ebenfalls nach 2 Wochen und verendete 3 Tage später. Doch wurde die Diagnose bei keinem der beiden Hunde in einer staatlichen Untersuchungsanstalt verifiziert.

l) Psittacose.

H. C. HINSHAW behandelte einen Fall mit Sulfapyridin, WOENKHAUS einen zweiten Fall mit Prontosil solubile. Beide Autoren hatten den Eindruck einer günstigen Wirkung.

m) Parotitis epidemica.

Hier soll sich Prontosil sowohl als Sulfapyridin nach dem Zeugnis von C. KAESTLE als auch von C. HEGLER (siehe DOMAGK und HEGLER, 2. Aufl., S. 291) hervorragend bewährt haben, und zwar schon in relativ kleinen Dosen. Das Fieber fällt, die Schmerzen lassen nach, die Schwellung der Parotis geht rasch und vollständig zurück, und Komplikationen (Orchitis) treten nicht auf oder werden günstig beeinflußt. C. HEGLER denkt übrigens auch in diesem Falle nicht an eine direkte Wirkung auf das spezifische Virus, sondern sucht die Ursache des therapeutischen Effekts in der Beherrschung der Mischinfektionen.

n) Encephalitiden verschiedener Ätiologie.

Amerikanische (St. Louis-) Encephalitis. Negative, hauptsächlich experimentelle Ergebnisse [C. LEVADITI (2), S. M. ROSENTHAL, J. G. WOOLEY und H. BAUER].

Postinfektionelle Encephalitiden. Zwei Fälle von Encephalitis nach Pockenimpfung, welche unter der Behandlung mit Sulfapyridin genasen (I. SCHJÖTH-IVARSEN, Y. GARLAND).

Bemerkenswert ist eine Mitteilung von FR. WILHELM, welche einen 2 Jahre alten Knaben betraf, bei welchem auf Grund der Anamnese die Vermutungsdiagnose „Grippe-Encephalitis“ gestellt wurde. Das Kind stand 3 Monate in Spitalsbehandlung und da keine Hoffnung vorhanden war, sein Leben zu erhalten, wurden schließlich 6mal im Anschluß an Lumbalpunktionen und Ablassen von je 30 ccm Liquor 5 ccm Prontosil (mit Aq. dest. im Verhältnis von 2:5 verdünnt) intralumbal injiziert. Von da an erfolgte die Wendung zum Guten, nachdem vorher Prontosil per os wirkungslos gewesen war und intramuskuläre

Prontosilinjektionen bloß das Fortschreiten des Prozesses gehemmt hatten. WILHELM ist trotzdem überzeugt, daß die intralumbale Zufuhr des Prontosils die Besserung herbeigeführt habe, obwohl er selbst Untersuchungen von A. JAUERNECK und W. GUEFFROY zitiert, denen zufolge Prontosil, auch wenn es per os gegeben oder intramuskulär injiziert wird, in genügenden Mengen in den Liquor gelangt (vgl. hierzu S. 303). Neben dem Prontosil könnte — nach der Ansicht von WILHELM — auch noch das Fieber am therapeutischen Effekt beteiligt gewesen sein. Nach jeder intralumbalen Prontosilinjektion trat nämlich eine Temperatursteigerung von mehr als 39° C auf, welche als „Prontosilzacke“ bezeichnet wird. Es ist aber möglich, daß diese Zacke mit dem Prontosil gar nichts zu tun hatte, sondern durch das destillierte Wasser, in welchem das Präparat aufgelöst war, hervorgerufen wurde. Wie L. JACCHIA gezeigt hat, wirkt die Injektion von Aqua destillata, und zwar kleiner Mengen (1,5 ccm), sehr stark reizend auf die Meningen und erzeugt einen bedrohlichen, von hohem Fieber begleiteten Krankheitszustand; ähnliche Reaktionen vermochte JACCHIA an Kaninchen durch intralumbal injiziertes destilliertes Wasser auszulösen. WILHELM wollte sich überzeugen, ob durch die intralumbale Anwendung von Prontosil Schädigungen bewirkt werden können, und stellte zu diesem Zwecke Experimente an Kaninchen und Katzen an; es traten Symptome auf, die auf eine Störung der sensiblen und motorischen Innervation der unteren Extremitäten bezogen wurden, und WILHELM rät daher, die intralumbale Prontosilzufuhr nur in verzweifelten Fällen anzuwenden und auch dann vorerst die Darreichung per os oder Injektionen zu versuchen. ST. STEFANINI hat aber nach intraspinalen Injektionen von Sulfonamiden bei Kindern von 2—10 Jahren Myelomeningitiden mit Verklebungen, Radiculitiden, Inkontinenz und Extremitätenlähmungen beobachtet, die er auf den stark abweichenden pH der eingespritzten Lösungen zurückführt, und warnt geradezu vor dieser Art der Anwendung. Mag nun, wie man auf Grund der Erfahrungen von CERQUEIRA LUZ und L. JACCHIA annehmen könnte, das destillierte Wasser oder der pH der Sulfonamidlösungen das schädigende Agens sein, theoretisch und auch praktisch steht die Sache so, daß FR. WILHELM keinen Beweis für die Wirkung des Prontosils in dem mitgeteilten, ätiologisch überdies unklaren Fall erbracht hat, und daß daher die von ihm angewendete Methode auch aus diesem Grunde abzulehnen ist.

Encephalitis nach Röteln. Besserung bei einem mit Eubasin behandelten Falle [C. HEGLER in DOMAGK und HEGLER (2, S. 291)].

o) Andere virusbedingte Infektionen.

Negative tierexperimentelle Resultate wurden mit folgenden Virusarten erzielt: Maul- und Klauenseuche [C. LEVADITI (2)], Gelbfieber (G. M. FINDLAY und MACCALLUM), Rift-valley-Fieber (G. M. FINDLAY und MACCALLUM), Kaninchenfibrom (FINDLAY und MACCALLUM, MCKINLEY, ACREE und MECK), Myxomatose des Kaninchens (FINDLAY und MACCALLUM, MCKINLEY, ACREE und MECK, A. J. RHODES und VAN ROOYEN), und AUJESZKYSche Krankheit (P. REMLINGER und J. BAILLY).

Ferner liegen vereinzelte kasuistische Mitteilungen über therapeutische Erfolge der Sulfonamidtherapie bei Erkrankungen vor, bei welchen die Virusätiologie zwar nicht gesichert ist, aber doch mit größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit angenommen werden darf.

So für das PFEIFFERSche Drüsenfieber (infektiöse Mononucleose), bei welchem C. HEGLER in einem Falle durch Eubasin eine rasche Abheilung sah [G. DOMAGK und C. HEGLER (2, S. 295)]. H. C. A. LASSEN und ST. THOMSEN konstatierten dagegen bessere Wirkungen von einer Behandlung mit Rekonvaleszentenserum,

und ST. THOMSEN möchte in einer besonderen Mitteilung dem Prontosil nur einen Einfluß auf die komplizierende Mischinfektion der Tonsillen zugestehen.

Die Sulfonamide sollen ferner beim Erythema infectiosum multiforme (H. HRUSZEK, K. LINSER, SCHREIBER), beim Pemphigus vulgaris, diesem beliebten Objekt ätiologischer Spekulationen und therapeutischen Herumratens (E. S. LAIN und J. H. LAMB, M. R. CARO), ja sogar bei der HODGKINSchen Lymphogranulomatose [K. BINGOLD, C. HEGLER in DOMAGK und HEGLER (2, S. 294)] gute Wirkungen entfaltet haben.

Diese optimistisch angefärbte Kasuistik, die übrigens ihren Höhepunkt bereits überschritten zu haben scheint, steht im Widerspruch 1. bei den Infektionen, bei welchen Tierexperimente ausgeführt werden konnten, zu den negativen oder zweifelhaften Ergebnissen solcher Versuche; 2. zu der so oft wiederholten Aussage, daß sich virusbedingte Infektionen mit wenigen Ausnahmen gegen die Sulfonamidtherapie refraktär verhalten, was man allerdings in vielen Fällen durch die Annahme zu entkräften sucht, daß sich die therapeutische Aktivität dieser Verbindungen eben nicht gegen die Viruskomponente, sondern gegen begleitende oder komplizierende bakterielle Infekte kehrt; 3. schließlich bis zu einem gewissen Grade mit der Tatsache, daß sich auch andere Mittel als chemische Prophylactica und Therapeutica bei virusbedingten Infektionen im allgemeinen nicht bewährt haben (vgl. hierzu S. 271), worüber der nachstehende Anhang einige kurzgefaßte Angaben enthält.

II. Die Chemotherapie der Virusinfektionen durch Substanzen anderer Art.

So wie die Sulfonamidtherapie der virusbedingten Infektionen eine rein empirische Abzweigung eines bereits sichergestellten Bewährungsgebietes, nämlich der Chemotherapie bakterieller Prozesse darstellt, hat die Frage nach einem „Ob nicht auch“ bei Verbindungen anderer Art ebenfalls die Hauptrolle gespielt. Nebenher waren auch andere Motive bestimmend, so beim Lymphogranuloma inguinale der Umstand, daß es eine „Geschlechtskrankheit“ ist, oder die Wahl von Mitteln, denen man allgemeine mikrobicide Eigenschaften zuschreiben konnte wie dem Urotropin. Mit der zunehmenden Zahl von Chemikalien, die sich in irgendeiner Richtung als leistungsfähig erwiesen hatten, wuchs naturgemäß auch der Umfang der Möglichkeiten, die bei den Virusinfektionen erprobt sein wollten oder erprobt werden konnten, was meist so geschah, daß das Verhalten eines bestimmten Virusinfektes gegen eine größere Zahl bekannter Chemotherapeutica geprüft wurde.

Als Beispiel mag hier eine im April 1934, also vor dem Bekanntwerden des Prontosils abgeschlossene Publikation von A. HOYT, R. T. FISK und C. H. THIENES dienen. Diese Autoren infizierten Mäuse intracerebral mit Lyssavirus (Virus fixe) und spritzten den Tieren 48 Stunden später chemotherapeutische Substanzen ein, welche in Wasser, 1% Jodnatrium, 25% Dextrose und 1% Theophyllin-Natriumacetat gelöst waren; die Variation der Lösungsmittel verfolgte den Zweck, eine möglichst ausgiebige Passage durch die Blut-Hirn-Schranke zu sichern. Es wurden 14 verschiedene Substanzen benutzt, und zwar die Hauptrepräsentanten, welche zu jener Zeit in allgemeinerer klinischer Verwendung standen. Da für jede Kombination, d. h. für jede Substanz und jedes der vier Lösungsmittel eine Gruppe von zirka 24 Mäusen eingestellt wurde, ergab sich ein Totalverbrauch von etwa 1400 Mäusen. In Übereinstimmung mit früheren Angaben von L. BARCHI, E. FRIEDBERGER und F. SACHS, A. HOYT und C. W.

JUNGEBLUT u. v. a. waren die Resultate komplett negativ und eine Mitteilung von P. REMLINGER und J. BAILLY, derzufolge Sparteinsulfat bei Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten als Prophylacticum gegen experimentell erzeugte Rabies zu wirken schien, konnte nicht bestätigt werden.

Die 14 Substanzen, welche A. HOYT und seine Mitarbeiter in der zitierten Arbeit auf ihre antirabischen Eigenschaften prüften, repräsentieren nur einen Bruchteil der Stoffe, die man bis zu diesem Zeitpunkt untersucht hatte. Seither sind noch die Sulfonamide hinzugekommen (siehe S. 328), und doch steht die Sache so, daß heute wohl niemand versuchen wird, den Ausbruch der Tollwut bei gebissenen Menschen oder Tieren durch chemische Mittel zu verhindern oder die schon manifest gewordene Infektion auf solche Art zu heilen. Es ist aber charakteristisch, daß im älteren Schrifttum Berichte existieren, denen zufolge die Lyssa des Menschen durch verschiedene Substanzen geheilt werden konnte, so durch Behandlung mit Cufare (OFFENBERG), mit Chinin (D. L. HARRIS) und durch Salvarsan (R. TONIN).¹ V. H. MOON (1) hatte ferner mitgeteilt, daß von vier Hunden, welche er mit virushaltigem Hirnmaterial in den Tractus opticus geimpft und sodann einer intensiven Chininkur (per os und subcutan injiziert) unterworfen hatte, drei am Leben blieben, während einer erst 2 $\frac{1}{2}$ Monate nach Abschluß der Chininbehandlung aus unbekanntem Gründen einging; die gleichzeitig infizierten Kontrollhunde verendeten an typischer Lyssa. V. H. MOON (2) mußte allerdings zugeben, daß er diese erstaunlichen Resultate nicht reproduzieren konnte, und daß Chinin bei der Prophylaxe und Behandlung der Tollwut versage, gleichgültig, ob es sich um Menschen, Hunde oder Kaninchen handelt. Aber diese jetzt schon vergessenen Publikationen haben doch für den, der ihren Inhalt kennt, eine Bedeutung bewahrt, weil sie in hohem Grade geeignet sind, die Überschätzung einzelner chemotherapeutischer „Erfolge“, wie sie auch jetzt wieder bei der Anwendung der Sulfonamidbehandlung auf Virusinfektionen auftauchen, zu verhindern.

Die Veröffentlichung von A. HOYT und seinen Mitarbeitern kann durch die große Zahl der mit einer einheitlichen Versuchsanordnung getesteten chemischen Verbindungen befremdend wirken, aber nur, wenn man ihre Antezedentien nicht berücksichtigt. Es waren eben schon viele Stoffe geprüft worden, und die Autoren hatten eine Art ausgedehnter Nachmusterung im Sinne, wie sie durch die Verwendung der Maus als Versuchstier ermöglicht wurde. In der Regel spielt sich der untersuchungstechnische und publizistische Vorgang so ab, daß sich das leider meist negative Gesamtergebnis aus zahlreichen Teilarbeiten aufbaut, wobei die Bekanntgabe vermeintlicher Erfolge die jeweilige Richtung der Bestrebungen bestimmt.

So hat sich der gegenwärtige ablehnende Standpunkt der Veterinärmedizin gegenüber einer Chemotherapie und Chemoprophylaxe der Maul- und Klauen-seuche als Facit einer über Jahrzehnte ausgedehnten Kette von Enttäuschungen entwickelt. Seit BACCELLI (1901) den Vorschlag machte, dieses Virus im Organismus des infizierten Rindes durch intravenöse Sublimatinjektionen abzutöten, wurden Versuche mit den verschiedenartigsten Mitteln immer wieder angestellt, mit Kollargol, mit Arsenverbindungen (Atoxyl, Arsenophenylglyzin, Salvarsan, Chinarsanil, Natrium arsenilicum), mit Jodkalium, Trypasafrol, Trypaflavin, Trypanblau, mit Metallverbindungen, mit Harnstoffderivaten, mit Chinolinderivaten, insbesondere auch mit Chinin, mit formalinabspaltenden Präparaten (Urotropin, Citarin, Hetralin u. a.), und wenn es einen Zweck hätte, könnte man diese Liste noch ganz beträchtlich verlängern. Auch hier kam es schließlich zu umfangreichen Versuchen, welche zahlreiche im Negativen noch verbliebene „Lücken“ ausfüllten (K. TRAUTWEIN, I. A. GALLOWAY).

Ein ähnliches Bild bieten die chemotherapeutischen Versuche bei der AUJESZKYSCHEN Krankheit (G. ROSENBERGER), bei der ansteckenden Schweine-lähmung oder Teschener Krankheit (DIERNHOFER, WEIDLICH), und bei der Hundestaube, da man die Sulfonamidtherapie (siehe S. 320) nicht als positiven Abschluß der langen Kette negativer Erfahrungen (siehe HUTYRA-MAREK-MANNINGER, 1. Bd., S. 154) betrachten kann.

Unzweifelhaft positive Erfolge wurden bei virusbedingten Infektionen nur in äußerst geringer Zahl erzielt. Was in dieser Hinsicht von den Sulfonamiden zu sagen ist, wurde bereits ausführlich erörtert. Sonst wären nur noch neuere Angaben von WITT sowie von KOLJAKOFF und KATALVA über eine Heilwirkung von Neosalvarsan bei der Pleuropneumonie der Rinder zu erwähnen, die aber noch nicht hinreichend beglaubigt sind (HUTYRA-MAREK-MANNINGER, 1. Bd., S. 371), sowie die Untersuchungen von CERNAJANU und SCHLENKER, denen zufolge Geflügelpocken (epitheliomatöse und diphtherische Form) und die *Coryza avium* enzootica stets abheilen, wenn man 1 ccm einer 40%igen Lösung von Urotropin (Hexamethylentetramin) pro Kilogramm Körpergewicht wiederholt (alle 24 Stunden) intramuskulär injiziert. Urotropin wurde auch gegen die BORNASCHE Krankheit der Pferde und Schafe empfohlen und soll in einem höheren Prozentsatz Heilung geben als andere Behandlungsmethoden (25 gegen 5%), besonders wenn es früh genug, und in großen Dosen angewendet wird (beim Pferde 100 bis 150 ccm einer 15–20%igen Lösung mehrere Tage hintereinander intravenös, bis zu einer Gesamtmenge von 500–1500 ccm); nach W. ZWICK hat jedoch das Urotropin in der veterinärärztlichen Praxis enttäuscht, und im Tierversuch am Kaninchen vermochte es nicht die geringste prophylaktische oder therapeutische Wirkung zu entfalten.

Als chemisches Prophylaktikum gegen „Grippe“ hat man das Chinin schon seit Jahrzehnten wiederholt empfohlen; eine Übersicht über das einschlägige Schrifttum hat O. SPITTA 1937 veröffentlicht. Die Berichte über den Wert der Chininprophylaxe lauten widersprechend und die Anhänger des Verfahrens sind über die Dosierung des Mittels nicht einig; O. SPITTA empfahl den länger fortgesetzten Gebrauch kleiner Dosen (0,05 g Chinin sulf. einmal oder bei stärker gefährdeten Personen und auf der Höhe von Grippeepidemien zweimal täglich). Auch die günstig lautenden Berichte lassen die Frage unbeantwortet, ob sich die Schutzwirkung auf „Erkältungskrankheiten“ oder auf die Virusinfluenza erstreckt (vgl. S. 321); Tierexperimente wurden meines Wissens bisher nicht angestellt. Eine therapeutische Beeinflussung der verschiedenen Grippeformen konnte nicht festgestellt werden, so daß man wohl berechtigt ist, den angeblichen prophylaktischen Wert zu bezweifeln, zumal er ja keineswegs allgemein anerkannt ist.

B. ALBRECHT gibt an, daß W. A. COLLIER und M. J. VERHOOG mit Auro-Detoxin (das aus einem anorganischen Goldsalz und einem als Detoxin bezeichneten schwefelhaltigen Eiweißabbauprodukt hergestellt wird und 9,5% Au enthält) „ausgesprochene Wirkungen“ auf die experimentelle Borna-Infektion des Kaninchens erzielt haben. In der Zusammenfassung der Publikation von COLLIER und VERHOOG steht allerdings ein Satz, der so formuliert ist (S. 191); aus den Versuchsprotokollen geht jedoch nur hervor, daß die durchschnittliche Überlebensdauer bei den mit Auro-Detoxin behandelten Kaninchen etwas erhöht war (von 39,7 auf 50,3 Tage) und daß ein Kaninchen auf die cerebrale Impfung nicht reagierte. Die Versuche, welche die Autoren mit Auro-Detoxin bei der Affenpoliomyelitis anstellten, sind zu gering an Zahl, um einen Schluß ableiten zu können; daß ein intranasal geimpfter Rhesus-Affe symptomlos blieb, beweist selbstverständlich nicht, daß dies eine Konsequenz der Behandlung mit dem Goldpräparat war.

Eine Aufzählung der zahlreichen chemischen Verbindungen, welche man zur Behandlung des Lymphogranuloma inguinale beim infizierten Menschen ange-

wendet hat, bevor die Sulfonamide in den Vordergrund traten, findet man bei FR. BÄR (1, S. 589). Es wurde auf S. 310 betont, daß sie von den Sulfonamiden nicht mit einem Schläge und radikal verdrängt wurden, sondern daß sie noch immer Anhänger finden und daß sogar Kombinationen derselben, z. B. von Fuadin (einer Antimonverbindung) mit Sulfonamiden, empfohlen wurden, sicher ein Zeichen, daß diese nicht als unübertreffbare Optima chemotherapeutischen Könnens bei dieser Krankheit angesehen werden.

Berichte über die Behandlung von virusbedingten Infektionen mit Penicillium-Präparaten liegen zur Zeit nicht vor.

Literaturverzeichnis.

- ACOULINE, M. A.: Traitement de lymphogranulomatose inguinale (maladie de NICOLAS-FAVRE) par les injections intradermales et intraglandulaires de l'antigène humain de FREY. Vestn. Venerol. i. Dermat. **11**, 35 (1940) (Russisch); ref. Zbl. Hautkrkh. **67**, 417 (1941).
- ADAMSON, J. D. and R. O. FLETT: Inefficacy of sulfapyridine in influenza. J. Canad. med. Assoc. **46**, 121 (1942).
- ADOLPH, P. E. and J. S. LOCKWOOD: Studies in the mechanism of the action of sulfanilamide. II. Sulfanilamide in the treatment of experimental streptococic meningitis. Arch. Otolaryng. (Am.) **27**, 535 (1938).
- ALBRECHT, BR.: Neues auf dem Gebiete der Chemotherapie in der Veterinärmedizin. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr. **1941**, 165.
- ALCALAY, N.: Behandlung der NICOLAS-FAVRESchen Krankheit. Wien. med. Wschr. **1938**, 645; Srpski Arh. Lekarst. (S.-Sl.) **41**, 39 (1939) (Serbokroatisch).
- ALTMAYER, J.: Question of relationship between erythrocyte sedimentation rate, leucocyte count and therapeutic response to sulfanilamid therapy of gonorrhoea; case of zoster symptomaticus following treatment with disulfanilamide. Arch. Derm. (Am.) **179**, 279 (1939).
- AMELINE et HUET: Sur la sulfamidothérapie des lésions rectales de la maladie de NICOLAS-FAVRE. Mém. Acad. Chir., Par. **67**, 439 (1941).
- ANDERSON, PH.: Sulfanilamide in the treatment of measles. Brit. med. J. **1939** I, 716.
- ANSBACHER, S.: P-Aminobenzoic acid, a Vitamin. Science (Am.) **93**, 164 (1941).
- ARKWRIGHT, J. A.: Virulence of microorganisms in infective disease. Lancet **1929** II, 963.
- BÄR, F.: (1) Chemotherapeutische Versuche bei der experimentellen Infektion der Maus mit Lymphogranuloma venereum. Klin. Wschr. **17**, 588 (1938).
— (2) Erfahrungen und Ergebnisse über die chemotherapeutische Beeinflussbarkeit des Lymphogranuloma inguinale und anderer Viruskrankheiten. Z. Immunit.forsch. **97**, 344 (1940).
- BARBER, W., HOWARD and W. B. MURPHY: Lymphogranuloma venereum. Ann. Surg. **113**, 40 (1941).
- BARCHI, L.: La chemioterapia della rabbia. Policlinico, Sez. med. **37**, 533 (1930).
- v. BEHRING, E.: Infektion und Desinfektion. Leipzig, 1894.
- BELLER, K. u. R. BIELING: Die Viruskrankheiten der Haus- und Laboratoriumstiere. Leipzig: Ambros. Barth, 1942.
- BENDA, L.: Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung. Klin. Wschr. **11**, 1485 (1932).
- BIETTI, G.: Die Sulfonamidtherapie des Trachoms. Graefes Arch. **145**, 70 (1942).
- BINGOLD, K.: Erfolgreiche Behandlung von Hodgkin-Wechselfieber mit Prontosil. Münch. med. Wschr. **1935**, 871.
- BLANC, G., PAGES et L. MARTIN: Recherches expérimentales sur le trachome. Étude préliminaire. Le trachome du magot «Macaca sylvanus». Bull. Acad. Méd., Par. **122**, 292 (1939); Arch. Inst. Pasteur, Maroc **2**, 243 (1940).
- BLONDIN, S. et A. BOCAGE: Sur le traitement médico-chirurgical de la maladie de NICOLAS et FAVRE avec sténose rectale. Mém. Acad. Chir., Par. **67**, 534 (1941).
- BLUM, K.: Zur Therapie des Herpes zoster. Schweiz. med. Wschr. **1942**, 1223.

- BONEZZI, G. e G. ORSENIGO: L'azione di alcune sulfamidi sui vegetali superiori I. Riv. Biol. **32**, 159 (1941).
- BOTTERRI, A. u. P. SOKOLIĆ: Beitrag zur Trachombehandlung mit Albucid. Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 469 (1942).
- BOURGART: Traitement de la maladie de NICOLAS-FAVRE en particulier pas le salicylate de soude. Thèse de Bordeaux, 1938.
- BREUIL et GUILLERM: Contribution à l'étude du diagnostic et du traitement de la lymphogranulomatose inguinale. Arch. Méd. nav. **128**, 1009 (1938).
- BRÜCKNER, A.: Indikationen und Kontraindikationen der Therapie mit Sulfanilamid und seinen Derivaten in der Augenheilkunde. Schweiz. med. Wschr. **1943**, 644.
- BRUMPT, E.: Rickettsia intracellulaire stomacale (*Rickettsia culicis* n. sp.) de *Culex fatigans*. Ann. Parasitol. hum. et camp. **16**, 153 (1938).
- BRUNI, A. e L. BUDA: Azione della paraminofenilsulfamide sul virus della rabbid e sul virus vaccinico. Tett. med. **27**, 1131 (1939).
- BURNET, ET., A. CUENOD et R. NATAF: Traitement du trachome par un azoique sulfamide (G. 33). Presse méd. **1941 II**, 763.
- BURNIER, P.: Das Trachom und seine Behandlung durch Sulfanilamide. Rev. Ophthalm. S. Paolo **6**, 214 (1938) (Portugiesisch).
- BUSACCA, A.: Risultati ottenuti con l'impiego di preparati solfamidici e di diidrofollicolina in alcune forme congiuntivali et in altre affezioni oculari. Rev. internat. Trachome **16**, 168 (1939); Fol. clin. et biol. (Bras.) **10**, 198 (1938).
- CAMINOPETROS, J.: (1) Recherches épidémiologiques et expérimentales sur la maladie de NICOLAS et FAVRE: longue persistance du virus de cette maladie dans l'organisme humain. Presse méd. **1935**, 1368.
- (2) Réceptivité du lapin et du cobaye au virus de la lymphogranulomatose inguinale. Bull. Soc. Path. exot. **27**, 634 (1934).
- (3) Présence dans les tissus atteints de lymphogranulomatose vénérienne à forme bubonique d'un microorganisme revétant les caractères d'un «Rickettsia». Bull. Acad. Méd., Par. **119**, 697 (1938).
- CAMINOPETROS, J. et B. PHOTAKIS: Étude histologique des lésions pulmonaires, provoquées chez le lapin par inoculation dans le poumon du virus de la maladie de NICOLAS et FAVRE. La réaction spécifique du système réticulo-endothelial. Bull. Soc. Path. exot. **28**, 81 (1935).
- CANIZARES, O. and J. A. COHEN: Treatment of chancroid with sulfanilamide. Arch. Derm. (Am.) **42**, 649 (1940).
- CANIZARES, O. and G. E. MORRIS: Sulfaguanidine in the treatment of proctitis due to lymphogranuloma venereum. Report of six cases. Arch. Derm. (Am.) **44**, 873 (1941).
- CARO, M. R.: Pemphigus treatment with sulfanilamide. Arch. Derm. (Am.) **37**, 196 (1938).
- CASAU, D. CARILLO: Zwei Fälle von subakuter Lymphogranulomatosis inguinalis und ein Fall von Dermatitis Duhring, behandelt mit Sulfamid-Derivaten. Act. dermo-sifiliogr. **31**, 98 (1939) (Spanisch).
- CAVARA, V.: (1) La terapia sulfamidica nel campo oftalmologico. Boll. Ocul. **17**, 597 (1939).
- (2) Un biennio di terapia sulfamidica. Atti Congr. Soc. oftalm. ital. **1939**, 199.
- ČERNAIANU u. SCHLENKER: Dtsch. tierärztl. Wschr. **36**, 543 (1928).
- CERUTTI, P.: Ricerche di chemioterapia con preparati sulfoamidici e di reinfezione nella malattia di NICOLAS e FAVRE sperimentale. Gi. ital. Derm. **81**, 1031 (1940).
- CHAKRABARTY, N. G.: Indian med. Gaz. **76**, 220 (1941).
- CHARGIN, L.: (1) Chancroid, cured with sulfanilamide. Lymphogranuloma venereum. Syphilis. Arch. Derm. (Am.) **38**, 476 (1938).
- (2) Lymphogranuloma venereum. Vaginal stenosis. Esthiomene. Generalized eruption after sulfanilamide therapy. Arch. Derm. (Am.) **40**, 617 (1939).
- CHATTERJEE, B. C.: Sulphanilamide in treatment of smallpox. Antiseptic (Madras) **38**, 177 (1941).
- CIACALOPOL, C.: Die konservative Behandlung des Lymphogranuloma inguinale (NICOLAS-FAVRESche Krankheit). Spital. **60**, 431 (1940) (Rumänisch).

- CLIMENKO, D. R.: The in vitro action of certain sulfanilamide derivatives on the PR-8 strain of influenza virus. *J. Pharmacol.* **69**, 165 (1940).
- CLIMENKO, D. R., M. L. CROSSLEY and E. H. NORTHEY: The influence of disulfanilamide on experimental influenza infections. *J. Pharmacol.* **67**, 201 (1939).
- COLLIER, W. A. u. M. J. VERHOOG: Die Wirkung von Auro-Detoxin und Auro-Detoxin Typ 70 auf verschiedene Infektionen. *Z. Immunit.forsch.* **90**, 174 (1937).
- COOPER, W. L.: Management of recurrent trachoma following sulphanilamide therapy. *Arch. Ophthalm. (Am.)* **24**, 467 (1940).
- CORDERO, A.: Contributo alla terapia della poroadenite inguinale con un nuovo composto sulfamidopiridinico. *Gi. Med. mil.* **88**, 447 (1940).
- CORTELLA, E. e M. Toschi: Rilievi sulla sulfamidoterapia nella streptobacillosi e nella linfogranulomatosi inguinale benigna. *Riforma med.* **1941**, 237.
- COTTINI, G. B.: Rilievi clinico-statistici sui casi di linfogranuloma inguinale osservati nella clinica dermosifilopatica di Catania dal 1935—1939. *Atti Soc. ital. Derm. e Sifilogr.* **2**, 1308 (1941).
- COX, H. R.: Use of yolk sac of developing chick embryo as medium for growing Rickettsiae of rocky mountain spotted fever and typhus groups. *Publ. Health Rep. (Am.)* **53**, 2241 (1938).
- CROSSLEY, M. L., E. H. NORTHEY and HULTQUIST: Sulfanilamide Derivatives. *J. amer. chem. Soc.* **60**, 2217, 2222 (1938).
- DANBOLT, N., GUNDERSEN u. HELLAND-HANSEN: Lymphopathia venerea (Lymphogranuloma inguinale). *Nord. Med.* **1940**, 2536 (Norwegisch).
- DAVIAUD et S. FOURNEAUX: Sur les applications de la valeur antiinfectieuse d'un nouveau dérivé sulfamidé dans le traitement de la maladie de CARRÉ. *Rec. Méd. vét.* **112**, 653 (1936).
- DEMUTH, FR.: Über knotenförmige Cow-pox beim Menschen und ihre Behandlung mit Sulfonamidpräparaten. *Derm. Wschr.* **111**, 1058 (1940).
- DIACONESCU, N., R. CONSTANTINESCU, D. CONSTANTINESCU u. M. COLUMBAN: Neue Beiträge zur Behandlung des Lymphogranuloma inguinale (NICOLAS-FAVRE) mit Fuadin und Prontosil. *Rev. San. mil. (Bucureşti)* **37**, 909 (1938) (Rumänisch).
- DICKERSON, V. C. and L. F. WHITNEY: Sulfanilamide and Prontosil in the treatment of canine distemper. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **38**, 263 (1938).
- DIERNHOFER, K.: Die ansteckende Schweinelähmung. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **1940**, 213.
- DOCHEZ, A. R. and C. A. SLANETZ: Treatment of canine distemper with Natrium-sulfanilyl-sulfanilate. *Science (Am.)* **87**, 142 (1938).
- DOERR, R.: (1) Allgemeine Merkmale der Virusarten. *Z. Hyg.* **118**, 738 (1936).
 — (2) Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik. *Handbuch der Virusforschung* **1**, S. 1—125 (1938).
 — (3) Die Lehre von den Infektionskrankheiten in allgemeiner Darstellung. *Lehrbuch der inneren Medizin*, 5. Aufl., S. 68—169 (1942).
 — (4) Ergebnisse der neueren experimentellen Forschungen über die Aetiologie des Herpes simplex und des Zoster. *Zbl. Hautkr.* **13** (1924).
- DOMAGK, G.: (1) Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *Dtsch. med. Wschr.* **1935 I**, 250.
 — (2) Chemotherapie der Streptokokkeninfektionen. *Klin. Wschr.* **25**, 1585 (1936).
 — (3) Grundlagen der modernen Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *Die ansteckenden Krankheiten*, herausgegeben von M. GUNDEL, 2. Aufl., S. 667—689 (1942).
 — (4) Über die Wirkungsweise der Sulfonamide. *Dtsch. med. Wschr.* **69**, 379 (1943).
- DOMAGK, G. u. C. HEGLER: (1) Chemotherapie bakterieller Infektionen. Leipzig, 1940.
 — (2) Chemotherapie bakterieller Infektionen, 2. Aufl. Leipzig, 1942.
- DORFMAN, A., RICE, KOSER and SAUNDERS: Inhibition of respiration of dysentery bacilli by sulfapyridine. *Proc. Soc. exper. Med. a. Biol. (Am.)* **45**, 750 (1940).
- DOXIADIS, L.: Über Sulfonamidbehandlung im Kindesalter. *Dtsch. med. Wschr.* **1943**, 426.
- DRUEY, J.: Nomenklatur und Übersicht der therapeutisch verwendeten Sulfanilamide. *Schweiz. med. Wschr.*, Sondernummer „Chemothérapie“ (1943).

- DUREL, P., LINGLIN et DESMAZES: Maladie de NICOLAS et FAVRE inguinale rapidement influencée par le 693. *Bull. Soc. franç. Derm.* **46**, 31 (1939).
- EARLE, K. VIGORS: M. & R. 693 in lymphopathia venerea. *Lancet* **1939 II**, 1265; siehe auch *Lancet* **1939 I**, 985.
- EDLBACHER, S.: Lehrbuch der physiologischen Chemie, 7. Aufl. Berlin, 1941.
- VAN DEN ENDE AND DORA LUSH: Experiments with the pneumotropic strain of lymphogranuloma venereum. *J. Path. Bacter. (Brit.)*, **55**, 81 (1943).
- V. EULER, H.: Coenzyme und Hemmstoffe; Vitamine und Antivitamine. *Ber. chem. Ges.* **75**, 1876 (1942).
- FANCONI, G. u. H. ZELLWEGER: Beiträge zur Epidemiologie der Kinderlähmung. *Schweiz. med. Wschr.* **1942**, 1025.
- DI FEDE, N.: Sull'azione chemioterapica della p-aminofenilsulfamide (streptosil) in alcune malattie oculari infettive acute. *Lett. oftalm.* **16**, 60 (1939).
- FILDES, P.: (1) The growth of Proteus on ammonium lactate plus nicotinic acid. *Brit. J. exper. Path.* **19**, 239 (1939).
- (2) The mechanism of the anti-bacterial action of mercury. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 67 (1940).
- (3) A rational approach to research in chemotherapie. *Lancet* **1940 I**, 955.
- (4) Inhibition of bacterial growth by indoleacrylic acid and its relation to tryptophan: an illustration of the inhibitory action of substances chemically related to an essential metabolite. *Brit. J. exper. Path.* **22**, 293 (1941).
- FILDES, P. and G. M. RICHARDSON: The nutrition of Staphylococcus aureus: sulphur requirements. *Brit. J. exper. Path.* **18**, 292 (1937).
- FINDLAY, G. M.: (1) The action of sulphanilamide on the virus of lymphogranuloma venereum. *Brit. J. exper. Path.*, **21**, 356 (1940).
- (2) Chemotherapeutic investigations on the virus of lymphogranuloma venereum. *Lancet* **1940 II**, 682.
- (3) Experiments on the transmission of the virus of climatic bubo „lymphogranuloma inguinale“ to animals. *Trans. Soc. trop. Med.* **27**, 35 (1933).
- FINDLAY, G. M. and MACCALLUM: Chemotherapy of virus diseases. *Brit. med. J.* **1938 I**, 875.
- FISCHER, J.: Zur Albuginbehandlung des Trachoms. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 445 (1942).
- FISCHL, V.: Fortschritte der Chemotherapie. *Weichardts Erg.* **16/17**, 350 (1934/35).
- FISCHL, V. u. H. SCHLOSSBERGER: Handbuch der Chemotherapie. Leipzig, 1932.
- FLEMING, A.: Observations on the bacteriostatic action of sulphanilamide and M & B 693 and on the influence thereon bacteria and peptone. *J. Path. a. Bacter.* **50**, 69 (1940).
- FLEXNER, J., M. CHASSIN and J. S. WRIGHT: Studies on herpes simplex encephalitis in rabbits, I. The therapeutic effect of vitamin C, sulfanilamide and pitressin. *J. infect. Dis. (Am.)* **66**, 30 (1940).
- FOURNEAU, E.: L'évolution de la chimiothérapie antibactérienne. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **61**, 799 (1938).
- FOURNEAU, E., J. et Mme. J. TRÉFOUËL, NITTI, BOVET: Chimiothérapie des infections streptococciques par les dérivés du p-aminophényl-sulfamide. *C. r. Soc. Biol.* **122**, 258 (1936).
- FRANCIS, T. and T. P. MAGILL: An unidentified virus producing acute meningitis and pneumonitis in experimental animals. *J. exper. Med. (Am.)*, **68**, 147 (1938).
- FRIEDBERGER, E. u. F. SACHS: Über die Einwirkung von Arsenpräparaten auf den Verlauf der Lyssainfektion (Virus fixe) beim Kaninchen. *Z. Immunit.forsch.* **1**, 161 (1909).
- FRISCH, A. W.: Observations on sputum from cases of pneumonia treated with sulfapyridine and sulfathiazol. *J. Bacter. (Am.)* **41**, 80 (1941).
- GABRIELSON, I.: Importance of differentiating between simple influenza and influenza complicated by pneumonia with reference to sulfapyridine therapy. *Svenska Läkartidn.* **38**, 802 (1941).
- GALLEGO Y BURIN, M.: Elephantiasis genitalis und NICOLAS-FAVRESche Krankheit. *Rev. iber. Parasitol.* **1**, 185 (1941) (Spanisch).

- GALLOWAY, J. A.: Fourth Report Foot and Mouth Dis. Res. Comitee, London, 1931, 210.
- GALVÃO PEIXOTO, P.: Das Antigen „Lygranum“ und das neue Sulfamid bei der Krankheit von NICOLAS-FAVRE. *An. brasil. Derm.* **16**, 47 (1941) (Portugiesisch).
- GARCIA MIRANDA, A.: Über die Behandlung des Trachoms mit Sulfonamiden. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 482 (1942).
- GARDILČIĆ, A.: (1) Weitere Beiträge zur Frage der therapeutischen Wirksamkeit des p-Methylbenzolsulfonamids (p-Toluolsulfonamid) und dessen gleichartiger Abkömmlinge. *Hrvatski farmac. Vjest.* **33**, 1 (1943); deutsche Zusammenfassung.
- (2) Die Behandlung des Trachoms sowie anderer oberflächlicher infektiöser Augenkrankungen mittels Prontosil solubile, Streptazol- und Albucidlösungen bei ausschließlich lokaler Anwendung des Medikamentes. *Graefes Arch.* **145**, 88 (1942).
- GARLAND, Y.: Sulphapyridine for post-vaccinal encephalitis. *Brit. med. J.* **1940 I**, 366.
- GASPERINI, G., y G. L'ABBATE: L'azione chemioterapica dei coloranti azoici nelle infezioni variolose. *Arch. ital. Sci. med. colon.* **19**, 177 (1938).
- GAY, F. P. and A. R. CLARK: On the mode of action of sulfanilamide in experimental streptococcus empyema. *J. exper. Med. (Am.)* **66**, 535 (1937).
- GAY PRIETO, J., M. GÓMEZ u. BERNARDO LOPEZ: Behandlung der subkutanen Lymphogranulomatosis inguinalis mit verschiedenen Sulfamidverbindungen. *Actas dermosifiliogr.* **30**, 493 (1939) (Spanisch).
- GEGENBAUER, V.: Studien über die Desinfektionswirkung des Sublimates. *Arch. Hyg. (D.)* **90**, 23 (1922).
- GEIGER, W.: Hundestaube. *Handbuch der Viruskrankh.* **2**, 365 (1939).
- GIJURIC, N. J.: (1) Sulfonamid-Derivate in der Behandlung der Lymphogranulomatosis inguinalis. *Med. Pregl.* **13**, 110 (1938) (Serbokroatisch).
- (2) Neue Wege in der Behandlung des Lymphogranuloma inguinale. *Münch. med. Wschr.* **1938 I**, 335.
- (3) Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der Klinik und Therapie des Lymphogranuloma inguinale. *Arch. Derm. (D.)* **178**, 194 (1938).
- GLICKLICH, E. A. and D. S. SHERMAN: Toxic effects of sulfathiazole used in the treatment of chancroidal infection. *Arch. Derm. (Am.)* **43**, 992 (1941).
- GŁOWATZKY, F.: Erfahrungen mit der Sulfonamidbehandlung des Trachoms. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 449 (1942).
- GOGLER, E.: Zit. nach E. GOGLER u. S. MIELKE, S. 402.
- GOGLER, E. u. S. MIELKE: Über Trachombehandlung mit Sulfonamiden (Albucid, Eleudron, Eubasin, Cibazol). *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 401 (1942).
- GOISSEDET, P., DESPOIS, GAILLOT et R. MAYER: De l'action du radical sulfamide: SO_2NH_2 sur l'infection streptococcique expérimentale de la souris. *C. r. Soc. Biol.* **121**, 1082 (1936).
- GOODPASTURE, E. W.: Intracellular parasitism and the cytotropism of viruses. *South. med. J. (Am.)* **29**, 297 (1936).
- GOODPASTURE, E. W. and K. ANDERSON: The problem of infection as presented by bacterial invasion of the chorio-allantoic membrane of chick embryos. *Amer. J. Path.* **13**, 149 (1937).
- GRAY, L. A. and M. L. BARNES: Lymphogranuloma venereum in the female. *Amer. J. Surg., N. S.* **48**, 277 (1940).
- GREEN, H. N.: The mode of action of sulphanilamide. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 38 (1940).
- GREEN, H. N. and BIELSCHOWSKY: The mode of action of sulphanilamide, II and III. *Brit. J. exper. Path.* **23**, 1, 13 (1942).
- GREEN, H. N. and T. PARKIN: Local treatment of infected wounds with sulphathiazol. *Lancet* **1942 II**, 205.
- GREGORIO, E. DE: Der weiche Schanker und die Lymphogranulomatosis inguinalis subacuta vom sanitären Standpunkt. *Medicina (Sp.)* **10**, 402 (1942).
- GREGORIO, E. DE u. T. CISNEROS: Allergie gegenüber FREISchem Antigen bei Prostituierten in Beziehung zu ihrer venerischen Pathologie. *Actas dermo-sifiliogr.* **33**, 528 (1942) (Spanisch).
- GROSS, P., F. B. COOPER and M. LEWIS: Chemotherapy of experimental rabies of rats. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **40**, 649 (1939).
- Hdb. d. Virusforsch. (1. Erg.-Bd.).

- GUYTON, J. S.: Local use of sulfanilamide compounds in the eye. *Amer. J. Ophthalm.*, III s. **24**, 292 (1941).
- HAMILTON, G. R.: Treatment of venereal lymphogranuloma with sulfanilamide. *Mil. Surg. (Am.)* **83**, 431 (1938).
- HANKE, V.: Die Alburoidbehandlung des Trachoms. *Dtsch. Mil.arzt* **6**, 142 (1941).
- HANSEN, L.: Distribution of free and conjugated sulfanilamide and sulfapyridine between corpuscles and plasma in both human and rabbit blood. *J. Labor. a. clin. Med. (Am.)* **25**, 669 (1940).
- HARRIS, D. L.: A clinical report of seven cases of hydrophobia; together with a case clinically similar, with recovery following injection of quinine. *J. amer. med. Assoc.* **1913**, 1511.
- HARRIS, A. H. and J. K. MILLER: Effect of sulfanilamide injected subcutaneously into rabbits upon hemolytic streptococci contained in collodion sacs implanted intraperitoneally. *J. Bacter. (Am.)* **41**, 495 (1941).
- HARROP, G. A., RAKE and SHAFFER: *Trans. Assoc. Amer. Physicians* **1941**.
- HART, B. F. and E. EVANS: Ineffectiveness of sulfanilamide in rabies from vaccinated dogs. *J. amer. med. Assoc.* **112**, 731 (1939).
- HARTMANN, M.: Ciba 3714. Ein Beitrag zur Chemotherapie der Kokkeninfektionen. *Schweiz. med. Wschr.* **1940**, 337.
- HATSCHEK, G.: Experiences with different sulfanilamide preparations in the treatment of trachoma. *Acta ophthalm. Orient.* **1**, 243 (1939).
- HEBB, A., SULLIVAN and FELTON: The treatment of lymphopathia venerea with sodium sulfanilylsulfanilate and sodium sulfanilate. *Publ. Health. Rep. (Am.)* **1939**, 1750.
- HEGLIN, R.: Die Chemotherapie der Pneumonien. Leipzig, 1942.
- HEINEMANN: *Geneesk. Tsch. Nldd.-Indië* **77**, 1967 (1937).
- HINOJAR, G. u. A. CORVACHO: Prontosil, das Medikament der Wahl bei Pocken. *Arch. Schiffs- u. Tropenkrkh.* **44**, 343, 403 (1940).
- HINSHAW, H. C.: Psittacosis-possible response to sulfapyridine. *Proc. Staff. Meet., Mayo Clin.*, **15**, 657 (1940).
- HOGARTH, J. C.: Para-benzylaminobenzenesulphonamide in the prevention of measles-complications. *Brit. med. J.* **1939**, 718.
- HÖGGER, D.: Irgamid, eine neue Verbindung der Sulfanilamidreihe. *Schweiz. med. Wschr.* **1941**, 901.
- HOYT, A., R. T. FISK and C. H. THIENES: Experimental rabies in white mice and attempted chemotherapy. *J. infect. Dis. (Am.)* **56**, 21 (1935).
- HOYT, A. and C. W. JUNGEBLUT: Experimental rabies in white mice and attempted chemotherapy. *J. infect. Dis. (Am.)* **47**, 418 (1930).
- HRUSZEK, H.: Behandlung des Erythematodes und Erythema exsudativum multiforme mit Prontosil rubrum. *Derm. Wschr.* **108**, 162 (1939).
- HURWITZ, S.: Neue Wege hinsichtlich der Ätiologie und Therapie des Lymphogranuloma inguinale. *Geneesk. Tsch. Nldd.-Indië* **1939**, 2045 (Holländisch).
- HUTCHINSON, A.: Treatment of bubo with sulphanilamide. *Lancet* **1938 I**, 1047.
- HUTYRA-MAREK-MANNINGER: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 8. Aufl. Jena, 1941.
- IVÁNOVICS, G.: (1) Über den Wirkungsmechanismus des p-Aminobenzolsulfamids und seiner Derivate. *Z. Immunit.forsch.* **101**, 58 (1942).
- (2) Der antiseptische Wirkungsmechanismus verschiedener Benzolderivate, mit besonderer Rücksicht auf die spezifische Salizylwirkung. *Z. Immunit.forsch.* **102**, 238 (1942).
- JACCHIA, L.: Sulla riproduzione sperimentale dell'eruzione erpetica nell'uomo e sulla cosiddetta „meningite erpetica“. *Riv. Neur.* **7**, 1 (1934).
- JANBON, M. CHAPTAL et P. LAZERGES: La fixation tissulaire des sulfamides. *Presse méd.* **1942 II**, 507.
- JÄRNECKE, H.: Die perorale Chemotherapie des Ulcus molle und seiner Komplikationen mit Benzolsulfonamid-Derivaten. *Med. Welt* **1938**, 1872.
- JENSEN, K. A. u. KAI SCHMITH: Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und bakteriostatischer Wirkung bei Sulfonamiden. *Z. Immunit.forsch.* **102**, 261 (1942).

- JENSEN, K. A., K. SCHMITH u. P. BRANDT: Über die bakteriostatische Wirkung von p-(Aminomethyl-)Benzolsulfamid. *Klin. Wschr.* **21**, 1042 (1942).
- JESPERSON, J.: Behandlung von Lymphogranuloma inguinale mit Sulfonamidpräparaten. *Ugeskr. Laeg. (Dän.)* **1941**, 1569.
- JOHANSSON, E.: Die Albuclidbehandlung beim Trachom. *Klin. Mbl. Augenhk.* **107**, 72 (1941).
- JONES, H. P., RAKE and MCKEE: Chemotherapy of lymphogranuloma venereum with sulfonamide drugs. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **48**, 318 (1941).
- JULIANELLE, L. A., J. F. LANE and W. P. WHITTED: The effect of sulfanilamide on the course of trachoma. *Amer. J. Ophthalm.* **22**, 1244 (1939).
- JUNIOR, L.: Chemotherapie beim Trachom. *Arqu. Inst. Penido Burnier* **5**, 164 (1939) (Portugiesisch).
- KAESTLE, C.: Zur Behandlung der Parotitis epidemica (Mumps). *Münch. med. Wschr.* **1940 I**, 454.
- KELSON, S. R.: Use of sulfanilamide (Para Amino Benzene Sulphonamide) in experimental poliomyelitis. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **36**, 718 (1937).
- v. KÉMERI, D.: Ein neues Verfahren zur raschen Behandlung des weichen Schankers. *Derm. Wschr.* **114**, 294 (1942).
- KIMMIG, J.: Die Chemotherapie der Kokkenerkrankungen mit Sulfonamiden. *Weichardts Erg.* **24**, 396 (1941).
- KING, C. and K. A. DE ROZARIO: Prontosil (neoprontosil, sulfanilamide derivative). *J. Army med. Corps* **1938**, 404.
- KIRK, R.: Sulfanilamides and Rabies. *Nature (Am.)* **143**, 77 (1939).
- KIRK, R., MC.KELVIE and HUSSEIN ACHMED HUSSEIN: Sulfanilamide in the treatment of trachoma: preliminary report. *J. amer. med. Assoc.* **111**, 1371 (1938).
- KIRK, R., H. R. MC.KELVIE and H. A. HUSSEIN: Sulphanilamide in the treatment of trachoma. *Lancet* **1938 II**, 994.
- KLARER, J.: (1) Über die chemische Konstitution des Marfanil (Mesudin). *Klin. Wschr.* **20**, 1250 (1941).
— (2) Entwicklung der Sulfonamidtherapie. *Die Chemie (Angew. Chem., N. F.)* **56**, 10 (1943).
- KNIGHT, A. A. and V. C. DAVID: The treatment of venereal lymphogranuloma with sulfanilamide. *J. amer. med. Assoc.* **112**, 527 (1939).
- KOCH, J. and A. COHN: Gonokokkeninfektionen. *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 3. Aufl. **4**, 667 (1928).
- KOLMER, J. A. and H. BROWN: Failure of sulfanilamide in treatment of experimental vaccinia rabbits. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **48**, 138 (1941).
- KOSZLER, V.: Die Beeinflussung des Vakzinationsprozesses durch Prontosil. *Arch. Kinderhk.* **120**, 113 (1940).
- KRIJNEN, J. J.: Die Behandlung des Lymphogranuloma inguinale mit der Combination Sulfanilamid-Fuadin. *Geneesk. Tsch. Nld.-Indië* **1939**, 3062. (Holländisch).
- KRÜGER, J.: Die Bedeutung des Lymphogranuloma inguinale in der Chirurgie. *Arch. klin. Chir.* **200**, 414 (1940).
- KUBINCOVÁ, KATARINA: Das Trachom und Chemotherapeutica. *Bratislav. lék. Listy* **21**, 131 (1941) (Slowakisch).
- KUBITZKI: Beitrag zur Behandlung lokaler und allgemeiner Infektionen und des Lymphogranuloma inguinale mit Prontosil. *Dtsch. Mil.arzt* **3**, 116 (1938).
- KUHN, R.: Vitamine und Arzneimittel. *Die Chemie* **55**, 1 (1942).
- KUHN, R., E. F. MÖLLER u. G. WENDT: Über 4,4'-Diaminobenzil und seine Einwirkung auf Bakterien. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **76**, 405 (1943).
- KUHN, R., E. F. MÖLLER, G. WENDT und H. BEINERT: 4,4'-Diaminobenzophenon und andere schwefelfreie Verbindungen mit Sulfonamidwirkung. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **75**, 711 (1942).
- KUHN, R. u. K. SCHWARZ: Isolierung des Wuchsstoffes H' aus Hefe. *Ber. chem. Ges.* **74**, 1617 (1941).
- KUHN, R., WIELAND und MÖLLER: Synthese des [α . γ -Dioxy- β . β -dimethyl-butaryl]-taurins, eines spezifischen Hemmstoffes für Milchsäurebakterien. *Ber. chem. Ges.* **74**, 1605 (1941).

- LAIN, E. S. and J. H. LAMB: Treatment of a pemphigoid eruption with sulfanilamide. *Arch. Derm. (Am.)* **37**, 840 (1938).
- LAMERS, H.: Beitrag zur Kenntnis des Herpes zoster (ex therapia). *Münch. med. Wschr.* **85**, 700 (1938).
- LANA MARTINEZ, F.: Versuche einer Behandlung der subakuten Lymphogranulomatosis inguinalis mit organischen Schwefelverbindungen. *Act. dermo-sifiliogr.* **30**, 501 (1939) (Spanisch).
- LANDY, M. and J. WYENO: Neutralization (in vitro) of bacteriostatic activity of sulfonamides by p-aminobenzoic acid. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **46**, 59 (1941).
- LANG, J.: Zur Sulfonamid-Therapie des Ulcus molle und seiner Komplikationen. *Derm. Wschr.* **111**, 763 (1940).
- LARSEN: *J. Amer. vet. med. Assoc.* **46**, 197 (1938).
- LASSEN, H. C. A. and ST. THOMSEN: Treatment of infectious mononucleosis with specific convalescent serum. *Acta med. scand. (Schwd.)* **104**, 498 (1940).
- LAUBER, H.: Über Sulfonamidbehandlung bei Trachom. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 460 (1942).
- LÄUGER, P. u. H. MARTIN: Über Irgafen (Geigy 867). *Schweiz. med. Wschr.* **73**, 399 (1943).
- LEICHENGER, H., A. MILZER and H. LACK: Recurrent lymphocytic choriomeningitis treated with sulfanilamide. Isolation of virus. *J. amer. med. Assoc.* **115**, 436 (1940).
- LÉPINAY, GRÉVIN et DONON: Les sulfamides dans la maladie de NICOLAS-FAVRE. *Ann. Mal. vénér.* **33**, 585 (1938).
- LEVADITI, C.: (1) Étude expérimentale, microbiologique et chimiothérapeutique de la maladie de NICOLAS et FAVRE. *Ann. Derm. (Fr.)*, VIII s., **1**, 417 (1941).
- (2) L'activité thérapeutique des dérivés benzéniques sulfurés dans les maladies provoquées par les ultravirus. *C. r. Soc. Biol.* **127**, 958 (1938).
- (3) Chimiothérapie de la maladie de NICOLAS-FAVRE, expérimentale. *C. r. Soc. Biol.* **128**, 875 (1938).
- (4) Chimiothérapie de la lymphogranulomatose inguinale. *C. r. Soc. Biol.* **128**, 138 (1938).
- (5) Chimiothérapie expérimentale de la lymphogranulomatose inguinale (maladie de NICOLAS-FAVRE). *C. r. Soc. Biol.* **129**, 490 (1938).
- LEVADITI, C. et J. LEVADITI: Maladie de NICOLAS-FAVRE. Les ultravirus des maladies humaines, S. 899—975 (1938).
- LEVADITI, C., MENTZER et R. PÉRAULT: Vitamines H'Antisulfamide et Antisulfone. *C. r. Soc. Biol.* **136**, 769 (1942).
- LEVADITI, C., RAVAUT, SCHOEN et J. LEVADITI: Entretien du virus lymphogranulomateux par des passages névraxiques chez la souris. *C. r. Soc. Biol.* **114**, 499 (1933).
- LEVADITI, C. et A. VAISMAN: (1) Action curative et préventive du chlorhydrate de 4-sulfamido-2,4-diaminoazobenzène dans l'infection streptococcique expérimentale. *C. r. Acad. Sci., Par.* **200**, 1694 (1935).
- (2) La toxi-infection gonococcique expérimentale et son traitement chimiothérapeutique. *Presse méd.* **1937**, 1371.
- (3) Action curative de 4'-sulfamido-2,4-diaminoazobenzène et de quelques dérivés similaires dans la streptococcie expérimentale. *C. r. Soc. Biol.* **119**, 946 (1935).
- (4) Chimiothérapie de l'infection méningococcique expérimentale de la souris. *C. r. Soc. Biol.* **125**, 604 (1937).
- (5) Action curative et préventive du chlorhydrate de 4-sulfamido-2,4-diaminoazobenzène et de quelques dérivés similaires dans la streptococcie expérimentale. *Presse méd.* **43**, 2097 (1935).
- LEVADITI, C., VAISMAN et REINIÉ: Chimiothérapie de la lymphogranulomatose inguinale. *C. r. Soc. Biol.* **131**, 40 (1939).
- LINDNER, K.: Über die Behandlung des Trachoms mit Albucid. *Münch. med. Wschr.* **1940 I**, 543.
- LINK, TH.: Die Marfanilwirkung im Kultur- und Tierversuch. *Klin. Wschr.* **22**, 364 (1943).
- LINSER, K.: Diskussionsbemerkung zu SCHREIBER (siehe daselbst). *Derm. Wschr.* **106**, 341 (1938).

- LIPSCHÜTZ, B.: Bakteriologischer Grundriß und Atlas der Geschlechtskrankheiten. Leipzig, 1913.
- LOCKWOOD, J. S.: Studies on the mechanism of the action of sulfanilamide. III. The effect of sulfanilamide in serum and blood on hemolytic streptococci in vitro. *J. Immunol. (Am.)* **35**, 155 (1938).
- LÖFSTEDT, F.: Valpsjuka hoshund. *Skand. Vet.-Tschr. (D.)* **31**, 539 (1941).
- LÖHE, H.: (1) Die kritische Wertung der Sulfonamide in der Dermatologie. *Dtsch. med. Wschr.* **69**, 394 (1943).
— (2) Neue Wege in der Behandlung des Lymphogranuloma inguinale. *Ther. Gegenw.* **1938**, 539.
- LONG, P. H. and E. BLISS: The relation of strain resistance to the chemotherapeutic effects of sulfapyridine in experimental pneumococcal infections of mice. *Ann. int. Med. (Am.)* **13**, 232 (1939).
- LORENZ, R.: Bericht über Nachuntersuchungen an Trachomkranken, die mit dem Sulfonamid Albucid behandelt wurden. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 414 (1942).
- v. LUGOSSY, G.: Neue Beiträge zur Chemotherapie des Trachoms. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 474 (1942).
- LUGOSSY, J.: Chemotherapy in paratrachoma. *Ophthalmologica* **100**, 68 (1940).
- LUO, T. H. and E. CHANG: Sulfanilamide in the treatment of trachoma. *Chin. med. J.* **58**, 512 (1940).
- LURIA, S.: Actions des radiations sur *Bacterium coli*. *C. r. Acad. Sci., Par.* **209**, 604 (1939).
- LUZ, A. CERQUEIRA: Sur une nouvelle méthode de diagnostic de la syphilis nerveuse. *C. r. Soc. Biol.* **109**, 132 (1932).
- LYNCH, H. M. and J. S. LOKWOOD: On the dissociation of the phenomena of growth-stimulation and sulfanilamideinhibition of hemolytic streptococci. *J. Immunol. (Am.)* **42**, 435 (1941).
- MACCALLAN, A. F.: (1) Sulfonamide treatment of bacterial and trachomatous conjunctivitis. *Brit. med. J.* **1940 I**, 482.
— (2) Sulphonamide treatment of bacterial and trachomatous conjunctivitis. *Rev. internat. Trachome* **16**, 197 (1939).
- MACCALLUM, F. O. and G. M. FINDLAY: Chemotherapeutic experiments on the virus of lymphogranuloma inguinale in the mouse. *Lancet* **1938 II**, 136.
- MACINTYRE and MONTGOMERIE: Sodium sulphanilyl sulphanilate and canine distemper. *Brit. med. J.* **1938 I**, 875.
- MANGENOT, G. et S. CARPENTIER: Action du p-aminophénylsulfamide et de l'acide p-aminobenzoïque sur les végétaux supérieurs. *C. r. Soc. Biol.* **135**, 1053, 1057 (1941).
- MARCULESCU, J. u. M. COLUMBAN: Behandlung der gutartigen Lymphogranulomatosis inguinalis mit Fuadin verbunden mit Uliron. *Rev. San. mil. (Bucureşti)* **39**, 555 (1940) (Rumänisch).
- MARCUS, PH. M. and H. NECHELES: Treatment of spontaneous canine distemper with sulfanilamide. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **38**, 385 (1938).
- MARINO, A. W. MARTIN, TURELL, BUDA and LOUIS NERB: The treatment of venereal lymphogranuloma with sulfanilamide. A preliminary report. *Amer. J. Surg., N. S.* **46**, 343 (1939).
- MARKOFF, N.: Die Behandlung akuter Infektionskrankheiten mit Irgamid (G 290). *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 904 (1941).
- MARSHALL, E. K.: The Pharmacology of sulfanilamide. *Physiol. Rev. (Am.)* **19**, 240 (1939).
- MARSHALL, E. K., BRATTON and LITCHFIELD: The toxicity and absorption of 2-sulfanilamidopyridine and its soluble sodiumsalt. *Science (Am.)* **88**, 2295 (1938).
- MARSHALL, E. K., CUTTING and EMERSON: (1) Acetylation of para-aminobenzene sulfonamide in the animal organism. *Science (Am.)* **85**, 202 (1937).
— (2) The toxicity of sulfanilamide. *J. amer. med. Assoc.* **110**, 252 (1938).
— (3) The distribution of sulfanilamide in the organism. *J. Pharmacol. (Am.)* **61**, 196 (1937).
- MAYER, R. L. et CH. OECHSLIN: Sur une nouvelle classe de corps antibactériens: l'acide p-nitrobenzoïque et ses esters. *C. r. Soc. Biol.* **130**, 211 (1939).

- MCCAMMON, W. O.: Sulfanilamide. *J. amer. med. Assoc.* **112**, 1936 (1939).
- MCFARLANE, A. S., M. G. MACFARLANE, C. R. AMIES and H. G. EAGLES: A physical and chemical examination of vaccinia virus. *Brit. J. exper. Path.* **20**, 485 (1939).
- MCILWAIN, H.: (1) Pyridine-3-sulphonic acid and its amide as inhibitors of bacterial growth. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 136 (1940).
- (2) Bacterial inhibition by aminosulphonic analogues of some natural amino-carboxylic acids. *Brit. J. exper. Path.* **22**, 148 (1941).
- (3) Bacterial inhibition by metabolite analogues. 3. Pantoyltaurin. The anti-bacterial index of inhibitors. *Brit. J. exper. Path.* **23**, 95 (1942).
- MCINTOSH, J. and L. E. H. WHITBY: The mode of action of drugs of the sulphonamide group. *Lancet* **1939 I**, 431.
- MCKEE, C. M., RAKE, GREEP and VAN DYKE: Therapeutic effect of sulfathiazol and sulfapyridine. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **42**, 417 (1939).
- MCKELVIE, A. R., R. KIRK and H. J. HOLDER: Observations on the chemotherapy of trachoma. *Amer. J. Ophthalm., Ser. III* **24**, 1035 (1941).
- MCKINLEY, E. B., E. G. ACREE and J. S. MECK: Sulphanilamide and virus diseases. *Science (Am.)* **87**, 43 (1938).
- MEESMANN, A. u. A. M. BRUHN: Erfahrungen bei der Behandlung des Trachoms mit Sulfonamiden. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 464 (1942).
- MEIER, R.: Die Chemotherapie der Sulfanilamide, experimentelle pharmakologische Ergebnisse. *Helvet. med. Acta* **1943**.
- MEIER, R., O. ALLEMANN u. E. MERZ: Ciba 3714, ein neues Chemotherapeutikum der Sulfanilamid-Reihe. *Schweiz. med. Wschr.* **1940**, 338.
- MEISNER, W.: Die Trachombehandlung mit Sulfamiden. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 458 (1942).
- MENK, W. u. W. MOHR: (1) Zur Frage der Wirksamkeit des Prontosils bei akuter Malaria. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **43**, 117 (1939).
- (2) Versuche über eine chemotherapeutische Kurzbehandlung des Lymphogranuloma inguinale. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **44**, 447 (1940).
- MIDANA, A.: (1) La terapia della malattia di NICOLAS e FAVRE con i derivati organici dello zolfo. *Atti Soc. ital. Derm. e Sifilogr.* **3**, 320 (1940).
- (2) La nostra esperienza interna di terapia delle rettiti da virus della malattia di NICOLAS e FAVRE. *Dermatologica (Basel)* **82**, 339 (1940).
- MIESCHER, G. u. A. SCHNETZ: Der heutige Stand der peroralen Chemotherapie der Gonorrhoe auf Grund eigener Erfahrungen. 3. Mitt. *Schweiz. med. Wschr.* **1941**, 175.
- MILLER, C. PHILLIP: A study of experimental meningococcal infection, I. Method. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **32 II**, 1136 (1935); siehe auch *Science (Am.)* **78**, 340 (1933).
- MILLER, S. and ST. WRAY: (1) Chemotherapy and convalescent serum in poliomyelitis. *Lancet* **1940 II**, 374.
- (2) Outbreak of poliomyelitis; use of sulphapyridine and convalescent serum in treatment. *Lancet* **1942 I**, 753.
- MITSCHERLICH, E.: Behandlungsversuche bei der spezifischen Keratoconjunctivitis (Rickettsiose) der Schafe in Deutsch-Südwestafrika. *Arch. Tierhk.* **76**, 407 (1941); *Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr.* **1941**, 408.
- MIYAGAWA, Y., MITAMURA, YAOI, ISHII and OKANISHI: Studies on the virus of Lymphogranuloma inguinale NICOLAS, FAVRE and DURAND. Second and eighth report. *Jap. J. exper. Med. (e.)* **13**, 331 (1935); **14**, 221 (1936).
- MOLINARI, G.: Localizzazione linguale della malattia di NICOLAS-FAVRE. *Riforma med.* **1942**, 365.
- MÖLLER, E. F.: (1) Vitamin B₆ (Adermin) als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien. *Z. physiol. Chem.* **254**, 285 (1938).
- (2) Das Wuchsstoffsystem der Milchsäurebakterien. *Z. physiol. Chem.* **260**, 246 (1939).
- MÖLLER, E. F. u. L. BIRKOFER: (1) Konstitutionsspezifität der Nicotinsäure als Wuchsstoff bei *Proteus vulgaris* und *Streptobacterium plantarum*. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **75**, 1108 (1942).

- (2) Gibt es Antagonisten der Nicotinsäure bei *Proteus vulgaris* und *Streptobacterium plantarum*? Ber. dtsh. chem. Ges. **75**, 1118 (1942).
- MÖLLER, E. F. u. K. SCHWARZ: Der Wuchsstoff H', ein Antagonist der Sulfanilamide, bei *Streptobacterium plantarum* (ORLA JENSEN). Wachstum von *Streptobacterium plantarum* in Nährlösungen aus chemisch genau definierten Verbindungen. Ber. chem. Ges. **74**, 1612 (1941).
- MONTEL, L.-R. et NGUYEN-VAN-THO: Traitement de la maladie de NICOLAS-FAVRE par les dérivés sulfamidés. Bull. Soc. franç. Derm. **45**, 652 (1938); **46**, 83 (1939).
- MOON, V. H.: (1) The effect of quinine on rabies in dogs. J. infect. Dis. (Am.) **13**, 165 (1913).
— (2) Further observations on the effect of quinin in rabies. J. infect. Dis. (Am.) **16**, 58 (1915).
- MOOSBRUGGER, G. A.: Sur le mode d'action des dérivés de la sulfanilamide. Schweiz. med. Wschr. **1941**, 1556.
- MORHARDT, P.-E.: Le traitement de la variole. Presse méd. **1941**, 322.
- MORRIS, M. L. and T. J. MURRAY: The successful treatment of meningo-encephalitis, associated with canine distemper, with sulfanilamide. Science (Am.) **89**, 274 (1939).
- MOULONGET, P.: Le traitement actuel du rétrécissement rectal par la maladie de NICOLAS-FAVRE. Mém. Acad. Chir. (Par.) **67**, 430 (1941).
- MOULONGET et MOUZON: Deux cas de rétrécissement rectal lymphogranulomateux cliniquement guéris après traitement par le rubiazol. Arch. Mal. Appar. digest. (Fr.) **28**, 632 (1938).
- MÜLLER, FR.: Erfolgreiche konservative Behandlung von Lymphogranuloma anorectale. Zbl. Hautkrkh. **68**, 99 (1942).
- NAGELL, H.: Über das Vorkommen von Melkerknoten und ihre günstige Beeinflussung durch Sulfonamidverbindungen. Dtsch. Mil.arzt **1941**, 428.
- NEBENFÜHRER, L.: Lymphogranuloma inguinale. Ref. Zbl. Hautkrkh. **64**, 1 (1940).
- NEITZ, W. O.: L'action de l'uliron dans la heartwater de mouton. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr. **1939**, 134.
- NICOLAU, C. T.: Recherches expérimentales sur la transmissibilité du lymphogranulome inguinal bénin chez les animaux. Bull. Soc. méd. Hôp. Bucarest **14**, 51 (1932).
- NICOLAU, S. and J. A. GALLOWAY: Borna disease and enzootic encephalomyelitis of sheep and cattle. Med. Res. Council, Spec. rep. series, No. 121 (1928).
- NIGG, CL.: An unidentified virus wich produces pneumonia and systemic infection in mice. Science (Am.), **95**, 49 (1942).
- NITTI, F. et D. BOVET: Action du Prontosil sur les infections streptococciques de la souris provoquées par des streptococcoques d'origine humaine. C. r. Soc. Biol. **119**, 1277 (1935).
- NIVEN, J. C.: Sulphanilamide in the treatment of malaria. Trans. Soc. trop. Med. **32**, 413 (1938).
- NORTHEY, E. H.: Structure and chemotherapeutic activities of sulfanilamide derivatives. Chem. Rev. **27**, 85 (1940).
- NUNGESTER, W. J., A. A. WOLF and L. F. JOURDONAIS: Effect of gastric mucin on virulence of bacteria in intraperitoneal injections in the mouse. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **30 I**, 120 (1932/33).
- OAKLEY, C. L.: Chemotherapy of virus infections. Brit. med. J. **1938 I**, 895.
- OFFENBERG: cit. nach KRAUS-GERLACH-SCHWEINBURG „Lyssa“, S. 168.
- OHNSORGE: Uliron als zentral-nervös wirksames Chemotherapeuticum Dtsch. Mil.arzt **1939**, 242.
- OPITZ, H. u. G. HERTZBERG: Die Behandlung der Lungenentzündungen mit Eubasin. Med. Welt **1941**, No. 1.
- OSBERGHAUS, F.: Über den Einfluß der Sulfonamide auf die Infektion mit Variola-Vakzinevirus. Z. Immunit.forsch. **102**, 214 (1943).
- PATEL, T. B. and B. P. B. NAIDU: Indian Med. Gaz. **75**, 730 (1940).
- PAVANATI, E.: I preparati sulfamidici nella terapia del linfogranuloma inguinale. Atti Soc. ital. Derm. e Sifilogr. **3**, 226 (1940).
- PELLEGRINI: Pediatr. Rio **49**, 233 (1941).
- PEREZ, M.: Virus influenzale e preparati sulfamidici. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **14**, 536 (1939).

- v. PASTINSZKY, ST.: Über die Behandlung des Ulcus molle durch Sulfanilamid. Münch. med. Wschr. **1940 I**, 454.
- PETGES, G.: Note au sujet de la maladie de NICOLAS-FAVRE et de son traitement. Marseille méd. **75**, 520 (1938).
- PIERNA, S.: cit. nach J. A. KOLMER u. H. BROWN, Rev. Españ. Med. y Cir. guerra (Valladolid) **3**, 279 (1939).
- PLUMMER, P. J. G., C. A. MITCHELL and WALKER: Canad. J. comp. Med. **2**, 139 (1938).
- POLEFF, L.: (1) Sur l'application des sulfamides dans le traitement du trachome. Presse méd. **48**, 235 (1940).
- (2) Etat actuel du problème d'étiologie du trachome. Arch. Virusforsch. **2**, 217 (1942).
- v. POLONY, A.: Ein neues Heilverfahren bei Ulcus molle. Wien. med. Wschr. **1938**, 872.
- PONHOLD, J.: Chemotherapie bei Ulcus molle. Derm. Wschr. **114**, 513 (1942).
- PONTOPIPIDAN, B.: Lymphogranuloma inguinale, geheilt mit Sulfanilamid. Ugesks. Laeg. (Dän.) **1938**, 1205.
- POPESCO-HERASCA, C.: Considérations sur les résultats du traitement orioïdé dans 59 cas de lymphogranulomatose inguino-iliaque subaiguë (NICOLAS-FAVRE). Rev. Chir. (Fr.) **44**, 484 (1941).
- PULVER, R. u. R. SUTER: Über Irgafen (Geigy 867). Schweiz. med. Wschr. **73**, 403 (1943).
- PURTSCHER, E.: Zur Trachombehandlung mit Albucid im Krankenhaus. Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 442 (1942).
- RADAELI, A.: La cura della malattia di NICOLAS e FAVRE, con speciale riguardo alla terapia sulfamidica. Atti Soc. ital. Derm. e Sifilogr. **4**, 147 (1941).
- RAHM, N.: Versuche mit Sulfonamid, Sulfapyridin und Sulfathiazol („Cibazol“) bei Influenza. Sv. Läkartidn. (Schwd.) **1941**, 250 (Schwedisch); ref. Kongr.zbl. ges. Med. **110**, 202 (1942).
- RAKE, G., EATON and SHAFFER: Similarities and possible relationships among viruses of psittacosis, meningopneumonitis and lymphogranuloma venereum. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **48**, 528 (1941).
- RAKE, G., H. JONES and CL. NIGG: Sulfonamide Chemotherapy of Mouse Pneumonitis, Meningopneumonitis and lymphogranuloma venereum. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **49**, 449 (1942).
- RAKE, G., MCKEE and SHAFFER: Agent of lymphogranuloma venereum in the yolk-sac of the developing chick embryo. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **43**, 332 (1940).
- RECA, A. B.: Sulfanilamide in the treatment of trachoma. An. Argent. Oftalm. **1**, 426 (1940).
- REINHOLD, J. G., SCHWARTZ, FLIPPIN and BETHLAMY: Permeability of red blood cells to sulfathiazole. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **45**, 317 (1940).
- REMLINGER, P. et J. BAILLY: (1) Inefficacité d'un dérivé sulfamidé (Dagénan) à l'égard du Spirochète de la fièvre récurrente marocaine et du virus de la maladie d'AUJESZKY. Maroc. Méd. **1940**, 127.
- (2) Phylaxie et virus rabique. C. r. Soc. Biol. **110**, 159 (1932).
- RETHI, FR.: Erfahrungen mit Septurit bei Grippe und Angina. Wien. med. Wschr. **1938**, 417.
- RHODES, A. J. and VAN ROOYEN: Chemotherapy of virus diseases. Brit. med. J. **1938 I**, 924.
- ROASENDA, G.: Gi. Accad. Med. Torino **103**, 112 (1940); ref. Schweiz. med. Wschr. **1941**, 1138.
- RODANICHE, E. C.: Sulfanilylguanidine and sulfanilamide in the treatment of lymphogranuloma venereum infections of mice. J. infect. Dis. (Am.) **70**, 50 (1942).
- ROHRSCHEIDER, W.: (1) Die Therapie des Trachoms nach den Erfahrungen der Königsberger Augenlinik. Klin. Mbl. Augenhk. **107**, 209 (1941).
- (2) Erfahrungen über die Wirkung des Albucid bei Trachom. Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 430 (1942).
- RONSE, M.: Essai de chimiothérapie dans la choriomeningite da la souris. C. r. Soc. Biol. **127**, 845 (1938).

- ROSENBERGER, G.: Beobachtungen über die AUJESZKYSche Krankheit in Deutschland. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1940**, 485.
- ROSENOW, E. C.: Failure of sulfapyridine to protect against experimental (virus) poliomyelitis. Staff. Meet. Mayo Clin. **14**, 490 (1939).
- ROSENTHAL, S. M., J. G. WOOLEY and H. BAUER: The chemotherapy of choriomeningitis virus infection in mice with sulfonamide compounds. Publ. Health Rep. **1937**, 1211.
- ROSSBERG, H.: Ein Beitrag zur Behandlung des Trachoms mit Albucid (Behandlungsergebnisse aus einem bessarabiendeutschen Umsiedlungslager). Dtsch. Mil.arzt **6**, 696 (1941).
- ROUS, P. and F. S. JONES: The protection of pathogenic micro-organisms by living tissue cells. J. exper. Med. (Am.) **23**, 603 (1916).
- RUBBO, S. D. and J. M. GILLESPIE: Para-amino benzoic acid as a bacterial growth factor. Nature (Brit.) **146**, 838 (1940).
- SAINZ DE AJA, E. A.: Lymphogranulomatosis inguinalis, Dermatitis DUHRING und Prontosil. Act. dermo-sifiliogr. **30**, 207 (1939) (Spanisch).
- SAKO, W. S., R. L. WILDER and A. V. STOESEN: Lancet **1938**, 223.
- SANCHEZ BARRIGA, M.: Beitrag zur Behandlung der Lymphogranulomatosis inguinalis mit Sulfamid-Derivaten. Act. dermo-sifiliogr. **30**, 723 (1939) (Spanisch).
- SANTORI, G.: Un caso di linfogranulomatosi inguinale accompagnato da urticaria e guarito in periodo preallergico con la sulfamido-piridina. Atti Soc. ital. Derm. e Sifilogr. **2**, 1301 (1941).
- SCHAFFER, CH. W.: Protective effects against lethal Streptococcus hemolyticus of glutamine and various sulfonamide compounds. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **37**, 648 (1937/38).
- SCHAMBERG, J. L.: The course of the plasma protein changes in early lymphopathia venerea under treatment with sulfanilamide. Amer. J. med. Sci. **201**, 67 (1941).
- SCHHEYING, H.: Zur Behandlung des Trachoms mit Albucid. Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 436 (1942).
- SCHINDLER, R.: Über unsere Erfahrungen mit dem Sulfonamid Albucid als Heilmittel infektiöser Bindehauterkrankungen, im besonderen des Trachoms. Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 420 (1942).
- SCHJÖTH-IVARSEN, J.: Sulphapyridine for post-vaccinal encephalitis. Brit. med. J. **1940 I**, 33.
- SCHLOSSBERGER, H.: Lymphogranuloma inguinale. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 418 (1939).
- SCHLOSSBERGER, H. u. F. BÄR: Untersuchungen über die Wirkungsweise von Sulfonamidverbindungen bei der Infektion von Mäusen mit Streptokokken und Lymphogranuloma inguinale. Zbl. Bakt., I. Orig., **144**, Beih., 228 (1939).
- SCHMIDT, L. H., HILLES, DETTWILER and STARKS: The response of different types and strains of pneumococcus to sulfapyridine. J. infect. Dis. (Am.) **67**, 232 (1940).
- SCHMITH, KAI: (1) Experimental studies on the effect of sulfonamide on various bacteria. Ugeskrift for Laeger **104**, 1042 (1942).
- (2) Om sulfapyridine og sulfathiazols virkning paa Meningococcer. Nord. Med. **13**, 91 (1942).
- SCHREIBER: Behandlung des Erythema exsudativum multiforme mit Prontosil. Derm. Wschr. **106**, 341 (1938).
- SCHREUS, H. TH.: Wirkungsmechanismus von Sulfanilamiden bei Gasbranderregern. Klin. Wschr. **21**, 671 (1942).
- SCHREUS, H. TH., A. BRAUN u. H. SCHÜMMER: Vergleich der Wirkung verschiedener Sulfonamidverbindungen auf die Gasbrandinfektion durch Kulturerreger (Welch-Fraenkel, Novy, Pararanschbrand) und die dabei zu beobachtenden Gesichtspunkte. Klin. Wschr. **20**, 1233 (1941).
- SCHREUS, H. TH. u. H. SCHÜMMER: Chemoprophylaxe des Gasbrandes. III. Mitt. Klin. Wschr. **20**, 705 (1941).
- SÉDAN, J.: Essais sur la chimio-thérapie du trachome (lutazol) selon les directives de BURNET, CUÉNOT et NATAF. Annales Ocul. (Fr.) **177**, 283 (1941).

- SEEFELDER, R.: Erfahrungen über die Sulfonamidtherapie des Trachoms an der Universitäts-Augenklinik Innsbruck. *Klin. Mbl. Augenhk.* **108**, 466 (1942).
- SEIDENARI, R.: La terapia sulfamidica nel campo oftalmologico. *Rass. ital. Ottalm.* **9**, 200 (1940).
- SELBIE, F. R.: The inhibition of the action of sulphanilamide in mice by p-aminobenzoic acid. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 90 (1940).
- SÉZARY, A.: (1) Le traitement local du chancre mou et des pyodermites cutanées par la poudre de sulfamide. *Presse méd.* **1939**, 1408.
— (2) Le traitement de la lymphogranulomatoase vénérienne (inguinale, génitale, rectale) par la sulfamido-chrysoïdine. *Bull. Soc. franç. Derm.* **46**, 1464 (1939); ebenda **45**, 1668 (1938).
- SÉZARY, A., FRIEDMANN et G. BOUWENS: L'action de la sulfamido-chrysoïdine sur la lymphogranulomatoase vénérienne inguinale. *Bull. Soc. franç. Derm.* **45**, 1844 (1938).
- SÉZARY, A. et R. WALTHER: Traitement de la rectite lymphogranulomateuse par les dérivés de la sulfamide. *Bull. Soc. franç. Derm.* **45**, 1666 (1938).
- SHAFFER, L. W. and E. ARNOLD: Lymphogranuloma venereum, especially its treatment with sulfanilamide. *Arch. Derm. (Am.)* **38**, 705 (1938).
- SHAFFER, B., FONDE and GOLDBERG: The use of anthiomaline in the treatment of lymphogranuloma venereum. *J. Ur. (Am.)* **40**, 863 (1938).
- SHIMKIN, N. I.: The treatment of trachoma with sulfanilamide. *Acta ophthalm. orient.* **1**, 251 (1939).
- SIBIRANI, M.: I preparati aminosulfamidici nella terapia della linfogranulomatosi inguinale subacuta. *Atti Soc. ital. Derm.* **1**, 498 (1938).
- SIGG, K.: Behandlung der Grippe, der Angina lacunaris und der Otitis media mit Cibazol in der Praxis. *Schweiz. med. Wschr.* **1941**, 935.
- SINTON, J. A., HUTTON and SHUTE: Some successful trials of Proseptasine as a true causal prophylactic against infection with „Plasmodium falciparum“. *Ann. trop. Med.* **33**, 37 (1939).
- SMITH, J. E., L. A. JULIANELLE and J. H. GAMET: Sulfonamide therapy of trachoma. *Amer. J. Ophthalm., Ser. III* **24**, 174 (1941).
- SMITMANS, FR. K.: Trachomerfahrungen in den Umsiedlerlagern Schlesiens und des Sudetengaues. *Klin. Mbl. Augenhk.* **107**, 210 (1941).
- SPADA, CL.: Sulla terapia dell'ulcera e bubbone venereo e più specialmente sulla terapia sulfamidica-anticoccina. *Boll. Ist. sieroter. milan.* **19**, 402 (1940).
- SPITTA, O.: Über das Chinin als Vorbeugungsmittel gegen Erkrankungen an Grippe (Influenza). *Schweiz. med. Wschr.* **1937**, 452.
- STAMP, T. C.: Bacteriostatic action of sulphonamide „in vitro“; influence of fractions isolated from hemolytic streptococci. *Lancet* **1939 II**, 10.
- STEFANINI, ST.: Inconvenienti meningo-medullari per iniezioni endorachide di sulfamido-piridina. *Clin. pediatr.* **24**, 358 (1942).
- STEIN, R. O.: Observations on thirty-five cases of venereal lymphogranuloma treated with sulfanilamide. *Amer. J. Syph.* **24**, 454 (1940).
- STENGER, K.: Erfahrungen über die Behandlung von grippalen Infekten und Pneumonien. *Dtsch. med. Wschr.* **1939 I**, 634.
- STEPHENSON, M.: *Bacterial metabolism*. Sec. edit. London, New-York, Toronto, 1939/40.
- STODDARD, E. M.: Inactivating in vivo the virus of X-disease of peach by chemotherapy. *Phytopathology* **32**, 17 (1942).
- TATARU, C., POP u. LENGYEL: Die Behandlung des Lymphogranuloma inguinale mit Uliron. *Derm. Wschr.* **112**, 375 (1941).
- TELEGDI, J.: (1) Orvostudományi Közlemenyek. Beilage des Orvos. Hetil. (Ung.) **1941**, Nr. 10.
— (2) Die Chemotherapie der Masern, des Scharlachs und der Grippepneumonie. *Klin. Wschr.* **1942**, 300.
- THOMPSON, A. R. and GREENFIELD: Chemotherapy in measles and whooping-cough prophylaxis and treatment of complications. *Lancet* **1938 II**, 991.
- THOMSEN, ST.: *Ugeskr. Laeg. (Dän.)* **1940**, 779.

- THYGESON, PH.: (1) The nature of the elementary and initial bodies of trachoma. *Arch. Ophthalm. (Am.)* **12**, 307 (1934).
 — (2) L'étiologie micro-biologique du trachome. *Rev. internat. Trachome* **10**, 129 (1933).
 — (3) Treatment of inclusion conjunctivitis with sulfanilamide. *Arch. Ophthalm. (Am.)* **25**, 217 (1941).
 — (4) The treatment of trachoma with sulfanilamide. *Amer. J. Ophthalm.* **23**, 679 (1940).
- TITA, C.: La chemioterapia sulfamidica nella pratica oculistica, con particolare riguardo alla posologia e vie di somministrazione. *Bull. Soc. med.-chir. Catania* **8**, 717 (1940).
- TONIN, R.: Un caso di idrofobia umana guerita col 606. *Policlinico, S. P.* **1912**, Nr. 29.
- TOOMEY, J. A. and W. S. TAKACS: Sulfapyridine and experimental poliomyelitis. *Arch. Pediatr. (Am.)* **55**, 307 (1938); **56**, 344 (1939).
- TOPPING, N.: Experimental rocky mountain spotted fever and endemic typhus treated with Prontosil or sulfapyridine. *Publ. Health. Rep.* **54**, 1153 (1939).
- TRAUTWEIN, K.: *Arch. Tierhk.* **63**, 201 (1931).
- TRÉFOUËL, J. et Mme. J., F. NITTI et D. BOVET: Activité du p-aminophenylsulfamide sur les infections streptococciques expérimentales de la souris et du lapin. *C. r. Soc. Biol.* **120**, 756 (1935).
- URIARTE, M. D.: Las Sulfanilamidas y la vacunacion antivariolica. *Ann. Hosp. niños e Inst. pueric. Rosario (Argent.)* **1940**, 143.
- VONKENNEL, J.: Neue Ergebnisse der Sulfonamidforschung. *Med. Welt* **15**, 181 (1941).
- WAGNER, J. C.: Anterior poliomyelitis treated with sulfapyridine. *J. amer. med. Assoc.* **1934**.
- WEIDLICH, N.: Die ansteckende Schweinelähmung. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, **1940**, 397.
- WEISSENBACH, R. J., BOCAGE et TEMIME: Essai de traitement de la maladie de NICOLAS et FAVRE par la p-amino-phénylsulfamide. *Bull. Soc. franç. Derm.* **45**, 1669 (1938).
- WEISSENBACH, R. J. et DI MATTEO: Maladie de NICOLAS-FAVRE. Poradénolymphite inguinale. Echec de la sulfamidothérapie. *Bull. Soc. franç. Derm.* **48**, 128 (1941).
- WEISSENBACH, R. J. et TEMIME: Un cas de poradénolymphite inguinale de NICOLAS-FAVRE avec collection suppurée non fistulée traitée successivement par le 1162 F. puis par le 693. Guérison. *Bull. Soc. franç. Derm.* **46**, 307 (1939).
- WEIZEL, R.: Beitrag zur Kenntnis des Herpes simplex und zoster. *Münch. med. Wschr.* **1938 I**, 396.
- WEST, R. and A. F. COBURN: The relationship of sulfapyridine, nicotinic acid, and coenzymus to the growth of staphylococcus aureus. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 91 (1940).
- WHITBY, L.: Chemotherapy of pneumococcal and other infections with 2 (p-aminobenzenesulfonamide) pyridine. *Lancet* **1938 I**, 1210.
- WIEDLING, STEN: (1) Sulfonamidhemmende Wirkung der p-Aminobenzoessäure bei autotrophen Organismen. *Naturw.* **29**, 455 (1941).
 — (2) Antagonismus zwischen Sulfanilamiden und p-Aminobenzoessäure bei Pisum. *Naturw.* **31**, 114 (1943).
- WILHELM, FR.: Intralumbale Prontosilinjektionen bei Encephalitis. *Dtsch. med. Wschr.* **64**, 1513 (1938).
- WILSON, W. A.: Sulfanilamide treatment of trachoma. *Amer. J. Ophthalm.* **22**, 675 (1939).
- WOOD, W. B. jr.: The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of bacteriostasis. *J. exper. Med. (Am.)* **75**, 369 (1942).
- WOOD, W. B. jr. and R. AUSTRIAN: The possible relation of drug activity to substances other than p-aminobenzoic acid. *J. exper. Med. (Am.)* **75**, 383 (1942).
- WOODS, D. D.: The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of the action of sulphanilamide. *Brit. J. exper. Path.* **21**, 74 (1940).
- WOODS, D. D. and P. FIELDS: The anti-sulphanilamide activity (in vitro) of p-aminobenzoic acid and related compounds. *Chem. Ind.* **59**, 133 (1940).

- WOYLAS, B.: Die Behandlung der Grippe mit Deseptyl. Wien. med. Wschr. **1939**, 503.
- WYES, O., GRUBOUGH and SCHMELKES: Non-Specificity of sulfonamides. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **49**, 618 (1942).
- ZAHARRI, S. and F. AKRAWI: Lymphogranuloma inguinale in Iraq. With an account of a method of treatment. J. trop. Med. **43**, 67 (1940).
- ZWICK, W.: BORNASche Krankheit und Encephalomyelitis der Tiere. Handbuch der Viruskrankheiten **2**, 254 (1939).

Fünfter Abschnitt.

Virusimpfstoffe zur menschlichen Schutzimpfung.

Herstellung, Anwendung und Wirksamkeit.

Von

C. HALLAUER, Bern.

I. Allgemeine Kriterien.

Die Herstellung von Virusimpfstoffen stellt eine Reihe von Anforderungen, die bei der Gewinnung von antibakteriellen oder antitoxischen Schutzimpfstoffen überhaupt nicht oder nur in geringerem Grade berücksichtigt werden müssen.

Zur *Beschaffung des Ausgangsmaterials* müssen virusempfindliche Tierarten bzw. Züchtungsverfahren im Gewebsexplantat zur Verfügung stehen. Ist diese Möglichkeit nicht gegeben, so kann die Ausarbeitung von aktiven Schutzimpfungsverfahren — wie die Beispiele der Masern und Varicellen lehren — in Frage gestellt sein. Die unvermeidliche Gewinnung des Impfmateri als in Form von virusinfizierten Organ- und Gewebssuspensionen hat den Nachteil, daß die Impfstoffe artfremdes Eiweiß, sonstige Ballaststoffe und oft auch Begleitkeime enthalten, so daß eine Reinigung und Entkeimung bestimmter Virusimpfstoffe wünschbar erscheint.

Die häufige Anwendung von *Infektionsimpfungen*, d. h. die Immunisierung mit Impfstoffen, die aktives Virus enthalten, gibt der Schutzimpfung gegen Virusinfektionen vollends ihr eigenartiges Gepräge. Die wohl allen Virusarten zukommende „*biologische Plastizität*“, d. h. die Bildung von Varianten und Dauermodifikationen als Folge der Anpassung an bestimmte Wirtsspezies und Gewebetypen, ermöglicht bekanntlich die Gewinnung von optimal abgeschwächten Infektionsimpfstoffen. Andererseits ist es aber auch gerade dieses Abwandlungsvermögen, welches die Herstellung von Infektionsimpfstoffen von gleichbleibender Qualität in ungewöhnlichem Maße erschwert. Mit der Gewinnung von Virusstämmen, die in ihren Eigenschaften endgültig fixiert sind, kann nämlich in keinem Fall gerechnet werden, vielmehr lehrt die Erfahrung, daß durch gleichartige und lange dauernde Viruspassagen weitere Veränderungen, die durch den Verlust von ursprünglichen bzw. den Erwerb von neuen Merkmalen charakterisiert sind, in Erscheinung treten können. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, sämtliche Impfstoffe, die aktives Virus enthalten, unter ständiger Kontrolle zu halten und gegebenenfalls Verfahren zu ermitteln, mit deren Hilfe die gewünschte Qualität des Impfstoffes aufrechterhalten werden kann.

Die *Konservierung von Infektionsimpfstoffen* stellt ebenfalls Anforderungen besonderer Art. Außer der noch immer geübten Viruskonservierung in glycerin-

haltigen Medien werden die Tiefkühlung, die Trocknung im gefrorenen Zustand bzw. die Schnelltrocknung im Vakuum in zunehmendem Maße angewendet.

Bei Infektionsimpfungen muß schließlich auch die Art der *Applikation des Impfstoffes* berücksichtigt werden, wobei derjenige Infektionsmodus, welcher die Impfreaktionen auf ein Minimum herabsetzt und zugleich den zuverlässigsten Immunisierungserfolg verbürgt, als optimal zu gelten hat.

Für die Herstellung von *Virus-Antigenimpfstoffen* werden meist dieselben Methoden wie bei der Gewinnung von antibakteriellen bzw. antitoxischen Impfstoffen angewendet, nämlich die Inaktivierung durch Erhitzen auf mäßige Temperaturen oder durch den Zusatz bestimmter Chemikalien (Formol, Phenol). Unterschiedlich ist lediglich, daß die Virusinaktivierung im allgemeinen schonender erfolgen muß, eine Forderung, die bei Virusarten mit labilem Antigenbestand oft nicht leicht zu erfüllen ist. Fernerhin müssen diese Impfstoffe eine relativ hohe Viruskonzentration, die oft nur durch spezielle Anreicherungsverfahren erreicht werden kann, aufweisen. Eine besondere Schwierigkeit liegt nun aber — namentlich bei der Verwendung von chemischen Inaktivierungsmitteln — darin, diesen Impfstoffen einen konstanten und reproduzierbaren Grad von Inaktivität zu verleihen. Selbst unter anscheinend identischen Versuchsbedingungen (Virusgehalt des Ausgangsmaterials, Konzentration des Inaktivierungsmittels, Temperatur und Dauer der Einwirkung) kann nämlich — wie die Erfahrung lehrt — kaum mit einer völlig gleichartigen Virusinaktivierung gerechnet werden. Diese Unsicherheit wird noch dadurch erhöht, daß die Kriterien der Virusinaktivierung (Infektiositätsverlust, Art des immunisierenden Vermögens) keineswegs klargestellt und leicht zu eruieren sind. Daß Antigenimpfstoffe noch aktives Virus enthalten können, ist wiederholt festgestellt worden; der Nachweis von Virus gelingt hierbei durch künstliche oder spontane „Reaktivierung“ in vitro, durch eine oder mehrere Passagen des Impfstoffes in virusempfindlichen Geweben oder schließlich auch nur indirekt durch den Nachweis spezifischer Zell- und Kernveränderungen in geimpften Organen (vgl. dieses Handbuch, II. Bd., S. 1263). Die häufig gemachte Annahme, daß aktives Virus nur in „Spuren“ im Impfstoff vorhanden ist und daher schon aus quantitativen Gründen für die immunisierende Wirkung nicht in Betracht fällt, braucht nun nicht unbedingt zuzutreffen. Mindestens ebenso berechtigt, wenn auch ebenso unbewiesen wäre die Vorstellung, daß in derartigen Impfstoffen sämtliches Virus in seiner Infektiosität extrem abgeschwächt ist; praktisch müßte ein solcher Impfstoff als inaktiv, de facto als eben noch aktiv bezeichnet werden. Wie sehr die Qualität von Antigenimpfstoffen variiert, zeigt sich auch in den sehr unterschiedlichen Immunisierungserfolgen, die mit inaktivierten Impfstoffen bei ein und derselben Virusart erzielt wurden. Während im einen Fall lediglich die Bildung humoraler Antikörper bewirkt wird, und daher die Annahme naheliegt, daß ein zuverlässig inaktivierter Impfstoff verwendet wurde, kann es in anderen Fällen gelingen, eine ausgesprochen histogene Immunität zu erzeugen, so daß die völlige Inaktivität des Impfstoffes bezweifelt werden muß. Derartige Rückschlüsse von der Art der entstandenen Immunität auf die Qualität des verwendeten Impfstoffes sind nun allerdings nicht immer möglich, da einerseits zwischen „humoraler“ und „cellulärer“ Immunität häufig nicht unterschieden werden kann, und andererseits die Immunisierung mit zuverlässig inaktiviertem Virus zuweilen einen Zustand von Unempfindlichkeit erzeugt, deren humoraler Charakter oft nur in der geringen Beständigkeit zum Ausdruck kommt, und schließlich auch Infektionsimpfstoffe nach Art von Antigenimpfstoffen immunisieren, falls der Inokulationsmodus das Zustandekommen einer Infektion ausschließt.

Die *Applikation von Antigenimpfstoffen* erfolgt in der Regel — zumindest beim Menschen — auf subcutanem Wege, wobei wohl die Meinung besteht, daß der Impfmodus bei Antigenimpfstoffen keine Rolle spielt. Dieser Standpunkt erscheint insofern revisionsbedürftig, als experimentelle Befunde, wonach ein Gewebe nur durch die lokale Applikation von inaktiviertem Virus zuverlässig immunisiert werden kann, vorliegen (vgl. dieses Handbuch, II. Bd., S. 1259).

Hinsichtlich der *immunisierenden Wirksamkeit* sind bekanntlich die Infektions- den Antigenimpfstoffen im allgemeinen weit überlegen.¹ Andererseits ist die Verwendung von Impfstoffen, die aktives Virus enthalten, stets — auch unter den optimalsten Bedingungen — mit dem Risiko stärkerer Impfreaktionen bzw. Impfschäden, eventuell auch der Schaffung von Infektionsquellen, d. h. von Virusträgern und Ausscheidern, verbunden. Die zunehmende Tendenz, die Infektions- durch die gefahrlosen Antigenimpfungen zu ersetzen, ist daher wohl verständlich und sicher gerechtfertigt, falls zuverlässige und weitgehend ungefährliche Infektionsimpfungen nicht möglich sind. Diese Bestrebungen werden jedoch dadurch erheblich eingeschränkt, daß Antigenimpfungen nicht nur häufig versagen (Pocken, Gelbfieber) oder zumindest aussichtslos erscheinen (Poliomyelitis), sondern auch im günstigsten Fall nur eine relative und meist kurzfristige Immunität erzeugen. Die Frage, in welchem Maße auf die immunisierende Leistungsfähigkeit eines Impfverfahrens zugunsten seiner Ungefährlichkeit verzichtet werden kann, ist oft schon durch den klinischen und epidemiologischen Charakter einer Virusinfektion im voraus entschieden. Bei allgemeingefährlichen Seuchen, wie den *Pocken* und dem *Gelbfieber*, steht die Erzielung eines hohen Impfschutzes derart im Vordergrund, daß die Anwendung von Infektionsimpfungen durchaus gerechtfertigt ist, und das ohnehin geringfügige Impfrisiko kaum in Betracht fällt. Die Zuverlässigkeit der Immunisierung ist auch bei der Schutzimpfung gegen *Lyssa* das hauptsächlichste Postulat, schon deshalb, weil diese Impfung postinfektionell, d. h. nur beim Gefährdeten durchgeführt wird. Die klassischen Infektionsimpfungen gegen *Lyssa* haben sich daher — trotz des Auftretens gelegentlicher Impfkomplicationen — als tragbar erwiesen; ihr Ersatz durch Antigenimpfungen ist jedoch als wesentlicher Fortschritt zu bewerten, weil hierdurch der Impfschutz praktisch kaum verringert, das Impfrisiko dagegen auf ein Minimum herabgesetzt wird. Noch dringlicher ist die Forderung nach einer unschädlichen und gefahrlosen Schutzimpfung bei anderen Virusinfektionen. Gegen die klinisch meist benignen *Masern* könnte z. B. eine allgemein durchgeführte, aktive Schutzimpfung erst verantwortet werden, wenn ein völlig unschädlicher Impfstoff zur Verfügung stehen würde. Dasselbe gilt für die *Poliomyelitis*; die geringe Morbidität dieser Virusinfektion würde ebenfalls nur die Anwendung eines zuverlässig ungefährlichen Impfstoffes erlauben.

II. Die zur menschlichen Schutzimpfung verwendeten Impfstoffe.

Auf eine vollständige Darstellung der Schutzimpfung gegen menschliche Virusinfektionen muß an dieser Stelle verzichtet werden; insbesondere bleiben größtenteils unberücksichtigt die historische Entwicklung und die klinischen Auswirkungen der einzelnen Impfverfahren. Dagegen sollen die Technik und Entwicklung der Impfstoffgewinnung, deren experimentelle Grundlagen und praktische Zielsetzung in ausführlicher Weise erörtert werden. In den Bereich dieser

¹ Die hierfür maßgebenden Gründe wurden bereits früher (vgl. dieses Handbuch, II. Bd., S. 1256—1264) eingehend erörtert.

Abhandlung fallen fernerhin die Anwendungsart bzw. die Technik der Applikation der Impfstoffe und schließlich auch die Methoden zur Prüfung der Leistungsfähigkeit eines Impfverfahrens.

A. Variola.

Das Prinzip der Vaccination, als einer typischen Infektionsimpfung, ist seit den grundlegenden Untersuchungen von JENNER dasselbe geblieben. Die Entwicklung und Vervollkommnung, welche dieses Impfverfahren hauptsächlich in den letzten 50 Jahren erfuhr, betreffen vor allem die Technik der Impfstoffherstellung, fernerhin die Methoden der Impftechnik beim Menschen und schließlich die Bestimmung der Dauer des Impfschutzes bzw. die Einführung der Revaccination.

1. Die Entwicklung der Impfstoffgewinnung.

a) Beschaffung von Ausgangsstämmen.

Der Nachweis, daß menschliches Variolavirus durch die Übertragung auf andere Tierspezies (Rinder, Esel, Büffel, Kaninchen, ev. auch Pferde, Schafe, Ziegen, Schweine) in *Variola-Vaccinevirus* übergeführt werden kann (VOIGT, FISCHER, FREYER, HACCUS und ETERNOD, COPEMAN, CHAUMIER, DE HAAN, GAUDUCHEAU, HORGAN u. a.¹), bedeutet für die Gewinnung neuer Virusstämme einen wesentlichen Fortschritt, besonders deshalb, weil andere geeignete Virusquellen, wie die natürlich vorkommenden Tierpocken — *Kuh-, Pferde-, Esel-, Kamelpocken* — nur in beschränktem Maße zugänglich sind. Eine solche Virusumwandlung gelingt nun aber erfahrungsgemäß nur unter bestimmten Versuchsbedingungen, wobei die folgende Technik wohl die größten Aussichten gibt: 1. Entnahme des Variolavirus aus jungen, noch ungetriebenen Pockenpusteln mit dem scharfen Löffel. 2. Verwendung von Kaninchen als Impftiere. 3. Massive und intensive Verimpfung des gut aufgeschlossenen Pockenmaterials auf die flächenhaft skarifizierte oder wundgeriebene Kaninchenhaut. 4. Mehrmalige Hautpassagen in Intervallen von 3 Tagen (derartige Passagen müssen auch dann durchgeführt werden, wenn nach der Erstimpfung noch keine spezifischen Hautveränderungen zu beobachten sind). 5. Eventuelle Einschaltung von Affen als Zwischenwirte vor der Verimpfung auf Kaninchen.

Auch bei einwandfreier Technik wird man aber stets die Beobachtung machen, daß die Gewinnung einer Variolavaccine im einen Fall verhältnismäßig leicht und rasch gelingt, in anderen Fällen dagegen nur schwer erreicht oder überhaupt nicht erzwungen werden kann, so daß die Annahme naheliegt, daß zwischen den einzelnen Variolastämmen hinsichtlich ihrer Abwandlungsfähigkeit zu *Vaccinevirus* Unterschiede bestehen.

Mit *Alastrimvirus* wurden dieselben Ergebnisse erzielt; durch den Wirtswechsel auf Affen (GREEN, LEAKE und FORCE, BLAXALL, GORDON, VAN HOOFF, TURKHUD und PANDIT) oder — in überzeugenderer Art — auf Kaninchen (BLAXALL, SOBERNHEIM und ZURUKZOGLU, IFF²) können ebenfalls typische *Vaccinestämme* gewonnen werden.

Die natürlich vorkommenden *Tierpocken* eignen sich für die Beschaffung von *Vaccinestämmen* bekanntlich in sehr unterschiedlicher Weise. Während die Kuh- und Pferdepocken — und sehr wahrscheinlich auch die Kamelpocken — unmittelbare Virusspender sind, d. h. mühelos auf Kälber und den Menschen

¹ Ausführliche Literaturangaben bei GINS (67, 6), PASCHEN (171, 2), BLAXALL (19, 4), FINDLAY (52).

² Betreffs ausführliche Literaturangaben vgl. SOBERNHEIM (216).

übertragen werden können und hierbei die Eigenschaften der Vaccine aufweisen, trifft dies für die übrigen epizootisch auftretenden Pockenarten im allgemeinen nicht zu. Hinsichtlich der Umwandlungsmöglichkeit von Schaf-, Ziegen-, Schweine- und Geflügelpocken in Vaccinevirus konnte nämlich bisher keinerlei Übereinstimmung erzielt werden; anscheinend einwandfreien Erfolgen stehen ebenso eindeutige Mißerfolge gegenüber. Möglicherweise erklären sich diese Diskrepanzen größtenteils durch den Umstand, daß die einzelnen Tierpocken ätiologisch nicht einheitlich sind, d. h. daß bei ein und derselben Tierspezies Virusvarianten bzw. Modifikationen vorkommen, die bisweilen dem Vaccinevirus sehr nahestehen, in anderen Fällen dagegen soweit von ihm verschieden sind, daß Infektions- und selbst Immunisierungsversuche keinerlei Wechselbeziehungen mehr erkennen lassen. Von SHOPE (211) wurde auf das Vorliegen derartiger Verhältnisse bei den Schweinepocken erneut hingewiesen.

Obzwar die Provenienz der zur Vaccination verwendeten Virusstämme (Variolavaccine; Kuhpocken- und anderes Tierpockenvirus) sehr unterschiedlich ist, sind qualitative — für die Immunisierung in Betracht fallende — Stammesunterschiede bisher nicht beobachtet worden.

b) Erhaltung der Virusstämme in Wirtspassagen.

Im Gegensatz zu den natürlich vorkommenden Pockenvirusarten besitzt das Vaccinevirus ein außerordentlich breites Infektionsspektrum. Es besteht daher die Möglichkeit, Vaccinevirusstämme auf einer großen Anzahl von Wirtsspezies (Mensch, Affe, Rind, Pferd, Esel, Büffel, Kamel, Lama, Schaf, Ziege, Kaninchen usw.) in Hautpassagen fortzuzüchten, wobei die Artzugehörigkeit des Wirtes auf die biologischen Eigenschaften und vor allem auf die antigene Qualität des Vaccinevirus anscheinend keinen Einfluß hat. Für den Ersatz des Menschenpassagevirus, der „humanisierten Lymphe“ durch die *animale* Vaccine waren in erster Linie praktische Bedürfnisse, nämlich die jederzeit mögliche Beschaffung größerer Virusmengen, maßgebend. Als Viruspender werden daher in der Regel Großtiere, die eine beträchtliche Virusausbeute gewährleisten, verwendet. Die Wahl des Impftieres wird hierbei durch örtliche und geographische Gegebenheiten bestimmt; in Gegenden, in welchen die sonst stets bevorzugten Kälber und Rinder nicht zur Verfügung stehen, wird man andere vaccineempfindliche Tierspezies zur Virusgewinnung heranziehen müssen.

Durch die Einführung der animalen Vaccine konnte zwar das Bedürfnis nach Gewinnung von ausreichenden Impfstoffmengen befriedigt werden, blieb dagegen die hauptsächlichste Aufgabe, nämlich die Impfstoffvirulenz *dauernd* auf derselben Höhe zu halten, zunächst noch ungelöst. Die ursprüngliche Erwartung, daß einmal angepaßte Vaccinestämme unbegrenzt lange — ohne Einbuße an Infektiosität — auf derselben Wirtsspezies passiert werden können, hat sich nämlich nicht erfüllt. Vielmehr lehrt die Erfahrung, daß sowohl die lange dauernde „Humanisierung“ [vgl. GINS (67, 10), CLEARKIN und SKAN (37)] als auch die ununterbrochen durchgeführte Kälber- bzw. Rinderpassage eine „Degeneration“ des Vaccinevirus zur Folge haben [VOIGT (234), BLAXALL (19, 2), CUNNINGHAM (40), MATSUMURA (150), CLEARKIN (36), CLEARKIN und SKAN (37), GINS (67, 10) u. a.]. Diese Virusdegeneration ist gekennzeichnet durch den progressiven Verlust an Infektiosität — nicht nur für den Passagewirt selbst, sondern auch für andere vaccineempfindliche Wirtsspezies — und äußert sich zunächst in einer beschleunigt verlaufenden Pustelbildung (234), später in der Ausbildung abortiver Efflorescenzen, der geringen Haftfähigkeit bei cutaner Insertion (40), einem starken Abfall des Virustiters (36, 37) und schließlich auch im herabgesetzten Immunisierungsvermögen. Daß der antigene Wert derartiger

Stämme allerdings nicht in gleichem Ausmaß absinkt wie die Infektiosität, scheint aus den Versuchen von CLEARKIN und SKAN (37), die noch mit stark abgeschwächten Vaccinestämmen der 31. bzw. 33. Rinderpassage eine beachtenswerte Immunität erzielen konnten, hervorzugehen.

Das Tempo, in welchem sich die Virusabschwächung vollzieht, ist ein recht unterschiedliches und hängt wohl von der Art des Passagewirtes, von Eigenschaften der verwendeten Virusstämme und von der Passagetechnik ab. So scheint festzustehen, daß humanisiertes, von Mensch zu Mensch fortgeführtes Vaccinevirus seine Infektiosität im allgemeinen weit länger beibehält als auf Rindern passierte Vaccinestämme. Über die Anzahl von Rinderpassagen, nach welchen Vaccinestämme zu degenerieren beginnen, liegen sehr unterschiedliche Angaben vor. Nach CUNNINGHAM (40) und CLEARKIN (36) erleiden Variolavaccinestämme bereits nach 6, nach MATSUMURA (150) dagegen erst nach 18 successiven Rinderpassagen einen deutlichen Infektiositätsverlust. Demgegenüber zeigen Vaccinestämme animaler Provenienz (Kuh- und Pferdepocken): anscheinend eine ungleich größere Beständigkeit. So ist bekannt, daß der von LANOIX isolierte Beaugency-Stamm während 13 Jahren ausschließlich auf Kälbern passiert wurde und noch in der 456. Generation vollvirulent war; derselbe Stamm wurde späterhin von VOIGT noch weitere 16 Jahre in Rinderpassagen fortgeführt [vgl. PASCHEN (171, 2)]. Nach der von GROTH (75, 2) bearbeiteten Völkerbundsenquête verfügt das Institut Kitasato in Tokio — als einziges Impfinstitut — über einen seit dem Jahre 1906 ununterbrochen auf Kälbern unterhaltenen Vaccinestamm, der seiner Abstammung nach ebenfalls ein Kuhpockenvirus ist. Seit 1933 verwendet nun auch das Schweizer Serum- und Impfinstitut einen aus Pferdemaue gewonnenen Vaccinestamm, der bisher ohne jeglichen Infektiositätsverlust ausschließlich auf Rindern passiert wurde. Die Provenienz eines Vaccinestammes (Variolavaccine- oder animales Pockenvirus) scheint demnach für die Stabilität eines dauernd auf derselben Wirtsspezies gezüchteten Vaccinevirus von nicht geringer Bedeutung. Allerdings verhalten sich auch Vaccinestämme animaler Provenienz oft — namentlich in den ersten Rinderpassagen — auffallend labil und zeigen große Neigung zur Degeneration [BLAXALL (19, 2)]. Die endgültige Stabilisierung derartiger Stämme läßt sich nun aber doch — wie aus den obengenannten Beispielen hervorzugehen scheint — durch eine kunstgerechte Passagetechnik (sorgfältige Selektion der Anzuchtlymphchen) hin und wieder erreichen.

Der Mechanismus der Virusabschwächung als Folge der dauernden homologen Wirtspassage ist unbekannt. Naheliegend wäre die Vermutung, daß das in zahlreichen Hautpassagen fortgeführte Vaccinevirus immunologischen Einflüssen unterliegt, d. h. in zunehmendem Maße neutralisiert wird. Zugunsten dieser Annahme würde die Erfahrung sprechen, daß die Haut ein immunisatorisch besonders aktives Gewebe darstellt, und könnte auch die Tatsache gewertet werden, daß eine dauernde Viruspassage in anderen Organen (Hoden bzw. Gehirn des Kaninchens), auf der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies oder im Gewebsexplantat ohne Infektiositätsverlust möglich ist. Derartigen Immunitätsvorgängen kann nun aber schon deshalb keine entscheidende Bedeutung beigemessen werden, weil bekanntlich schon ein in die homologe Passagereihe eingeschalteter Wirtswechsel genügt, um die Virusdegeneration zu verhindern bzw. eine Virusregeneration zu bewirken.

Der *Wirtswechsel*, der schon im letzten Jahrhundert in Form der Retrovaccine zur *Auffrischung von humanisiertem Virus* verwendet wurde (SACCO, TROJA, GALBIATI, REITER, PFEIFFER u. a.), ist heute für die dauernde *Erhaltung der Impfstoffvirulenz* zur Methode der Wahl geworden. Hierbei stehen zwei Verfahren im Vordergrund: 1. Die Verwendung der *Retrovaccine* als Impfstoff,

wobei periodisch vom primovaccinierten Menschen auf das Rind zurückgeimpft wird, so daß das Vaccinevirus den beständigen Wirtswechsel Rind—Mensch—Rind—Mensch durchmacht; 2. die Gewinnung einer *rein animalen Vaccine*, wobei das Virus alternierend auf mindestens zwei tierischen Wirten passiert wird, nämlich vom Rind auf das — am meisten verwendete — Kaninchen [CALMETTE und GUÉRIN (31)] bzw. auf den Esel [CHAUMIER (33), PETRAGNANI (177), MOROSOW und KASATKEWITSCH (155)], Büffel [SOITUZ (218)], Affen [CLEARKIN (36)] usw. Vom Zwischenwirt wird auf das Rind zurückverimpft, so daß sich z. B. der Turnus Rind—Kaninchen—Rind—Kaninchen ergibt.

Beide Verfahren ermöglichen — bei sachgemäßer Technik (vgl. S. 367) — gleichermaßen die Gewinnung hochinfektiöser Vaccinestämme und deren Erhaltung in praktisch unbegrenzten Wirtspassagen.

c) Entkeimung und Reinigung der Impfstoffe.

Ein Nachteil jeder Dermovaccine ist deren hoher Gehalt an Begleitkeimen. Die Abgabe der Impfstoffe, die zur Verminderung der Keimzahl mehr oder weniger lang gelagert werden müssen, wird hierdurch erheblich verzögert, fernerhin sind keimhaltige Lymphen nur für die cutane Applikation geeignet, und schließlich kann die Anwesenheit menschenpathogener Erreger — trotz der bakteriologischen Prüfung — keineswegs immer mit voller Sicherheit ausgeschlossen werden. Das Bestreben, die Lymphen weitgehend oder völlig zu entkeimen, ist daher durchaus verständlich. Die hierzu versuchten und verwendeten Verfahren sind teils chemischer, teils physikalischer Art und bestehen in der Hauptsache in der Entkeimung durch Desinfektionsmittel oder durch Filtration.

Die Verwendung eines *Desinfektionsmittels* ist a priori an die Bedingung gebunden, daß dasselbe elektiv einwirkt, d. h. die Begleitkeime rasch und sicher vernichtet, das Vaccinevirus dagegen nicht angreift bzw. inaktiviert.

Bekanntlich erfüllt das Glycerin dieses Postulat nur in sehr unvollkommenem Maße; bei tiefen Temperaturen, wie sie zur Konservierung erforderlich sind, ist seine bactericide Wirkung nur gering, und bei Zimmer- bzw. Bruttemperatur wird diese zwar gesteigert, gleichzeitig aber auch das Virus rasch geschädigt.

Die folgenden Desinfizientien wurden bisher zur Keimverminderung oder Entkeimung von Vaccineimpfstoffen versucht bzw. verwendet: Äther (FORNET, NOGUCHI, KRUMBACH, HACH), Chloroform (GREEN, NILJAND, CARINI, VOIGT, DALAL), Toluol (CARINI), Nelkenöl [BLAXALL (19, 1)], Brillant- bzw. Malachitgrün [COPLANS (39)], Phenol [GINS (67, 1, 2)], Chinosol [SEIFFERT und HÜNE (208)], Eukupinotoxin [KIRSTEIN (113, 1—4)], Trypaflavin [ILLERT (97, 1, 2)], Rivanol [GILDEMEISTER (65)] und Zephirol [KAISER (100, 1, 3)]. Die Leistungsfähigkeit dieser Entkeimungsmittel ist, wie zu erwarten ist, recht unterschiedlich sowohl in bezug auf die bactericide als auch auf die selektive Wirkung.

Der Zusatz von Nelkenöl, der namentlich von englischen Autoren bevorzugt wird, bietet zwar den Vorteil, daß das Vaccinevirus auch bei jahrelanger Konservierung nicht geschädigt wird, bewirkt aber auch nur einen verhältnismäßig geringen Grad von Entkeimung. Der Äther, das Chloroform und Toluol werden wegen ihrer unzuverlässig bactericiden und nicht selten auch viruliciden Wirkung kaum noch verwendet. Über die Brauchbarkeit von Phenol, Chinosol, Eukupinotoxin, Trypaflavin und Rivanol liegen Einzelnachprüfungen von HACKENTHAL (84), PASCHEN, LEHMANN (131, 8) und BUTLER (30) für das Phenol und von KRUMBACH (121), BELENKY und POPOWA (12) für das Eukupinotoxin sowie vergleichende Untersuchungen von GROTH und ARNOLD (76, 1), GILDEMEISTER (65), GINS (67, 2) und KIRSTEIN (113, 3, 4) vor. Aus diesen Untersuchungen geht wohl mit Eindeutigkeit hervor, daß ein Desinfiziens von

optimaler Selektivität bisher noch nicht gefunden wurde. Die Acridin-farbstoffe Trypaflavin und Rivanol scheiden wegen ihrer ausgesprochen virusschädigenden Eigenschaften aus und das Chinolol ist anscheinend mehr bakterio-statisch als bactericid wirksam und schließt eine Virusschädigung ebenfalls nicht aus, so daß nur die Phenolisierung des glycerinfreien Rohstoffes bzw. der Zusatz von Eukupinotoxin zur Glycerinlymphe den praktischen Bedürfnissen¹ einigermaßen entspricht. Auch diese Verfahren befriedigen nicht gänzlich, da einerseits eine völlige Entkeimung, d. h. die Vernichtung von Sporenbildnern nicht möglich ist, und andererseits die Konservierbarkeit des Impfstoffes stets verringert wird. Möglicherweise kommt dem Zephirol die günstigste Wirkung zu; jedenfalls erlaubt das von KAISER (100, 1, 3, 5—7) ausgearbeitete Verfahren, das allerdings die kombinierte Anwendung von Entkeimung, Reinigung und Konservierung vorsieht, die Gewinnung eines rasch und zuverlässig entkeimten und außerdem gereinigten und gut konservierbaren Impfstoffes.

Die Abtötung von im Impfstoff vorhandenen Staphylokokken, die häufig auch in lange gelagerten Glycerinlymphe nicht verschwinden, kann nach JANZEN und WOLFF (96) und BORODAI (20) durch den Zusatz eines *Staphylokokkenphagen* erfolgen. Dieses Verfahren mag dann seine Berechtigung haben, wenn ein Impfstoff nur wegen seines Gehaltes an Staphylokokken nicht abgegeben werden kann.

Von den versuchten physikalischen Entkeimungsmethoden, nämlich der Verwendung von ultraviolettem Licht [FRIEDBERGER und MINORESCU (58), KIRSTEIN (113, 5)], Röntgenstrahlen [LEVIN (141), LACASSAGNE und NYKA (125)], Ultraschall [YAOI und NAKAHARA (246)] und der keimfreien Filtration [YAOI und KASAI (245, 2)] kommt wohl nur die letztere in Frage. Die Entkeimung von Dermovaccinen durch bakterien-dichte Filter konnte so lange nicht in Betracht gezogen werden, als dieses Verfahren mit allzu großen Virusverlusten verbunden war. Aus den Untersuchungen von WARD (236), YAOI und KASAI (245, 2), MONTEIRO und GODINHO (153, 1, 2), GREEN und EAGLES (73), EAGLES (48), GALLARDO (59, 7) und HENDERSON und McCLEAN (88) geht nun aber eindeutig hervor, daß die Filtration von frisch geernteten Dermovaccinen bzw. Lapinen keine besonderen Schwierigkeiten macht, falls eine Reihe von Versuchsbedingungen (ausreichende Verdünnung des Rohstoffes in bestimmten Suspensionsflüssigkeiten, Berücksichtigung des p_H ; Entfernung von Eiweiß und Zellbestandteilen durch Präzipitation und Zentrifugieren, Verwendung bestimmter Filter) eingehalten werden. Mit verhältnismäßig einfacher Technik² gelingt auf diese Weise die Gewinnung von bakteriosterilen, hochaktiven Filtraten, die sich zur menschlichen Impfung vorzüglich eignen (153, 1, 2, 59, 7, 88). MONTEIRO und GODINHO erzielten mit derartigen Vaccinefiltraten bei Erstimpfungen einen Schnitterfolg von 100% und weisen auf die geringe entzündungserregende und narbenbildende Wirkung hin; auch GALLARDO hält diese keimfrei filtrierte Vaccinen allen anderen Impfstoffen (Dermovaccinen, Neurolapinen, Eihaut- und Kulturvirus) für deutlich überlegen.

Zur Reinigung von Dermovaccinen von Zell- und Gewebsbestandteilen, Eiweiß und sonstigen Ballaststoffen kommen nur Verfahren in Betracht, die technisch einfach sind und die Gewinnung größerer Impfstoffmengen erlauben. Durch Zentrifugieren von gut homogenisierten und ausreichend verdünnten Lymphen können gröbere Gewebspartikel leicht entfernt werden [KAISER (100, 1, 5)]; weitgehender ist wohl die Reinigung durch Ausfällung der Zell- und Eiweißbestand-

¹ Technische Einzelheiten über diese Verfahren finden sich auf S. 370.

² Vgl. S. 371.

teile im isoelektrischen Punkt mittels schwachen organischen Säuren [BEHRENS und MORGAN (10), BEHRENS und NIELSEN (11), HENDERSON und McCLEAN (88)] und noch vollkommener, wenn auch technisch komplizierter, ist die Reinigung durch Ausschütteln mit Petroläther, Virusadsorption an Kaolin und nachfolgende Viruselution [YAOI und KASAI (245, 1, 3), YAOI (242, 1—3, 7)]. Derartig gereinigte Vaccinen sind wohl leichter resorbierbar und gleichmäßiger wirksam und eignen sich vor allem zur keimfreien Filtration.

d) Primär keimfreie Impfstoffe.

Hoden- und Gehirnlapinen. Der unerwünschte Keimgehalt von Dermovaccinen läßt sich vermeiden, wenn das Vaccinevirus nicht in Haut-, sondern in Hoden- und Gehirnpassagen beim Kaninchen unterhalten wird. Derartige *Hodenlapinen* (NOGUCHI, LEVADITI, HARVIER und NICOLAU, CONDREA, REITER, HACH u. a.) bzw. *Gehirnlapinen* (MARIE, LEVADITI und NICOLAU, GALLARDO, WALTHARD u. a.) sind keimfrei und können im Verlaufe von Organpassagen einen außerordentlich hohen Grad von Infektiosität erreichen. Als Impfstoffe vermochten sich allerdings diese Organlapinen — trotz ihrer praktischen Vorzüge (rasche Gewinnung und Abgabe, beliebiger Applikationsmodus, geringere Kosten der Herstellung) — keineswegs allgemein durchzusetzen. Die Gründe hierfür sind bekannt und basieren auf der Feststellung, daß diese Lapinen sich in einer Reihe von Eigenschaften grundsätzlich von den üblichen Dermovaccinen unterscheiden.

Das hauptsächlichste Merkmal der Hoden- und Gehirnlapinen besteht bekanntlich in der stark gesteigerten Virulenz für das Kaninchen, die sich kundgibt 1. in der Ausbildung von außergewöhnlich succulenten, hämorrhagischen und nekrotisierenden Eruptionen auf der Kaninchenhaut, 2. im encephalitogenen Vermögen bei intracerebraler Applikation und 3. in der ausgesprochenen Tendenz zur klinisch manifesten Generalisation und Metastasenbildung. Die Gewinnung von derartigen Vaccinestämmen gelingt nun nicht nur durch die Viruspassage in den verschiedenen Organen (Hoden, Gehirn, Subcutis) des Kaninchens, sondern auch in anderen Wirtsgeweben, nämlich im Affengehirn (1), in Explantaten von embryonalem Hühnergewebe (120, 1, 2, 136, 196) und auf der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies (63, 1, 131, 3, 4, 138, 140, 152).¹ Die Virusveränderung ist demnach nicht die Folge der Anpassung an ganz bestimmte Organgewebe (Gehirn) oder Wirtsspecies (Kaninchen), sondern der dauernden Züchtung von Dermovaccinevirus in mesodermalen Geweben, wobei die mesodermotropen Eigenschaften des Vaccinevirus eine Steigerung erfahren (25, 1, 136, 140). Der gleichzeitige Verlust an epidermalen Affinitäten zeigt sich bei der Verimpfung derartiger Stämme auf die Haut von Kälbern, Hühnern und — mit Wahrscheinlichkeit — auch des Menschen; bei Kälbern sind die erzielten Hauteruptionen nur spärlich und kümmerlich und ergeben eine geringe Virusernte [LEVADITI und NICOLAU (137, 2)], bei Hühnern mißlingt meistens die cutane Verimpfung überhaupt [LEVADITI und NICOLAU (137, 2)] und beim Menschen ist zumindest auffallend, daß die cutane Infektion nur bei Verwendung von „Neurovaccinen“ von unverhältnismäßig hoher Infektiosität mit Regelmäßigkeit haftet [vgl. GALLARDO (59, 1—4)], und die Pustelbildung um einige Tage verzögert ist [GONZALEZ (70, 1, 2)]. Die überaus starken Reaktionen, die auf der Kaninchenhaut zu beobachten sind, stehen hierzu nur in scheinbarem Widerspruch; die ungewöhnlich zarte Kaninchenhaut erlaubt nämlich stets eine Mitbeteiligung von tieferen Hautschichten und die besonders hervortretenden entzündlichen Reaktionen (Ödem, Hämorrhagie, Nekrose) spielen sich wohl im mesodermalen Gewebe ab. Daß die Hoden- und Gehirnlapinen als recht stabile Varianten bzw. Dauermodifikationen

¹ Die völlige Gleichartigkeit von Organlapinen mit den in der Kultur bzw. auf der Eihaut erzielten Virusvarianten von neurovaccinalem Charakter ist allerdings noch nicht sichergestellt.

aufzufassen sind, geht aus Versuchen hervor, in welchen Neurovaccinevirus weder durch Rinderhautpassagen [HACH (83)] noch durch die Übertragung auf die menschliche Haut [NICOLAU und POINCELOUX (161)] oder durch die Dauerzüchtung auf der Chorionallantois [BUDDINGH (25, 1)] seine spezifischen Eigenschaften einbüßte bzw. in Dermovaccinevirus zurückverwandelt wurde.

Gegen eine Anwendung der Hoden- und Gehirnlapinen sprachen vor allem das varioliforme Verhalten dieser Vaccinestämme im Kaninchenorganismus, deren encephalitogenes Vermögen und zweifellos auch die — allerdings irrtümliche — Vermutung, daß „Neurovaccinen“ neurotrope Eigenschaften aufweisen. Die zahlreichen am Menschen mit Neurovaccinen durchgeführten Schutzimpfungen (17, 59, 1—6, 70, 1, 2, 83, 95, 137, 1, 167, 191, 227) scheinen indessen diese Bedenken nicht zu rechtfertigen. Nach GALLARDO (59, 5, 6) wurden in Spanien bis zum Jahre 1934 über 8 Millionen Kinder mit Neurovaccine geimpft, ohne daß besondere Komplikationen beobachtet werden konnten, und auch die übrigen Berichte stimmen darin überein, daß die Impfung mit Neurovaccine im allgemeinen einen durchaus normalen Verlauf nimmt. Ob die von allen Autoren gelegentlich beobachteten Nebenpocken und vereinzelt Hautmetastasen zu Lasten der Neurovaccine gebucht werden müssen, bleibt fraglich. Auch die von einzelner Seite [HACH (83), NESCHTSCHADIMENKO (160), OROSZ (164), VAN DER SCHAAF (233)] hervorgehobenen ungewöhnlich starken Hautreaktionen (Pustelbildung von hämorrhagisch-nekrotisierendem Charakter) müssen mit Reserve aufgenommen werden, da ähnliche Klagen auch über Dermovaccinen geführt werden. Auffallend bleibt wohl lediglich die Tatsache, daß die bei Primovaccinierten erzielten Impferfolge im allgemeinen nur 75—85% betragen, und daß nur GALLARDO (59, 2) mit einer Neurovaccine vom Titer 1:80000 (nach GROTH) einen höheren Impferfolg — 95,5% bei Erstimpflingen und 83,9% bei Wiederimpflingen — erreichte. Bemerkenswert ist auch die Angabe von GONZALEZ (70, 1, 2.), wonach die vaccinale Eruption meist um mehrere Tage verzögert auftritt, und die von THOMAS (227) gemachte Feststellung, daß mit Neurovaccine geimpfte Kinder — im Vergleich zu mit Kälberlymphe Geimpften — bereits nach 5 Monaten einen deutlich geringeren Immunitätsgrad aufwiesen. In jedem Fall bleibt aber die Tatsache bestehen, daß die aus Kaninchenhoden bzw. -gehirn gewonnene Neurovaccine sich in ihren biologischen Eigenschaften von der Dermovaccine unterscheidet.

Kultur- und Eihautvirus. Durch die gelungene Dauerzüchtung von Vaccinevirus in Gewebsexplantaten und auf der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies ergaben sich neue Möglichkeiten zur Gewinnung keimfreier Impfstoffe. Die praktische Anwendung dieser Verfahren wurde gefördert durch die Vereinfachung der Technik der Viruszüchtung im Gewebsexplantat durch MAITLAND und MAITLAND (1928) und LI und RIVERS (1930) und die Vervollkommnung der Eihautbeimpfung durch GOODPASTURE und BUDDINGH (1931 bis 1935) und BURNET (1936).¹ Die Brauchbarkeit des Kultur- und Eihautverfahrens zur Gewinnung von Impfstoffen ist a priori an die folgenden Voraussetzungen gebunden: 1. daß es gelingt, Dermovaccinen, die allein als Anzuchtstämme in Betracht kommen, dauernd bzw. über eine große Anzahl von Passagen im Explantat oder auf der Chorionallantois zu züchten; 2. daß die biologischen und immunologischen Eigenschaften des Ausgangsvirus während der Dauerpassage keine wesentliche Veränderung erfahren; und 3. daß Kultur- und Eihautvaccinen

¹ Vgl. dieses Handbuch Bd. I, S. 369 u. 419; fernerhin die Originalarbeiten von LI und RIVERS (142), HERZBERG (89, 2, 3), GOODPASTURE und BUDDINGH (24, 72) und BURNET (27).

zur menschlichen Impfung hinsichtlich Impferfolg, Verträglichkeit und immunisierender Wirkung mindestens ebenso geeignet sind wie die üblichen Kälberlymphnen.

Über die Möglichkeit, Dermovaccinavirus sowohl im Explantat als auch auf der Chorionallantois in jahrelangen Dauerpassagen zu unterhalten, besteht kein Zweifel. RIVERS und Mitarbeiter (195—198) vermochten einen Dermovaccinestamm im embryonalen Hühnergewebe zunächst über 99 — nach einer eingeschalteten Retrolapine — bis zu 170 Passagen zu züchten; PLOTZ (183, 2) berichtet über 180 erfolgreiche Passagen eines Dermovaccinavirus im proliferierenden Hühnergewebe, und NAUCK und PASCHEN (159) hatten keine Schwierigkeiten, ein humanisiertes Vaccinavirus in Explantaten von Kaninchenhoden während 70, nach späteren Angaben, 110 Passagen fortzuzüchten. Auf der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies erzielten GOODPASTURE und BUDDINGH (24) mit einer Dermovaccine als Ausgangsstamm während 5 Jahren 220 ununterbrochene Passagen, und STEVENSON und BUTLER (223, 1—4) erreichten bisher 126 Passagen.

Ungleich wichtiger ist die Frage, ob Dermovaccinavirus während der Dauerpassage im Explantat bzw. auf der Chorionallantois eine qualitative Veränderung erleidet. Die Großzahl aller Autoren, die sich mit der Gewinnung von Kultur- und Eihautimpfstoffen befaßten, bemühte sich daher, die Qualität ihrer Passagestämme im Tierversuch und am Menschen auf Infektiosität, Pathogenität, antigene und immunisierende Eigenschaften zu prüfen, in der Absicht, etwaige Differenzen zu den Ausgangsstämmen aufzudecken. Die hierüber vorliegenden Angaben sind zwar keineswegs übereinstimmend, erlauben jedoch in ihrer Gesamtheit mehrfache Rückschlüsse.

Infektiosität des Passagevirus auf der Kaninchenhaut. RIVERS und Mitarbeiter (195—198) prüften in periodischen Intervallen den Virustiter einzelner Kulturen bis zur 170. Passage mit dem folgenden Ergebnis: Bis zur 19. Passage war der Infektiositätstiter derselbe wie zu Beginn, nämlich 10^{-6} , in der 30. Passage betrug er noch 10^{-4} , in der 60.—80. Passage noch 10^{-2} , in der 86. Passage war er auf 10^{-1} abgesunken und in der 99. Passage konnte nur noch mit dem unverdünnten Kulturvirus eine Hautläsion erzeugt werden. Zu Beginn des Titerabfalles (31. Passage) wurde das Kulturvirus mehrmals durch den Kaninchenhoden passiert und hierauf nochmals in Kulturen weitergeführt; dieser aufgefrischte Stamm („second revived strain“) zeigte dann bis zur 170. Passage eine bemerkenswerte Stabilität, indem der Titer sich auf der konstanten Höhe von 10^{-5} — 10^{-6} hielt. Bemerkenswert ist nun, daß eine derartige Stabilisierung durch Retrolapinen in den späteren (34. und 38.) Passagen bereits nicht mehr gelang; die in diesem Zeitpunkt abgezweigten Stämme („first resp. third revived strain“) zeigten schon nach 14 bzw. 4 Passagen einen Wiederabfall des Titers. Einen noch rascheren Infektiositätsverlust von in vitro gezüchteten Dermovaccinestämmen beobachteten CH'EN (35) und COFFEY (38). In den Versuchen von CH'EN betrug der Virustiter zu Beginn der Züchtung 10^{-3} , in der 3.—5. Passage 10^{-6} , in der 25. Passage 10^{-3} , in der 30. und 40. Subkultur nur noch 10^{-1} ; eine Auffrischung und Stabilisierung des Kulturstammes gelang diesem Autor auch in vitro durch die vorübergehende Züchtung in Explantaten von Kaninchenhodengewebe. COFFEY stellte einen Abfall des Virustiters von 10^{-5} zu Beginn auf 10^{-2} in der 32. Kulturpassage fest; die Auffrischung dieses Stammes durch eine Retrohodenlapine gelang, eine dauernde Stabilisierung wurde aber nicht erreicht, da der Virustiter in der 66. Passage bereits wieder auf 10^{-3} abgesunken war. MÜNSTERER (158, 2) und GALLARDO (59, 7) machten ebenso die Beobachtung, daß die Infektiosität des Kulturvirus für die Kaninchenhaut nach monatelanger Züchtung im embryonalen Hühnergewebe zusehends abfällt. Andererseits ist es nun aber auch wiederholt gelungen, dermatrope Vaccinestämme über längere Zeit ohne Infektiositätsverlust im Explantat zu züchten, so erzielten HERZBERG (89, 2, 3) 40, TOGOUNOVA (229) 70 und NAUCK und PASCHEN (159) 110

Subkulturen, wobei der Anfangstiter erhalten blieb oder — wie NAUCK und PASCHEN, die allerdings Explantate von Kaninchenhoden verwendeten, feststellten — sogar anstieg. Die Prüfung der Infektiosität von dauernd auf der Chorionallantois gezüchteten Vaccinestämmen führte zu ähnlich diskordanten Ergebnissen. Nach GOODPASTURE und BUDDINGH (24, 72) zeigte der über insgesamt 220 Passagen geführte Vaccinestamm eine konstante Infektiosität für das Kaninchen; von der Bestimmung des Endtiters wurde allerdings abgesehen. Auch LEHMANN (131, 7) beobachtete bei 94 Eihautpassagen keine Anzeichen eines endgültigen Titerabfalles. Zu den gleichen Ergebnissen gelangten TANG und WEI (226), PERAGALLO (176, 1—3) und ECHENIQUE-GUZMAN (49) allerdings in kürzeren Passagereihen. Demgegenüber liegen nun aber auch Befunde vor, wonach die Infektiosität des auf der Chorionallantois passierten Vaccinevirus in zunehmendem Maße abnimmt; PANDIT und RAO (166) verzeichneten schon in den ersten 15 Passagen — bei der Auswertung auf der Kälberhaut — einen beträchtlichen Infektiositätsverlust, KUNERT (124) glaubt ebenfalls, daß das Eihautvirus bereits nach der 50. Passage einer Auffrischung bedarf, MÜNSTERER (158, 2) vertritt denselben Standpunkt, und STEVENSON und BUTLER (223, 4) vermochten in sehr sorgfältigen Studien festzustellen, daß zwischen der 25. und 55. Eihautpassage die Infektiosität um eine Zehnerpotenz abfällt, in den weiteren Passagen dagegen stabil bleibt.

Art der vaccinalen Reaktion auf der Kaninchen-, Kälber-, Affen- und Menschenhaut. Im allgemeinen ist festgestellt, daß Kultur- und Eihautvaccinen bei Kaninchen, Kälbern, Affen und Menschen durchaus typische Hauteruptionen bewirken, die sich von der durch Kälberlymphe hervorgerufenen Pustelbildung lediglich durch ihren milderen Charakter (geringeres Ödem, verminderte Kongestion, schwächere Schorf- und Narbenbildung) sowie durch ihren leicht verzögerten Ablauf unterscheiden. Andererseits ist nicht zu bestreiten, daß einzelne Kultur- und Eihautstämme auf der Kaninchenhaut hämorrhagisch-nekrotisierende Pusteln erzeugen; derartige Beobachtungen wurden von RIVERS und WARD (196, 197), LLOYD und MAHAFFY (144) und TOGOUNOVA und BAIDAKOWA (230) mit Kulturvirusstämmen gemacht. Alle diese Autoren verwendeten aber durch Kaninchenhodenpassagen entkeimte oder gelegentlich aufgefrischte Dermovaccinestämme, so daß schon diese „Lapinisierung“ für die Virusveränderung verantwortlich gemacht werden kann. Für die Versuche von KRONTOWSKI, JAZMIRSKA-KRONTOWSKA und SAWITZKA (120, 1, 2), die mit Gewebekulturvirus ebenfalls neurovaccinale Reaktionen auf der Kaninchenhaut beobachteten, trifft dies aber nicht zu, da diese Autoren von rein dermalen Stämmen (Dermovaccine — Dermolapine) ausgingen. Auch die von LEHMANN (131, 3, 4) gelegentlich und von TANG und WEI (226) ständig beobachtete hämorrhagisch-nekrotisierende Wirkung von Eihautlymphe muß als Folge der Eihautpassage aufgefaßt werden, da ebenfalls reine Dermovaccinen als Ausgangsstämme verwendet wurden.

Klinisch manifeste Generalisation. Die Frage, ob Passagestämme eine gesteigerte Tendenz zur klinisch manifesten Metastasenbildung aufweisen, wurde bei Eihautvaccinen wiederholt untersucht. Nach PANDIT und RAO (166) treten bei mit Eihautvirus geimpften Kälbern sekundäre Pusteln in vermehrtem Grade auf; ähnliche Beobachtungen machte LEHMANN (131, 7) beim Menschen. Auch GASTINEL und FASQUELLE (63, 1) schließen aus ihren Versuchen, in denen Kaninchen intravenös mit Eihaut- und vergleichsweise Dermovaccinevirus injiziert wurden, daß das Eihautvirus in viel größerem Ausmaß zur klinisch feststellbaren Metastasenbildung befähigt ist; hinsichtlich der Art der Virusausbreitung im Kaninchenorganismus konnte allerdings zwischen den beiden Virusstämmen kein Unterschied festgestellt werden (63, 3). Dagegen vermochten GOODPASTURE und BUDDINGH (71), STEVENSON und BUTLER (223, 3, 4) mit ihren Eihautpassagestämmen weder bei Kaninchen noch bei Kälbern und Affen manifeste Metastasen hervorzurufen.

Encephalitogenes Vermögen. Widersprechend lauten auch die Angaben über die encephalitogenen Eigenschaften von Kultur- und Eihautvaccinen. GOODPASTURE und BUDDINGH (71, 72), RAO, PANDIT und SHORTT (188) und STEVENSON und BUTLER (223, 3, 4) konnten mit Eihautstämmen unterschiedlicher Passagezahl bei Kaninchen,

Mäusen und Affen in keinem Fall Encephalitiden erzeugen. Der von KRONTOWSKI und Mitarbeiter (120, 1, 2) im Explantat gezüchtete Vaccinestamm war dagegen — im Gegensatz zum Ausgangsvirus — für das Kaninchen encephalitogen. Auch der von PLOTZ (185) als Impfstoff verwendete Kulturstamm besitzt encephalitogenes Vermögen, leitet sich aber anscheinend von einem durch den Kaninchenhoden passierten Dermovaccinavirus ab. Schließlich ist es LEVADITI und VOET (140), MOLINA (152) und LEVADITI und Mitarbeitern (138) gelungen, Dermovaccinestämmen durch wenige Passagen auf der Chorionallantois — oder im Explantat von embryonalem Hühnergewebe (136) — encephalitogene Eigenschaften zu verleihen.

Antigene und immunisierende Eigenschaften. Die immunologische Identität von Kultur- und Eihautpassagestämmen mit von Kälbern gewonnenen Dermovaccinen wurde im gekreuzten Neutralisationstest und Immunisierungsversuch allgemein bestätigt. Daß Kulturstämme auch gegen Variolavirus zu immunisieren vermögen, wurde fernerhin von PLOTZ (183, 4) festgestellt. In quantitativ durchgeführten Versuchen wurde schließlich nachgewiesen, daß auch hinsichtlich der immunisierenden Potenz zwischen Kultur- bzw. Eihautvaccinen und Kälberlymphe keine wesentlichen Unterschiede bestehen (72, 183, 2, 3, 223, 4). Immerhin ist eine Beobachtung von RIVERS, WARD und BAIRD (198) bemerkenswert. Mit einem von diesen Autoren durch Retrolapine stabilisierten Kulturstamm von konstantem Infektiositätstiter von 10^{-5} bis 10^{-6} wurden insgesamt 104 Kinder vacciniert, und zwar 54 Kinder mit Kulturvirus der 20.—30. Passage und 50 Kinder mit Kulturvirus der 170. Passage; bei der nach 6 Monaten vorgenommenen Revaccination mit Kälberlymphe zeigten 61% der ersteren, dagegen nur 25% der letzteren eine ausreichende Immunität. Nach RIVERS, WARD und BAIRD kann dieses Ergebnis nur dahin interpretiert werden, daß der in seiner Infektiosität zwar stabilisierte Kulturstamm durch die Dauerpassage in seiner immunisierenden Wirksamkeit abgeschwächt wurde.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen muß die Möglichkeit, daß dauernd im Explantat oder auf der Chorionallantois gezüchtete Dermovaccinestämme sich qualitativ verändern können, zugegeben werden. Die Virusveränderung kann sich äußern 1. in der Einbuße an Infektiosität für die Kaninchenhaut, 2. in der Erzeugung von Hauteruptionen neurovaccinalen Charakters beim Kaninchen, 3. in der gesteigerten Tendenz zur manifesten Generalisation, 4. im Erwerb von encephalitogenen Eigenschaften und 5. in der Abnahme des immunisierenden Vermögens.

Nach welcher Anzahl von Passagen solche Virusveränderungen auftreten, ist offensichtlich sehr unterschiedlich; in einen Fall genügen schon wenige Passagen, im anderen erst die während Monaten und Jahren durchgeführte Dauerzüchtung und — in Ausnahmefällen — konnte auch bei jahrelanger Züchtung keine augenfällige Abwandlung festgestellt werden. Immerhin ist auffällig, daß eine Abschwächung der Infektiosität sowohl im Explantat (35, 38, 59, 7, 158, 2, 196) als auf der Eihaut (131, 3, 158, 2, 223, 4) am häufigsten zwischen der 25. und 50. Passage beobachtet wurde.

Auch die Art der Virusveränderung ist von Fall zu Fall verschieden; entweder steht die verminderte Infektiosität im Vordergrund oder es machen sich neurovaccinale Merkmale bemerkbar, in Form der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pustelbildung, oder des encephalitogenen Vermögens bzw. der Neigung zur manifesten Generalisation.

Die beobachteten Unterschiede in der Stabilität und der Abwandlungsart der Passagestämmen können wohl nur auf die potentielle Verschiedenartigkeit der Ausgangsstämme zurückgeführt werden. Die Potenz zur neurovaccinalen Reaktionsweise haftet wohl den meisten Dermovaccinestämmen an, aber eben in unterschiedlichem Grade.¹ So sind — ihrer Provenienz nach — „rein dermale“

¹ Aus den Untersuchungen von LEVADITI, STAMATIN, REINÉ und LE-VAN-SEN (139) würde denn auch tatsächlich hervorgehen, daß das Vaccinevirus stets ein Gemisch

Stämme bekannt, die auf der Kaninchenhaut hämorrhagisch-nekrotisierende Pusteln erzeugen oder in vermehrtem Maße Hautmetastasen verursachen [KAISER (100, 1)] und fernerhin ist sichergestellt, daß das encephalitogene Vermögen von Kälbervaccinen je nach der Art des Stammes stark variiert [BIJL (16), BUCKUP (23), LEVADITI und VOET (140)]. Von HAAGEN und CRODEL (82) wurde schließlich nachgewiesen, daß Kälberlymphnen von unterschiedlicher Infektiosität für das Kaninchen auch eine ungleiche Infektiosität in der Kultur- und Eihautpassage erkennen lassen.

Für die Bewertung der Kultur- und Eihautvaccinen sind nun aber die am Menschen erhobenen Befunde allein maßgebend.

Über die gute *Verträglichkeit* dieser Impfstoffe sind sich wohl alle Autoren, die Menschenimpfungen durchgeführt haben, einig. Hervorgehoben wird der milde Charakter der Lokalreaktion, die typische, oft leicht verzögerte Pustelbildung, die geringe Schorf- und Narbenbildung, das wenig gestörte Allgemeinbefinden, das häufige Fehlen des Fiebers und der stets komplikationslose Verlauf. Ein durchwegs normales Verhalten zeigen auch Kultur- und Eihautvaccinen, die auf der Kaninchenhaut hämorrhagisch-nekrotisierende Pusteln hervorrufen (120, 1, 2, 131, 4). Nach LEHMANN (131, 10), der über eine Erfahrung von über 10000 Impfungen verfügt, geben jedoch Eihautlymphnen nicht durchwegs schwache, sondern gelegentlich auch heftigere Reaktionen.

Die *Impferfolge*, die mit Kultur- und Eihautimpfstoffen erzielt wurden, sind im allgemeinen nicht ungünstig. RIVERS und Mitarbeiter (196—198) verzeichneten bei der cutanen Verimpfung ihres Kulturvirus einen Impferfolg von 96%, bei der intracutanen Impfung meist von 100%. Im Gegensatz hierzu stehen die Nachprüfungen von DONNALLY, NICHOLSON, ANDERSON und GROSVENOR (44), die vergleichsweise Kälberlymphe und RIVERSsches Kulturvirus teils cutan (durch Einreibung), teils intracutan auf Erstimpflinge verimpften. Die cutane Applikation ergab mit Kälberlymphe in 93,3%, mit Kulturvirus dagegen nur in 10% Erfolg; bei der intracutanen Impfung wurden mit Kälberlymphe wiederum in 93%, mit Kulturvirus in 77,7% Impferfolge erzielt. Dieses Ergebnis läßt wohl nur den Schluß zu, daß das Kulturvirus von RIVERS seine epidermalen Affinitäten weitgehend eingebüßt hat und daher cutan in vermindertem Maße haftet. Auch COFFEY (38) erzielte mit einem Kulturvirus vom Titer 1:50000 nur in 58,6% einen Impferfolg. Mit dem im Carrel-Rivers-Medium gezüchteten Kulturvirus (Titer 1:250000) von PLOTZ wurden dagegen erheblich bessere Resultate erzielt; PLOTZ und MARTIN (186) hatten in 97%, ARABIEN (4) in 91,1% und LE BOURDELLES (129) in 100% Impferfolge zu verzeichnen. Ebenso günstige, im allgemeinen sogar bessere Impferfolge ergaben Eihautvaccinen. Die Primovaccinationen von GOODPASTURE und BUDDINGH (24, 71, 72) waren in durchschnittlich 95% erfolgreich. GALLARDO und SANZ (60, 1, 2) erzielten bei der subcutanen Primovaccination in 90% und bei der Revaccination in 50 bis 58% Impferfolge. HERZBERG (89, 2, 3) hatte mit Eihautvaccinen vom Titer 1:50000—60000 überhaupt keine Mißerfolge und LEHMANN (131, 9) beobachtete bei der Erstimpfung einen persönlichen Erfolg von durchschnittlich 99,6% und einen Schnitterfolg von durchschnittlich 97,5%; bei der Revaccination betrug sowohl der persönliche als auch der Schnitterfolg durchschnittlich 98,5%. ELLIS und BOYNTON (50), die vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit von Kälber-, Eihaut- und Kulturvaccinen bei Erst- und Wiederimpfungen anstellten, vermochten sich nun allerdings von der

von „dermo- und neurovaccinalen“ Elementarkörperchen, deren numerisches Verhältnis von Stamm zu Stamm variiert, darstellt.

Gleichwertigkeit dieser Impfstoffe nicht zu überzeugen. Wurden alle drei Impfstoffe cutan (durch „Multipuncture“) appliciert, so wurden bei der Erstimpfung Impferfolge von 36% für Kälberlymphe, von 16% für Eihautvaccine und von 10% für den RIVERSschen Kulturimpfstoff festgestellt, und bei der Revaccination waren diese Unterschiede noch wesentlich größer. Eine größere Beweiskraft kommt diesen Ergebnissen aber schon deshalb nicht zu, weil nur im Handel befindliche Impfstoffe verwendet wurden, die offensichtlich schon stark an Wirksamkeit eingeübt hatten. Von Interesse ist lediglich die Feststellung, daß der Eihautimpfstoff von GOODPASTURE bei intracutaner Applikation weit besser haftete als bei cutaner Verimpfung, ein Befund, der mit den von DONNALLY und Mitarbeitern (vgl. oben) mit Kulturvaccine gemachten Beobachtungen übereinstimmt.

Welchen *Mindesttiter* Kultur- und Eihautvaccinen aufweisen müssen, um einen hohen Impferfolg zu gewährleisten, ist eine noch ungelöste Frage. GOODPASTURE und BUDDINGH stellen an ihre Eihautvaccinen dieselben Anforderungen (Auswertungsmethode nach LEAKE und FORCE) wie an Kälberlymphe und erzielten hierbei die bereits erwähnten hohen Impferfolge. Nach der Erfahrung von HERZBERG (89, 2, 3) können regelmäßige Impferfolge nur mit Kultur- und Eihautvaccinen vom Titer 1:50000—60000 erreicht werden. LEHMANN (131, 4) forderte zunächst für Eihautvaccinen einen Mindesttiter von 1:100000, überzeugte sich aber späterhin, daß selbst Eihautlymphe von 10fach höherem Titer oft versagen, und Impfstoffe von wesentlich geringerem Titer (1:10000) oft durchaus brauchbar sind. Schließlich wurde auch beobachtet, daß Eihautvaccinen desselben Titers beim Menschen keine übereinstimmenden Resultate ergeben. LEHMANN (131, 7, 9) vertritt daher die Meinung, daß die Auswertung von Eihautvaccinen auf der Kaninchenhaut überhaupt keinen geeigneten Maßstab für die Bestimmung des zur Humanimpfung erforderlichen Mindesttiters abgibt, sondern daß Probeimpfungen beim Menschen notwendig sind. Ähnliche Schlüsse lassen sich übrigens auch aus den Protokollen von RIVERS und WARD (196) ableiten; während nämlich der originäre Kulturstamm, der schließlich nur noch einen Titer von 1:100 aufwies, einen Impferfolg von 96% ergab, haftete die Impfung mit den beiden aufgefrischten Stämmen („second and third revived strain“) trotz wesentlich höherer Titer (1:100000 bzw. 1:10000) nur noch in 83 bzw. 72% der Fälle. Auch hier war demnach der Virustiter nicht maßgebend, sondern eben qualitative Stammesunterschiede, die sich im Verlaufe der Züchtung einstellten. Auf die Tatsache, daß auch die Auswertung von Dermovaccinen im Kaninchenversuch nur von relativem Wert ist und über die Qualität der Impflymphhe, die für den Impfverlauf beim Menschen oft ausschlaggebend ist, keine befriedigende Auskunft gibt, ist bereits von KAISER (100, I) hingewiesen worden.

Über die *immunisierende Wirksamkeit* von Kultur- und Eihautvaccinen ist noch kaum ein abschließendes Urteil möglich. Die zahlreichen Angaben, daß die nach Tagen, Wochen oder selbst Monaten durchgeführte Revaccination mit Kälberimpfstoff größtenteils zu Immunreaktionen führt, vermögen die hauptsächlichste Frage, ob diese Immunität von ebenso langer Dauer wie nach der Schutzimpfung mit Kälberlymphe ist, nicht zu entscheiden. Die wenig zahlreichen Berichte über Revaccinationsbefunde mehrere Jahre nach der Erstimpfung vermitteln nun eher den Eindruck, daß dies nicht der Fall ist. RIVERS, WARD und BAIRD (198) revaccinierten 331 Kinder, die zum größten Teil vor 1—2 Jahren mit Kulturvirus intrautan geimpft worden waren, mit dem Ergebnis, daß in 25% Immun- und in 75% beschleunigte Reaktionen (Vesikel und Pusteln) festgestellt werden konnten. DONNALLY (43) führte bei insgesamt 70 Kindern, wovon 34 mit Kälberlymphe und 36 mit RIVERSschem Kulturvirus geimpft waren,

3 Jahre später die Revaccination mit Kälberlymphe durch; während die mit Kälberimpfstoff vaccinierten Kinder in 73,5% eine ausreichende Immunität aufwiesen, konnte eine solche bei den mit Kulturvirus Geimpften nur in 5,5% nachgewiesen werden. JACOBS und ORRIS (94) impften über 800 Kinder mit dem Kulturvirus von RIVERS intracutan, entweder nur am einen Arm oder doppel-seitig; nach 6—30 Monaten wurden 290 dieser Kinder cutan mit Kälberlymphe revacciniert mit dem folgenden Ergebnis: bei Einmalinjizierten in 19,7% Immunreaktionen, in 70,1% beschleunigte Reaktion, in 10,2% Pustelbildung vom Typus der Erstimpfung; bei Doppeltinjizierten in 42,9% Immunreaktionen und in 52,3% beschleunigte Vesikel- und Pustelbildung. Das Kulturvirus von RIVERS scheint demnach einen auffallend kurz dauernden Schutz zu bewirken und könnte daher, wie RIVERS, WARD und BAIRD selbst vorschlagen, höchstensfalls zur Vorimmunisierung für eine nach 6—12 Monaten noch durchzuführende Revaccination mit Kälberlymphe dienen. Die unbefriedigende Wirksamkeit des RIVERSschen Impfstoffes erlaubt nun aber aus mehreren Gründen keine Verallgemeinerung; erstens dürfte feststehen, daß der von RIVERS verwendete Kulturstamm auch hinsichtlich seines Immunisierungsvermögens abgeschwächt ist, eine Veränderung, die bisher bei anderen Kulturimpfstoffen nicht nachgewiesen werden konnte; zweitens wurde dieser Impfstoff stets intracutan appliziert, ein Impfmodus, der sich auch bei der Verwendung von Kälberlymphe als wenig günstig erwiesen hat [HENDERSON und McCLEAN (88)]. Ob mit Eihautvaccinen ein länger dauernder Impfschutz erzielt werden kann, ist ebenfalls noch ungeklärt. BUD-DINGH (24) beobachtete bei einer kleinen Gruppe von Kindern, die vor 2 Jahren mit dem Impfstoff von GOODPASTURE vacciniert worden waren, bei der Revaccination ausnahmslos Immunitätsreaktionen. Von LEHMANN (131, 10) wurden schließlich 8 Kinder 5 Jahre nach der Erstimpfung revacciniert; hiervon zeigten 5 Immunreaktionen, 3 Pustelbildung mit beschleunigtem Verlauf.

Nach den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich für die Kultur- und Eihautvaccinen die folgende *Bewertung*: 1. Die Bakteriosterilität dieser Impfstoffe erfüllt eine Forderung, deren Berechtigung auch bei anderen Impfstoffen anerkannt ist. Komplizierende Infektionen durch menschenpathogene Begleitkeime sind a priori ausgeschlossen oder können zumindest nicht auf den Keimgehalt der Impfstoffe zurückgeführt werden. Auch darf angenommen werden, daß keimfreie Vaccinen etwas besser verträglich sind. Fernerhin kann die Abgabe der Impfstoffe sofort nach der Herstellung erfolgen. Schließlich können keimfreie Vaccinen auch zur intra- und subcutanen Impfung (vgl. S. 379) verwendet werden. Alle diese Vorzüge bieten nun aber auch künstlich entkeimte Dermovaccinen (vgl. S. 355) oder auch Hoden- und Gehirnlapinen. 2. Bei der lang dauernden, ununterbrochenen Züchtung von Dermovaccinevirus in ein und demselben Gewebe sind qualitative Virusveränderungen zu gewärtigen. Welche Bedeutung derartigen Virusmodifikationen für die menschliche Impfung zukommt, ist noch unbekannt. Die Vermutung [HERZBERG (89, 2, 3), LEHMANN (131, 4)], daß neurovaccinale Eigenschaften der Impfstoffe beim Menschen keine Rolle spielen, mag de facto zutreffen; immerhin war es gerade dieser Umstand, der die Mehrzahl aller Autoren von der Anwendung der Hoden- und Gehirnlapinen abgehalten hat. 3. Die Dosierung der Kultur- und Eihautimpfstoffe beim Menschen stößt insofern auf Schwierigkeiten, als die übliche Titerbestimmung auf der Kaninchenhaut als Auswertungsmethode weitgehend versagt, d. h. über die Haftfähigkeit bzw. Infektiosität des Virus für die menschliche Haut keinen bestimmten Aufschluß gibt. Auch dieser Umstand weist auf eine qualitative Virusveränderung hin. 4. Die immunisierende Wirksamkeit von Kultur- und Eihautvaccinen beim Menschen ist noch nicht genügend abgeklärt. Aus den

bereits vorliegenden Revaccinationsbefunden müßte angenommen werden, daß die erzielte Immunität im allgemeinen von kurzer Dauer ist. 5. Ob die Viruszüchtung im Gewebsexplantat oder auf der Chorionallantois die größeren Aussichten für die Gewinnung eines brauchbaren Impfstoffes bietet, bleibt abzuwarten. Zur Zeit verdient wohl das Eihautverfahren die größere Beachtung, da das auf der Chorionallantois gezüchtete Virus im allgemeinen einen höheren Titer erreicht, geringere Titerschwankungen aufweist und wohl auch weniger zu degenerativen Veränderungen neigt. Das vereinfachte Explantat von LI und RIVERS bietet für die Dauerzüchtung von Vaccinevirus anscheinend doch keine optimalen Bedingungen. Geeigneter ist wohl — wie schon PLOTZ (183, I) festgestellt hat — das Kulturverfahren nach CARREL und RIVERS, das die Proliferation des explantierten Gewebes erlaubt und daher auch eine konstant hohe Virusinfektiosität gewährleistet. Noch idealere Züchtungsverhältnisse scheint das von FELLER, ENDERS und WELLER (51) für die Massenkultur von Vaccinevirus angewandte Prinzip der „Rollröhrchenkulturen“ („Roller tubes cultures“) aufzuweisen. Bei diesem Züchtungsverfahren bleibt die Vitalität des explantierten Gewebes durch den beständigen Wechsel der flüssigen Kulturphase während mehreren Wochen erhalten, erreicht die Virusvermehrung rasch maximale Grade und erhält sich in der gleichen Kultur während mindestens 9 Wochen auf derselben Titerhöhe. Die Ausbeute an Virus ist ungewöhnlich groß, da die Spülflüssigkeit täglich große Virusmengen liefert. Es wäre daher sehr gut möglich, daß dieses Kulturverfahren, das auch technisch keine allzu großen Schwierigkeiten bietet, für die Gewinnung von keimfreien Impfstoffen zur Methode der Wahl wird. Von mindestens ebenso großer Bedeutung wie die Technik der Viruszüchtung ist die sorgfältige Auswahl der Ausgangsstämme, wobei nur diejenigen Dermovaccinen, die im Tier- und Menschenversuch „benigne“ Eigenschaften und keinerlei Tendenz zu neurovaccinalen Reaktionen aufweisen, für die Züchtung in Betracht kommen können. Schließlich sollte wohl von der Verwendung allzu alter, stets im gleichen Gewebe passierter Kulturstämme zur menschlichen Impfung abgesehen werden; nach der 50. Passage erscheint ein Wirtswechsel — durch die Rückverimpfung auf die Kaninchen- bzw. Menschenhaut oder die Verwendung eines anderen Gewebsexplantates — zur Virusauffrischung in den meisten Fällen angezeigt.

e) Antigenimpfstoffe.

Über die immunisierende Wirksamkeit von inaktiviertem Vaccinevirus liegen zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen¹ vor. Die erzielten Ergebnisse sind bekanntlich recht widersprechend; verhältnismäßig günstigen Immunisierungserfolgen stehen wenig befriedigende oder völlig negative Befunde gegenüber. Eine kritische Bewertung dieser Versuche ist nun schon deshalb kaum möglich, weil Impfstoffe von zweifellos sehr unterschiedlicher Inaktivität verwendet, Inaktivitätsprüfungen in unzureichender Art oder überhaupt nicht angestellt, und die erzielten Immunitätsgrade nach verschiedenen Maßstäben beurteilt wurden. Dagegen führten die späterhin von PARKER und RIVERS (170, I), BERNKOPF und KLIGLER (15, 114), WEIL und GALL (238) und YAMADA (241) angestellten Kaninchenversuche, in denen mit abgestuften Mengen von zuverlässig inaktiviertem (meist gereinigtem) Vaccinevirus bzw. Antigenfiltraten immunisiert und die erzeugte Immunität quantitativ gemessen wurde, zu weitgehend übereinstimmenden Resultaten, die sich wie folgt zusammenfassen lassen: 1. Ein Immunisierungserfolg ist nur zu erwarten, wenn sehr große Virusmengen — 1,5 Billionen M. J. D. (15) bzw. mehrere Milligramm Elementarkörperchen (170, I, 238) — auf mehrfache

¹ Ausführliche Literaturangaben bei PARKER und RIVERS (170, I).

Dosen verteilt appliziert werden. 2. Nur schonend inaktivierte Impfstoffe besitzen antigenes Vermögen. 3. Die erzielte Immunität weist einen humoralen Charakter auf, d. h. ist gekennzeichnet durch das Auftreten von agglutinierenden, komplementbindenden und virusneutralisierenden Antikörpern im Blut und durch eine Hautimmunität, die nur gegenüber höheren Virusverdünnungen ausreichend und außerdem kurzfristig ist. Eine allgemeine, zuverlässige und dauerhafte Gewebimmunität ist demnach mit inaktivierten Vaccineimpfstoffen überhaupt nicht zu erreichen. Die Gründe hierfür liegen nun sicher nicht nur in der unzureichenden Viruskonzentration dieser Impfstoffe oder in der Schädigung labiler Antigenbestandteile bei der Inaktivierung, sondern auch in der völlig unterschiedlichen Verteilung von aktivem und inaktivem Virus im Organismus. Bei der Infektionsimpfung werden sämtliche Gewebe infiziert und erwerben hierdurch eine histogene Immunität, bei der Antigenimpfung wird das inaktive Virus nach Art unbelebter Stoffe resorbiert und auf dem Blutweg nach den Zentren des R. E. S. abgeführt, wobei nur diese Gewebe auf den antigenen Reiz mit der Bildung von Antikörpern reagieren. Daß die Möglichkeit besteht, auch mit inaktiviertem Vaccinevirus eine gewebliche, allerdings nur lokale Immunität zu erzeugen, lehren die Versuche von MAGRASSI und MURATORI (148), GALLI und VERROTTI (62), GALLI und CIPOLLONE (61) und KASAHARA und OGATA (105), denen es gelang, durch die mehrmalige intratesticuläre Injektion von inaktiviertem Vaccinevirus eine lokale, von humoralen Antikörpern völlig unabhängige Hodenimmunität zu erzeugen.

Nach den Erfahrungen des Tierversuches müssen demnach die Aussichten einer wirksamen Antigenimpfung beim Menschen als äußerst gering eingeschätzt werden. Die bisher durchgeführten Schutzimpfungen [KNOEFFELMACHER (117), BUSSEL und MAYZNER (28), BROKMAN, BUSSEL und MAYZNER (22), DONNALLY und WEIL (46)] führten denn auch zu keineswegs ermutigenden Resultaten; in sämtlichen Fällen wurde höchstens eine relative, leicht durchbrechbare und flüchtige Immunität erzielt. Nach den Angaben von KASAHARA und OGATA (105) soll es allerdings gelingen, Kinder mit einem durch Ultraschall inaktivierten Vaccinevirus so zu immunisieren, daß die nach 20—32 Tagen ausgeführte cutane Revaccination völlig reaktionslos bleibt. Auch dieser Einzelerfolg erscheint jedoch zweifelhaft, da die völlige Inaktivität des verwendeten Impfstoffes nicht sichergestellt wurde.

2. Technik der Impfstoffherstellung.¹

a) Animale Dermovaccine.

Ausgangsstämme. Die zur menschlichen Impfung verwendeten Vaccinestämmen leiten sich entweder von natürlich vorkommenden Tierpocken (Kuh-, Pferdopocken) oder von Variolavaccinen ab. Unter welchen technischen Bedingungen die experimentelle Umformung von Variola- in Vaccinevirus gelingt, wurde bereits (vgl. S. 352) erörtert.

Erhaltung der Stamm- oder Anzuchtlymphnen in Dauerpassagen. Für jedes Impfinstitut stellt die Dauerzüchtung bzw. Konservierung der Impfstämme die hauptsächlichste Aufgabe dar, wobei die Erhaltung einer konstant hohen

¹ Vgl. LENTZ und GINS: Handbuch der Pockenbekämpfung und Impfung. Berlin, 1927. — GROTH: Gewinnung der Schutzpockenlymphe. Erg. Hyg. usw. 10, 335 (1929). — GINS: Lehrgang für Impfärzte. Veröff. Volksgesdh.dienst 50, H. 1 (1937). — Enquête de la Société des Nations: Bull. Off. int. Hyg. publ., Par. 1929/30. — Report of the Committee on vaccination: H. M. Stat. Off. London (1928). — BLAXALL: A System of Bacteriology. H. M. Stat. Off. London (1930). — DALAL: Manual of Vaccination etc. Bombay (1930).

Infektiosität und der unveränderten Qualität der Impfstoffe die Hauptsorge bildet. Mehrere Methoden sind geeignet, dieses Ziel zu erreichen:

a) Selektion der Impfpusteln, reine Vaccine. Die Möglichkeit, Stammlymphnen in ununterbrochenen Kälber- bzw. Rinderpassagen fortzuzüchten, ist dann gegeben, wenn bestimmte Ausgangsstämme zur Verfügung stehen (vgl. S. 354) und bei jeder Passage nur diejenigen Pusteln, die eine optimale Entwicklung zeigen, weiterverimpft werden. Die Auswahl der Impfpusteln richtet sich nach deren Aussehen; für die Gewinnung der Stammlymphe sind nur Pusteln geeignet, die in Form eines geradlinigen konfluierenden Impfstriches gewachsen sind und die alle Merkmale der guten Entwicklung (Durchmesser 5—6 mm, Höhe 2—4 mm, kreisrund, perlenartiger Glanz, zentrale Nabelbildung) aufweisen. Daß bisher nur wenige Vaccinestämme bekannt sind, die sich auf dem Wege der Selektion in ausschließlichen Rinderpassagen dauernd — ohne Infektiositätsverlust — weiterführen lassen, wurde bereits erwähnt (vgl. S. 354).

b) Einschaltung des Menschen als Zwischenwirt; humanisierte Lymphe — Retrovaccine. Die zunehmende Degeneration, welche die meisten Vaccinestämme bei der ausschließlichen Rinderpassage erfahren, kann dadurch vermieden werden, daß ein periodischer Wirtswechsel zwischen Rind und Mensch vorgenommen wird, derart, daß das Virus turnusmäßig vom Rind auf den Menschen (humanisierte Lymphe) und wieder zurück auf das Rind (Retrovaccine) verimpft wird.

Die Gewinnung der humanisierten Lymphe darf nur an völlig gesunden Erstimpfungen gesunder Abstammung vorgenommen werden. Die Entnahme der Lymphe erfolgt am zweckmäßigsten am 6. oder 7. Tag nach der Impfung, indem die noch nicht suppurierten Vesikeln durch seitlichen Einstich (nahe der Vesikelbasis) mittels einer feinen Glaskapillare entleert werden. Zur Konservierung wird die Kapillare an beiden Enden zugeschmolzen und die Lymphe ohne jeglichen Zusatz im Tiefkühler bei -10 bis -12°C eingefroren.

Zur Rückverimpfung auf das Rind wird die humanisierte Lymphe in der Regel im Verhältnis 1 : 1 bezw. 1 : 5 mit 50%igem Glycerinwasser verdünnt und dann auf eine zirka handtellergroße, flächenhaft scarifizierte — mit engmaschigen Gitterschnitten versehene — Hautfläche, vorzugsweise auf der Innenfläche der Schenkel bzw. der Spiegel- oder der vorderen Hautregion, sorgfältig verimpft. Diese *Retrovaccine I. Generation* dient als Anzuchtlymphe für die Impfung eines weiteren Kalbes bzw. Rindes, das schließlich die *Retrovaccine II. Generation*, d. h. den für die menschliche Impfung bestimmten Impfstoff liefert. Die Stammlymphe wird demnach im beständigen Turnus Kind—Kalb—Kalb—Kind passiert.

Aus ökonomischen Gründen wird oft die humanisierte, im Verhältnis 1 : 20 bis 1 : 50 mit Glycerinwasser verdünnte Lymphe zunächst auf das Kaninchen — wiederum durch Flächenimpfung (vgl. unten) — verimpft und diese Retrolapine als Anzuchtmaterial für die Kälberimpfung benutzt. Hierbei ergibt sich ein dreifacher Wirtswechsel: Kind—Kaninchen—Kalb.

c) Einschaltung des Kaninchens als Zwischenwirt; rein animalische Lymphe. Auf die besonders gute Eignung des Kaninchens als Vaccinespender wurde bereits von CALMETTE und GUÉRIN (1901) hingewiesen; nach diesen Autoren wird eine Dermovaccine auf der Kaninchenhaut nicht nur aufgefrischt, sondern auch von den epiphytären Begleitkeimen der Kälberhaut weitgehend gereinigt. Das Kaninchen ist demnach für die Kälberlymphe „l'animal régénérateur et purificateur“. Gegenüber dem Menschen bietet das Kaninchen als Zwischenwirt den Vorteil, daß eine Übertragung von menschenpathogenen Keimen in jedem Fall ausgeschlossen ist, und daß das abgeerntete Virusmaterial als Anzuchtlymphe für die Impfung von 1—2 Jungrindern ausreicht.

Die beständige Passage der Stammvaccine vom Rind auf das Kaninchen und zurück auf das Rind ist daher auch für viele Impfinstitute zur Methode der Wahl geworden. In welchem Turnus dieser Wirtswechsel erfolgt, ist dem Ermessen der Impfinstitute überlassen; die einen geben dem beständig fortgesetzten Wirtswechsel Rind—Kaninchen—Rind den Vorzug, andere verwenden zur Auffrischung mehrere hintereinander erfolgende Kaninchenhautpassagen und wieder andere schieben eine Lapine erst nach mehreren Kälberpassagen ein.

Die *Gewinnung der Lapine* geschieht auf die folgende Weise. 6—8 Monate alte oder auch ausgewachsene Kaninchen mit zarter und unpigmentierter Haut werden über den ganzen Rücken rasiert oder mit einem Depilatorium enthaart. Bei der Anwendung eines chemischen Enthaarungsmittels empfiehlt es sich, die depilierte Haut einzufetten und erst am folgenden Tag zu beimpfen. Das Impffeld wird hierauf mit Glaspapier leicht wundgerieben oder mit feinen Schnitten scarifiziert und der im Verhältnis von 1 : 40 mit Glycerin-Kochsalz-Lösung verdünnte Kälberrohstoff mittels eines sterilen Pistilles oder Spatels sorgfältig eingerieben. Nach 3×24 Stunden ist die Haut mit konfluierenden Vesikeln übersät und zur Abernte geeignet. Zu diesem Zweck wird das Tier getötet, das Hautimpffeld frei präpariert, auf einer Kork- oder Holzunterlage aufgespannt und mit dem scharfen Löffel abgeerntet. Da nicht jede Kaninchenhaut auf die Vaccineinfektion gleichermaßen reagiert, sollten stets mindestens zwei Tiere verwendet und die Virusernten gemischt werden. Die dreitägige Lapine ist in der Regel hochinfektiös, während das Virus in später (am 4.—6. Tag) abgeernteten Lapinen bereits abgeschwächt ist [vgl. PASCHEN (171, 1)].

Die Hautlapine zeigt im allgemeinen eine geringere Haltbarkeit als die Dermovaccine und wird daher zweckmäßig sofort, im Verhältnis von mindestens 1 : 20 in 50% Glycerinwasser verdünnt auf Rinder überimpft [GINS (67, 10)]. Zur längeren Konservierung eignet sich das Einfrieren bei -10 bis -12° ohne jeden Zusatz [GINS (67, 10)], oder die Homogenisierung mit der 6fachen Gewichtsmenge von 50% neutralem Glycerinwasser und nachfolgendem Einfrieren (192).

d) Andere Tiere als Vaccinespender, andere Zwischenwirte. In Ermangelung von Kälbern bzw. Rindern können auch — namentlich in den Tropen — andere Tierspezies zur Impfstoffgewinnung herangezogen werden, nämlich Pferde, Esel, Kamele, Büffel, Ziegen, Lama, Antilopen, Affen usw. Als Zwischenwirte sind diese Tierspezies ebenfalls geeignet, in besonders hohem Grade Esel [CHAUMIER (33), PETRAGNANI (177)]. Auf die Vorzüge, die Esel für die Auffrischung von Dermovaccinen bieten, ist neuerdings wieder von MOROSOW und KASATKEWITSCH (155) aufmerksam gemacht worden. Durch eine besondere Art der Selektion und der Eselpassage gelang es diesen Autoren, eine außergewöhnlich hochinfektiöse (Titer 1:18 bis 1:27 Millionen nach GROTH) „Asinovaccine“, die sich auch in der nachfolgenden Kälberpassage nicht wesentlich abschwächte, zu gewinnen.

Schließlich kann auch die Chorionallantois des befruchteten Hühnereies zum Wirtswechsel verwendet werden; so gelangte MÜNSTERER (158, 2) durch die Verimpfung von humanisierter Lymphe auf die Chorionallantois und wenige Eihautpassagen zu einer ausgezeichnet aufgefrischten Retrovaccine.

b) Gewinnung der gebrauchsfertigen Kälberlymphe.

Auf Grund einer internationalen Umfrage des Völkerbundes erstattete GROTH (75, 2, 217, 2) einen zusammenfassenden Rapport über die in 29 Impfinstituten geübte Technik der Herstellung und Konservierung von Kälberlymphe. Aus diesem Bericht geht hervor, daß jedes Institut seine eigene Technik befolgt, und daß jede Methode zur Gewinnung brauchbarer Impf-

stoffe führen kann. Im folgenden können daher nur die hauptsächlichsten Richtlinien skizziert werden.¹

Die zur *Impfung* bestimmten Tiere (Kälber, Jungrinder und ausgewachsene Rinder) werden zunächst während 5—8 Tagen quarantäniert und während dieser Zeit einer fortlaufenden veterinärmedizinischen Kontrolle (täglich zweimalige Temperaturmessung, ev. Tuberkulinprobe) unterworfen. 12—24 Stunden vor der Impfung wird das Impffeld (Haut des Abdomens, Innenseite der Oberschenkel) sorgfältig rasiert und gründlich mit Seife und Wasser gereinigt; dieselbe Reinigungsprozedur wird am Impftag selbst wiederholt. Nach Bereitstellung der hinreichend verdünnten Anzuchtlymphe (der Verdünnungsgrad bleibt dem Ermessen der Institute überlassen) wird das gesamte Impffeld mit einem mit Impfstoff beladenen Impfinstrument (Skalpells bzw. mehrzackigem Scarifikator) in eine Serie von parallel liegenden, zirka $\frac{1}{2}$ cm voneinander abstehenden Schnitten von 10—20 cm Länge unterteilt. Durch ein- oder zweimaliges leichtes Nachziehen der Impfschnitte oder Einstreichen der Lymphe mit der Breitseite des Skalpells wird das Haften der Lymphe gewährleistet. Nach der Impfung ist das Anlegen eines Verbandes (Tegminverband nach PAUL oder Mullverband nach GINS) stets zweckmäßig, um das Impffeld vor einer weiteren Verunreinigung zu schützen. Die Virusernte erfolgt meistens nach 4—5 × 24 Stunden, d. h. in einem Zeitpunkt, in welchem die Vesikel völlig reif, aber noch nicht suppuriert sind. Der Vorschlag von PASCHEN (171, I), den Impfstoff bereits am 2. Tag (2 × 24 Stunden) nach der Impfung abzunehmen, erscheint insofern berechtigt, als zweitägige Vaccinen den höchsten Infektiositätstiter aufweisen und außerdem arm an Begleitkeimen sind. Nach WEINDRACH und SSIRNEW (239) verlieren nun aber derartige Impfstoffe in den hohen Verdünnungen (1 : 100—1 : 250) die für den Gebrauch erforderlich sind, sehr rasch an Wirksamkeit. Die Anwendung von zweitägigen Vaccinen könnte daher wohl erst in Frage kommen, wenn ein optimal konservierendes Verdünnungsmittel² zur Verfügung stände. Die Virusernte wird nach einer vorgängigen Hautreinigung mit dem scharfen Löffel — unter möglicher Vermeidung von Blutaustritten — vorgenommen, wobei der abgeerntete „Rohstoff“ („Pulpe vaccinale brute“) in einem sterilen Glasgefäß gesammelt wird. Nach der Impfung werden die Tiere geschlachtet und die Autopsie ausgeführt. Bei völlig normalem Sektionsbefund ist der Impfstoff verwendbar.

Zur weiteren *Verarbeitung* wird der Rohstoff meist mit der 4—6fachen Gewichtsmenge Glycerinwasser bzw. Glycerin-Kochsalz-Lösung (Glycerin 50—80%, spez. Gew. 1,260; neutrale oder leicht alkalische Reaktion (69); ev. Zusatz von 0,5% Phenol bzw. 0,1% Nelkenöl) versetzt und in Lymphmühlen bzw. speziellen Homogenisatoren in eine möglichst feine Suspension übergeführt. Der Impfstoff wird hierauf im Tiefkühler bzw. Kühlschranks über mindestens 6 Wochen — meist bedeutend länger — gelagert. Mit der längeren Lagerung der Impfstoffe wird bekanntlich bezweckt, den anfänglich beträchtlichen *Keimgehalt der Lymphen* zu vermindern und vor allem eventuell vorhandene menschenpathogene Infektionserreger auszuschalten.³ Erforderlichenfalls kann dieser Entkeimungsvorgang dadurch erheblich beschleunigt werden, daß die frisch hergestellten Impfstoffe vorübergehend bei erhöhter Temperatur (3—5 Tage bei 20° bzw. 8 Stunden bei 37° C) gehalten werden. Über den Keimgehalt der Kälberlymphens unmittelbar nach der Herstellung und nach wochen- und monatelanger Lagerung gibt die *bakteriologische*

¹ Die ausführliche Technik der Impfstoffzubereitung findet sich in den auf S. 366 angeführten Handbüchern und Monographien.

² Möglicherweise wäre hierzu die von GINS (67, I) vorgeschlagene Verdünnungsflüssigkeit [700 ccm physiol. Kochsalzlösung, 300 ccm Glycerin (85%), 1,25 g Agar-Agar, 1,25 ccm Carvasept-Seifenlösung (5%)] geeignet.

³ Bezüglich der in der Kälberlymphe vorkommenden Keimarten, deren Glycerinresistenz bei verschiedenen Temperaturen und eventuelle Pathogenität für den Menschen wird auf die Arbeiten von KIRCHNER (111), KELSCH, CAMUS und TANON (108, I, 2), SEIFFERT (207), BELENKY und POPOWA (13, I—5), GODINHO (68), HILGERS (91), GINS (67, 7), ARMSTRONG (5), LORBER und KISSELGOF (146) verwiesen.

Prüfung, die in der Bestimmung der Gesamtkeimzahl und in der Eruiierung von menschenpathogenen Keimen (pyogene Staphylo- und Streptokokken, Tetanus- und Gasbrandbazillen) besteht, Auskunft. Die Technik der bakteriologischen Untersuchung (Keimzahlbestimmung durch Agarplattengießen, Anlegen von aeroben und anaeroben Kulturen auf flüssigen und festen Nährböden, Anstellen von Tierversuchen) steht im allgemeinen frei, wird jedoch in einzelnen Ländern durch gesetzliche Richtlinien (192, 194) normiert. Die einzige Schwierigkeit einer solchen Untersuchung besteht wohl in der Abgrenzung von epiphytären Staphylo- und Streptokokken von menschenpathogenen Arten. Zu berücksichtigen sind hierbei nicht nur morphologische und kulturelle, sondern auch fermentative und tierpathogene Eigenschaften der isolierten Keimart. Auf Menschenpathogenität verdächtig sind Staphylokokken, die in Traubenzuckerhochagar anaerobes Wachstum zeigen, auf der Blutplatte hämolysieren, Gelatine verflüssigen, Kaninchenplasma koagulieren, Laktose und Mannit vergären und für Kaninchen — bei cutanem, intracutanem und intravenösem Infektionsmodus — pathogen sind; bei Streptokokken ergeben sich Hinweise auf ihre Menschenpathogenität durch den Nachweis der Hämolyse, des Verflüssigungsvermögens gegenüber menschlichem Fibrin und der Mäusepathogenität. Die Anforderungen, die in bakteriologischer Hinsicht an Kälberlymphnen gestellt werden, sind zwar unterschiedlich streng, basieren jedoch stets auf den folgenden Grundsätzen: 1. Die Gesamtkeimzahl soll möglichst niedrig sein [die pro 1 ccm Lymphe als zulässig erachteten Keimzahlen variieren allerdings beträchtlich, nämlich von 100 (Tokio, Kitasato-Institut), 2000 (Toronto, Bern), 5000 (London) bis zu 20000 (reichsdeutsche Anstalten)]; 2. Lymphnen, die Tetanusbazillen bzw. Sporen enthalten, müssen vernichtet werden. Dieselbe Forderung gilt wohl auch für den Nachweis von Gasbranderregeren, wenn auch Gasbrandinfektionen bei cutaner Impfstoffapplikation kaum zu befürchten und auch tatsächlich bisher niemals beobachtet worden sind; 3. Impfstoffe, die Colibazillen, verdächtige Staphylo- und Streptokokken sowie sonstige menschenpathogene Erreger enthalten, sind solange zu lagern, bis die mehrmalig durchgeführte bakteriologische Untersuchung ein negatives Resultat ergibt. Läßt sich eine solche Entkeimung in absehbarer Zeit nicht erzielen, so sind auch diese Lymphnen zu vernichten.

An Stelle der langsamen Selbstreinigung der Lymphnen in Glycerinwasser bevorzugen einzelne Institute die rasche, *künstliche Entkeimung*, wobei die frisch hergestellten Impfstoffe entweder chemisch desinfiziert oder keimfrei filtriert werden.

Unter den verwendeten Desinfektionsmitteln verdienen wohl nur das Phenol, Eukupinotoxin und Zephirol (vgl. S. 355) eine größere Beachtung. Allen diesen Verfahren ist gemeinsam, daß der möglichst gut aufgeschlossene Rohstoff der Wirkung des Desinfizierens über einige Stunden bzw. Tage ausgesetzt und hierauf das Desinfektionsmittel meist wieder entfernt oder inaktiviert wird.

Das Phenolverfahren nach GINS (67, 1) [modifiziert nach PASCHEN und LEHMANN (131, 3)] besteht darin, daß der (zuvor im Tiefkühler ohne jeglichen Zusatz verwahrte) Rohstoff im Mörser unter langsamem Zusetzen der fünffachen Gewichtsmenge von 1%iger Karbolsäurelösung sorgfältig homogenisiert wird. Diese Mischung wird hierauf in einem Glaskolben während 4 Stunden maschinell geschüttelt, dann bei mindestens 3000 Touren $\frac{1}{2}$ Stunde lang zentrifugiert. Nach dem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit wird das Sediment dreimal mit derselben Menge physiologischer Kochsalzlösung unter jeweiligem einstündigem Schütteln ausgewaschen und schließlich mit der fünffachen Menge (berechnet auf das ursprüngliche Rohstoffgewicht) einer Glycerin-Agar-Kochsalzlösung (2 Teile 80% Glycerin + 1 Teil $\frac{20}{100}$ Agar-Kochsalzlösung) aufgenommen.

Nach KADLETZ und LIMONOWA (99) lassen sich Kälberlymphnen noch einfacher, schonender und verlustloser desinfizieren, wenn nicht der bereits abgeerntete Rohstoff, sondern die vom getöteten Impftier frei präparierten Hautstücke phenolisiert werden. Die Impffläche der geschlachteten Tiere wird hierbei in 15—18 Hautstücke von zirka 66×56 cm aufgeteilt und diese Hautstücke einzeln (mit der Epidermis nach oben) in

emaillierte, mit 1½%iger Karbolsäurelösung gefüllte Küvetten eingelegt. Nach 24stündiger Phenolisierung bei 20° C wird jedes Hautstück in der gleichen Wanne während 24 Stunden durch mehrmals gewechselte Kochsalzlösung bis zur negativen Phenolprobe ausgewaschen. Anschließend erfolgt die Virusernte.

Die Entkeimung der Rohlymphe mit *Eucupinotoxin* erfolgt nach KIRSTEIN (113, 4) in der folgenden Weise: Der mit 75% Glycerinwasser im Verhältnis 1:1 grobzerriebene Rohstoff wird zunächst mit zirka 3 Gewichtsteilen von 80% Glycerinwasser im Mörser oder in der Lymphmühle möglichst fein homogenisiert, dann durch ein sehr feines Drahtsieb passiert und schließlich mit einer 1/100igen Lösung von frisch zubereitetem Eucupinotoxinum hydrochloricum (in 80% Glycerinwasser) in einer solchen Menge versetzt, daß einerseits eine Verdünnung von Rohstoff zu Glycerinwasser = 1:5 und andererseits eine Eucupinotoxinverdünnung im Endverhältnis von 1:5000 resultiert. Diese Mischung wird während 5 Tagen bei 19—20° C unter Lichtabschluß verwahrt, wobei mehrmals täglich im Schüttelapparat geschüttelt wird, und kommt dann in den Kühlschrank. Sobald die Keimfreiheit festgestellt ist, wird das Eucupin durch den Zusatz von Sodalösung bis zur eben eintretenden alkalischen Reaktion inaktiviert und der Impfstoff im Tiefkühler konserviert.

Zur Behandlung des Impfstoffes mit *Zephirol* ist es nach KAISER (100, 1) notwendig, den Rohstoff in möglichst hohem Grade aufzuschließen. Zu diesem Zweck werden 5 g Rohstoff auf dem Hackbrett mit dem Wiegemesser möglichst fein faschirt, dann mit 95 g 0,3% Zephirol (gelöst in Aq. redest. steril.) versetzt in der Kugelmühle während 10 Stunden zermahlen und schließlich während ½ Stunde bei 3500—3800 Touren zentrifugiert. Zufolge der intensiven Homogenisierung findet sich die größte Virusmenge in der überstehenden Flüssigkeit, die allein zur Herstellung des Trockenimpfstoffes verwendet wird.

Die völlige Befreiung von Kälberlymphe von Nebenkeimen durch *keimfreie Filtration* ist — ohne größere Virusverluste — möglich, wenn die Rohlymphe sorgfältig homogenisiert und, von Gewebepartikel und Ballasteiweiß weitgehend befreit, durch bestimmte Filter passiert werden.

Die von MONTEIRO und GODINHO (153, 1, 2) befolgte Technik besteht darin, daß 10 g Rohstoff + 100 ccm 1% Zuckerbouillon (pH 8,0) zunächst ausgiebig homogenisiert und dann (zur Entfernung größerer Partikel) kurz zentrifugiert werden. Die überstehende Flüssigkeit wird hierauf durch Mandlerkerzen (40 cm Hg) filtriert.

Das von HENDERSON und MCCLEAN (88) geübte Verfahren ist etwas komplizierter. 40 g Rohstoff werden im Mörser mit Pyrexglassand unter allmählichem Zusatz von 1000 ccm Aq. dest. möglichst fein zermahlen. Über Nacht kommt diese 4%ige Suspension in den Kühlschrank und wird hierauf kurz zentrifugiert. Durch den Zusatz von n/10 Citronensäure, deren Menge in Vorversuchen bestimmt wird, zur überstehenden Flüssigkeit wird ein großer Teil von Ballasteiweiß im isoelektrischen Punkt ausgefällt, das Präzipitat hierauf auf der Zentrifuge abgeschleudert und die überstehende Flüssigkeit sofort mit n/10 Sodalösung neutralisiert. Nach dem Zusatz von Difco-Proteose-Pepton und Kochsalz bis zur Konzentration von 1% bzw. 0,43% wird zuerst durch ein Berkefeld V-Filter und schließlich durch eine Gradocol-Membran (durchschnittliche Porengröße 0,5—0,8 µ) filtriert.

Zur Ausfällung von inaktivem Eiweiß eignet sich nicht nur die Präzipitation im isoelektrischen Punkt, sondern auch die Dialyse des zentrifugierten Rohstoffes in Cellophanschläuchen (6 Stunden gegen fließendes Leitungswasser, über Nacht gegen Aq. dest.).

c) Kultur- und Eihautvirus.

Die Technik der Viruszüchtung im Explantat und auf der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies wurde bereits früher (vgl. dieses Handbuch, Bd. I, S. 369 und 419) ausführlich erörtert.

Für die Gewinnung von Vaccineimpfstoffen aus Gewebekulturen ist das von LI und RIVERS (142) vorgeschlagene Züchtungsverfahren zweifellos das einfachste und kann nach HERZBERG (89, 2, 3) auch zur Massenkultur verwendet werden,

bietet jedoch den Nachteil, daß Dauerpassagen leicht zu unerwünschten Virusveränderungen führen. Die von CARREL und RIVERS (32), PLOTZ (183, 1) und FELLER, ENDERS und WELLER (51) verwendeten Gewebekulturen stellen zwar in technischer Hinsicht erhöhte Anforderungen, sind jedoch für die dauernde Viruszüchtung — zufolge ihres Gehaltes an aktiv proliferierenden Zellen — ohne Zweifel besser geeignet und daher auch für die Gewinnung von Vaccineimpfstoffen gleichbleibender Qualität empfehlenswerter. Auf die besonderen Vorzüge, die das „Roller-Tube-Verfahren“ aufweist, wurde bereits hingewiesen. Die unterschiedlichen Beimpfungsmethoden der Chorionallantois des befruchteten Hühnereies [GOODPASTURE und BUDDINGH (72), BURNET (27), STEVENSON und BUTLER (223, 1—4)] sind zur Gewinnung brauchbarer Impfstoffe gleichermaßen geeignet; den Vorzug verdient wohl das von BURNET angewendete Verfahren, das die größte Impffläche und damit auch die größte Virusausbeute ermöglicht.

Als Ausgangsstämme sollten nur Dermovaccinen verwendet werden, die im Kaninchenversuch keine neurovaccinalen Eigenschaften aufweisen und beim Menschen „benigne“ Reaktionen bewirken. Geeignet sind humanisierte Lymphen (1:1000 verdünnt), vom Kalb gewonnene Dermovaccinen, die durch Eukupin, Zephirol oder Filtration entkeimt werden, oder auch Dermolapinen, die nach der Technik von LEDINGHAM und McCLEAN (130) bakteriosteril gewonnen werden.

Die frühere Schwierigkeit, Bruteier rasch und unter völlig sterilen Kautelen zu öffnen, ist wohl durch die Methode des Durchbrennens der Eischale mit der Stichflamme oder der Glühschlinge [PENNA (175), SCHÜFFNER (206), PICKELS (179)] behoben.

Die Verarbeitung von Explantaten und Eihäuten zu Impfstoffen geschieht meist so, daß das Kulturmaterial — am besten in gefrorenem Zustand — im abgedeckten Mörser (72) oder in einem geeigneten Homogenisator (223, 1—4) unter allmählichem Zusatz der Verdünnungsflüssigkeit (50% neutrales Glycerinwasser) möglichst fein verrieben wird. Der fertige Impfstoff enthält meist 1 Teil Rohstoff und 4 Teile Verdünnungsflüssigkeit und muß, um monatelang haltbar zu bleiben, in zugeschmolzenen Ampullen bzw. Kapillaren möglichst unter Luftausschluß verwahrt werden. Für die Dauerkonservierung empfiehlt sich die Trocknung im gefrorenen Zustand (vgl. S. 376).

d) Auswertung der Impfstoffe.

Zur quantitativen Wertbestimmung sind zahlreiche Verfahren üblich; allen gemeinsam ist die quantitative Auswertung der Stamm- oder Gebrauchslymphen im Tier- oder Menschenversuch, unterschiedlich sind dagegen die Wahl der zur Prüfung verwendeten Tierspezies (Kaninchen, Meerschweinchen, Rind, Mensch, befruchtetes Hühnerei) oder der Testgewebe (Haut, Cornea, Chorionallantois), die Verwendung nur bestimmter oder fortlaufender Virusverdünnungen, die Art der Virusapplikation und die Bewertung der erzielten Ergebnisse.

Über die verschiedenen Auswertungsverfahren im Tierversuch orientiert die nachstehende Übersicht.

Die Impfstoffauswertung im Tierversuch wird häufig durch die *Vorprüfung der gebrauchsfertigen Lymphe am Menschen* ergänzt. Durch die Impfung von mindestens zehn gleichaltrigen Erstimpfungen durch einen impferfähigen Inokulator erhält man meist zuverlässigen Aufschluß darüber, ob die Wirksamkeit der verwendeten Lymphe den sich aus dem Tierversuch ergebenden Erwartungen entspricht. Hierbei sind vor allem zu berücksichtigen die Haftfähigkeit des Impfstoffes, d. h. der Prozentsatz des persönlichen Erfolges bzw. des Schnitt-

Auswertungsverfahren.

Autor	Tierspecies	Testgewebe, Applikation	Virus- verdünnungen	Bewertung
1. CALMETTE u. GUÉRIN(31) GUÉRIN(78)	Kaninchen	Haut, epi- dermal	100, 500, 1000	M. T.: 1: 500 = k. E.
BLAXALL (19, 4) ¹	Kaninchen	Haut, epi- dermal	1000	M. T.: 1:1000 = k. E.
2. SOBERNHEIM (217, I) ¹	Kaninchen	Haut, cutan, Sc.	1000, 2000, 5000, 10 000 usw.	M. T.: 1:1000 = k. E.
3. LEAKE u. FORCE(128)	Kaninchen	Haut, cutan, Sc.	1000, 3000, 10 000	M. T.: 1:1000 = k. E.
4. GROTH (75, I) ¹	Kaninchen	Haut, intra- cutan	10—100 000	M. T.: 1:1000 Bestimmung des E. T.
5. KASAI (106)	Kaninchen (vorimmunis.)	Haut, intra- cutan	10—100 000	Vergleich mit St. L.
6. HERZBERG (89, I) ¹	Kaninchen	Cornea, Sc.	10 000, 25 000, 50 000	Auszählung der Läsionen, Berechnung des E. T.
7. GINS (67, 3, 5, 9) ¹	Meerschw.	Cornea, Sc.	10, 1000, 2000	Bestimmung der Trübung, M. T.: 1:1000
8. MÜNSTERER (158, I)	Meerschw.	Planten, intraplantar	10—100 000	Bestimmung des E. T.
9. WARLOMONT (237)	Rind	Haut, cutan, Sc.	bestimmte Verdünnung	Vergleich mit St. L.
10. KIJ (110)	Rind (vorimmunis.)	Haut, cutan, Sc.	bestimmte Verdünnung	Vergleich mit St. L.
11. KEOGH (109)	Befruchtetes Hühnerei	Chorion- allantois		Bestimmung des E. T.

Legende: M. T. = Mindesttiter, E. T. = Endtiter, k. E. = konfluierende Eruption, St. L. = Standardlymphe, Sc. = Scarifikation.

erfolges und die Art und das Ausmaß der vaccinalen Reaktion (Größe und Breite der Impfpustel, Ausdehnung der Area usw.). Besonderheiten der individuellen Reaktivität der Impflinge können dadurch erkannt werden, daß gleichzeitig am kontrolateralen Arm eine Lymphe von bereits bekannter Qualität verimpft wird [CHAUMIER (34)].

Der Vorschlag von PASCHEN, die Infektiosität der Impfstoffe durch die Auszählung der Elementarkörperchen zu ermitteln, vermochte bisher nicht durchzudringen. Ein solches Verfahren würde voraussetzen, daß sämtliche Elementar-

¹ Vgl. R. DOERR: Der quantitative Virusnachweis, dieses Handbuch, Bd. II, S. 639.

körperchen aktiv sind und daß 1 M. J. D. („infectious unit“)¹ durch ein bzw. eine ganz bestimmte Anzahl von Elementarkörperchen repräsentiert wird. Wenn nun auch eine derartige numerische Relation nachgewiesen worden ist (135, 2, 3, 168, 169, 170, 2, 215), so schwankt dieselbe doch beträchtlich je nach der Provenienz oder „Virulenz“ der verwendeten Vaccinestämme, so daß auf eine biologische Impfstoffauswertung nicht verzichtet werden kann.

Die *Leistungsfähigkeit der Impfstoffauswertung* ist insofern begrenzt, als die im Tierversuch ermittelte Infektiosität nur einen gewissen und bedingt tauglichen Maßstab für die Beurteilung der „Impfstoffvirulenz“ beim Menschen abgibt. Durch die Bestimmung des vaccinalen Titers kann — bei Kälberlymphnen — zunächst nur entschieden werden, ob die Viruskonzentration des Impfstoffes ausreicht, damit die cutane Impfung beim Menschen mit Regelmäßigkeit haftet. Ein ausreichendes Haftvermögen ist nun bekanntlich nur bei Lymphnen gewährleistet, die bei der Auswertung nach CALMETTE-GUÉRIN, SOBERNHEIM, GINS und GROTH einen *Mindesttiter* von 1:1000 aufweisen (217, 1). In der Praxis werden dagegen regelmäßige Impferfolge nur mit Lymphnen erzielt, die noch in der Verdünnung von 1:2000—1:5000—1:10000 wirksam sind. Fragwürdiger ist die Festlegung des noch zulässigen *Höchsttiters*. Im allgemeinen gilt die Regel, daß der in der Praxis ausreichende *Mindesttiter* (1:2000—5000) nicht wesentlich überschritten werden soll und daher auch als *Höchsttiter* zu gelten hat (86, 189, 193). Maßgebend hierfür ist die Vorstellung, daß höher konzentrierte Impfstoffe zu unerwünscht schweren Reaktionen führen. Diese Annahme trifft nun aber keineswegs immer zu. So lehrt die Erfahrung, daß hochinfektiöse Impfstoffe (Titer 1:10000—100000)² häufig nur mäßig starke Reaktionen auslösen, während Lymphnen von weit niedrigerem Titer zu unerwünscht heftigen Impfreaktionen Anlaß geben und auch durch eine weitere Verdünnung nicht wesentlich abgeschwächt werden können. Für die Stärke der vaccinalen Reaktion beim Menschen kann demnach der Virustiter allein nicht verantwortlich sein; ausschlaggebend sind wohl qualitative Viruseigenschaften, die sich durch die quantitative Auswertung nicht erfassen lassen [vgl. KAISER (100, 1)]. Die Art der Pustelreaktion auf der Kaninchen- bzw. Rinderhaut ist ebenfalls kein unbedingt zuverlässiges Kriterium für das Verhalten eines Vaccineimpfstoffes auf der menschlichen Haut [BLAXALL (19, 4)]. Aus der Auswertung von Kälberlymphnen im Tierversuch lassen sich demnach — wie übrigens a priori erwartet werden kann — nur beschränkte Rückschlüsse auf die Impfstoffvirulenz beim Menschen ableiten, so daß die ergänzende Prüfung der Impfstoffe an einer beschränkten Zahl von Erstimpfungen in jedem Fall wünschenswert erscheint.

Wenn schon die Bedeutung der Auswertung von Kälberlymphnen im Tierversuch nicht überschätzt werden darf, so gilt dies noch in erhöhtem Maße für Vaccinen anderer Provenienz und anderer Qualität. Mit Neurovaccinen lassen sich — ungeachtet der großen Titerhöhe und der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pustelbildung auf der Kaninchenhaut — beim Menschen meist völlig normale Impfreaktionen erzielen (223, 4). Humanisierte Passagelymphnen vom Titer 1:300000—2000000 sind nach HERZBERG-KREMMER und HERZBERG (90) für den Menschen noch gut verträglich und ergeben sogar mildere Reaktionen als Kälberlymphnen von wesentlich geringerem Titer. Daß schließlich auch die Wirksamkeit von Kultur- und Eihaut-Impfstoffen beim Menschen sich

¹ Vgl. R. DOERR: Der quantitative Virusnachweis, dieses Handbuch Bd. II, S. 612.

² KAISER und RUNES (103) verwendeten sogar eine Lymphe vom Titer 1 : 350000.

häufig als völlig unabhängig von dem im Tierversuch ermittelten Infektiositätstitern erweist, wurde bereits (vgl. S. 363) angeführt.

e) Konservierung der Impfstoffe.

Das älteste und immer noch am meisten verwendete Konservierungsmittel ist das *Glycerin*. Rohstoffe, Stamm- und Gebrauchslymphen, Kultur- (196, 197) und Eihautvaccinen (72, 131, 4, 223, 1—4) lassen sich in leicht alkalischem (p_H 7,6—7,8), 50—80%igem Glycerinwasser bei Temperaturen unter $0^\circ C$ über Monate bis Jahre konservieren, wobei allerdings mit einer zunehmenden Virusabschwächung zu rechnen ist. *Die größte Stabilität zeigen wohl Glycerinlymphphen, die im Tiefkühler bei -10° bis -20° eingefroren und möglichst vor Luftzutritt geschützt werden.* Bei höheren Temperaturen ($+5^\circ$, $+18^\circ$, $+37^\circ$) sinkt dagegen — wie aus neueren systematischen Untersuchungen an Kälberlymphphen (30) und Eihautvaccinen (63, 2) erneut hervorgeht — die konservierende Wirkung des Glycerins rasch ab, und macht sich eine Virusabschwächung in zunehmendem Maße geltend. Ob das Glycerin in der Wärmeverirulicide Eigenschaften ausübt oder die durch Autolyse bewirkte Säurebildung zur Virusschädigung führt, ist nicht mit Sicherheit festgestellt. Bekannt ist lediglich, daß Zusätze von puffernden und autolysehemmenden Substanzen wie *Hühnereiwweiß* [MOROSOFF (154, 1)], *Saccharose* [SILBER und WOSTRUCHOWA (212), AKASAWA (2)] und 0,5% *Phenol* [BUTLER (30)] einen bemerkenswert thermostabilisierenden Einfluß haben.

Bei Impfstoffen, die im Tiefkühler eingefroren werden, kann auf das Glycerin völlig verzichtet werden. Nach GINS (67, 10) ist das Einfrieren des unverarbeiteten Pustelrohstoffes sogar die beste Konservierungsmethode.¹ COFFEY (38) und HERZBERG (89, 2, 3) erzielten auch mit Kulturvirus durch einfaches Einfrieren der Explantate unter anaeroben Verhältnissen günstige Konservierungserfolge.

Bei künstlich entkeimten, gereinigten oder primär keimfreien Kultur- und Eihautimpfstoffen kann das Glycerin in vorteilhafter Weise durch andere konservierende Zusätze, wie *Bouillon + Cystein* 1:2000 (145), 0,1%ige *Gelatine* bzw. 1%iges *Pepton* (9), 0,25%iger *Agar* (147), *Saccharose* (212), *Leim* (242, 9), *Hühnereiwweiß* (26) oder *inaktiviertes Rinderserum* (25, 2, 219, 242, 9) ersetzt werden. Derartige Impfstoffe erwiesen sich gegenüber höheren Temperaturen als weitaus widerstandsfähiger als vergleichsweise geprüfte Glycerinlymphphen.

In tropischen Klimaten können nur Impfstoffe mit erheblicher Thermoresistenz verwendet werden. Die früher gebräuchlichen *Lanolinlymphphen* (KING, VOIGT u. a.) erfüllen diese Forderung nur unvollkommen und sind wohl größtenteils durch die *Trockenimpfstoffe* verdrängt worden. Die Bestrebungen, Vaccinevirus zur Gewinnung unbegrenzt haltbarer Impfstoffe zu trocknen, gehen bekanntlich bereits auf die Arbeiten von REISSNER, CARINI, CAMUS und WURTZ, ACHALME und PHISALIX, MANTEUFEL, TOMARKIN und SEREBRENIKOFF, SCHÖBL u. a.² zurück, führten jedoch im allgemeinen zu nicht völlig befriedigenden Ergebnissen. Zu einwandfreien und praktisch verwendbaren Trockenlymphphen gelangte erst OTTEN (165, 1, 2) durch Schnelltrocknung im Vakuum und Konservierung des pulverisierten Impfstoffes in hochgradig evakuierten Phiolen. In den letzten Jahren ist das von SHACKELL und HARRIS inaugurierte und späterhin von SWIFT (225), FLOSDORF und MUDD (53, 1, 2) und SCHERP und HUGHES (205)³ zur Dauer-

¹ Daß in derartigen Gefrierlymphphen auch die Keimzahl bei längerer Lagerung erheblich absinkt, wurde von SCHARTNER (204) nachgewiesen.

² Vgl. KAISER (100, 6, 7).

³ Vgl. KAISER (100, 6, 7).

konservierung von empfindlichen biologischen Stoffen technisch vervollkommnete Verfahren der *Trocknung im gefrorenen Zustand* auch für die Herstellung von Trocken vaccinen zur Methode der Wahl geworden. Die Trocknung im gefrorenen Zustand eignet sich gleichermaßen zur Dauerkonservierung von Kälberlymphem (14, 100, 1, 3, 5), Kulturvirus (59, 5, 6, 60, 1, 144, 185, 197) und Eihaut vaccinen (21, 60, 1, 63, 2). Vor der Trocknung empfehlen sich Zusätze von 30% Akaziengummi [RIVERS und WARD (197)] oder von 10% Dextroselösung [KAISER (100, 1)]; derartige Schutzstoffe erleichtern die restlose Wiederauflösung der Trocken vaccinen. Nach der Trocknung sollen die Impfstoffe unter anaeroben Verhältnissen verwahrt werden.

Die Haltbarkeit von einwandfrei hergestellten Trocken vaccinen ist beträchtlich und erstreckt sich bei Zimmertemperatur auf Jahre, bei 37° auf mehrere Monate und bei 41—45° auf einige Wochen. Auch die Erhitzung von Trocken vaccinen während 5—10 Minuten auf 100° [GREEN (73)] bzw. 20 Minuten auf 90° [SANDER (203)] wird ohne Schädigung vertragen.

3. Die Technik der Vaccination.

Die Impftechnik ist für das Haftvermögen des Impfstoffes, die Stärke der lokalen und allgemeinen Reaktion und den Immunisierungserfolg in hohem Grade mitentscheidend. Als optimal hätte ein Impfverfahren zu gelten, das nicht nur eine zuverlässige und lange dauernde Immunität, sondern gleichzeitig auch einen möglichst milden und komplikationslosen Impfverlauf gewährleistet. Die zunehmende Tendenz, die Impfreaktionen und nachteiligen Impffolgen auf ein Minimum einzuschränken, äußerte sich bekanntlich in der Forderung der Verkürzung und Verringerung der Zahl der Impfschnitte, der Anwendung der intra- und subcutanen Impfung, der Verlegung der Erstimpfung in das früheste Lebensalter und im Versuch, die Impfinfektion durch die simultane Injektion von Immuneserum abzuschwächen. Über die Berechtigung dieser Bestrebungen war jedoch so lange kein Urteil möglich, als keine Angaben über den mit diesen Verfahren erzielten Impfschutz vorlagen. Erst in neueren Untersuchungen wurde die Abhängigkeit des Immunisierungserfolges von der Art der Impfstoffapplikation — epidermale, intra- und subcutane Inokulation, Größe und Zahl der Insertionen — systematisch geprüft und damit auch die Grundlagen für eine — hinsichtlich Verträglichkeit und Impfschutz — optimale Impfmethode geschaffen.

a) Art der Impfstoffapplikation.

Cutane bzw. epidermale Impfung. Nach der internationalen Umfrage des Völkerbundes (86, 189, 193) wird die cutane Vaccination auf unterschiedliche Art durchgeführt. Am häufigsten angewendet wird immer noch die klassische Methode der Anlegung von oberflächlichen, lineären *Incisionen* mit der Impflanzette, dem Vaccinostyl oder der Impfnadel. Mit Rotationslanzettten [vgl. PINTO (182, 1, 2)] können auch kreisrunde Incisionen von konstanter Länge angelegt werden. Die Länge der Impfstiche variiert von 1—10 mm, ebenso deren Anzahl von 1—4. Zwischen den Impfschnitten soll ein Abstand von 2 bis 3 cm eingehalten werden. Kreuzschnitte und gitterförmige Scarifikationen sind zu widerraten [BLAXALL (19, 3)]. Statt der Incision wird gelegentlich auch die Bohrung [FORCE, FORCE und LEAKE (55)] verwendet, wobei mit einem Impfböhrer bzw. Impfmeißel — durch einen kleinen, vorgängig auf die Haut gebrachten Impfstofftropfen hindurch — mittels einer einmaligen Rotationsbewegung eine epidermale Läsion von zirka 2 mm Durchmesser gesetzt wird. Die von PEIRCE (173) vorgeschlagene *intraepidermale Stichimpfung* ist ähnlicher

Art; durch einen möglichst kleinen Impfstofftropfen wird mit einer Nadel in tangentialer Richtung zirka 1,5 mm tief in die Epidermis eingestochen. In den USA. hat sich das von LEAKE (127, 1) und THOMAS und BULL (228) empfohlene Impfverfahren der „*Multipuncture*“ oder „*Pressure Vaccination*“ eingebürgert; mit einer parallel zur Haut geführten Nadel wird durch einen kleinen Impfstofftropfen hindurch mittels rascher pendelartiger Nadelführung (30 Bewegungen in 10 Sekunden) eine Hautfläche von zirka 3 mm Durchmesser oberflächlich scarifiziert.

Die Leistungsfähigkeit aller dieser Impfverfahren ist wohl — bei sachgemäßer Technik — hinsichtlich der erzielten Impferfolge dieselbe. Unterschiedlich ist dagegen die *Ausdehnung der Impffläche* und die *Anzahl der Impfinsettionen*. Bei der klassischen Schnittmethode wurden früher mehrere, meist 3—4 Incisionen von durchschnittlich 5 mm Länge angelegt, und erst im letzten Jahrzehnt glaubte man, mit 2 Incisionen von 3—4 mm (Deutschland 1934) oder 1 Incision von 6 bzw. 8 mm Länge (England 1930, Schweiz 1940) auszukommen. Bei den übrigen, namentlich in den USA. geübten Verfahren begnügt man sich ebenfalls mit 1 Insertion und einer Impffläche von zirka 2—3 qmm. Damit wurde der allgemein bestehenden Tendenz nach einer möglichst milden Impfung Rechnung getragen.

Über die *Abhängigkeit der lokalen und allgemeinen Impfreaktion von der Größe der Impffläche und der Anzahl der Insertionen* herrschte jedoch — wie aus der Völkerbundsenquête (86, 189) hervorgeht — zunächst keine Übereinstimmung. BLAXALL (19, 3) stellte allerdings fest, daß Impflinge mit 6 Incisionen von 6 mm örtlich und allgemein stärker reagieren als solche mit 2 Incisionen von 18 mm Länge; die Stärke der Impfreaktion erwies sich demnach abhängig nicht von der Impffläche, sondern von der Anzahl der Insertionen. LINDVALL (143) beobachtete bei 34856 Wiederimpfungen der schwedischen Armee, daß die durchschnittliche Krankheitsdauer erst durch eine Verminderung der Impfschnitte von 3 bzw. 2 auf 1 Incision deutlich abgekürzt wird. Genaue und systematische Untersuchungen über den Einfluß der Zahl der Impfschnitte auf die Stärke der lokalen und allgemeinen Reaktion wurden jedoch erst von GROTH (75, 4) und GROTH und MÜNSTERER (77, 2) angestellt und führten zum Ergebnis, daß die lokale Impfreaktion (Pustelfläche und Ausdehnung der Area) bei 1 Incision absolut — wie a priori zu erwarten ist — zwar kleiner, relativ dagegen größer ist als bei 2, 3 oder 4 Incisionen, ein Befund, der sich wohl dadurch erklärt, daß die Wachstumsmöglichkeit für eine einzelstehende Pustel größer ist als für eine Mehrzahl von Pusteln, die sich gegenseitig konkurrenzieren. Die Allgemeinreaktion, die nach der Häufigkeit, Höhe und Dauer des Impffiebers beurteilt wurde, konnte erst durch eine Verminderung der Insertionen auf 1 Incision deutlich abgeschwächt werden. *Nach diesen wohl maßgebenden Untersuchungen kann daher ein wesentlich gemilderter Impfverlauf nur durch die Beschränkung auf 1 Impfinsetion erreicht werden.*

Eine milde Impfung, die zur Entwicklung nur einer einzigen Impfpustel führt, hätte aber nur dann ihre volle Berechtigung, wenn hierdurch der *Impfschutz* nicht wesentlich verringert würde. Die häufig vertretene Meinung, daß die inokulierte Virusmenge schon deshalb für den Immunisierungserfolg ohne Belang ist, weil jede erfolgreiche Impfung zu einer generalisierten Infektion führt, erscheint zwar bestechend, wird jedoch durch eine Reihe von Tatsachen widerlegt. So geht aus den zahlreichen, vorwiegend englischen Pockenstatistiken, die durch MACDONELL, TURNER, BROWNLEE und GREENWOOD mathematisch-wissenschaftlich nachgeprüft wurden, mit Eindeutigkeit hervor, daß die Lebensbedrohung bzw. Letalität von vaccinierten Pockenkranken — konform der Narbentheorie von GREGORY — von der Anzahl der feststellbaren

Erstimpfnarben abhängig, d. h. bei Einnarbigen am größten ist, bei Mehrnarbigen dagegen mit zunehmender Narbenzahl absinkt. Dieselbe Korrelation zwischen Narbenzahl und Immunitätszustand ergibt sich aus den Revaccinationsbefunden von KIRSCH (112, 1), LEHMANN (131, 1, 2, 5), GROTH und MÜNSTERER (77, 1, 2), MARR (149), ROGINA (200) und JGUCHI (193); übereinstimmend wurde gefunden, daß der Impfschutz um so geringer ist, je weniger Pusteln

I. Anzahl der Erstimpfnarben und Pockenletalität (in Prozenten).

Autor	Jahr	Anzahl der Fälle	Alter	Narben						
				0	1	2	3	4	5	> 6
MARSON	1836/51	3 094		35,0	7,73	4,7	1,95	0,55		
STOCKWELL-Hospital		3 275		47,5	5,3	4,1	2,3	1,1		
BRIDGES-GAYTON	1871/85	10 403		43,0	4,1	3,3	2,3	1,5		
SWEETING	1886	1 888	0—10 > 10		4,76 10,68	3,45 9,04	0,00 8,06	0,00 4,80		
MACCOMBIE	1901	17 724			6,4	3,7	3,7	2,7		
CAMERON	1901/04	7 413			17,94	12,76	8,99	5,44		
AMAKO	1907/08	1 531	0—10 > 10		8,7 24,0	6,2 6,2	4,7 3,4	4,3 4,3	0,0 4,6	0,0 0,0

II. Anzahl der Erstimpfnarben und Revaccinationsbefunde (in Prozenten).

Autor	Jahr	Anzahl der Fälle	Alter	Be-fund	Narben						
					0	1	2	3	4	5	6—8
KIRSCH (112, 1)	1930	249	6—7	P.		20,4	10,6	5,2	0,0		
				V.		42,4	32,5	25,9	44,4		
				K.		37,2	56,9	68,9	55,6		
LEHMANN (131, 1)	1932	12 189	12	P.	67,3	15,2	7,4	6,3	7,4		
				V.	30,1	46,3	44,6	40,0	36,1		
				K.	2,7	38,6	48,0	53,7	56,5		
LEHMANN (131, 2)	1932/34	24 205	12	P.	74,6	25,7	20,5	18,8	17,3		
				V.	17,0	38,1	37,5	36,0	34,8		
				K.	8,3	36,2	42,0	45,2	47,9		
GROTH u. MÜN-STERER (77, 2)	1932	9 281	12	P.		56,6	49,8	44,5	44,6	36,7	24,1
				V.		36,5	37,3	39,9	40,2	39,0	51,9
				K.		6,8	12,9	15,6	15,2	24,4	24,1
MARR (149)	1933	7 759	12	P.		32,4	29,3	25,8	25,9	17,7	23,1
				V.		41,8	39,3	38,2	42,3	38,1	38,5
				K.		25,8	31,3	36,0	31,8	44,3	38,5

Legende: P. = Pustelbildung vom erstvaccinalen Typus, V. = Vesikelbildung, K. = Knötchenreaktion.

bei der Erstimpfung zur Entwicklung gekommen waren (vgl. nebenstehende Übersicht). *Die Abhängigkeit des Grades und der Dauer des Impfschutzes von der Anzahl der Impfinserktionen steht demnach außer Zweifel.* Fernerhin geht aus den englischen Pockenstatistiken und den Revaccinationsbefunden von GROTH und MÜNSTERER übereinstimmend hervor, daß auch die *Größe der Impfpustel- und Narbenfläche für den Immunisierungserfolg nicht gleichgültig ist*; zur Erzielung eines ausreichenden Impfschutzes wäre — nach GROTH und MÜNSTERER (77,2) — eine Pustelfläche von zirka 3 qcm beim Erstimpfpling (entsprechend einer Gesamtnarbenfläche von 4—6 qcm beim 12jährigen Wiederimpfpling) erforderlich, so daß *für die Erstimpfung 3 Impfschnitte von 3—5 mm Länge eben genügen.* Für die Revaccination werden ebenfalls 3 Incisionen in Vorschlag gebracht, die nun aber wegen der derberen Beschaffenheit der Haut auf 5—8 mm verlängert werden sollen. Die Festlegung der Impfinserktionen auf 3 erscheint optimal, da einerseits die Impfreaktion nicht größer ist als bei 2, und andererseits die erzielte Immunität kaum geringer ist als bei 4 Impfincisionen. Damit erscheint die Frage der Intensität der Erstimpfung weitgehend abgeklärt; erstrebt man einen Impfschutz, der sich bei der Revaccination nach 10 Jahren noch als ausreichend erweisen soll, so sind mindestens 3 Impfinserktionen notwendig, gibt man dagegen dem durch 1 Impfinserktion gemilderten Impfverlauf den Vorzug, so müßte wohl die Revaccination bereits nach 5 Jahren vorgenommen werden [vgl. MULDOON (156), ROGINA (200)].

Die etwas überraschende Tatsache, daß die Variola-Vaccineimmunität des Menschen so sehr von der Intensität der Erstimpfung abhängt, weist wohl darauf hin, daß das Ausmaß der lokalen Virusvermehrung in der Haut und damit auch die Virusabgabe in den Organismus den Immunisierungserfolg in hohem Grade beeinflußt. Die zur menschlichen Impfung verwendeten epidermal angepaßten Vaccinestämme finden ja zweifellos auch im epidermalen Gewebe die besten Vermehrungsbedingungen, so daß die Ausdehnung und Verteilung der cutanen Impfflächen für die zur Resorption gelangende Virusmenge wohl in erster Linie bestimmend sind.

Subcutane und intracutane Impfung. Die *subcutane Vaccination* geht bereits auf Versuche von CHAUVEAU (1866) zurück und wurde späterhin von KNOEPFELMACHER (116, 1—3) und NOBL (162) erneut empfohlen. Der hauptsächlichste Vorteil dieser Impfmethode besteht darin, daß der vaccinale Prozeß durch die unverletzte Haut nach außen abgeschlossen ist; durch den Wegfall einer leicht verletzlichen Pustel auf der Hautoberfläche werden nicht nur sekundäre Infektionen, sondern auch die Weiterverschleppung des Virus auf den Impffling (*Vaccina secundaria* bzw. *Eczema vaccinatum* durch Autoinokulation) oder auf die Umgebung (ekzembehaftete Kinder) und schließlich auch die Bildung verunstaltender Narben vermieden. Gegenwärtig wird die subcutane Vaccination in größerem Umfang in Spanien (59, 4—6, 60, 1, 2), Japan (242, 4, 5), Österreich (64, 87, 92, 100, 2—4, 102, 116, 4, 157, 187, 249) und vereinzelt auch in den USA. (199) durchgeführt.

Die *Impftechnik* ist einfach. Als Impfstoffe können nur völlig bakteriosterile Vaccinen, nämlich Neurolapinen [GALLARDO (59, 4—6)], Kultur- und Eihautimpfstoffe [GALLARDO und SANZ (60, 1, 2)] oder künstlich gereinigte und entkeimte Dermovaccinen [YAOI (242, 4, 5), GALLARDO und SANZ (60, 1), KAISER (100, 7)] in Betracht kommen. Die Impfstoffe sollen einen Titer von 1:1000—5000 aufweisen und werden in Dosen von 0,1—0,3 ccm bei der Primovaccination und 0,2 ccm bei der Revaccination am Oberarm bzw. an der Außenseite des Oberschenkels subcutan injiziert. Nach der Injektion soll die Einstichstelle mit Alkohol und Jod desinfiziert werden.

Bei typischem *Impfverlauf* entwickelt sich am 8.—12. Tag nach der Impfung eine diffuse, kleinflächige Rötung und ein zirkumskriptes derbes Infiltrat, die in den nächsten 24 Stunden zunehmen. Während das Erythem nach 3—5 Tagen wieder verschwindet, bleibt das Infiltrat über Wochen bestehen. Auf der Höhe der örtlichen Reaktion sind die regionären Lymphknoten geschwollen und druckempfindlich und besteht in den meisten Fällen Fieber. Die Intensität der Impfreaktion ist erwartungsgemäß abhängig von der Dosierung, der Impfstoffqualität und vom Alter des Impflings, so daß nicht nur mit durchwegs milden, sondern auch mit heftigeren Reaktionen (erysipelähnliches Erythem, übernußgroße Infiltrate, mehrtägiges hohes Fieber) zu rechnen ist. Wie GALLARDO (59, 5) und GALLARDO und SANZ (60, 2) feststellten, kann auch die Dauer der reaktionslosen Inkubation von 5 bis zu 17 Tagen schwanken, je nachdem frisch hergestellte oder längere Zeit gelagerte Impfstoffe verwendet werden. Die von den einzelnen Autoren erzielten Impferfolge variieren ebenfalls, nämlich von durchschnittlich 89% (59, 5, 60, 2, 100, 2, 187) bis zu 98% (242, 5, 249). Anomalien und Komplikationen des Impfverlaufes wurden meist nicht beobachtet; immerhin registrierten GALLARDO (59, 5) und YAOI (242, 5) bei mehreren tausend Impfungen einige Fälle von postvaccinalen Exanthenen und von *Vaccina generalisata*.

Die *immunisierende Wirksamkeit* der subcutanen Viruseinverleibung wurde im Tierversuch erneut nachgeprüft. Nach KAISER und GHERARDINI (101) erwerben subcutan immunisierte Kaninchen eine völlige und dauerhafte (bis zum 184. Tag nachgewiesene) Immunität. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten YAOI und ARAKAWA (243), die mit der subcutanen Immunisierung bessere Immunisierungserfolge — als mit der intracutanen Impfung — erzielten. Gegenteilige Befunde erhoben dagegen BARG und BORODAJ (6) und SICHASTNY (210); subcutan immunisierte Kaninchen erwiesen sich bei der Revaccination in geringerem Grade immun als cutan und intracutan vorbehandelte Tiere. Über die Stärke und Dauer der Vaccineimmunität bei subcutan geimpften Menschen liegen nur wenige zuverlässige Angaben vor. Nach GALLARDO (59, 5) hängt der Impfschutz von der klinischen Intensität der Erstimpfung ab; unter 40 unmittelbar nach der Impfung revaccinierten Kindern zeigten nur diejenigen Impflinge, die auf die subcutane Impfung stark reagiert hatten, eine zuverlässige — auch nach 2 Jahren noch nachweisbare — Immunität, die übrigen Geimpften mit milder Impfreaktion dagegen in 25% Postelreaktionen vom erstvaccinalen Typus. Wenig befriedigend erscheinen auch die Revaccinationsbefunde von KAISER (100, 2); von 51 Kindern, die cutan nach 1 Jahr nachgeimpft wurden, reagierten 27,4% — bei Verwendung einer stärkeren Lymphe sogar 47,2% — mit modifizierten Bläschen und Erstimpflingspusteln. YAOI (242, 5) hält dagegen die subcutane Impfung der cutanen für überlegen und stützt sich hierbei auf die Beobachtung, wonach die subcutane Revaccination einen höheren Antikörperanstieg zur Folge hat. *Die bereits vorliegenden Revaccinationsbefunde lassen jedoch wohl keinen Zweifel darüber, daß die subcutane — im Vergleich zur epidermalen — Vaccination einen deutlich geringeren und kurzfristigeren Impfschutz verleiht.*

Die *intracutane Impfung* wurde von WRIGHT (240), LEINER und KUNDRATITZ (133) und LEINER (132) in Vorschlag gebracht. Diese Impfungsart erstrebt die Vorzüge der subcutanen Impfung, soll jedoch gegenüber dieser den Vorteil aufweisen, daß die vaccinale Reaktion der Beobachtung leichter zugänglich ist. Die intracutane Impfung erwarb sich zunächst zahlreiche Anhänger in Europa [FRANKENSTEIN (54), SINGER (214), KOVÁCS (118), KUHLE (122), YLLPOE (248), SIMKÓ (213), BUSSEL und STANKIEWICZ (29), IRION (98), KARGER

(104), OPITZ (163, 1), PINELLI (181)], späterhin auch in USA. [TOOMEY und HAUVER (231), FORCE (56), ROBERTS (199)] und wurde neuerdings wieder von ROSENBUSCH (202), TORELLO-CENDRA (232), FOSTER (57) und RIVERS und WARD (197, 198) empfohlen und angewendet.

Die *Impftechnik* ist nicht ganz einfach, da der Impfstoff — zur Vermeidung von Pusteln bzw. perforierenden Infiltraten — nicht zu oberflächlich appliziert werden darf. Die nicht mit Lymphe infizierte Spritzenkanüle wird daher in tangentialer Richtung ungefähr $1\frac{1}{2}$ cm in die Cutis eingeführt, wobei die Kanülen-*spitze* nicht durch die Haut durchschimmern soll. Etwas einfacher und wohl auch zuverlässiger ist die von CZAPSKI (41) und SIMKÓ (213) empfohlene subintracutane Injektionstechnik; die Injektionsnadel wird hierbei durch die Haut hindurchgestochen, im subcutanen Gewebe 1—2 cm vorgeschoben und hierauf von innen nach außen in die Cutis eingeführt. Erforderlich sind wiederum völlig bakterio-sterile Impfstoffe, die in einer Menge von 0,1 ccm injiziert werden. In welchem Grade der Impfstoff zu verdünnen ist, läßt sich nach KIRSTEIN (113, 6) aus dem Titer berechnen; die Zahl 20 als Divisor des Titers ergibt den jeweiligen Verdünnungsfaktor, z. B. Titer $\frac{1:1000}{20}$ = Verdünnungsfaktor 1:50.

Der *Impfverlauf* ist meistens durch zwei Phasen charakterisiert, nämlich einer bereits nach 24—48 Stunden auftretenden, anscheinend unspezifischen Primärreaktion in Form eines während 1—2 Tagen bestehenden erythematösen Infiltrates und der eigentlichen Impfreaktion, die erst zwischen dem 8.—14. Tag nach der Impfung in Erscheinung tritt. Diese Reaktion ist dadurch gekennzeichnet, daß ein zunächst erbsengroßes Infiltrat innerhalb 3 Tagen auf Kirsch- bzw. Nußgröße anschwillt und von einem ebenfalls an Größe zunehmenden Erythem begleitet ist. Nach weiteren 2 Tagen beginnt das Erythem rasch abzublassen, während die Rückbildung des Infiltrates sich über Wochen und Monate hinzieht und schließlich — wie KIRSCH (112, 1) feststellte — in Form einer intracutanen Narbe ausheilt. Auf der Höhe der Reaktion besteht wohl stets ein mäßig hohes Fieber (54, 113, 6, 214). Bei nicht völlig einwandfreier Technik können an der Impfstelle oberflächliche Vesikel und Pusteln (88, 118), perforierende Abscesse (122), Ulcera und Nekrosen (29, 98, 113, 6, 231, 248) entstehen. Fernerhin wurde beobachtet, daß Fälle von *Vaccina generalisata* häufiger sind (113, 6, 172). Die Impferfolge schwanken zwischen 70% (100, 2) bis 88—90% (29, 115, 133, 231, 232).

Die *Immunisierungserfolge* werden nur von KUNDRATITZ (123, 1, 2) günstig beurteilt; die bei 238 intracutan geimpften Kindern durchgeführte Revaccination ergab nach 2 Jahren in 100%, nach 3 Jahren in 90,9%, nach 4 Jahren in 80,8% und nach 5—7 Jahren in 79,8% Immunitätsreaktionen, zu denen allerdings auch die völlig erfolglosen Wiederimpfungen gerechnet wurden. KIRSCH (112, 1—4) stellte dagegen fest, daß die intracutane, im Vergleich zur cutanen Impfung einen erheblich geringeren bzw. kurzfristigeren Impfschutz verleiht; bei der Revaccination nach 5—7 Jahren reagierten 58% der intracutan, dagegen nur 10% der cutan geimpften Kinder mit erstvaccinaler Pustelbildung. ROMINGER (201) beobachtete ebenfalls, daß der Impfschutz von intracutan vaccinierten Kindern oft bereits nach 3 Monaten erlischt. Von besonderem Interesse sind die von HENDERSON und McCLEAN (88) erhobenen Befunde, die keinen Zweifel darüber lassen, daß die intracutane Impfung nur dann einen ausreichenden Impfschutz bewirkt, wenn auch die Epidermis an der Impfreaktion teilnimmt; 6 Wochen nach der Impfung waren von den intracutan — ohne Pustelbildung — geimpften Kindern 40%, von den intracutan mit Pusteln reagierenden Impfungen 94% und von den cutan vaccinierten Kindern 95—100% immun. Schließlich wurde die Unter-

legenheit der intracutanen Immunisierung von GROTH und MÜNSTERER (75, 3, 77, 3) auch im Kaninchenversuch nachgewiesen.

Die verminderte Leistungsfähigkeit der sub- und intracutanen Immunisierung kann nicht allzusehr überraschen, da die meisten Dermovaccinen ausgesprochen epidermale Affinitäten aufweisen und daher im subepidermalen Gewebe auch weniger günstige Proliferationsbedingungen vorfinden. Der herabgesetzte Impfschutz ist daher wohl die direkte Folge der ungenügenden Virusvermehrung an der Impfstelle (vgl. S. 379). Bei der Verwendung von Vaccinestämmen, die an das subepidermale Gewebe adaptiert sind [LEDINGHAM und McCLEAN (130), BARG und RUDENKO (7)], würden sich wahrscheinlich bessere Immunisierungserfolge erzielen lassen.

Zusammenfassend ergibt sich für die subcutane und intracutane Vaccination die folgende Bewertung:¹ 1. *Der unbestrittene Vorteil dieser Impfverfahren beruht in der Vermeidung der oberflächlichen Pustelbildung; die Möglichkeit von exogenen Sekundärinfektionen, der Vaccina secundaria bzw. des Eczema vaccinatum durch Autoinokulation und der Virusverschleppung auf die Umgebung wird hierdurch ausgeschlossen. Das Anlegen eines Verbandes ist überflüssig; das sonst dem Impfling auferlegte Badeverbot erübrigt sich. Die örtliche Impfreaktion heilt ohne sichtbare Narbenbildung aus.* 2. *Die Nachteile beider Impfverfahren bestehen im stark verminderten Impfschutz, in der anscheinend erhöhten Tendenz zur klinisch manifesten Generalisation und in der umständlicheren bzw. schwierigen Impftechnik. Die subcutane Impfung bewirkt außerdem eine wenig charakteristische und zeitlich unregelmäßige Lokalreaktion, so daß die Beurteilung des Impferfolges oft Schwierigkeiten macht und Scheinimpfungen möglich sind. Die intracutane Impfung wird häufig durch das Auftreten unerwünschter Hautpusteln, gelegentlich auch von Abscessen, Ulcerationen und Nekrosen kompliziert und ist außerdem für den Impfling bedeutend schmerzhafter.*

Die subcutane bzw. intracutane Impfung bietet demnach wohl mehr Nachteile als Vorteile und kommt einstweilen für die Massenimpfung kaum in Frage. Zur Notimpfung exsudativ veranlagter Impflinge und zur milden Vorimmunisierung kleinerer Kindergruppen wäre wohl der subcutanen Vaccination der Vorzug zu geben.

Intranasale Impfung. GYÜRE (79, 1—3) versuchte die intranasale Primo- und Revaccination. Die nasale Instillation eines 1:5000 verdünnten Impfstoffes verursachte bei Säuglingen eine milde Lokalreaktion, die sich klinisch in Form einer Rhinitis äußerte und rasch abheilte, bewirkte keine irgendwelchen Komplikationen (Vaccina generalisata, postvaccinale Encephalitis), dagegen eine rasch auftretende Immunität, deren Dauer allerdings nicht bestimmt wurde. Die Rhinorevaccination führte zur Schleimhautschwellung bzw. zur Ausbildung von Papeln, Vesikeln und Belägen, erneuerte die Immunität und zeigte — nach GYÜRE — ein Nachlassen des Impfschutzes früher an als die cutane Wiederimpfung.

Simultanimpfung. Eine Abschwächung der vaccinalen Reaktion mit Immuneserum ist zweifellos möglich. PICADO (178) erzielte mit einer Glycerinlymphe, die zu gleichen Teilen mit Kaninchenhyperimmuneserum versetzt und während 10 Minuten bei 37° C gehalten wurde, außergewöhnlich milde cutane und intracutane Impfreaktionen. GREENGARD und WOLF (74) versuchten die Simultanimpfung bei 36 Kindern; durch die intramuskuläre Injektion von 10—20 ccm Rekonvaleszenten-serum konnte die 24 Stunden später ausgeführte cutane Impfung in 62% erheblich abgeschwächt werden. YAOI (242, 6) beobachtete den mitigierenden Effekt

¹ Vgl. HAMEL (86), OPITZ (163, 2), ROBERTS (199), KNOEPFELMACHER (116, 4), KAISER (100, 4).

der Simultanimpfung im Kaninchenversuch. Über den erzielten Impfschutz liegen keine Angaben vor; voraussichtlich ist derselbe — der Abschwächung des Infektionsverlaufes entsprechend — geringer.

b) Zeitpunkt der Erstimpfung.

Die Zweckmäßigkeit einer frühzeitigen Primovaccination wird allgemein anerkannt, nicht nur weil bereits das Kleinkind in hohem Grade pockengefährdet ist, sondern auch weil die Impfreaktionen im 1. bzw. 2. Lebensjahr bekanntlich milder und die Frequenz der postvaccinalen Encephalitis weitaus geringer sind als im vorgeschrittenen Lebensalter. Dagegen ist die Forderung, die Impfung in das allerfrüheste Lebensalter zu verlegen, d. h. bereits beim Neugeborenen bzw. wenige Wochen oder Monate alten Säugling durchzuführen (29, 115, 133, 231, 232), nicht unbestritten. Die Vorzüge einer solchen Frühimpfung liegen bekanntlich darin, daß bei Impflingen der ersten drei Lebensmonate die lokale Impfreaktion erheblich abgeschwächt ist, die Allgemeinerscheinungen und das Fieber meist gänzlich fehlen und Fälle von postvaccinaler Encephalitis anscheinend bisher nicht beobachtet worden sind. Dieser ungewöhnlich milde Impfvverlauf wird bekanntlich als die Folge einer kongenital passiven Immunität und einer mangelhaften Allergiebereitschaft aufgefaßt. Aus der relativen Unempfindlichkeit der Impflinge ergeben sich nun aber auch Nachteile; ausreichende Impferfolge lassen sich nämlich nur dann erzielen, wenn Impfstoffe von ungewöhnlich hohem Titer verwendet und ausgiebige Impfflächen angelegt werden. Außerdem wurde mit Eindeutigkeit nachgewiesen, daß auch einwandfrei erfolgreiche Impfungen nur einen geringfügigen und kurzfristigen Impfschutz bewirken [DONNALLY und NICHOLSON (45), BÉCLÈRE (8), MILKINA und PEVSNER (151), MOROSOFF (154, 2)]. Die abgeschwächte Impfreaktion wird daher wiederum mit einem verminderten Impfschutz erkauft. Praktisch ergibt sich hieraus die Schlußfolgerung, daß die Erstimpfung vor Ablauf des 3. Lebensmonates kaum angezeigt ist, sondern am besten in die zweite Hälfte des ersten oder in den Anfang des zweiten Lebensjahres verlegt wird.

c) Kombinierte Impfungen.

Die von RAMON eingeführte „Vaccination associée“ gab den Anlaß, die Vaccination mit andern Schutzimpfungen zu kombinieren. Die ersten Versuche dieser Art gehen auf KINICHOWICKI [cit. nach REH (190)] zurück, der bei 114 Kindern die kombinierte *Diphtherie-Pockenschutzimpfung* durchführte und hierbei keinerlei Anomalien oder Komplikationen des Impfvverlaufes beobachtete. Nachprüfungen von STERN (222), LAVORSCHI (126) und REH (190) führten ebenfalls zu günstigen Ergebnissen, indem die vaccinale Reaktion stets einen durchaus normalen Verlauf zeigte und die Schickprobe anscheinend sogar in einem höheren Prozentsatz — 99 statt 91% — negativ wurde (126). In Italien ist diese kombinierte Impfung für 1—10jährige Kinder seit 1940 gesetzlich eingeführt. YAOI und Mitarbeiter (242, 10, 244, 247) wiesen auf die Möglichkeit hin, die Vaccination mit der *Typhusschutzimpfung* zu kombinieren. Die Unschädlichkeit und Wirksamkeit dieser Impfung wurde zunächst im Kaninchenversuch nachgewiesen (242, 10) und hierauf durch Massenimpfung beim Menschen bestätigt (244, 247). Nach den Angaben der japanischen Autoren wird das antigene Vermögen des Typhusimpfstoffes durch die gleichzeitige Pockenimpfung wesentlich verstärkt; jedenfalls wiesen die Sera der kombiniert Geimpften — im Vergleich zu nur gegen Typhus Schutzgeimpften — einen 4—8mal höheren Agglutinititer auf. PELTIER, DURIEUX, JONCHÈRE und ARQUÉ (174, 1—3) führten die kombinierte *Gelbfieber-Pocken-Impfung* ein. Die Impfung wird derart vor-

genommen, daß ein Gemisch von neurotropem Gelbfieber- und Vaccinekulturvirus (Trockenimpfstoff) in einer neutralisierten Gummi-arabicum-Lösung cutan — in die epidermal inzidierte Haut — inokuliert wird. Bei diesem Impfverfahren wird der Verlauf beider Impfinfektionen in keiner Weise gestört, entwickeln sich beide Immunitäten unabhängig voneinander und gleichzeitig, und wird vor allem ein vorzüglicher Impfschutz gegen Gelbfieber erreicht. Die von PELTIER (174, 2, 3), SOREL (220) und BLANCHARD (18) in Französisch-Äquatorialafrika durchgeführten Massenimpfungen, die sich auf eine Anzahl von über 1 Million erstrecken, dürften die Leistungsfähigkeit und Unschädlichkeit dieser kombinierten Schutzimpfung außer Zweifel stellen.

Die praktischen Vorzüge kombinierter Impfungen sind unverkennbar. Immerhin verstoßen derartige Doppelimpfungen gegen den Grundsatz, wonach Infektionsimpfungen mit anderen, den Organismus belastenden Eingriffen nicht verbunden werden sollten. Bedenklich erscheint vor allem die Verquickung der Vaccination mit der Typhusimpfung, die bekanntlich zu stärkeren, fieberhaften Reaktionen Anlaß gibt.

4. Dauer des Impfschutzes.

Bestimmungsmethoden.

Die Dauer des Impfschutzes kann bekanntlich auf zwei Arten ermittelt werden, nämlich 1. durch die Revaccination in verschiedenen großen zeitlichen Intervallen nach der Impfung; 2. durch statistische Erhebungen über die Verteilung der Pockenerkrankungs- und -sterbefälle auf die verschiedenen Altersklassen innerhalb einer geimpften Bevölkerung.

Das *Revaccinationsverfahren* bietet den Vorteil einer experimentellen und systematisch durchführbaren Immunitätsprüfung, ergibt jedoch nur dann vergleichbare Ergebnisse, falls die Revaccinationsbefunde nach einheitlichen Gesichtspunkten klassifiziert und bewertet, und außerdem Lymphen von annähernd derselben Titerhöhe verwendet werden. Die Notwendigkeit und Zweckmäßigkeit, die revaccinalen Reaktionen in mindestens drei Typen, nämlich 1. die allergische Knötchen- oder Frühreaktion; 2. die vaccinoide Reaktion bzw. modifizierte Vaccine (Bläschen- ev. auch Pustelbildung mit beschleunigtem Verlauf); 3. die Pustelreaktion vom erstvaccinalen Typus bzw. typische Vaccine, einzuteilen, wird allgemein anerkannt [GINS (67, 4), GROTH (76, 2), LEAKE (127, 2)]. Diese Klassifikation wird nun aber häufig nicht nach einheitlichen Gesichtspunkten gehandhabt; so wird die Pustelbildung mit beschleunigtem Verlauf in den anglo-amerikanischen Ländern meist der vaccinoiden Reaktion zugerechnet, während in Deutschland die beschleunigte Pustelbildung vom erstvaccinalen Reaktionstypus früher hiervon nicht abgegrenzt wurde. Die Angaben über die Frequenz der Immun- bzw. erstvaccinalen Reaktionen müssen infolgedessen unterschiedlich lauten. GINS (67, 8) hat daher die Einteilung der revaccinalen Befunde verfeinert und auf vier Reaktionstypen ausgedehnt: 1. Knötchen- oder allergische Reaktion (Höhepunkt vor dem 4. Tag nach der Impfung); 2. Bläschenreaktion (Höhepunkt vor dem 5. Tag nach der Impfung); 3. Pustelreaktion mit beschleunigtem Verlauf (Höhepunkt vor dem 7. Tag nach der Impfung); 4. Pustelreaktion vom Verlauf der Erstimpfung mit dem Höhepunkt am 9.—11. Tag nach der Impfung. Sämtliche Reaktionsformen (1—3), die nicht den erstvaccinalen Typus zeigen, werden somit voneinander gesondert und als Immunitätsreaktionen verschiedenen Grades qualifiziert. Ein völliger Verlust an vaccinaler Immunität wird erst angenommen, wenn die revaccinale Impfreaktion in jeder Hinsicht (zeitliche Entwicklung der Pustel und Area, Impffieber) dem Verlauf der Erstimpfung entspricht. Die Bewertung der drei Immunreaktionen als Indikatoren eines

unterschiedlichen Impfschutzes (1 = zuverlässiger, 2 = ausreichender, 3 = mangelhafter Schutz) findet ihre objektive Grundlage im Vergleich der Revaccinationsbefunde mit der Pockenmorbidity innerhalb einer bestimmten Altersklasse. Die Einreihung der Pustelreaktion mit beschleunigtem Verlauf in die Immunitätsreaktionen erscheint gerechtfertigt, da auch ein stärkerer Verlust an vaccinaler Immunität erfahrungsgemäß nicht gleichbedeutend mit einer vollen Wiederempfänglichkeit für das Variolavirus ist (67, 8, 76, 2, 77, 2, 180); ob nämlich derartige Impfungen nach der Pockenexposition erkranken oder nicht, hängt in hohem Grade von epidemiologischen Faktoren ab.

Die *Pockenstatistik* (Verteilung der Pockenfälle auf die verschiedenen Altersklassen von Geimpften) gibt zwar über den tatsächlichen Impfschutz direkten Aufschluß, ist jedoch nur bei einer ungenügend geimpften und mit Pocken stärker durchseuchten Bevölkerung leistungsfähig. Die Pockenmorbidity bei Geimpften wird nämlich meist nur dann als annähernd zuverlässiger Maßstab des Impfschutzes gelten können, wenn auf Grund der Pockenfrequenz bei Ungeimpften auf eine allgemeine und gleichmäßige Durchseuchung geschlossen werden kann. Bei der Berechnung des prozentualen Anteils der verschiedenen Altersstufen an der Pockenmorbidity und Mortalität muß außerdem der Altersaufbau einer Bevölkerung berücksichtigt werden. Kaum mit Fehlerquellen behaftet und daher auch eindeutiger ist die Bestimmung der Letalität bei Geimpften der verschiedenen Altersklassen.

Der von HAAGEN (81, 1, 2) entwickelte *Neutralitätstest* an weißen Mäusen erlaubt zwar den Antikörpernachweis im Serum von Vaccinierten und Pockenrekonvaleszenten, dürfte jedoch für die Bestimmung der Dauer des Impfschutzes schon deshalb nicht in Betracht kommen, weil der Antikörpergehalt des Blutes für die Beurteilung der Vaccineimmunität insofern keinen brauchbaren Maßstab abgibt, als ein Fehlen humoraler Antikörper einen hohen Impfschutz keineswegs ausschließt.

Ergebnisse

(vgl. die Übersicht auf S. 387).

Daß die Angaben über die Dauer des Impfschutzes erheblich voneinander abweichen, kann nicht erstaunen; verantwortlich hierfür sind nicht nur die auf unterschiedliche Art durchgeführten und bewerteten Immunitätsprüfungen, sondern vor allem das zum Teil sehr ungleiche Beobachtungsmaterial. So bedingt eine verschiedenartige Impftechnik (Art des Impfstoffes, Anzahl der Insertionen, Inokulationsmodus usw.) notwendigerweise auch einen unterschiedlichen Impfschutz und in einer gleichartig durchgeimpften Bevölkerung sinkt der Impfschutz bekanntlich je nach der individuellen Reaktivität, Geschlecht, Rasse und sozialen Lage der Impfungen in ungleich rascher Weise ab. Jede Bewertung der Impfschutzdauer ist daher relativ und muß sich innerhalb der einzelnen Altersklassen mit Durchschnittszahlen begnügen, in denen der Impfschutz einer Bevölkerung im Querschnitt zum Ausdruck kommt.

Die in Deutschland und Schweden erhobenen Revaccinationsbefunde und Pockenstatistiken stimmen nun aber weitgehend überein und vermitteln ein hinreichend klares Bild über den Impfschutz innerhalb einer obligatorisch geimpften Bevölkerung. Nach den Untersuchungen von GINS (67, 4), GROTH (76, 2, 77, 2),¹ STADLER (221), PASCHEN und LEHMANN (131, 2) in Deutschland zeigen 12jährige Wiederimpfungen in durchschnittlich 70—80% Immunitäts-

¹ Die auffallend niederen Werte (durchschnittlich 60% Immunreaktionen) von GROTH und Mitarbeitern sind wohl auf die Verwendung einer stärkeren Testlymphe zu beziehen.

reaktionen. HOLMGREN und LINDSTRÖM (93) in Schweden registrierten bei Wiederimpfungen der ersten 10 Lebensjahre in durchschnittlich 90% Immunreaktionen. Zu ähnlich günstigen Resultaten gelangten DEARING und ROSENAU (42), welche bei — nach 10 Jahren — revaccinierten Kindern in 95% Immunreaktionen feststellen konnten. Die Quote der nicht mehr immunen Pustelträger würde demnach 10 Jahre nach der Erstimpfung auf höchstens 30% zu veranschlagen sein und ist, wenn nur Reaktionen von erstvaccinalem Verlauf berücksichtigt werden, wohl noch wesentlich kleiner. Daß die Anzahl der wirklich ungeschützten Erstimpflinge in den ersten 10 Lebensjahren de facto klein ist, geht auch aus der Pockenstatistik eindeutig hervor. Der prozentuale Anteil dieser Altersklasse an der Gesamtmorbidität beträgt, wie aus der von BARRY bearbeiteten Sheffielder den von ROSSANDER und HALLDÉN (85) analysierten schwedischen Epidemien sowie auch aus der reichsdeutschen Pockenstatistik der Jahre 1917—1920 [vgl. GINS (67, 8)] übereinstimmend hervorgeht, niemals mehr als 10%. Noch geringer — nicht über 5% — ist die Beteiligung dieser Altersklassen an der Pockenmortalität [GINS (67, 8)], oder die bei geimpften 1—10jährigen Kindern beobachtete Letalität, die sich nach der Statistik von CAMERON nur auf 1,39% (gegenüber 31,85% bei Ungeimpften desselben Alters) bezifferte. *Zusammenfassend darf daher wohl angenommen werden, daß der Großteil aller Kinder nach einer ausreichend intensiven Erstimpfung in den folgenden 10 Jahren zuverlässig gegen Pocken geschützt ist.* Daß diese Regel nicht ohne Ausnahme ist, beweisen die ungünstigen Revaccinationsbefunde (30—50% Pustelreaktionen), die SERGENT in Algier, GILLIHAN (66) in Kalifornien, PINTO (182, 1, 2) in Indien, SKROTZKI, LIPKINE und PETROV [vgl. MOROSOV (154, 2)] in Rußland bei 3—6jährigen Impfungen erzielten. Die Gründe für diesen raschen Immunitätsverlust sind nicht klargestellt; außer einer ungenügenden Erstimpfung könnten Rasseeigentümlichkeiten, ungünstige soziale Verhältnisse und klimatische Einflüsse in Betracht gezogen werden.

Über den Impfschutz der späteren Altersklassen liegen ebenfalls zahlreiche Untersuchungen vor. KRISTENSEN und Mitarbeiter (119) und GYLLENSWÄRD (80, 1, 2) vermochten bei schwedischen Rekruten, die nach 19—20 Jahren revacciniert wurden, in nur 7 bzw. 6,6% Pustelreaktionen vom typischen Verlauf der Erstimpfung nachzuweisen. Sämtliche Altersklassen von 0 bis über 40 Jahre wurden in den Revaccinationsprüfungen von HOLMGREN und LINDSTRÖM (93) und der Morbiditätsstatistik von HALLDÉN (85) berücksichtigt. Die erzielten Ergebnisse stimmen weitgehend überein und lassen die Schlußfolgerung zu, daß eine einmalig geimpfte Bevölkerung ihren Impfschutz erst nach 30—40 Jahren zur Hälfte verliert. Nach HALLDÉN läßt sich aus den Morbiditätsstatistiken der englischen (BARRY) und schwedischen (ROSSANDER, HALLDÉN) Pockenepidemien sowie aus den schwedischen Revaccinationsbefunden (HOLMGREN und LINDSTRÖM) auch unschwer errechnen, daß mehr als zwei Drittel einer geimpften Gesamtbevölkerung gegen Pocken geschützt sind. Ähnliche Verhältnisse scheinen nun auch in Deutschland zu bestehen, wobei allerdings der Impfschutz der Bevölkerung durch die gesetzlich vorgeschriebene Wiederimpfung im 12. Lebensjahr verstärkt und wohl auch in ältere Altersklassen vorgeschoben wird. Bei der Wiederimpfung von Rekruten fanden LEHMANN (131, 6), KATHE (107) und WALTHER (235) in einem sehr hohen Prozentsatz (96,5—99%) Immunreaktionen, so daß kein Zweifel darüber besteht, daß die im schulpflichtigen Alter durchgeführte Revaccination den Impfschutz wesentlich auffrischt und festigt. Aus der reichsdeutschen Pockenstatistik der Jahre 1911—1921 geht fernerhin hervor, daß der durchschnittliche Impfschutz noch im vierten Lebensjahrzehnt beträchtlich ist, da rund zwei Drittel aller Pockenerkrankungen und 85—95% aller Pockentodesfälle auf Altersklassen über 40 Jahre entfallen. Über den Impfschutz bei

I. Revaccinationsbefunde bei 12jährigen Wiederimpfungen.

Autor	Ort	Jahr	Anzahl der Fälle	I.-R.	P.-R. ¹
				in Prozenten	
GINS (67, 4)	Berlin	1926	2812	81,2	18,8
GROTH (76, 2, 77, 2).	München	1921—25	48444	65,4	34,6
		1926	8914	59,3	40,7
		1932	9281	55,1	44,9
STADLER (221)	Jena	1927		79,9	20,1
PASCHEN	Hamburg	1927		75,7	24,3
LEHMANN (131, 2) . .	„	1932—34	24205	81,3	18,7

II. Revaccinationsbefunde bei 19—20jährigen Wiederimpfungen (Rekruten).

Autor	Land	Jahr	Anzahl der Fälle	I.-R.	P.-R. ²
				in Prozenten	
KRISTENSEN u. Mitarbeiter (119) .	Schweden	1925	113	93,0	7,0
GYLLENSWÄRD (80, 2)	„	1936	712	91,0	6,5
LEHMANN (131, 6) . .	Deutschland	1937	3552	99,0	1,0
KATHE (107)	„	1937		98,4	1,6
WALTHER (235)	„	1937	> 100000	96,5	3,5

III. Verteilung des Impfschutzes auf alle Altersstufen.³

Altersklassen	Revaccinationsbefunde HOLMGREN und LINDSTRÖM (93) Schweden 1937 353 Fälle		Pocken-Morbidität			Pocken-Letalität CAMERON England 1901—04	
	I.-R.	P.-R.	BARRY Epidemie Sheffield 1887/88	ROSSANDER Epidemie Amot (Schweden) 1892/93	HALLDÉN (85) Epidemie Schweden 1900—17	7101 Geimpfte	2931 Ungeimpfte
0—10 Jahre	89,3	10,7	9,07	0,0	9,6	1,39	31,85
10—20 „	85,1	14,9	36,03	45,5	16,1	1,88	21,81
20—30 „	74,7	25,3	48,45	57,0	21,3	5,37	34,49
30—40 „	56,7	43,3	56,20	36,7	51,5	13,27	44,44
> 40 „	40,7	59,3	53,30	36,9	48,2	17,94	49,17
Durchschnitt	75,6	24,4	40,69	34,9	29,2	9,63	38,48
Durchschnl. Impfschutz	75,6		59,3	65,1	70,8		

Legende: I.-R. = Immunreaktion, P.-R. = Pustelreaktion.

¹ Inkl. Pusteln mit beschleunigtem Verlauf.

² Exkl. Pusteln mit beschleunigtem Verlauf.

³ Nach HALLDÉN.

älteren und ältesten Jahrgängen geben die Revaccinationsbefunde von KAISER und RUNES (103) Aufschluß. Die erzielten Ergebnisse, die sich allerdings nur auf 171 Versuchspersonen stützen, sind in mehrfacher Hinsicht bemerkenswert. Bei der gesamten Altersgruppe von 60 bis über 80 Jahre ließen sich in rund 40% Immun- und in 60% Erstimpflingsreaktionen nachweisen. Die Anzahl der vorausgegangenen Impfungen hatte auf dieses Verhältnis von Geschützten zu Ungeschützten keinen nachweisbaren Einfluß. Wurden die Revaccinationsbefunde nach dem zeitlichen Abstand zur letzten Impfung geordnet, so ergab sich, daß im Intervall von 20—60 Jahren die Immunreaktionen erwartungsgemäß von 54,5 auf 30,7% abnahmen, die Erstimpflingsreaktionen dagegen entsprechend (von 45,5 auf 69,3%) anstiegen. Bei einem noch größeren Intervall — 60—80 bzw. über 80 Jahre — konnte jedoch eine derartige Verschiebung nicht mehr festgestellt werden, indem die Immunreaktionen sogar wieder häufiger (37,8 bzw. 50%) wurden. Aus diesen Befunden, die einer Bestätigung auf größerer Basis bedürfen, scheint hervorzugehen, daß die Quote der lebenslänglich Immunen ansehnlich hoch ist, und der durchschnittliche Impfschutz im hohen Alter wohl vorwiegend durch das Verhältnis von guten zu schlechten Immunitätsbildnern bestimmt wird.

Zusammenfassend dürfte — zumindest für die Verhältnisse in Schweden und Deutschland — die Annahme Gültigkeit haben, wonach der Impfschutz einer in frühester Kindheit durchgeimpften Bevölkerung in den ersten 10 Jahren — bei einem Fünftel der Geimpften — absinkt, sich jedoch über weitere 20 Jahre auf ansehnlicher Höhe — rund 75% Geschützte — erhält. Durch die 10 Jahre nach der Erstimpfung durchgeführte Wiederimpfung wird der Immunitätsverlust der ersten Jahre weitgehend ausgeglichen und ein hoher Impfschutz bis ins vierte Jahrzehnt gewährleistet [vgl. DORNEDDEN (47)]. Die Altersklassen über 40 Jahre dürften in durchschnittlich 40—50% ausreichend geschützt sein.

In der vorstehenden Übersicht sind die besprochenen Statistiken, soweit dieselben tabellarisch vergleichbar sind, zusammengestellt.

Literaturverzeichnis.

1. ALDERSHOFF, PONDMAN et POTT: Injection intracérébrale du virus vaccinal chez le singe. Propriété de la neurovaccine. Ann. Inst. Pasteur, Par. **43**, 1268 (1929).
2. AKASAWA: Über Zucker-Glycerin-Kalblymphe. Kitasato Arch. exper. Med. **13**, 118 (1936).
3. DE ALVARÉ: Die Impffrage. Bol. mens. Clin. Asoc. Dam. la Covadonga **2**, 6, 230 (1935).
4. ARABIEN: Étude clinique du virus vaccinal de culture Plotz. Rev. Hyg. (Fr.) **61**, 81 (1939).
5. ARMSTRONG: Tetanus following vaccination against small-pox and its prevention. Publ. Health Rep. (Am.) **42**, 1361 (1927).
6. BARG u. BORODAJ: Vergleichende Immunisierungsversuche an Kaninchen mit Pockenvaccine, mittels der cutanen, intracutanen und subcutanen Methode. Z. Mikrobiol. **18**, 472 (1937).
7. BARG u. RUDENKO: Versuche zum Studium des nach LEDINGHAM und McCLEAN intracutan passierten Virus der Pockenvaccine. Z. Immunit.forsch. **85**, 370 (1935).
8. BÉCLÈRE: La vaccination jennérien chez les enfants au-dessous de trois mois. Bull. Acad. Méd. Par. III, **116**, 800 (1936).
9. BEHRENS and FERGUSON: Preservation of purified suspensions of the virus of vaccinia. J. infect. Dis. (Am.) **56**, 84 (1935).

10. BEHRENS and MORGAN: Purification of the virus of vaccinia. *J. infect. Dis. (Am.)* **50**, 277 (1932).
11. BEHRENS and NIELSEN: Purification of suspensions of the virus of vaccinia. *J. infect. Dis. (Am.)* **56**, 41 (1935).
12. BELENKY u. POPOWA: Beiträge zur Frage über die Entkeimung der Schutzpockenlymphe. *Z. Hyg.* **109**, 443 (1929).
13. BELENKY u. POPOWA: (1) Studien über die Begleitbakterien der Pockenlymphe. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **110**, 170 (1929).
 — — (2) Studien über die Begleitbakterien der Pockenlymphe. *Zbl. Bakter. usw., Orig.* **112**, 1, 4 (1929).
 — — (3) Studien über die Begleitbakterien der Pockenlymphe. *Zbl. Bakter. usw., Orig.* **115**, 18 (1930).
 — — (4) Studien über die Begleitbakterien der Pockenlymphe. *Zbl. Bakter. usw., Orig.* **118**, 435, 444 (1930).
 — — (5) Studien über die Begleitbakterien der Pockenlymphe. *Z. Hyg.* **109**, 453 (1929).
14. BELJAJEV: Thermostabile Pockenvaccine. *Z. Mikrobiol. Nr. 4*, 31 (1941).
15. BERNKOPF and KLIGLER: Immunization of rabbits with inactive vaccine virus. *J. Immunol. (Am.)* **32**, 451 (1937).
16. BIJL: Verslagen en Mededeelingen betreffende de Volksgesondheid Nr. 8 (1926).
17. BLANC et CAMINOPETROS: Recherches expérimentales sur la vaccine. *Arch. Inst. Pasteur hellénique* **1**, 175 (1924).
18. BLANCHARD: Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole. *Off. internat. Hyg. publ.* **33**, 407 (1941).
19. BLAXALL: (1) De l'emploi de l'essence de girofle dans la préparation du vaccin de génisse glycérimé. *Rev. internat. Vaccine* **3**, 337 (1913).
 — (2) Some notes in connexion with the preparation of vaccine lymph at the Government Lymph Establishment. *Proc. roy. Soc. Med.* **15**, 11 (1921).
 — (3) Différences dans les réactions locales et les modifications constitutionnelles produites par la vaccination au moyen de vaccins de degrés divers d'activité et par des méthodes diverses de vaccination. *Bull. mens. Off. internat. Hyg. publ.* **22**, 1310 (1930).
 — (4) Small-pox, system of bacteriology in relation to medicine. *H. M. Stationary office, London* **7**, 84, 148 (1930).
20. BORODAI: Reinigung des Pockendetritus durch Behandlung der Tiere mit Bacteriophag und Untersuchung der Virulenz des Detritus. *Z. Mikrobiol.* **1941**, Nr. 1, S. 58.
21. BOULNOIS: Epidémiologie de la variole dans l'Inde et contrôle de l'efficacité du vaccin sec. *Presse méd.* **1936**, 659.
22. BROKMAN, BUSSEL et MAYZNER: Recherches sur l'immunisation par le vaccin tué. *C. r. Soc. Biol.* **104**, 778 (1930).
23. BUCKUP: Über das Verhalten verschiedener Variola-Vaccine-Stämme bei intracerebraler Impfung von weißen Mäusen. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **134**, 56 (1935).
24. BUDDINGH: Production and use of small-pox vaccine cultivated in the chorio-allantoic membrane of chick embryos. *Amer. J. publ. Health* **27**, 1135 (1937).
25. BUDDINGH: (1) Comparison of the behaviour of a neurotesticular and a dermal strain of vaccine virus in the chorio-allantoic membrane of the chick embryo. *Amer. J. Path.* **12**, 511 (1936).
 — (2) The use of serum as a protective diluent for vaccinia virus. *Amer. J. Hyg.* **27**, 530 (1938).
26. BUDYLINA: Experimentelle Überprüfung der Hitzebeständigkeit von konzentrierter Eiweißvaccine, hergestellt nach MOROSOFFS Methode. *Z. Mikrobiol.* **1941**, Nr. 1, 62.
27. BURNET: The use of the developing egg in virus research. *Med. Res. Couns. Spec. Rep. Nr.* **220** (1936).
28. BUSSEL et MAYZNER: Étude sur la vaccine formolée et sur la réaction variolique. *C. r. Soc. Biol.* **103**, 411 (1930).

29. BUSSEL et STANKIEWICZ: Rev. franç. Pédiatr. **2**, 293 (1926); cit. nach KIRSTEIN (113, 6).
30. BUTLER: The keeping qualities of vaccine lymph. J. Hyg. (Brit.) **38**, 120 (1938).
31. CALMETTE et GUÉRIN: Recherches sur la vaccine expérimentale. Ann. Inst. Pasteur, Par. **15**, 161 (1901).
32. CARREL et RIVERS: La fabrication du vaccin in vitro. C. r. Soc. Biol. **96**, 848 (1927).
33. CHAUMIER: La variole et la vaccine. Rev. internat. Vaccine **3**, 81 (1912/13).
34. CHAUMIER et BOUREAU: Études expérimentales sur la vaccine et la vaccination. Rev. internat. Vaccine **1**, 173 (1910/11).
35. CH'EN: Variation in potency of vaccinia virus in tissue cultures. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **31**, 152, (1934).
36. CLEARKIN: Theory and practice in vaccine lymph production. Trans. Soc. trop. Med. **22**, 43 (1928).
37. CLEARKIN and SKAN: The effect of repeated calf passage on the immunizing power of calf lymph. Brit. J. exper. Path. **12**, 322 (1931).
38. COFFEY: Vaccine prepared from chicken embryo cultures for immunization against small-pox. Amer. J. publ. Health **24**, 473 (1934).
39. COPLANS: The bactericidal action upon calf lymph of certain triphenylcarbinol dyes and their leuco-compounds: immunity and hypersensitiveness towards vaccinia variola. J. Path. a. Bacter. **25**, 173 (1922).
40. CUNNINGHAM: A note on the degeneration of vaccine lymph on passage through the same vaccinifer. Indian J. med. Res. **15**, 373 (1927).
41. CZAPSKI: Intracutane Pockenschutzimpfungen. Münch. med. Wschr. **1924**, 284.
42. DEARING and ROSENAU: Duration of immunity following vaccination against small-pox. J. amer. med. Assoc. **102**, 1998 (1934).
43. DONNALLY: Small-pox vaccination of infants. Revaccinations after two to three years in children primarily vaccinated with culture virus. J. amer. med. Assoc. **113**, 1796 (1939).
44. DONNALLY, NICHOLSON, ANDERSON and GROSVENOR: Small-pox vaccination of newborn infants with culture virus and with calf lymph virus. Amer. J. Dis. Childr. **59**, 322 (1940).
45. DONNALLY and NICHOLSON: A study of vaccination in five hundred newborn infants. J. amer. med. Assoc. **103**, 1269 (1934).
46. DONNALLY and WEIL: Formolised vaccinia virus. Results of its use with children who had been vaccinated previously. J. Pediatr. (Am.) **17**, 639 (1940).
47. DORNEDDEN: Deutschlands Impfschutz gegen Pocken. Reichsgesundh.bl. **1938**, Beih. 2, S. 13.
48. EAGLES: The preparation and testing of elementary body suspension from vaccinia filtrates and their possible use in small-pox prevention. Brit. J. exper. Path. **16**, 181 (1935).
49. ECHENIQUE-GUZMAN: Zur Frage der Virusveränderung der Kultur in befruchteten Hühnereiern und der Beziehung zwischen Variolavaccine und Geflügel-pocken. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **139**, 314 (1937).
50. ELLIS and BOYNTON: Small-pox vaccination: a comparison of vaccines and techniques. Publ. Health. Rep. (Am.) **1939**, 1012.
51. FELLER, ENDERS and WELLER: The prolonged coexistence of vaccinia virus in high titre and living cells in roller tube cultures of chick embryonic tissues. J. exper. Med. **72**, 367 (1940).
52. FINDLAY: Variation in viruses. Handb. Virusforsch. **2**, 861 (1939).
53. FLOSDORF and MUDD: (1) Procedure and apparatus for preservation in "lyophile" form of serum and other biological substrates. J. Immunol. (Am.) **29**, 389 (1935).
— (2) An unproved procedure and apparatus for preservation of sera, micro-organisms and other substances. The cryochem-Process. J. Immunol. (Am.) **34**, 469 (1938).
54. FRANKENSTEIN: Zur intracutanen Pockenimpfung. Dtsch. med. Wschr. **1922**, 1700.

55. FORCE: An investigation of the causes of failure in cow-pox vaccination. J. amer. med. Assoc. **1914**, 1466.
56. — Intradermal small-pox vaccination, a method for increasing the administrative value of the immediate reaction of immunity. Publ. Health Rep. (Am.) **1927**, 1931.
57. FOSTER: Vacunación antivariolosa por vía intradérmica. Soc. Puericultur. B.-Air. **2**, Nr. 2 (1936).
58. FRIEDBERGER u. MINORESCU: Eine neue Methode, Vaccine ohne Zusatz von Desinfizienten unter Erhaltung der Virulenz keimfrei zu machen. Dtsch. med. Wschr. **1914**, 1203.
59. GALLARDO: (1) Valor práctico de la neurovacuna. Madrid, 1924.
 — (2) De la valeur pratique du neurovaccin. Ann. Inst. Pasteur, Par. **39**, 543 (1925).
 — (3) Über die Impfung mit Neurovaccine. Seuchenbkpf. **4**, 195 (1927).
 — (4) Über die subcutane Impfung mit Neurovaccine. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **131**, 354 (1934).
 — (5) Vaccination sous-cutanée au neurovaccin. Presse méd. **1934**, 515.
 — (6) Sur la production du virus vaccinal et la technique de la vaccination. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **26**, 1233 (1934).
 — (7) Sur la vaccination sous-cutanée avec virus cultivé et virus dermique filtré. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **27**, 1744 (1935).
60. GALLARDO and SANZ: (1) Subcutaneous small-pox vaccination with bacteria free vaccine. Amer. J. Hyg. **25**, 354 (1937).
 — (2) Virus antivarioliques purs et vaccination sous-cutanée. Presse méd. **1937**, 139.
61. GALLI u. CIPOLLONE: Über das Wesen und den Mechanismus der durch formoliertes Vaccine-Virus erzeugten lokalen Immunität. Arch. Virusforsch. **1**, 350 (1940).
62. GALLI e VERROTTI: L'immunità locale verso il virus vaccinico: contributo allo studio del meccanismo della immunità e della infezione latente. Ann. Ig. **1939**.
63. GASTINEL et FASQUELLE: (1) Virus vaccinal de culture allantoïdienne et vaccine généralisée. C. r. Soc. Biol. **130**, 1554 (1939).
 — (2) Remarques sur la conservation d'activité de l'allantoïdo-virus vaccinal. C. r. Soc. Biol. **135**, 30 (1941).
 — (3) A propos des voies de dissémination du virus vaccinal d'origine bovine ou de culture allantoïdienne. C. r. Soc. Biol. **135**, 124 (1941).
64. GHERARDINI, HASSMANN, KAISER u. TÜRK: Ergebnisse subcutaner Pockenschutzimpfung bei Erwachsenen. Med. Klin. **1939**, 636.
65. GILDEMEISTER: Über Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **90**, 109 (1923).
66. GILLIHAN: Duration of immunity following modern small-pox vaccine inoculation. Amer. J. publ. Health **1927**, 906.
67. GINS: (1) Ein praktisch erprobtes Verfahren zur Gewinnung bakterienarmen Kuhpockenstoffes. Dtsch. med. Wschr. **1919**, 1362.
 — (2) Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß einiger Desinfektionsmittel auf die Vaccine. Z. Hyg. **101**, 339 (1924).
 — (3) Die Virulenzprüfung der Vaccine. Dtsch. med. Wschr. **1925**, 1515.
 — (4) Der Impfschutz der Wiederimpfungen in Berlin. Z. Hyg. **107**, 143 (1927).
 — (5) Die Auswertung der Kuhpockenimpfstoffe. Seuchenbkpf. **1928**, H. 4.
 — (6) Immunität bei Variola und Vaccine. Hdb. pathog. Mikroorg. **8**, 919 (1930).
 — (7) Ergebnisse der bakteriologischen Impfstoffuntersuchung. Zbl. Hyg. **29**, 156 (1933).
 — (8) Wie lange sind Vaccineimmunität und Pockenimpfschutz nachweisbar? Dtsch. med. Wschr. **1935**, 836.
 — (9) Vergleichende Untersuchungen über die Auswertung der Vaccine nach GROTH und GINS. Veröff. Volksgesundh. **53**, H. 4, 62 (1939).
 — (10) Degeneration und Regeneration des Kuhpockenimpfstoffes in einer deutschen Impfanstalt. Öff. Gesundh.dienst **1941**, 289.

68. GODINHO: Resistencia de diferentes germes pathogenices experimentalmente associades ao virus vaccinico. Mem. Inst. Butantan (Bras.) 8, 83 (1933/34).
69. GODINHO et KLOBUSITZKY: Influence du pH sur l'activité du virus vaccinal. C. r. Soc. Biol. 115, 1352 (1934).
70. GONZALEZ: (1) Utilisation du neurovaccin dans la prophylaxie antivariolique chez l'homme. C. r. Soc. Biol. 95, 274 (1926).
— (2) Utilisation du neurovaccin dans la prophylaxie antivariolique chez l'homme. Presse méd. 1926, 840.
71. GOODPASTURE et BUDDINGH: Immunisation de l'homme par un vaccin dermique cultivé sur les membranes de l'embryon de poulet. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. 26, 1226 (1934).
72. GOODPASTURE, BUDDINGH, RICHARDSON and ANDERSON: The preparation of antismall-pox vaccine by culture of the virus in the chorio-allantoic membrane of chick embryos and its use in human immunization. Amer. J. Hyg. 21, 319 (1935).
73. GREEN and EAGLES: The filterability of vaccinia virus. Brit. J. exper. Path. 12, 202 (1931).
74. GREENGARD and WOLF: Modification of small-pox vaccination in susceptible infants. Use of specific convalescent serum. Amer. J. Dis. Childr. 59, 76 (1940).
75. GROTH: (1) Über Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe. Z. Hyg. 92, 129 (1921).
— (2) Rapport sur les réponses fournies au questionnaire relatif à la préparation et la conservation de la lympe vaccinale. Erg. Hyg. usw. 10, 335 (1929).
— (3) Zur intracutanen Schutzpockenimpfung. Münch. med. Wschr. 1930, 107.
— (4) Einfluß der Zahl der Impfpusteln auf die allgemeinen und örtlichen Erscheinungen bei Erstimpfungen. Zbl. Hyg. 29, 143 (1933).
76. GROTH u. ARNOLD: (1) Über Gewinnung keimfreier Schutzpockenlymphe. Dtsch. med. Wschr. 1922, 1580.
— (2) Revaccinationsergebnisse in Berlin und München. Z. Hyg. 108, 578 (1928).
77. GROTH u. MÜNSTERER: (1) Zahl und Länge der Impfschnitte und Pockenschutz. Münch. med. Wschr. 1934, 1842.
— (2) Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Vaccination und vaccinalen Immunität. Erg. Hyg. usw. 17, 1 (1935).
— (3) Studien über Vaccination und vaccinale Immunität. Z. Immunit.forsch. 85, 139 (1935).
78. GUÉRIN: Contrôle de la valeur des vaccins jennériens par la numération des éléments virulents. Ann. Inst. Pasteur 19, 317 (1905).
79. GYÜRE: (1) Die Rhinorevaccination in der kinderärztlichen Praxis. Dtsch. med. Wschr. 1938, 1211.
— (2) Über die Bewertung der Cutanrevaccination. Mschr. Kinderhk. 80, 197 (1939).
— (3) Vaccinationsstudien. II. Die Rolle der Reaktionstätigkeit des Organismus bei der Pockenimpfung. Mschr. Kinderhk. 82, 304 (1940).
80. GYLLENSWÄRD: (1) Small-pox vaccination in childhood, in the light of results of inoculations in the swedish army 1908—1933. Acta Soc. Medic. suec. 60, 269 (1934).
— (2) Étude sur la durée de l'immunité produite par la vaccination antivariolique d'après les observations quotidiennes des réactions vaccinales chez les révaccinés. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. 28, 482 (1936).
81. HAAGEN: (1) Ein Verfahren zur Prüfung der Pocken- und Vaccineimmunität. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, 131, 420 (1934).
— (2) La vérification, par essais sur la souris, de l'immunité contre la variole et contre la vaccine. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. 28, 458 (1936).
82. HAAGEN u. CRODEL: Zur Frage der Virulenz von gezüchtetem Variolavaccinevirus. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, 138, 27 (1937).
83. HACH: Zur experimentellen Pathologie der Vaccine. Z. Hyg. 104, 569 (1925)

84. HACKENTHAL: Experimentelle Ergebnisse mit Phenolkuhpockenlymphe. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **115**, 290 (1930).
85. HALLDÉN: Quelques considérations sur la résistance a l'égard de la variole chez les vaccinés et non vaccinés. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **29**, 1865 (1937).
86. HAMEL: Rapport sur la technique de la vaccination antivariolique. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **23**, 1788 (1931).
87. HASSMANN: Die Bedeutung der subcutanen Pockenschutzimpfung in der Fürsorge und Klinik. Wien. med. Wschr. **1940**, 646.
88. HENDERSON and McCLEAN: The immunity following intracutaneous and subcutaneous vaccination with elementary body suspensions of vaccinia. J. Hyg. (Brit.) **39**, 680 (1939).
89. HERZBERG: (1) Eine Methode zur Zählung von Herpes- und Vaccinekeimen. Zbl. Bakter usw., Orig. I, **105**, 57 (1927/28).
— (2) Massengewebekultur des Variola-Vaccinevirus zur Schutzimpfung. Klin. Wschr. **1932**, 2064.
— (3) Über die Herstellung von Gewebekulturlymphe und ihre Brauchbarkeit in öffentlichen Impfterminen. Z. Immunit.forsch. **86**, 417 (1935).
90. HERZBERG-KREMMER u. HERZBERG: Untersuchungen über postvaccinale Encephalitis. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **119**, 175 (1930/31).
91. HILGERS: Untersuchungen des fertigen Pockenimpfstoffes auf pathogene anaerobe Bakterien. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **119**, 193 (1930).
92. HOFBAUER: Erfahrungen mit der subcutanen Blatternschutzimpfung in der landärztlichen Praxis. Mitt. Volksgesdh.amt, Wien **1937**, Nr. 9, 83.
93. HOLMGREN u. LINDSTRÖM: Iakttagelser vid vaccination mot smitkoppor. Hygiea (Schwed.) **1937**.
94. JACOBS and ORRIS: Intracutaneous vaccination against small-pox by means of the chick embryo culture virus. J. Pediatr. (Am.) **17**, 626 (1940).
95. JANCOU: Vaccination de l'homme par la neurovaccine. C. r. Soc. Biol. **86**, 910 (1922).
96. JANZEN u. WOLFF: Über die Reinigung der Pockenlymphe. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **90**, 41 (1923).
97. ILLERT: (1) Über die Entkeimung der Kälberlymphe mit Trypaflavin. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **86**, 49 (1921).
— (2) Die Verwendung von Acridinfarbstofflymphe zur Schutzpockenimpfung am Menschen. Dtsch. med. Wschr. **1922**, 227.
98. IRION: Mschr. Kinderhk. **36**, 225 (1927), cit. nach KIRSTEIN (113, 6).
99. KADLETZ u. LIMONOVA: Methode zur Reinigung des Vaccinerohstoffes auf der abgelösten Kälberhaut mit chemischen Stoffen. I. Reinigung mit Phenol. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **126**, 102 (1932).
100. KAISER: (1) Zur Frage der Herstellung eines bakterienfreien Trockenimpfstoffes gegen Pocken. Zbl. Bakter usw., Orig. I, **139**, 405 (1937).
— (2) Sind Abänderungen der bisherigen Impftechnik gerechtfertigt? Wien. klin. Wschr. **1937**, 401.
— (3) Weitere Erfahrungen über Trockenimpfstoffe für den Pockenschutz. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **142**, 359 (1938).
— (4) Su una modificazione della tecnica della vaccinazione antivaiolosa. Boll. Ist. sieroter. milan. **18**, 441 (1939).
— (5) Die Trockenkonservierung von Virusarten. Arch. Virusforsch. **1**, 85 (1939).
— (6) Die geschichtliche Entwicklung der Herstellung von Trockenimpfstoffen, insbesondere für den Blatternschutz. Arch. Virusforsch. **2**, 279 (1942).
— (7) Bericht über Versuche, einen Trockenimpfstoff für den Pockenschutz herzustellen und über den Einfluß von Kälte und Trockenheit auf das Vaccinevirus. Arch. Virusforsch. **2**, 426 (1942).
101. KAISER u. GHERARDINI: Experimentelle Untersuchungen über die durch subcutane Impfungen erworbene Vaccineimmunität. Z. Hyg. **119**, 706 (1937).
102. KAISER u. HASSMANN: Praktische und klinische Beobachtungen über die subcutane Pockenschutzimpfung. Arch. Kinderhk. **112**, 40 (1937).

103. KAISER u. RUNES: Über vaccinale Reaktionen bei alten Leuten. *Z. Immunit.-forsch.* **87**, 455 (1936).
104. KARGER: Zur Frage der Berechtigung der intracutanen Vaccination. *Med. Klin.* **1927**, 1889.
105. KASAHARA u. OGATA: Über die Vaccineimmunität der mit Ultraschallwellen behandelten Pockenlymphe. *Klin. Wschr.* **1939**, 753.
106. KASAI: A new method für standardizing cow-pox lymph by means of intracutaneous inoculation of partially immunized rabbit. *Sci. Rep., Gov. Inst. Infect. Dis. Univ. Tokio* **5** (1926).
107. KATHE: Die Vaccineimmunität der Rekruten. *Dtsch. Mil.arzt* **2**, 433 (1937).
108. KELSCH, CAMUS et TANON: (1) Quelques recherches bactériologiques et expérimentales sur le vaccin antivariolique. *Bull. Acad. Méd., Par.* **58**, 111 (1907).
— (2) Pulpes vaccinales et basses températures. *Bull. Acad. Méd., Par.* **64**, 55 (1910).
109. KEOGH: Titration of vaccinia virus on the chorion-allantoic membran of the chick embryo and its application to immunological studies of neuro-vaccinia. *J. Path. a. Bacter. (Am.)* **43**, 441 (1936).
110. KIJ: Experimental study on the standardization of cow-pox lymph. A new method based on inoculation of calves incompletely immunized against vaccinia. *Sci. Rep. Gov. Inst. Infect. Dis. Univ. Tokio* **5** (1926).
111. KIRCHNER: Über den Keimgehalt animaler Lymph. *Z. Hyg.* **24**, 530 (1897).
112. KIRSCH: (1) Revaccinationsstudien, insbesondere über die Dauer des Impfschutzes (der Hautimmunität) bei der Intracutanimpfung. *Z. Kinderhk.* **40**, 1 (1930).
— (2) Über die Dauer des Impfschutzes (der Hautimmunität) bei der Intracutanvaccination. *Med. Klin.* **1931**, 313.
— (3) Die Dauer des Impfschutzes nach intracutaner Blatternschutzimpfung *Wien. med. Wschr.* **1933**, 418.
— (4) Die Dauer des Impfschutzes nach intracutaner Blatternschutzimpfung. *Kinderärztl. Prax.* **5**, 500 (1934).
113. KIRSTEIN: (1) Keimfreimachung der Schutzpockenlymphe mittels MORGENROTHERScher Chinaalkaloide. *Dtsch. med. Wschr.* **1919**, 1102.
— (2) Erfahrungen mit der keimfreien Eukupinotoxin-Glycerin-Schutzpockenlymphe (E. G.-Lymph). *Dtsch. med. Wschr.* **1923**, 444.
— (3) Über Keimfreiheit und Virulenz der Schutzpockenlymphe. *Z. Hyg.* **103**, 584 (1924).
— (4) Ergebnisse der Vaccinebehandlung mit desinfizierenden Chemikalien. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **115**, 281 (1930).
— (5) Ist ultraviolettes Licht zur Herstellung einer keimfreien Schutzpockenlymphe verwendbar? *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **114**, 530 (1930).
— (6) Die intracutane Schutzpockenimpfung unter besonderer Berücksichtigung der Virulenz der Lymph. *Z. Hyg.* **111**, 31 (1930).
114. KLIGLER and BERNKOPF: Immunization of rabbits with inactive vaccinia virus. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **33**, 226 (1935).
115. KNAUER: Ist die intra- bzw. subcutane Schutzpockenimpfung der cutanen vorzuziehen? *Kinderärztl. Prax.* **5**, 455 (1934).
116. KNOEPFELMACHER: (1) Subcutane Vaccineinjektionen am Menschen. *Wien. med. Wschr.* **1906**, 2198.
— (2) Die Vaccineprobe mittels subcutaner Injektion beim Kuhpockenkranken. *Münch. med. Wschr.* **1908**, 1129.
— (3) Revaccination nach Subcutanimpfung mit virulenter Pockenvaccine. *Wien. klin. Wschr.* **1927**, 1541.
— (4) Subcutane Kuhpockenimpfung. *Wien. med. Wschr.* **1937**, 376.
117. KNOEPFELMACHER u. STÖHR: Neue Versuche über Immunisierung mit abgetöteter Pockenvaccine. *Z. Immunit.forsch.* **56**, 76, 83 (1928); vgl. auch *Z. exper. Path. u. Ther.* **4**, 880 (1907); *Wien. med. Wschr.* **1915**, 1234.
118. KOVÁCS: Die intracutane Pockenimpfung. *Dtsch. med. Wschr.* **1925**, 332.
119. KRISTENSEN, ANDERSEN, JUNGERSEN and WANDALL: On the role played by the

- technique of small-pox vaccination in regard to immunity. *Acta path. et microbiol. scand.* (Dän.) **2**, 175 (1925).
120. KRONTOWSKI, JAZIMIRSKA-KRONTOWSKA et SAWITZKA: (1) Culture in vitro de la dermovaccine, de la neurovaccine et de lymphé humanisée dans des cultures de tissu etc. *C. r. Soc. Biol.* **114**, 424 (1933).
 — — — (2) Culture in vitro de la dermovaccine, de la neurovaccine et le lymphé humanisée dans des cultures de tissu etc. *Arch. exper. Zellforsch.* **16**, 275 (1934).
121. KRUMBACH: Über Befreiung des Pockenimpfstoffes von Begleitbakterien. *Z. Immunit.forsch.* **34**, 477 (1922).
122. KUHLE: Studien über die Vaccination. *Mshr. Kinderhk.* **30**, 390 (1925).
123. KUNDRATITZ: (1) Die Dauer des Impfschutzes nach intracutaner Blatternschutzimpfung. *Wien. med. Wschr.* **1932**, 1398.
 — (2) Die Dauer des Impfschutzes nach intracutaner Blatternschutzimpfung. *Kinderärztl. Prax.* **5**, 452 (1934).
124. KUNERT: Die Züchtung des Variola-Vaccinevirusstammes Berlin auf der Chorionallantois des Hühnerembryos. *Z. Hyg.* **117**, 216 (1935).
125. LACASSAGNE et NYKA: Sur les conditions de stérilisation du virus par les rayons X: Le virus vaccinal. *C. r. Soc. Biol.* **128**, 1038 (1938).
126. LAVORSCHI: *Rev. Igiene soc.* (Rum.) **6**, 226 (1936), cit. nach REH (190).
127. LEAKE: (1) Description du procédé de vaccination contre la variole par pressions multiples. *Bull. Off. internat. Hyg. publ.*, Par. **20**, 44 (1928).
 — (2) Le degré et la durée de l'immunité conférée par la vaccination antivariolique considérés dans leurs rapports avec le type de réaction vaccinale. *Bull. Off. internat. Hyg. publ.*, Par. **28**, 1909 (1936).
 — (3) Dans quelle mesure peuvent influencer sur l'apparition de l'encéphalite post-vaccinale les conditions dans lesquelles la vaccination antivariolique est pratiquée dans les divers pays. *Bull. Off. internat. Hyg. publ.*, Par. **31**, 53 (1939).
128. LEAKE and FORCE: A method for estimating the potency of small-pox vaccine. *Bull. Hyg. Lab. N. S. P. H. S.* **1927**, Nr. 149.
129. LE BOURDELLES: Sur le vaccin jennérien de culture. *Bull. Soc. Méd. mil. franç.* **31**, 141 (1937).
130. LEDINGHAM and McCLEAN: The propagation of vaccine virus in the rabbit dermis. *Brit. J. exper. Path.* **9**, 216 (1928).
131. LEHMANN: (1) Beitrag zur Dauer des Impfschutzes. *Zbl. Hyg.* **29**, H. 2 (1933).
 — (2) Untersuchungen über Revaccinationserfolge und Impfnarben. *Veröff. Med.verw.* **44**, 3 (1934).
 — (3) Über die Züchtung des Vaccinevirus auf der Chorionallantois-Membran des Hühnerembryos. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **132**, 447 (1934).
 — (4) Über die Gewinnung und Verimpfung von Pockenschutzlymphe aus Gewebekulturen. *Z. Hyg.* **118**, 594 (1936).
 — (5) Erstimpfungsnarben und Wiederimpfungsbefunde. *Z. Immunit.forsch.* **89**, 115 (1936).
 — (6) Revaccinationsergebnisse bei Rekruten. *Dtsch. Mil.arzt* **1937**, 436.
 — (7) Weitere Erfahrungen über Humanimpfungen mit Pockenschutzlymphe aus Gewebekulturen. *Z. Hyg.* **119**, 513 (1937).
 — (8) Über die Brauchbarkeit der Karbolsäure zur Gewinnung keimfreier Pockenschutzlymphe. *Z. Hyg.* **119**, 21 (1937).
 — (9) Weitere Impfergebnisse mit Pockenschutzlymphe aus Kulturen auf der Allantoismembran des Hühnerembryos. *Z. Hyg.* **120**, 505 (1938).
 — (10) Kälberlymphe oder Kulturlymphe? *Med. Klinik* **1941**, 1033.
132. LEINER: Über die Subcutane und intracutane Impfmethode mit Kuhpockenlymphe beim Menschen. *Seuchenbkpf.* **1**, 69 (1924).
133. LEINER u. KUNDRATITZ: Die intracutane Impfmethode mit Kuhpockenlymphe beim Menschen. *Z. Kinderhk.* **30**, 205 (1921).
134. LEREBoullet: A propos de la vaccination antivariolique chez le nourrisson. *Paris méd.* **1941**, 123.

135. LEVADITI: (1) Créations artificielles de souches neurovaccinales. C. r. Acad. Sci. **208**, 1944 (1939).
 — (2) Ultravirus et fluorescence. Méthode d'estimation numérique des corpuscules élémentaires de la vaccine. C. r. Soc. Biol. **130**, 849 (1939).
 — (3) Nombre des corpuscules élémentaires et vaccinogenèse. C. r. Soc. Biol. **135**, 462 (1941).
136. LEVADITI, FASQUELLE, MESROBEANU, REINIÉ, STAMATIN et BEQUIGNON: Les «selections». Rev. Immunol. (Fr.) **4**, 481 (1938).
137. LEVADITI et NICOLAU: (1) Vaccine pure cérébrale. Virulence pour l'homme. C. r. Acad. Sci. **174**, 249 (1922).
 — — (2) Ectodermoses neurotropes. Étude sur la vaccine. Ann. Inst. Pasteur, Par. **37**, 1 (1923).
138. LEVADITI, REINIÉ, STAMATIN et al.: Ultravirus et fluorescence. Le virus vaccinal. Ann. Inst. Pasteur, Par. **64**, 466 (1940).
139. LEVADITI, STAMATIN, REINIÉ et LE-VAN-SEN: Ultravirus et fluorescence. Nombre des corpuscules élémentaires vaccinaux et virulence névrauxique (Neurovaccin et Dermovaccin). C. r. Soc. Biol. **130**, 1091 (1939).
140. LEVADITI et VOET: Études sur le neurovaccin. Affinités du virus vaccinal. Presse méd. **1937**, 113.
141. LEVIN: Purification du vaccin antivariolique à l'aide des rayons X. C. r. Acad. Sci. **200**, 1441 (1935).
142. LI and RIVERS: Cultivation of vaccine virus. J. exper. Med. (Am.) **52**, 465 (1930).
143. LINDVALL: Quelques expériences sur la revaccination faites dans l'armée suédoise. au cours de l'année 1929. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **22**, 1319 (1930).
144. LLOYD and MAHAFFY: Cultivation of vaccinia virus by Rivers' method. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **33**, 154 (1935).
145. LONG and OLITZKY: Effect of cysteine on the survival of vaccine virus. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **27**, 380 (1930).
146. LORBER u. KISSELGOF: Über die Lebensdauer der Brucellamikroben in Pockendetritus. J. Mikrobiol. **6**, 193 (1939).
147. McCLEAN and EAGLES: The conservation of vaccinia virus grown in vitro. Brit. J. exper. Path. **12**, 103 (1931).
148. MAGRASSI e MURATORI: Sul meccanismo dell'immunità nell'infezione vaccinica: immunizzazione con virus non infettante. Boll. Inst. sieroter. milan. **16**, 588 (1937).
149. MARR: Die Abhängigkeit der Immunitätsdauer von der Zahl und Tiefe der Erstimpfnarben. Inaug.-Diss. München-Erlangen, 1934.
150. MATSUMURA: A comparative study of virulency of seed lymph with special reference to the relation between the maximal virulency and the passages. Fourth Rep. Gov. Inst. vet. Res. **1927**, 178.
151. MILKINA u. PEVSNER: Über die Nützlichkeit der Vaccination bei Neugeborenen. PEDIATR. **1938**, Nr. 10.
152. MOLINA: Sulle modificazioni biologiche del virus vaccinico inoculato nel embrione di pollo. Boll. Ist. sieroter. milan. **16**, 383 (1937).
153. MONTEIRO et GODINHO: (1) Le virus vaccinal filtré et pur; résultats de son emploi dans la vaccination antivariolique. C. r. Soc. Biol. **104**, 691 (1930).
 — (2) Über Verwendung des reinen filtrierten Impfstoffes bei der Prophylaxe der Pocken. Sexta reunion de la Sociedad Argentina de Patolog. regional del norte **1930**, 280.
154. MOROSOFF: (1) Hyg. u. Epid. **1930**, Nr. 10, cit. nach SILBER u. WOSTRUCHOWA (212).
 — (2) Recherches sur l'immunité contre la variole. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **30**, 725 (1938).
155. MOROSOFF u. KASATKEWITSCH: Eine Methode zur Selektion des Pockenvaccinevirus. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **147**, 236 (1941).
156. MULDOON: False security from one vaccination. New England J. Med. **198**, 32 (1928).
157. MÜLLNER: Die subcutane Batterschutzimpfung in der Landpraxis. Mitt. Volksgesdh.amt, Wien **1937**, Nr. 11.

158. MÜNSTERER: (1) Wertbestimmung des Schutzpockenimpfstoffes an der Meer-schweinchenplanta. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **133**, 452 (1935).
— (2) Erfahrungen mit der Kultur des Vaccinevirus in vitro und im Hühnerei. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **136**, 177 (1936).
159. NAUCK u. PASCHEN: Weitere Ergebnisse der Vaccinezüchtung in der Gewebekultur. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **128**, 171 (1933).
160. NESCHTSCHADIMENKO: Kongreßbericht der Bakteriologen, Epidemiologen und Sanitätsärzte der U. d. S. S. R. Leningrad 1928. Zbl. Bakter. usw., Ref. **92**, 154 (1928).
161. NICOLAU et POINCLOUX: Conservation des caractères particuliers du neurovaccin, malgré la culture sur la peau humaine. C. r. Soc. Biol. **91**, 1239 (1924).
162. NOBL: Über das Schutzvermögen der subkutanen Vaccineinsertion. Wien. klin. Wschr. **1906**, 975.
163. OPITZ: (1) Gesdh.fürs. Kindesalt. **3**, H. 5 (1928), cit. nach KIRSTEIN (113, 6).
— (2) Ist die intra- bzw. subcutane Schutzpockenimpfung der cutanen vorzuziehen? Kinderärztl. Prax. **5**, 399, 498, 542 (1934).
164. OROSZ: Klinische Erfahrungen bei Erstimpfungen mit steriler Stierhodenlymphe. Mschr. Kinderhk. **49**, 141 (1931).
165. OTTEN: (1) Trockenlymphe. Z. Hyg. **107**, 677 (1927).
— (2) Trockenlymphe. Z. Hyg. **114**, 705 (1933).
166. PANDIT et RAO: Culture du virus vaccinal (souche dermique) sur l'allanto-chorion de l'embryon de poulet. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **27**, 53 (1935).
167. PAPADAKIS: Résumé du travail précédent: La vaccination antivariolique par la neurovaccine en Macédoine. Arch. Inst. Pasteur hellénique **2**, 395 (1931).
168. PARKER: Statistical studies of the nature of the infectious unit of vaccine virus. J. exper. Med. (Am.) **67**, 725 (1938).
169. PARKER, BRONSON and GREEN: Further studies of the infectious unit of vaccinia. J. exper. Med. (Am.) **74**, 263 (1941).
170. PARKER and RIVERS: (1) Immunological and chemical investigations of vaccine virus. Response of rabbits to inactive elementary bodies of vaccinia and to virus-free extracts of vaccine. J. exper. Med. (Am.) **63**, 69 (1936).
— (2) Immunological and chemical investigations of vaccine virus. Statistical studies of elementary bodies in relation to infection and agglutination. J. exper. Med. (Am.) **64**, 439 (1936).
171. PASCHEN: (1) Über zweitägige Vaccine. Dtsch. med. Wschr. **1926**, 1301, 2125.
— (2) Die animale Vaccine. Handb. Pockenbekämpfung u. Impfung Lentz-Gins **1927**, S. 283.
172. PAUL: Über einen Fall echter generalisierter Vaccine infolge intracutaner Impfung gegen Keuchhusten mit verdünnter Kuhpockenlymphe. Zbl. Hyg. **12**, 922 (1926).
173. PEIRCE: Intraepidermic vaccination. Brit. med. J. **1937**, 1066.
174. PELTIER, DURIEUX, JONCHÈRE et ARQUIÉ: (1) Pénétration du virus amaril neurotrophe par voie cutanée. Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole. Bull. Acad. Méd., Par. **121**, 657 (1939).
— — — (2) Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole sur des populations indigènes du Sénégal. Ann. Inst. Pasteur, Par. **65**, 146 (1940).
— — — (3) Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole sur des populations indigènes du Sénégal. Bull. Acad. Méd., Par. **123**, 137 (1940).
175. PENNA: New technique for aseptic removal of chick embryo from egg. Amer. J. trop. Med. **19**, 589 (1939).
176. PERAGALLO: (1) L'uovo di pollo come terreno di cultura. Boll. Ist. sieroter. milan. **14**, 505 (1935).
(2) Ricerche sulla possibilità della cultura del virus vaioloso nella membrana corion-allantoidea dell'embrione di pollo e sulla preparazione e l'impiego pratico nella vaccinazione di un vaccino derivato da questo materiale. Boll. Ist. sieroter. milan. **15**, 625 (1936).
— (3) Untersuchung über die Züchtung des Pockenvirus auf der Chorionallantois des Hühnerembryos und über die Zubereitung und praktische Anwendung der

- aus der Kultur gewonnenen Vaccine. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **138**, 310 (1937).
177. PETRAGNANI: Préparation du vaccin jennérien en Italie. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **31**, 50 (1939).
178. PICADO: Vaccine antivariolique sensibilisée. C. r. Soc. Biol. **106**, 624 (1931).
179. PICKELS: Apparatus for rapid, sterile removal of chick embryos from egg. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **50**, 224 (1942).
180. PIERCE: Nouvelles recherches sur la vaccination antivariolique. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **27**, 70 (1935).
181. PINELLI: La profilassi antivaiolosa mediante la vaccinazione intradermica. Pediatr. (Arch.) **36**, 451 (1928).
182. PINTO: (1) Duration and degree of immunity against small-pox conferred by infantile. Indian med. Gaz. **70**, 135 (1935).
(2) Durée et degré de l'immunité contre la variole conférée par la vaccination dans l'enfance. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **28**, 473 (1936).
183. PLOTZ: (1) Virulence des cultures in vitro du virus vaccinal. C. r. Soc. Biol. **125**, 719 (1937).
(2) L'immunité croisée entre le virus vaccinal de culture in vitro, le vaccin de génisse et le neuro-vaccin chez le lapin. C. r. Soc. Biol. **127**, 1412 (1938).
(3) Pouvoir virulicide du sérum de lapin après vaccination avec la culture de la vaccine in vitro. C. r. Soc. Biol. **128**, 33 (1938).
— (4) L'immunité entre le virus de la variole et la culture de la vaccine in vitro. C. r. Soc. Biol. **128**, 453 (1938).
184. PLOTZ et LE BOURDELLÈS: Pouvoir virulicide du sérum chez l'homme après vaccination par le vaccin antivariolique de culture. C. r. Soc. Biol. **130**, 621 (1939).
185. PLOTZ et LÉPINE: Virulence pour le lapin des cultures in vitro du virus vaccinal. C. r. Soc. Biol. **127**, 264 (1938).
186. PLOTZ et MARTIN: Vaccination au moyen des cultures pures in vitro. Bull. Acad. Méd., Par. III, **116**, 454 (1936).
187. PÖCH: Beitrag zur subcutanen Schutzimpfung gegen Blattern. Mitt. Volksgesdh.amt Wien **1938**, S. 49.
188. RAO, PANDIT and SHORTT: Cultivation of vaccinia virus on the chorio-allantoic membrane of the chick-embryo. Indian J. med. Res. **23**, 857 (1936).
189. Rapport de la commission de la variole et de la vaccination antivariolique de l'office international d'hygiène publique. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **22**, Suppl. (1930).
190. REH: A propos des vaccinations antivariolique et antidiphthérique associées. Schweiz. med. Wschr. **1941**, 1368.
191. REITER: Fortschritte in der Herstellung der Pockenlymphe. Dtsch. med. Wschr. **1929**, 581.
192. Report of the Committee on Vaccination. Ministry of Health H. M. Stat. Off. London, 1928.
193. Résumé des réponses au questionnaires pour l'étude de la meilleure méthode de vaccination antivariolique. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **26**, Suppl. 8, 1 (1934).
194. Richtlinien für die bakteriologische Untersuchung des fertigen Pockenimpfstoffes. Reichgesdh.bl. **1934**, 917.
195. RIVERS: Cultivation of vaccine virus for Jennerian prophylaxis in man. J. exper. Med. (Am.) **54**, 453 (1931).
196. RIVERS and WARD: (1) Further observations on the cultivation of vaccine virus for Jennerian prophylaxis in man. J. exper. Med. (Am.) **58**, 635 (1933).
— (2) Jennerian prophylaxis by means of intradermal injections of culture vaccine virus. J. exper. Med. (Am.) **62**, 549 (1935).
198. RIVERS, WARD and BAIRD: Amount and duration of immunity induced by intradermal inoculation of cultured vaccine virus. J. exper. Med. (Am.) **69**, 857 (1939).
199. ROBERTS: Subcutaneous and intradermal small-pox vaccination. J. prevent. Med. (Am.) **6**, 453 (1932).

200. **ROGINA**: Etude sur la durée de l'immunité vaccinale. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **25**, 1588 (1933).
201. **ROMINGER**: Ist die intra- bzw. subcutane Schutzpockenimpfung der cutanen vorzuziehen? Kinderärztl. Prax. **5**, 400 (1934).
202. **ROSENBUSCH**: Über intracutane Schutzpockenimpfung und Impfverhältnisse in der Schweiz. Schweiz. med. Wschr. **1936**, 85.
203. **SANDER**: Über den Einfluß der Temperatur auf Lapinevirus. Z. Immunit.forsch. **83**, 215 (1934).
204. **SCHARTNER**: Untersuchungen über den Keimgehalt von langdauernd tiefgekühlten Pocken-Rohstoffen. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **143**, 168 (1939).
205. **SCHERP** and **HUGHES**: A simple and inexpensive apparatus for the dessication of biological materials from the frozen state. J. Immunol. (Am.) **36**, 29 (1939).
206. **SCHÜFFNER**: Steriles Öffnen von Eiern. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **147**, 470 (1941).
207. **SEIFFERT**: Die Abtötung pathogener Keime unter Glycerineinwirkung. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **74**, 644 (1914).
208. **SEIFFERT** u. **HÜNE**: Gewinnung keimfreier Lymphen durch Zusatz von Chinosol. Zbl. Bakter usw., Orig. I, **71**, 86 (1914).
209. **SHAHIN**: Règléments et usages concernant la variole et la vaccination anti-variolique dans les divers pays. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **22**, Suppl. 1 (1930).
210. **SHCHASTNY**: Über die Abhängigkeit der Variolavaccineimmunität von der Art der Impfung und von der Dosierung des Impfstoffes. Z. Mikrobiol. **21**, 127 (1938).
211. **SHOPE**: Swine-pox. Arch. Virusforsch. **1**, 457 (1940).
212. **SILBER** u. **WOSTRUCHOWA**: Über A-D-Vaccine. Thermostabile Pockenlymphe. Z. Immunit.forsch. **76**, 59 (1932).
213. **SIMKÓ**: Über intracutane und subcutane Pockenschutzimpfungen. Jb. Kinderhk. **108**, 102 (1925).
214. **SINGER**: Die intracutane Blatternschutzimpfung. Med. Klin. **1923**, 1288.
215. **SMADEL**, **RIVERS** and **PICKELS**: Estimation of the purity of preparations of elementary bodies of vaccinia. J. exper. Med. (Am.) **70**, 379 (1939).
216. **SOBERNHEIM**: Variola und Alastrim. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **110**, Beiheft, 97, 1929.
217. **Société des Nations**: (1) Organisation d'Hygiène. Rapport sur la réunion de la Commission de la Variole et de la Vaccination. C. H. 533 (1927).
— (2) Organisation d'Hygiène. Rapport sur la réunion de la Commission de la Variole et de la Vaccination. C. H. (Variole) 739 (1927).
218. **SOITUZ**: Note préliminaire sur la production du virus vaccinal en Roumanie. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **31**, 1212 (1939).
219. **SORDELLI**, **FERRARI** u. **GVIRTZMAN**: Untersuchungen über die Reinigung und Stabilisierung des Pockenimpfstoffes. Rev. Inst. bacter. Dep. nac. Hig. B.-Air **9**, 542 (1940).
220. **SOREL**: Les cas de fièvre jaune dans les colonies françaises en 1939. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **33**, 301 (1941).
221. **STADLER**: Die Impfnarben als Indikatoren der Immunität gegen Variola und Vaccine. Veröff. Med.verw. **42**, 363 (1934).
222. **STERN**: Simultaneous immunization against small-pox and diphtheria. Amer. J. publ. Health **1935**, 1034.
223. **STEVENSON** and **BUTLER**: (1) Dermal strain of vaccinia virus grown on the chorio-allantoic membrane of chick embryos. Lancet **2**, 228 (1933).
— (2) Lympe vaccinale d'origine dermique exempte de bactéries, obtenue sur l'allanto-chorion de l'embryon de poulet. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **26**, 64 (1934).
— (3) Nouvelles expériences sur la lympe de membrane de poulet. Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par. **27**, 48 (1935).
— (4) Studies on the cultivation of vaccinia on the chorio-allantoic membrane of chick embryos. Rep. Minist. Health **1939**, Nr. 87.

224. VAN STOCKUM: Pockenschutzimpfung bei Säuglingen. *Kinderärztl. Prax.* **3**, 8 (1932).
225. SWIFT: A simple method for preserving bacterial cultures by freezing and drying. *J. Bacter. (Am.)* **33**, 411 (1937).
226. TANG and WEI: Morphological studies on vaccinia virus cultivated in the developing egg. *J. Path. a. Bacter. (Am.)* **45**, 317 (1937).
227. THOMAS: A comparison of reactions to dermovaccine and to neurovaccine for small-pox. *J. infect. Dis. (Am.)* **41**, 336 (1927).
228. THOMAS and BULL: The pressure vaccination technic. *J. amer. med. Assoc.* **88**, 1879 (1927).
229. TOGOUNOVA: Etudes sur le virus de la lympe vaccinale. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **27**, 1748 (1935).
230. TOGOUNOVA u. BAIDAKOWA: Die Züchtung des Variola-Vaccinevirus. *Z. Immunit.-forsch.* **82**, 450 (1934).
231. TOOMEY and HAUSER: Intradermal vaccination. *Amer. J. Dis. Childr.* **35**, 186 (1928).
232. TORELLO-CENDRA: La vaccination antivariolique par voie intradermique dans la pratique courante. *Rev. franç. Puéricult.* **4**, 42 (1936).
233. VAN DER SCHAAF: Sur l'influence des germes associés quant à la réaction vaccinale. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **25**, 1043 (1933).
234. VOIGT: Vaccine und Variola. *Dtsch. Vjschr. öff. Gesundh.pfl.* **1882**.
235. WALTHER: Pockenschutzimpfung im Heere. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **140**, 150 (1937).
236. WARD: Further notes on the filtration of the virus of vaccinia. *J. exper. Med. (Am.)* **50**, 31 (1929).
237. WARLOMONT: *Traité de la vaccine.* Paris, 1883.
238. WEIL and GALL: Studies on the immunization of rabbits with formalized vaccine virus. *J. Immunol. (Am.)* **38**, 1 (1940).
239. WEINDRACH u. SSIRNEW: Zur zweitägigen Pockenvaccine nach PASCHEN. *Dtsch. med. Wschr.* **1927**, 1939.
240. WRIGHT: Intradermal vaccination against small-pox. *J. amer. med. Assoc.* **71**, 654 (1918).
241. YAMADA: Experimental studies on the mechanism of vaccinal immunity. On the immunological significance of the filterable and non infective substances in vaccinal suspensions. *Jap. J. med. Sci., Bacter.* **1**, 227 (1940).
242. YAOI: (1) Sur la purification du vaccin antivariolique et l'application du vaccin purifié à la pratique. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **23**, 1807 (1931).
 — (2) On the purification of vaccine virus and subcutaneous vaccination. *Jap. J. exper. Med.* **12**, 123 (1934).
 — (3) Sur la lympe purifiée et son application. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **27**, 277 (1935).
 — (4) Sur les résultats de la vaccination hypodermique contre la variole avec la lympe purifiée. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **28**, 1933 (1936).
 — (5) On the subcutaneous vaccination by means of purified vaccine virus. *Jap. J. exper. Med.* **14**, 311 (1936).
 — (6) Experimental observation on simultaneous immunization against small-pox. *Jap. J. exper. Med.* **15**, 155 (1937).
 — (7) La vaccination sous-cutanée au moyen d'un virus vaccin purifié. *Paris méd.* **1938**, 127.
 — (8) Studies on the preservation of vaccine lymph. *Jap. J. exper. Med.* **16**, 117 (1938).
 — (9) On the protective substances for preservation of vaccine virus. *Jap. J. exper. Med.* **16**, 465 (1938).
 — (10) Combined active immunization against small-pox and typhoid-fever (experimental studies). *Jap. J. exper. Med.* **17**, 295 (1939).
243. YAOI and ARAKAWA: On the production of induration by subcutaneous small-pox vaccination in normal rabbits and significance in vaccinal immunity. *Jap. J. exper. Med.* **17**, 379 (1939).

244. YAOI, HIROSE and SUDZUKI: On the practicability of the combined active immunization against small-pox and typhoid fever (clinical studies). *Jap. J. exper. Med.* **17**, 305 (1939).
245. YAOI and KASAI: (1) Purification du virus vaccinal au moyen de l'adsorption par le Kaolin. *Bull. Off. internat. Hyg. publ., Par.* **23**, 229 (1923).
— (2) Further investigations on the filterability of vaccine virus. *Jap. J. exper. Med.* **7**, 241, 243, 389, 579 (1929).
— (3) A note on the purification of vaccinia virus. *Jap. J. exper. Med.* **11**, 383 (1933).
246. YAOI and NAKAHARA: Effect of short exposure to supersonic waves on vaccinia virus and some bacteria. *Jap. J. exper. Med.* **12**, 131 (1934).
247. YAOI et SUDZUKI: Vaccination antivariolique et antityphoidique combinée. *Paris méd.* **1940**, 79.
248. YLLPOE: *Duodecim (Helsingfors)* **41**, 739 (1925), cit. nach KIRSTEIN (113, 6).
249. ZEDERBAUER: Zur subcutanen Pockenschutzimpfung. *Münch. med. Wschr.* **1939**, 930.

B. Lyssa.

1. Die Veränderlichkeit und Vielheit der Virus-fixe-Stämme und ihre Bedeutung für die Impfstoffgewinnung.

Kein anderer Virusstamm wurde so lange — bis heute über 60 Jahre — unter gleichbleibenden Bedingungen auf derselben Tierspezies passiert und in periodischen Intervallen so gründlich auf seine Eigenschaften untersucht wie das Virus fixe von PASTEUR. In den ersten 1300 Passagen (1882—1927) zeigte dieser Stamm bekanntlich eine überraschend große Unveränderlichkeit, nicht nur hinsichtlich der Inkubationsdauer, die von der 270. Passage konstant 6 Tage betrug, sondern auch der klinischen Auswirkung (rein paralytische Wut), der histologischen Veränderungen (Fehlen der Negri-genese), der peripheren Haftfähigkeit (Verlust des subcutanen und meist auch intramuskulären Infektionsvermögens), der Infektiosität (Virustiter des Rückenmarkes 1:5000), der Resistenz gegenüber der Trocknung (konstante Infektiosität des 6tägig getrockneten Markes) und schließlich auch der Konservierungsdauer in Glycerin (erhaltene Infektiosität bis zu 30 Tagen). Diese weitgehend fixierten Eigenschaften des PASTEURSchen Virus erlaubten denn auch die Anwendung von standardisierten Abschwächungsverfahren (Trocknung, Verdünnung, Ätherbehandlung) und Konservierungsmethoden.

Die ersten Anzeichen von eindeutigen *Virusveränderungen* wurden zunächst bei den zahlreichen Zweigstämmen des Pariser Virus, dann aber auch beim Originalstamm selbst beobachtet. Die festgestellten Virusveränderungen zeigen meist den Charakter einer extremen Abwandlung des Virus fixe im Sinne einer gesteigerten, elektiven Anpassung an das Kaninchenhirn bzw. eines zunehmenden Affinitätsverlustes für das periphere Nervensystem oder das Rückenmark, und können sich äußern 1. in einer weiteren *Verkürzung der Inkubationsdauer* auf 5, 4 und 3 Tage (168, 6, 130, 1, 15, 38, 1, 2), 2. in einer stark *erhöhten Infektiosität des Kaninchenhirns*, das einen Virustiter von 1:100000—1000000 erreichen kann (160, 4, 157, 8, 11, 12, 130, 1, 50, 2, 168, 6, 24), 3. im völligen oder partiellen *Verlust der intraokulären Haftfähigkeit* (148, 4, 157, 3, 139, 8) bzw. der *Neuroprobasis* (100, 3), 4. in der *gesteigerten Ätherresistenz des Gehirnvirus* einerseits (156, 8, 160, 2, 157, 11, 113, 38, 1, 2) und der *vermehrten Empfindlichkeit des Markvirus gegenüber der Trocknung* (156, 11, 157, 10, 12, 139, 1, 97, 100, 3, 56, 113, 38, 1, 2) oder der *Glycerineinwirkung* (156, 12, 15, 161, 157, 12, 139, 1, 51, 100, 3, 38, 1, 2) anderseits.

Weitaus seltener wurde beobachtet, daß der Virus-fixe-Stamm von PASTEUR nachträglich Eigenschaften wiedererlangt, die sonst für Straßenwutstämme charakteristisch sind, d. h. wie die Stämme Sassari (Fermi) und Odessa [(PALAWANDOW und SEREBRENNAJA (130, 1)] subcutanes Haftvermögen aufweist, oder, wie dies für den Stamm Sassari (102, 1) und den Zweigstamm von Tunis (105) nachgewiesen ist, die Bildung von NEGRISCHEN Körperchen bewirkt. Retrograde Virusveränderungen ähnlicher Art sind bekanntlich auch im kurzfristigen Experiment, nämlich durch rasch aufeinanderfolgende Meerschweinchengehirnpassagen [SCHWEINBURG (168, 3)], alternierende Speicheldrüsen-Gehirmpassagen [BUSSON (20, 2)] bzw. Ischiadicuspassagen beim Kaninchen [NICOLAU und KOPCIOWSKA (119, 3)] oder schließlich durch die intracaudale Verimpfung von Virus-fixe-Stämmen auf passiv immunisierte Mäuse [PROCA und JONNESCO (145)] wiederholt gelungen.

Selbst hinsichtlich ihrer *Kaninchenpathogenität* verhalten sich nicht alle Zweigstämme des PASTEURSchen Virus gleichartig, da Virus-fixe-Stämme vorkommen, die nicht paralyisierende, sondern ausgesprochen encephalitogene Eigenschaften aufweisen (160, 3).

Die Veränderlichkeit des Virus fixe von PASTEUR steht demnach außer Zweifel. Sowohl der Originalstamm als auch die meisten Zweigstämme zeigten nach ungefähr 1500 Passagen eine Reihe gleichsinniger Veränderungen, die nun aber bei den einzelnen Stämmen zu ungleicher Zeit, in unterschiedlichem Tempo, in verschiedenem Grad und ungleicher Häufigkeit in Erscheinung traten, so daß wohl nicht nur die Anzahl der Passagen, sondern auch örtlich bedingte Faktoren (Kaninchenrasse, Passage- und Konservierungstechnik usw.) von ursächlicher Bedeutung sind [vgl. GRYSEZ (55, 2)].

Eine Veränderung der *antigenen Qualität* im Sinne eines verminderten immunisierenden Vermögens wurde bei den Stämmen von Pariser Provenienz bisher nicht beobachtet (139, 4, 99, 4). Vielmehr scheint festzustehen, daß das PASTEURsche Virus und seine Zweigstämme, trotz der hohen Anzahl von durchlaufenen Passagen, hinsichtlich der immunisierenden Qualität den meisten übrigen Virus-fixe-Stämmen anderer Herkunft deutlich überlegen sind (177, 7, 35, 2, 171, 173, 99, 4, 58, 57, 2). Nach ANDO (2) verdienen Stämme mit kurzer Inkubation als immunisierende Antigene den Vorzug, da dieselben eine raschere Antikörperbildung bewirken sollen. Auch HABEL (57, 2) vertritt die Meinung, daß die Dauer der Inkubation auf das immunisierende Vermögen von Virus-fixe-Stämmen von Einfluß ist; die besten Immunisierungserfolge ergaben Stämme mit der üblichen Inkubation von 5—7 Tagen, wogegen Stämme mit noch kürzerer Inkubation eher schlechter immunisierten.

Daß die genaue Kenntnis der jeweiligen Stammeseigenschaften, die der Veränderung unterworfen sind (Infektiositätstiter, periphere Haftfähigkeit, Verhalten gegen Trocknung, Glycerin, Äther, Phenol), für die Herstellung von wirksamen und unschädlichen Impfstoffen eine unbedingte Voraussetzung ist, bedarf kaum eines Kommentars. So ist einleuchtend, daß die klassische *Methode der Impfstoffgewinnung nach PASTEUR* für Passagestämme mit herabgesetzter Resistenz gegen Trocknung und Glycerin derart modifiziert werden muß, daß die Trocknungszeit auf wenige — maximal vier — Tage verkürzt [vgl. LÉPINE und CRUVEILHIER (100, 2)], und die Konservierung des getrockneten Markes in Glycerin nicht über 8—10 Tage ausgedehnt wird [vgl. REMLINGER (156, 12)]. Fernerhin besteht die Möglichkeit, auf die Trocknung überhaupt zu verzichten und das frische Mark durch die unterschiedlich lange Lagerung in Glycerin auf den jeweils erwünschten Grad abzuschwächen [ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 1), REMLINGER (156, 16), GRYSEZ (55, 1)]. Schließlich könnte sich auch für die

PASTEURSche Methode die Notwendigkeit ergeben, an Stelle des schwach infektiösen Rückenmarkes das bedeutend virusreichere Kaninchengehirn als Ausgangsmaterial zu verwenden [LÉPINE (99, 4)].

Die gesteigerte Infektiosität und Ätherresistenz, die das Kaninchengehirn bei zahlreichen alten Passagestämmen angenommen hat, erfordert ebenfalls eine Abänderung der ursprünglichen Vorschriften. Die von HÖGYES angegebenen Virusverdünnungen und die von REMLINGER, ALIVISATOS und HEMPT zur graduellen Virusabschwächung empfohlenen Äthereinwirkungszeiten müssen jeweils der festgestellten Infektiosität und Ätherresistenz angepaßt, d. h. in vielen Fällen erhöht bzw. verlängert werden. Ein Verharren in den früher noch gültigen Regeln hätte zur Folge, daß häufig völlig ungenügend abgeschwächte Impfstoffe hergestellt würden. REMLINGER (156, 26, 27, 29) vertritt denn auch die Meinung, daß die unverhältnismäßig große Frequenz von Impfparalysen, die das HÖGYES-Verfahren aufweist, zum großen Teil auf die völlig unzureichende Verdünnung der Impfstoffe zurückzuführen ist.

Bei der Herstellung von *phenolisierten Impfstoffen* sollte die jeweilige *Phenolresistenz* des verwendeten Stammes ebenfalls in Vorversuchen geprüft werden; dieselbe schwankt — wie HABEL (57, 2) feststellte — bei den verschiedenen Virus-fixe-Stämmen erheblich und hat insofern Bedeutung, als Stämme mit höherer Phenolresistenz im allgemeinen auch besser immunisieren.

Fixierte Virusstämme, die ihre *subcutane Haftfähigkeit* bei der cerebralen Dauerpassage nicht verlieren oder nachträglich wiedererlangen, sind wohl nur für die Herstellung von inaktivierten Impfstoffen geeignet.

Ebenso sollten Stämme, die *encephalitogene Eigenschaften* angenommen haben, als Impfstoffe nicht verwendet werden. Nach REMLINGER (160, 3) erzeugen derartige Stämme bei der Immunisierung von Hunden auffallend häufig letal verlaufende Paralysen.

Die verschiedenen Virus-fixe-Stämme sind demnach keineswegs durch einheitliche und konstant bleibende Eigenschaften charakterisiert. Vielmehr ergibt sich je nach der Provenienz und der unterschiedlichen Art der Fixierung eines Stammes sowie durch die ungleichartige Abwandlung von bereits fixierten Original- und Zweigstämmen eine ähnliche Vielheit von Virusstämmen, wie eine solche auch für das Straßenwutvirus nachgewiesen ist. Die Eruierung und periodische Kontrolle der jeweiligen Stammeseigenschaften ist — wie bereits die Internationale Lyssakonferenz in Paris vom Jahre 1927 feststellte — die dringliche Aufgabe jedes Impfinstitutes. Solche Stammesprüfungen erlauben nicht nur die Auswahl geeigneter Impfstämme, sondern ermöglichen auch erst die einwandfreie Anwendung der in Betracht kommenden Abschwächungs-, Inaktivierungs- und Konservierungsverfahren.

2. Die Impfstoffgewinnung.

a) Fixierung von Straßenwutstämmen.

Die Abwandlung von Straßenvirus in Virus fixe durch fortgesetzte Gehirnpassagen bei Kaninchen bzw. Hunden (109, 3, 40, 7, 77, 1, 2), Schafen (83, 171, 28), Affen (176) und anderen Tierspezies hat bekanntlich für die Impfstoffgewinnung eine dreifache *Bedeutung*: 1. Virus fixe kann im Gegensatz zum Straßenvirus jederzeit beschafft werden; 2. die weitgehend konstanten Eigenschaften des Virus fixe erlauben — unter den bereits erwähnten Einschränkungen — die Anwendung von standardisierten Impfstoffverfahren; 3. die herabgesetzte bzw. mangelnde periphere Haftfähigkeit und verminderte Neuroprobasie des Virus fixe ermöglichen die subcutane Immunisierung mit aktivem Virus.

Die *Fixierbarkeit* von Straßenwutvirus ist bekanntlich je nach *Provenienz und Pathogenität der Stämme* sehr unterschiedlich (69, 2, 104, 177, 7, 2, 101). Bei Stämmen mit initial hoher Kaninchenpathogenität (Virus de rue renforcé) ist die Inkubation bereits in den ersten Passagen auf wenige Tage fixiert; Stämme von „mittlerer Virulenz“ fixieren sich erst — wie PASTEUR erstmalig nachwies — im Verlauf von Dauerpassagen, und natürlich abgeschwächte Stämme [Virus de rue attenué (157, 2)] können oft nur mit Mühe oder überhaupt nicht fixiert werden. Diese Einteilung der Straßenwutstämme nach ihrer Abwandlungsfähigkeit zu Virus fixe (104, 177, 7) berücksichtigt nun aber nur die Verkürzung der Inkubationsperiode und läßt die übrigen, für ein fixiertes Virus charakteristischen Merkmale (Verlust der peripheren Haftfähigkeit, Neuroprobasie usw.) außer Acht. Die verkürzte und fixierte Inkubation allein ist nun aber sicher kein untrügliches Anzeichen einer echten und vollständigen Virusfixierung. So ist durchaus fragwürdig, ob Stämme von Virus renforcé wirklich so rasch zu Virus fixe abgewandelt werden; LÉPINE, MATHIS und SAUTTER (101) vertreten im Gegenteil die Ansicht, daß hochvirulente Straßenvirusstämme der Fixierung besonders widerstehen. Auch trifft die Angabe, wonach natürlich abgeschwächte Stämme auffallend schwer zu fixieren sind, wohl keineswegs allgemein zu. Nach REMLINGER und BAILLY (157, 21) sind derartige Stämme — im Gegensatz zum Virus renforcé — in hohem Grade abwandlungsfähig, und von LEVADITI, NICOLAU und SCHOEN (104) und NICOLAU, MATHIS und CONSTANTINESCO (120) wurde nachgewiesen, daß auch die lange bestrittene Fixierung von Oulou-Fato-Virus durchaus möglich ist. Im allgemeinen gilt daher wohl die Regel, daß jeder Virusstamm über zahlreiche — mindestens 50 — Passagen geführt werden muß, um die Eigenschaften eines für die Impfung ausreichend fixierten Virus zu erlangen.

Der Vorgang der Virusfixierung wird nun aber nicht nur durch die unterschiedliche Qualität der Virusausgangsstämme, sondern auch durch die *Artzugehörigkeit, das Alter und die Konstitution der zur Viruspassage verwendeten Tierspezies* beeinflusst. So sind Straßenvirusstämme anscheinend — als Kriterium diente wiederum die Verkürzung der Inkubationsperiode — viel rascher zu fixieren, wenn als Passagetierte nicht Kaninchen, sondern Meerschweinchen (BABÈS) oder Katzen (DE BLASI und RUSSO TRAVALI) verwendet werden, und HÖGYES stellte fest, daß die Virusfixierung durch die Passage auf jungen, noch nicht ausgewachsenen Kaninchen wesentlich beschleunigt wird. Daß auch konstitutionelle Eigenschaften der Passagetierte für die Virusfixierung von Bedeutung sind, geht aus einigen interessanten Beobachtungen hervor, wonach sich ein und derselbe Straßenvirusstamm in doppelt geführten Kaninchenpassagen in unterschiedlicher Weise abwandelt bzw. in zwei verschiedenartige Virus-fixe-Stämme aufspalten kann. Derartige parallel geführte Passagestämme können sich voneinander in mehrfacher Hinsicht unterscheiden: 1. der eine Stamm fixiert sich, der andere nicht [HELMAN (64, 1)]; 2. die beiden Stämme fixieren sich zu ungleicher Zeit und auf eine unterschiedlich lange Inkubationszeit [LEVADITI, LÉPINE und SCHOEN (103), NICOLAU, MATHIS und CONSTANTINESCO (120)]; 3. beim einen Stamm bleibt das Vermögen zur Bildung von NEGRISCHEN Körperchen erhalten, beim anderen geht diese Eigenschaft rasch verloren [CORRIA (26), VIRGA (186)]. Die Tendenz eines noch nicht fixierten Straßenwutstammes, sich in verschiedenen Passagereihen in ungleichartiger Weise abzuwandeln, steht in völliger Parallele mit der verschiedenartigen Entwicklung, die ein längst fixiertes Virus in seinen Zweigstämmen aufweisen kann (vgl. S. 401). Die Vielheit der Virus-fixe-Stämme ergibt sich demnach nicht nur aus den ungleichen Qualitäten bzw. Fixierungspotenzen verschiedener Straßenvirusstämme, sondern auch durch die unter-

schiedliche Abwandlung ein und desselben Straßenwut- oder Virus-fixe-Stammes in verschiedenen Passagereihen.

Die Frage, ob zwischen den verschiedenen Straßenwut- und den abgeleiteten Virus-fixe-Stämmen in jedem Fall eine *immunologische Identität* besteht, wurde zuerst von PUNTONI (148, 2, 7) zur Diskussion gestellt. Auf Grund von gekreuzten Immunitätsversuchen, in welchen mit Virus fixe immunisierte Kaninchen und Hunde gegenüber bestimmten Straßenwutstämmen nicht geschützt waren — ein Befund der späterhin von SCHOENING (167, 1) bestätigt wurde —, neigt PUNTONI zur Annahme der immunologischen Pluralität der Straßenwutstämmen. Nach einer Mitteilung von TEODORASCU (179, 3) wäre auch das gelegentliche Versagen der menschlichen Schutzimpfung auf die immunologische Verschiedenartigkeit zwischen Virus fixe und bestimmten Straßenwutstämmen zurückzuführen; von vier schwer gebissenen Personen, die trotz intensiver Schutzbehandlung einer Straßenwutinfektion erlagen, konnten zwei Virus-renforcé-Stämme („Chisinau-Stämme“) isoliert werden, die im gekreuzten Immunitätsversuch mit dem zur Impfung verwendeten Virus-fixe-Stamm anscheinend nicht die geringste immunologische Verwandtschaft aufwiesen. Dieser Befund wird nun aber durch eine Nachprüfung von REMLINGER und BAILLY (157, 7), die zwischen dem Stamm Chisinau und dem Virus fixe von Tanger eine völlige gekreuzte Immunität nachweisen konnten, entwertet.

Die Hypothese der immunologischen Verschiedenartigkeit natürlich vorkommender Lyssavirusstämme basiert demnach nur auf wenigen und keineswegs gesicherten Beobachtungen. Allein die Erfahrungstatsache, daß sämtliche bisher isolierten, atypischen Stämme vom Typus des „Virus renforcé“ oder „attenué“ — wie das Virus Koritschoner (168, 2, 94), Encephalitisvirus von KOBAYASHI (29), herpesähnliche Virus D. K. (119, 1), Virus der südamerikanischen Lyssa der Rinder (92, 1, 2), Trinidadvirus (73, 1, 2) und Virus des Oulou-Fato (158) — im gekreuzten Neutralisationstest bzw. Immunitätsversuch als dem Lyssavirus zugehörig identifiziert werden konnten, spricht schon eindeutig gegen die Vielheit immunologisch distinkter Virustypen. Wie REMLINGER und BAILLY (157, 7) hervorgehoben haben, ist diese immunologische Gleichartigkeit von Virusstämmen, die hinsichtlich ihrer Pathogenität so große Unterschiede aufweisen, sogar besonders bemerkenswert und überraschend. Nichtsdestoweniger dürfte feststehen, daß die verschiedenen Lyssastämme in ihrem antigenen Bestand variieren. So scheint aus den serologischen Untersuchungen von HAVENS und MAYFIELD (63, 1—3) hervorzugehen, daß zwar allen Straßenwutstämmen ein gemeinsames Antigen, dessen mengenmäßiger Anteil am antigenen Mosaik nun aber von Stamm zu Stamm unterschiedlich ist, zukommt. Diese Unterschiede scheinen sich jedoch bei der Virusfixierung weitgehend auszugleichen. Fernerhin ist bekannt, daß nicht alle Straßenwutstämmen gleich gut immunisieren. So sind Virusstämme von auffallend geringer antigener Wirksamkeit wiederholt festgestellt worden [REMLINGER und BAILLY (157, 7), STUART und KRIKORIAN (177, 7), HURST und PAWAN (73, 1, 2)]; derartige Stämme bewirken entweder keine Antikörperbildung (157, 7) oder immunisieren nur in unzureichendem Grade gegen Virus fixe (177, 7, 73, 1, 2) und können daher leicht einen Mangel an gekreuzter Immunität vortäuschen.

Die bisher nachgewiesenen, keineswegs durchgreifenden antigenen Stammesunterschiede vermögen die gelegentlichen Mißerfolge bei der menschlichen Schutzimpfung sicher nicht zu erklären und rechtfertigen daher auch keineswegs die von verschiedener Seite [PUNTONI (148, 2, 7), BEHAMS,¹ PALAWANDOW und

¹ Cit. nach KRAUS, GERLACH und SCHWEINBURG.

SEREBRENNAJA (130, 2)] vorgeschlagene Herstellung von polyvalenten Impfstoffen oder — für die Immunisierung von Hunden — von Autovaccinen.

b) Virusbeschaffung durch Dauerpassagen fixierter Virusstämme.

Die Weiterführung von bereits fixierten Stämmen und die Gewinnung des zur Impfstoffherstellung erforderlichen Virusmaterials erfolgt bekanntlich durch cerebrale Wirtspassagen oder — noch ausnahmsweise — durch die Züchtung in Explantaten von embryonalem Gehirngewebe. Als Passagetiere und Virusspender werden am häufigsten *Kaninchen*, gelegentlich aber auch *Schafe* (83, 171, 28), *Affen* (176), zur Hundeimmunisierung auch *Kälber* bzw. *Pferde* (75) und *Hunde* (40, 7, 156, 6, 188, 1, 3) verwendet. Die Wahl der virusspendenden Tierart richtet sich nach deren Beschaffbarkeit und nach der Größe des Impfstoffbedarfes; maßgebend ist oft auch — namentlich für die Herstellung von inaktivierten Impfstoffen — der Virusgehalt des Gehirns, der nach den Feststellungen von WEBSTER und CASALS (188, 1) bei den einzelnen Tierarten sehr unterschiedlich ist.¹ Die außerordentlich günstigen Immunisierungserfolge, die VAN STOCKUM (176) mit einem Formolimpfstoff aus Affengehirn, und WEBSTER und CASALS (188, 1) mit einem durch Ultraviolettbestrahlung inaktivierten *Mäuse- bzw. Hundegehirnvirus* erzielten, sind wohl größtenteils auf den Virusreichtum dieser Tiergehirne zurückzuführen. Wie DAWSON (37, 1, 2) feststellte, ist auch das Gehirn von intracerebral injizierten *Hühnerembryonen* außerordentlich virusreich und könnte daher ebenfalls zur Herstellung von Impfstoffen verwendet werden. Von besonderem Interesse ist die von DAWSON (37, 2) gemachte Beobachtung, wonach im embryonalen Hühnergehirn lange passiertes Virus seine Pathogenität für Kaninchen in zunehmendem Maße einbüßt, bzw. so weit abgeschwächt wird, daß Kaninchen auch subdural immunisiert werden können.

Ob das *Rückenmark*, das *Gehirn* oder beide zentralnervösen Gewebe zusammen zu Impfstoffen verarbeitet werden, hängt von der Art des Impfstoffverfahrens ab; bei den Originalmethoden von PASTEUR und HÖGYES wird bekanntlich nur das Mark, bei den übrigen Abschwächungs- und Inaktivierungsverfahren dagegen das Gehirn — eventuell auch gleichzeitig das Rückenmark — verwendet. Die zunehmende Bevorzugung des Gehirns als Ausgangsmaterial ist insofern gerechtfertigt, als das Gehirn einen beträchtlich größeren Virusgehalt als das Rückenmark aufweist und daher zur Herstellung von inaktivierten Impfstoffen einzig geeignet ist. Auch beim PASTEUR-Verfahren ist die weitere Verwendung von Rückenmark dadurch in Frage gestellt, daß das Markvirus — bei einer Großzahl von alten Passagestämmen — gegenüber der Trocknung und Glycerineinwirkung in zunehmendem Maße labiler wird, so daß die Trocknungs- und Konservierungszeiten ständig verkürzt werden müssen (vgl. S. 410, 411).

Die Möglichkeit der Verwendung von *Kulturimpfstoffen* wurde von WEBSTER (187, 3, 68, 188, 3) und KLIGLER und BERNKOPF (84, 1, 2, 14) untersucht; mit *Virus fixe*, das in Explantaten von embryonalem Mäuse-, Ratten- und Hühnergehirn gezüchtet und durch Bestrahlung bzw. Formol inaktiviert wurde, konnten Mäuse, Kaninchen und — bei Verwendung von unverhältnismäßig großen Dosen — auch Hunde wirksam immunisiert werden. Für die Schutzimpfung von Hunden und Menschen kommen jedoch derartige Kulturimpfstoffe zufolge ihres noch unzureichenden Virusgehaltes einstweilen nicht in Betracht (188, 3).

¹ WEBSTER und CASALS (188, 1) ermittelten für ihren Passagestamm einen Virusgehalt (cerebral letale Mäusedosen pro 1 ccm) von 330 000 für Kaninchen-, 3 000 000 für Meerschweinchen- und von 33 000 000 für Mäuse- und Hundegehirn.

c) Konservierung des Stamm- und Impfvirus.

Für die Erhaltung des Stammvirus außerhalb des Tierkörpers und die Aufbewahrung von Impfstoffen, die aktives Virus enthalten, stehen eine Reihe von Konservierungsverfahren zur Verfügung:

α) Immersion in Glycerin.

Das älteste und zugleich noch immer am häufigsten angewendete Konservierungsmittel ist das von ROUX (1887) empfohlene und von CALMETTE (1891) in die Praxis eingeführte Glycerin von 30° Bé.

Die konservierende Wirkung ist von einer Reihe von Faktoren abhängig, nämlich a) von der *Glycerinkonzentration*; konzentriertes Glycerin wirkt dehydrierend und somit auch virusschädigend. Nach Pasteur getrocknete Marksegmente werden daher nach ROCHAIX (161) am besten in verdünntem, 50%igem Glycerin konserviert; b) vom *Säuregrad*; die Notwendigkeit der Verwendung von neutralem Glycerin wurde bereits von ROUX (164, 1) erkannt und durch die Untersuchungen von KOLDAJEW und PIKUL (86), nach welchen das Lyssavirus in einem pH-Bereich von 6,9—7,0 die größte Stabilität besitzt, weiterhin erhärtet. Es empfiehlt sich daher, das sauer reagierende Glycerin mit Phosphatpufferlösung auf neutrale Reaktion einzustellen; c) von der *Konservierungstemperatur*; mit zunehmender Temperatur nimmt die Virus-schädigung zu [ROUX (164, 1), PROTOPOPOFF (147, 3), PUNTONI (148, 9), GRYSZ (55, 1)]; niedere Aufbewahrungstemperaturen, die +6° C nicht überschreiten, sind daher angezeigt; d) vom *Luftzutritt*; unter anaeroben Verhältnissen kann die Konservierung in Glycerin verlängert werden [PHILLIPS (136), ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 2)].

Über die Zeitdauer, während welcher virushaltige Organstücke in neutralem Glycerin bei niederen Temperaturen konserviert werden können, entscheidet vor allem der *Virusgehalt des Gewebes*. Das virusreiche *Passagegehirn* erweist sich — je nach der Infektiosität des verwendeten Virus-fixe-Stammes — nach 240 bis 900 Tagen noch als infektiös [RODET und GALAVIELLE (163, 2), PHILLIPS (136), REMLINGER (156, 15, 157, 9), STUART und KRİKORIAN (177, 3), SCHWEINBURG (168, 6)]. Wie REMLINGER (156, 15) feststellte, sind Passagegehirne, die in toto oder in möglichst großen Stücken in Glycerin eingelegt werden, am längsten konservierbar, ein Umstand, der sich dadurch erklärt, daß die virusschädigende Wirkung des Glycerins von der Peripherie nach dem Zentrum des Organstückes nur langsam fortschreitet, so daß die zentralen Gewebsbezirke auch am längsten infektiös bleiben (147, 3, 163, 2, 156, 15, 128). Die Konservierbarkeit des weitaus virusärmeren *Kaninchenrückenmarkes*, das der Glycerineinwirkung außerdem eine unverhältnismäßig größere Angriffsfläche bietet, ist dagegen zeitlich eng begrenzt und wird durch eine vorgängige PASTEURSche Trocknung erwartungsgemäß noch weiter verkürzt. Die ursprünglichen Angaben von ROUX (164, 1) und CALMETTE (21), wonach sich frisches Markvirus bis zu 30 Tagen und 2—7tägig getrocknete Marksegmente während mindestens 14 Tagen ohne wesentliche Einbuße an Infektiosität konservieren lassen, besitzen — wie REMLINGER (156, 12, 15) erstmalig feststellte — für die heutigen, älteren Passagestämme keine allgemeine Gültigkeit mehr. Bei einer größeren Anzahl von Stämmen wurde nämlich nachgewiesen, daß das Markvirus in frischem Zustand bereits zwischen dem 15. und 30. Tag der Glycerinkonservierung seine Infektiosität verliert [REMLINGER (156, 15), ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 3) LÉPINE (99, 1)] und nach vorgängiger 2—3tägiger Trocknung sogar schon zwischen dem 8. und 15. Tag inaktiv wird [REMLINGER (156, 12), ROCHAIX (161), PLANTUREUX (139, 1)]. Diese gesteigerte Labilität des Markvirus, die übrigens nicht bei sämtlichen Passagestämmen festgestellt wurde [HERRMANN (66, 3), BURNET (19, 1)], ist wohl die Folge einer

zunehmenden Virusverarmung des Rückenmarkes bei hochgradig an das Kaninchengehirn angepaßten Passagestämmen.

Die Leistungsfähigkeit der Glycerinkonservierung ist demnach — je nach der Verwendung von Gehirn- oder Markvirus — unterschiedlich groß; für die Aufbewahrung von Passagegehirnen genügt die durchschnittliche einjährige Konservierungsdauer allen praktischen Anforderungen; dagegen ist die kurze, oft nur auf wenige Tage befristete Konservierungsmöglichkeit von nach PASTEUR getrockneten Marksegmenten unbefriedigend.

Sämtliche Bestrebungen, das Glycerin durch andere Konservierungsmittel — formolisiertes bzw. phenolisiertes Serum (139, 1, 157, 1), Phenolkochsalzlösung (128), Olivenöl (54, 1, 3, 19, 1, 79, 3, 156, 17), Kampheröl (156, 18), Gomenolöl (156, 18), Paraffinöl (79, 3), Gelatine und Agar (19, 1) — zu ersetzen, führten bisher zu keinen praktisch brauchbaren Resultaten oder vermochten sich zumindest nicht einzubürgern. Dagegen können einige dieser Mittel, wie das formolisierte bzw. phenolisierte Serum [PLANTUREUX (139, 2)] oder das Phenol [OLÁH (128)] anscheinend mit Vorteil als Zusätze zu verdünntem Glycerin verwendet werden.

β) Kältekonservierung.

Die Möglichkeit, virushaltiges Gehirn und Rückenmark durch einfaches Einfrieren im Tiefkühler bei -7° bis -11° C über längere Zeit zu konservieren, steht durch die Untersuchungen von VIALA (185), PUNTONI (148, 9), STUART und KRIKORIAN (177, 3), REMLINGER und BAILLY (157, 9, 16) und LÉPINE (99, 1) außer Zweifel. Werden Feuchtigkeitsverluste der eingefrorenen Organstücke — durch deren Verwahrung in hermetisch verschlossenen Gefäßen bzw. in physiologischer Kochsalzlösung — vermieden, so können Passagegehirne bis zu 25 Monaten [REMLINGER und BAILLY (157, 9)], frisches Mark über 70 Tage [LEPINÉ (99, 1)] und 2- bzw. 3tägig getrocknetes Mark 85 bzw. 20 Tage [MILLISCHER und MARTEAU (112)] ohne nennenswerten Infektiositätsverlust aufbewahrt werden. Für die Konservierung von Passagegehirnen bietet demnach die Gefriermethode — im Vergleich zur Glycerinimmersion — kaum einen Vorteil — nach REMLINGER und BAILLY (157, 9) wäre sogar die Konservierungszeit von eingefrorenen Passagegehirnen wesentlich kürzer —; virushaltiges Rückenmark wird dagegen durch das Einfrieren bedeutend länger konserviert und außerdem nicht — wie durch längere Glycerineinwirkung — durch Gewichtsverlust und Härtung in nachteiliger Weise verändert. Nach REMLINGER und BAILLY (157, 16) könnte jedoch die Kältekonservierung von Markvirus erst dann für die praktische Anwendung in Betracht gezogen werden, wenn die Frage abgeklärt wäre, ob das Mark vor oder nach der Trocknung eingefroren werden soll, wobei in jedem Fall der Einfluß des Einfrierens auf die Qualität des PASTEURSchen Impfstoffes noch näher untersucht werden müßte. Die Berechtigung dieses Einwandes erhellt aus der von MILLISCHER und MARTEAU (112) gemachten Beobachtung, wonach getrocknetes und dann gefrorenes Markvirus bei Kaninchen auffallende Erregungszustände auslöst.

γ) Konservierung durch Trocknung.

Daß die Schnelltrocknung von fein verteiltem Gehirn- und Rückenmarkvirus ein sehr geeignetes Konservierungsverfahren darstellt, ist durch die Untersuchungen von VAN STEENBERGHE (184), HARRIS (59, 1—3, 60), BARONI (10) und REMLINGER und Mitarbeiter (157, 18, 19, 159) erwiesen. Für einen optimalen Konservierungseffekt ist erforderlich, daß in möglichst kurzer Zeit eine völlige Trocknung erreicht und das getrocknete Material vor jedem nachträglichen Luft- und Feuchtigkeitszutritt geschützt wird. Unter diesen Bedingungen

behält auch Markvirus während mindestens 3—4 Monaten — falls die Trocknung im gefrorenen Zustand nach HARRIS erfolgt, wohl noch wesentlich länger — seine volle Infektiosität bei. Derartige Trockenkonserven besitzen auch den Vorteil einer stark erhöhten Thermostabilität; VAN STEENBERGHE vermochte getrocknetes Virus bei einer Temperatur von 23° C über 9 Monate infektiös zu erhalten, und REMLINGER und BAILLY beobachteten, daß selbst die kurze Erhitzung auf über 100° C keine Zerstörung des Virus zur Folge hat. Die praktische Anwendung der Viruskonservierung durch Trocknung dürfte für die Impfstoffherstellung nach HÖGYES am ehesten in Frage kommen.

Die *Konservierung von inaktivierten Antigenimpfstoffen* macht im allgemeinen keine Schwierigkeiten; Phenol- und Formolimpfstoffe können bekanntlich bei kühler Aufbewahrung noch nach mehreren, durchschnittlich 3—4 Monaten verwendet werden.

d) Abschwächung und Inaktivierung des fixierten Virus.

Die herabgesetzte bzw. aufgehobene periphere Haftfähigkeit verleiht dem Virus fixe bereits die Eigenschaft eines abgeschwächten und weitgehend ungefährlichen Impfstoffes. Beweisend hierfür sind die zahlreichen Tierversuche, in welchen Hunde (132, 2, 64, 2, 156, 2) und Affen (64, 2, 110, 4) subcutan — letztere auch intramuskulär — mit großen Virusdosen schadlos vorbehandelt werden konnten, und die wiederholt an Menschen gemachte Beobachtung, wonach die subcutane (41, 124, 1, 156, 10), intramuskuläre (146, 1, 79, 2) und intravenöse (91) Einverleibung beträchtlicher Mengen von unabgeschwächtem Virus fixe keine Infektion zur Folge hat. Die von FERRAN (41), MARX (110, 4), WYSOKOWICZ (91), NITSCH (124, 1), PROESCHER (146, 1, 2) u. a. vertretene Ansicht, daß die subcutane Applikation von frischem bzw. vollinfektiösem Virus fixe für den Menschen stets ungefährlich ist, führte denn auch zu den von FERRAN (41), PROESCHER (146, 2) und HARRIS (59, 4) empfohlenen „supra-intensiven“ Impffverfahren, in welchen auf jede künstliche Virusabschwächung verzichtet wird.

Gegen die Anwendung von vollvirulentem oder auch nur ungenügend abgeschwächtem Virus fixe zur menschlichen Impfung sprechen nun aber eindeutig die zwar seltenen, aber sichergestellten Fälle von Impflyssa — „Rage de laboratoire“ — (BAREGGI, FRANÇA, KOZEVALOW, VAN GENDEREN, JONESCO, BOECKER, BUSSON, NEUFELD, MCKENDRICK, REMLINGER¹). Die gelegentliche Menschenpathogenität von Virus fixe kann nun kaum überraschen, da das Vermögen zur Neuroprobasis und subcutanen Haftfähigkeit auch bei hinreichend fixierten Virusstämmen nicht völlig aufgehoben ist, sondern zumindest — wie die erfolgreichen Reversionsversuche lehren — potentiell erhalten bleibt. Nach BUSSON (20, 3) und REMLINGER (156, 27) müßte außerdem mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß fixierte Virusstämmen in Abhängigkeit von klimatischen, jahreszeitlichen und atmosphärischen Einflüssen periodische Virulenzschwankungen aufweisen. Unter diesen Umständen können Injektionstraumen, bei denen Nervenfasern verletzt bzw. Nervenendigungen freigelegt werden, oder auch — wie allgemein angenommen wird — eine besondere zentralnervöse Disposition des Impflings leicht verhängnisvoll werden. Die Berechtigung und Notwendigkeit der künstlichen Abschwächung bzw. Inaktivierung von Virus fixe kann demnach nicht in Zweifel gezogen werden.

Die zahlreichen *Methoden* unterscheiden sich 1. nach der Art der verwendeten *Abschwächungsmittel*; zur Anwendung kommen physikalische, immunbiologische

¹ Vgl. die Übersichten von REMLINGER (156, 24, 27, 28), SIMON (174), FIELDER (42), PELSER (133), MARIE (109, 6).

und chemische Verfahren; 2. hinsichtlich der *Intensität der Virusabschwächung*. Die älteren Methoden gehen sämtliche von der PASTEURSchen Annahme aus, wonach eine wirksame Immunisierung nur mit infektiösem Virus zu erreichen ist, und erstreben daher — meist unter Anwendung physikalischer Abschwächungsmittel — die Herstellung von Impfstoffen abgestufter Infektiosität. Die neueren Verfahren basieren dagegen auf der Erkenntnis, daß der Immunisierungseffekt nicht unbedingt an die erhaltene Infektiosität gebunden ist, und verwenden daher Impfstoffe, die durch die Einwirkung geeigneter Chemikalien auf einen bestimmten Grad von Inaktivität eingestellt sind. Eine scharfe Trennung in Infektions- und Antigenimpfstoffe ist nun aber kaum möglich, da einerseits Impfstoffe, die sicher aktives Virus enthalten, bei der üblichen subcutanen Applikation wohl nur ausnahmsweise infektiös sind und daher ebenfalls nur antigene Wirksamkeit entfalten und andererseits der völlige Verlust an Infektiosität auch bei praktisch inaktivierten Impfstoffen mit Sicherheit nicht feststeht.

Die nachfolgende Übersicht beschränkt sich daher auf eine Wiedergabe der hauptsächlichsten Abschwächungs- und Inaktivierungsverfahren, wobei zunächst nur auf die technischen Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden eingegangen werden soll.

α) Physikalische Abschwächungsmittel.

1. Trocknung (PASTEUR). Das PASTEURSche Abschwächungsverfahren besteht bekanntlich darin, daß das Rückenmark eines intracerebral mit Virus fixe infizierten Kaninchens während einer Anzahl von Tagen bei einer Temperatur von 22—23° C über Kal. caust. im Dunkeln getrocknet wird. Da nach PASTEUR der Virusgehalt des frischen Markes bei den Passagetieren weitgehend konstant ist, und die unter identischen Bedingungen durchgeführte Trocknung stets denselben — nur von der Trocknungszeit abhängigen — Abschwächungsgrad bewirkt, erlaubt diese Methode die Gewinnung einer Serie von Impfstoffen von abgestufter — und annähernd gleichbleibender¹ — Infektiosität.

Über den Mechanismus der Virusabschwächung ist bekannt, daß die verminderte Infektiosität durch eine quantitative Abnahme des Virusgehaltes bedingt ist (PASTEUR) und daß eine solche Viruszerstörung nur bei langsamer Trocknung, die autolytisch-fermentative Vorgänge ermöglicht, zu beobachten ist [REMLINGER und BAILLY (157, 18, 19)].

Die technischen Verbesserungen bzw. notwendig werdenden Veränderungen, die das Originalverfahren von PASTEUR späterhin erfahren hat, sind die folgenden: 1. Die Versuchstiere werden bereits bei vollausgebildeter Lähmung (meist am 6.—7. Tag) durch Entblutung getötet. Durch die vorzeitige Tötung werden Sekundärinfektionen des Markes, die bei spontan verendeten Tieren möglich sind, vermieden. 2. Die Entnahme des Rückenmarkes erfolgt unter sterilen Kautelen nach der Technik von OSHIDA. 3. Avirulente, d. h. länger als 6 Tage getrocknete Marksegmente werden im allgemeinen nicht mehr verwendet [vgl. LÉPINE und CRUVEILHIER (100, 2)]. Eine weitere Verkürzung der Trocknungszeit auf 4 Tage wurde für die meisten Virus-fixe-Stämme notwendig, nachdem nachgewiesen ist, daß alte Passagestämme gegenüber der Trocknung empfindlicher geworden sind und somit auch rascher als früher inaktiv werden (vgl. S. 401). Die meisten Pasteurinstitute verwenden daher nur noch 4-, 3-, 2- und 1tägig getrocknete Marksegmente. Die verkürzten Trocknungszeiten sind schon deshalb unbedenklich, weil die jetzigen Virus-fixe-Stämme bereits nach einer 24stündigen Trocknung ihre Neuroprobasie völlig eingebüßt haben [LÉPINE,

¹ Vgl. die in den Jahren 1891 und 1923 durchgeführten Nachprüfungen von VIALA (185) und MARIE (109, 7).

CRUVEILHIER und SAUTTER (100, 3)]. Einer allzu starken Virusabschwächung kann nach REMLINGER (156, 21) auch dadurch vorgebeugt werden, daß die Trocknung bei tieferen Temperaturen — eventuell im Kühlschrank — durchgeführt wird. 4. Die von CALMETTE (21) eingeführte Konservierung der getrockneten Marksegmente in Glycerin bedeutete eine wesentliche Vereinfachung des Verfahrens und hat sich allgemein eingebürgert. Die CALMETTESche Regel, wonach in Glycerin konservierte Marksegmente bis zum 14. Tag verwendet werden können, hat jedoch keine allgemeine Gültigkeit mehr, da das getrocknete Mark bei zahlreichen alten Passagestämmen durch die Lagerung in Glycerin vorzeitig inaktiviert wird und daher nicht länger als 8—10 Tage konserviert werden kann (vgl. S. 401).

Die derzeitige im Institut Pasteur in Paris übliche Impfstofftechnik ist nach CRUVEILHIER und VIALA (33, 2) die folgende:

Die Passagekaninchen werden nach dem Auftreten generalisierter Lähmungen durch Entblutung getötet. Das nach OSHIDA entnommene Mark wird in zwei bis drei Segmente geteilt, in MARIOTTESchen Flaschen über Kal. caust. bei einer auf 22 bis 23° C eingestellten Temperatur getrocknet. Nach 2-, 3- und 4tägiger Trocknung werden die Marksegmente in je 20 ccm neutralem, bei 120° C sterilisiertem Glycerin von 30° Bé eingelegt, bei +3° C konserviert und bis zum 9. Tag zur Herstellung von Impfstoffen verwendet. Jede Impfdosis enthält 4—5 mm Mark in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert.

Der Impfstoffgewinnung nach PASTEUR haftet wohl stets der Nachteil einer nicht streng quantitativen Dosierbarkeit an. Schon die Abschätzung der Markmenge nach Millimetern Länge ist ungenau, da die Dicke des Markes, die bei Tieren unterschiedlichen Alters und Gewichtes erheblich variiert, nicht berücksichtigt wird. Außerdem hängt die Raschheit der Virusabschwächung durch Trocknung ebenfalls von der Dicke der Marksegmente ab. Die schon von ROUX (164, 2) beobachteten Unregelmäßigkeiten der Infektiosität bei verschiedenen und unterschiedlich lange getrockneten Marksegmenten können daher nicht erstaunen. Eine — im Sinne von PASTEUR — mit zunehmender Trocknungszeit konstant abfallende Infektiosität ist aber wohl auch bei der Verwendung von gleich großen Passagetieren oder ein und desselben Markes mit den heutigen Passagestämmen nicht mehr zu erreichen. So geht aus den Untersuchungen von LÉPINE, CRUVEILHIER und SAUTTER (100, 3) hervor, daß sich das Pariser Virus fixe der 1500. Passage gegenüber früher auch insofern verändert hat, als die Infektiosität von unterschiedlich lange (1—4 Tage) getrockneten Marksegmenten kaum — wie auf Grund der annähernd gleichen Inkubationszeiten angenommen werden konnte — variiert, und zudem oft in einer regellosen, von der Trocknungszeit unabhängigen Weise verloren geht. Die Zuverlässigkeit der Virusabschwächung nach PASTEUR scheint demnach — zumindest bei bestimmten Passagestämmen — in Frage gestellt, ein Umstand, der praktisch wohl nur deshalb nicht ins Gewicht fällt, weil die Neuroprobasie derartiger alter Passagestämme schon durch die 24stündige Trocknung aufgehoben wird. Die ebenfalls bei alten Passagestämmen beobachtete herabgesetzte — und eventuell sich noch weiter vermindernde — Trocknungs- und Glycerinresistenz des Markvirus schließt andererseits die Möglichkeit nicht aus, daß allzusehr abgeschwächte bzw. unwirksame Impfstoffe hergestellt werden. Auf eine periodische Überprüfung der Passagestämme und die Anpassung der Trocknungs- und Konservierungszeiten an die jeweiligen Stammeseigenschaften kann demnach nicht verzichtet werden. Die eben angeführten Schwierigkeiten des PASTEURSchen Verfahrens ließen sich wohl durch die Verwendung von Gehirn-, an Stelle des allzu labil gewordenen Markvirus größtenteils vermeiden.

2. Verdünnung (HÖGYES). Die Annahme, daß die Trocknung nach PASTEUR keine qualitative Virusveränderung bewirkt, sondern lediglich den Virusgehalt quantitativ herabsetzt, veranlaßte HÖGYES (69, I) die Trocknung durch die Virusverdünnung zu ersetzen. Wie HÖGYES feststellte, können durch geeignete Verdünnungen von Markvirus dieselben Grade von Abschwächung wie durch die unterschiedlich lange Trocknung erreicht werden, wobei — zur Zeit von HÖGYES — die folgenden Korrelationen zwischen dem Verdünnungsgrad und der Trocknungsdauer Gültigkeit hatten: die Virusverdünnungen 1:10000—6000 erwiesen sich ebenso inaktiv wie die während 14—8 Tagen getrockneten Marksegmente; die Verdünnungen 1:5000, 1000, 500 und 200 entsprachen hinsichtlich ihrer Infektiosität dem 7-, 6-, 5- und 4tägig getrockneten Virus; die Ausgangsverdünnung von 1:100 verhielt sich wie frisches, ungetrocknetes Mark. Die von HÖGYES zur menschlichen Impfung hergestellten Virusverdünnungen — 1:10000, 8000, 6000, 5000, 2000, 1000, 500, 200, 100 — ermöglichten demnach annähernd dieselbe Virusdosierung wie beim Originalverfahren von PASTEUR. Mit dem späteren Verzicht auf die Verwendung von avirulenten Verdünnungen, d. h. mehr als 1:2000—5000 verdünnten Impfstoffen, folgte die Methode von HÖGYES ebenfalls der auch beim PASTEUR-Verfahren allgemein üblich gewordenen Intensivierung. Eine weitere Anpassung an die — von CALMETTE modifizierte — Impfstoffgewinnung nach PASTEUR stellt das Verfahren von HÖGYES-PHILLIPS [vgl. LUBINSKI (108), BOECKER (16, I), KRITSCHIEWSKY (95)] dar. Bei dieser Modifikation wird eine einmal zubereitete Stammemulsion nach den Angaben von PHILLIPS (136) in Glycerin konserviert und als — auch versandfähiges — Ausgangsmaterial zur Herstellung sämtlicher Virusverdünnungen verwendet. Das HÖGYES-PHILLIPS-Verfahren unterscheidet sich von der Originalmethode auch dadurch, daß der Impfstoff nicht aus dem Rückenmark, sondern dem Gehirn von Kaninchen hergestellt wird, eine nicht unwesentliche Abänderung (vgl. unten), die sich anscheinend auch in Instituten, die auf eine Konservierung der Stammemulsion nach PHILLIPS verzichten, in zunehmendem Maße einbürgert [VAN STOCKUM (176), SCHWEINBURG (168, 6)].

Gegenüber der Trocknung besitzt die Verdünnungsmethode von HÖGYES den unzweifelhaften Vorteil der größeren Einfachheit, des sparsameren Impfstoffverbrauches und vor allem der genaueren Dosierbarkeit. In quantitativer Hinsicht ist die Methode von HÖGYES allerdings nur dann überlegen, wenn 1. wie dies wohl allgemein üblich ist, eine genau abgewogene Menge von virushaltigem Gewebe zur Stammemulsion verarbeitet wird; 2. die Homogenisierung der Ausgangsemulsion eine vollständige ist, was wohl am ehesten dadurch erreicht wird, daß die abgewogenen Mark- bzw. Gehirnstücke durch längeres Schütteln mit Glasperlen und erst nachträglichem und allmählichem Zusatz von Verdünnungsflüssigkeit in eine möglichst feine Emulsion übergeführt werden, die schließlich noch durch Gaze- bzw. Papierfiltration oder kurzes Zentrifugieren von eventuell noch vorhandenen größeren Gewebspartikeln befreit wird, und 3. die Virusverdünnungen auf Grund der jeweiligen Infektiosität des Passagestammes vorgenommen werden. Die Notwendigkeit, den Infektiositätstiter — Dosis let. min. für das Kaninchengehirn — eines Passagestammes periodisch zu ermitteln und den Verdünnungsgrad der Impfstoffe hiervon abhängig zu machen, ergibt sich aus der Tatsache, daß die Infektiosität — zumindest des Gehirnvirus — bei zahlreichen alten Passagestämmen ganz erheblich zugenommen hat (vgl. S. 401). Die von HÖGYES in Anpassung an das PASTEUR-Verfahren seinerzeit ermittelten Verdünnungsstufen können daher für eine große Anzahl der heutigen Passagestämme und namentlich für das Verfahren nach HÖGYES-PHILLIPS, bei welchem ausschließlich Gehirnvirus verwendet wird, nicht mehr

maßgebend sein; derartige Verdünnungen sind bei Virus-fixe-Stämmen vom Titer 1:100000—1000000 noch hochinfektiös und können daher als völlig unzureichend abgeschwächte Impfstoffe ohne Risiko nicht mehr verwendet werden (vgl. S. 403).

3. Erhitzung (BABÈS-PUSCARIU). Die Virusabschwächung durch Erhitzung wurde durch die Untersuchungen von BABÈS (1887) und PUSCARIU und VESESCO (1895) experimentell begründet. BABÈS (4, 1, 3) stellte fest, daß die unterschiedlich lange Erhitzung von Rückenmarkemulsionen bei einer konstanten Temperatur von 56° C die Virusinfektiosität in ähnlicher Weise abschwächt, wie die PASTEURsche Trocknung; die während 2, 4, 8 und 16 Minuten erhitzte Markemulsion tötete Kaninchen nach 9, 11, 12 und 13 Tagen. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten PUSCARIU und VESESCO (150), welche Rückenmarkemulsionen während einer konstanten Zeit von 10 Minuten unterschiedlich hohen Temperaturen aussetzten; die auf 80, 70 und 60° erhitzten Emulsionen erwiesen sich als avirulent, die bei 50, 45, 35 und 30° gehaltenen Proben sowie die unerhitzte Kontroll-emulsion infizierten Kaninchen mit den Tötungszeiten von 11¹/₂, 11, 10, 9¹/₂, 9 und 8 Tagen. Die Vorzüge der Erhitzung liegen, wie aus den Versuchen der rumänischen Autoren hervorzugehen scheint, darin, daß dieses Abschwächungsmittel — im Vergleich zur Trocknung — eine feinere und regelmäßigere Abstufung der Infektiosität erlaubt und daß die erhitzten Impfstoffe trotz starker Abschwächung noch einen erheblichen antigenen Wert besitzen.

Die zur Impfstoffgewinnung verwendeten Methoden nach BABÈS (4, 2, 3), PUSCARIU (149), OSHIDA (129), TEODORASCO (179, 1, 2) HERRMANN (66, 2) und BOTEZ (18, 2) weisen methodische und technische Verschiedenheiten auf und sind zum Teil auch mehrmals modifiziert worden.

Als virushaltiges Gewebe wird in den meisten Fällen Kaninchenhirn (4, 3, 149, 179, 1, 2, 66, 2, 18, 2), seltener Meerschweinchenhirn (4, 3) und nur ausnahmsweise Kaninchenrückenmark (129) verwendet. Die im Mörser oder Schüttelapparat möglichst fein homogenisierten, meist 1%igen Gewebsemulsionen werden nach vorgängiger Filtration durch Gaze oder Watte in mit Thermometer versehene Eprouvetten abgefüllt und solange den Dämpfen eines kochenden Wasserbades ausgesetzt, bis die jeweilig gewünschten Temperaturen erreicht sind (149). Die ursprünglich übliche Hitzeskala von 80, 75, 70, 65 usw. bis 45° C wurde späterhin allgemein auf einen Temperaturbereich von 65—45° eingeschränkt, wobei Impfstoffserien von 3 bis 5, jeweils um 5° unterschiedlich erhitzte, Emulsionen hergestellt werden. Einzelne Verfahren verzichten größtenteils oder gänzlich auf eine fortlaufende Reihe von Hitze-stufen und verwenden z. B. vorwiegend nur auf 45° (179, 2) bzw. ausschließlich auf 58—60° (66, 2) erhitzte Emulsionen. Bei der Herstellung der Impfstoffe nach BABÈS (4, 3) und BOTEZ (18, 2) wird die Erhitzung mit der Trocknung nach PASTEUR kombiniert, indem 0—6tägig getrocknete Marksegmente in unerhitzten bzw. auf 45—65° erhitzten Gehirnemulsionen emulgiert werden, so daß sich Impfstoffe der folgenden Zusammensetzung ergeben:

Nach BABÈS:	I. auf 65° erhitztes Gehirn	+	6tägig getrocknetes Mark		
	II. „ 60° „ „	+	5tägig „ „	„	„
	III. „ 60° „ „	+	4tägig „ „	„	„
	IV. „ 55° „ „	+	3tägig „ „	„	„
	V. „ 55° „ „	+	2tägig „ „	„	„
	VI. „ 50° „ „	+	1tägig „ „	„	„
Nach BOTEZ:	I. auf 60° erhitztes Gehirn	+	4tägig getrocknetes Mark		
	II. „ 55° „ „	+	3tägig „ „	„	„
	III. „ 50° „ „	+	2tägig „ „	„	„
	IV. „ 45° „ „	+	1tägig „ „	„	„
	V. Unerhitztes	+	0tägig „ „	„	„

Gegen die Impfstoffe von BABÈS, PUSCARIU u. a. ließe sich einwenden, daß deren Herstellung umständlich ist und bisher eine Standardisierung kaum erreicht werden konnte. Insbesondere sind die Bedingungen (Schichtdicke, Konzentration und Infektiosität der Emulsionen, Verhalten verschiedener Virusstämme), die auf die Virusabschwächung durch Erhitzung notwendigerweise Einfluß haben müssen, nur ungenügend untersucht und auch nicht festgelegt.

4. Glycerin.¹ Von RODET und GALAVIELLE (163, 1, 2), GALAVIELLE und MARTIN (44) und RODET (162) wurde nachgewiesen, daß Kaninchengehirne, die nach 9—9¹/₂ Monate langer Glycerinkonservierung avirulent geworden waren, noch antigenes Vermögen besitzen. Eine praktische Anwendung dieser Feststellung wurde jedoch erst in Betracht gezogen, nachdem bei alten Passagestämmen der Nachweis geleistet wurde, daß das Markvirus durch die Trocknung nach PASTEUR und die nachfolgende Konservierung nach CALMETTE viel rascher als früher inaktiviert wird (vgl. S. 401). Nach REMLINGER (156, 13, 16, 19) kann unter diesen Umständen auf die Trocknung nach PASTEUR gänzlich verzichtet werden und genügt die unterschiedlich lange Lagerung des frischen Markes in Glycerin, um die gewünschten Abschwächungsgrade zu erzielen. Das Verfahren nach REMLINGER besteht demnach darin, daß das frisch entnommene Rückenmark, in 1 cm lange Stücke zerteilt, bei +6° C in Glycerin bis zu 30 Tagen konserviert wird; als Impfstoffe werden avirulente, 25—30 Tage konservierte und unterschiedlich abgeschwächte, d. h. weniger als 25 Tage gelagerte Marksegmente verwendet. GRYSSEZ (55, 1) benützt ebenfalls das Glycerin als Abschwächungsmittel, läßt dasselbe aber nicht nur unterschiedlich lange (1—8, 9—16, 17—24 Tage), sondern auch bei verschiedenen Temperaturen (+23°, +4°, —10° C) einwirken und erzielt auf diese Weise Impfstoffe von beliebig abgestufter Infektiosität.

Der Hauptvorteil dieser Verfahren liegt wohl in ihrer großen Einfachheit; ein gewisser Nachteil dürfte darin erblickt werden, daß die verschiedenen Grade von Virusabschwächung nicht fixiert werden können, so daß die notwendigen Impfstoffe im Bedarfsfall nicht stets zur Verfügung stehen.

Im Gegensatz zu den erwähnten Verfahren verwendet PHILLIPS (136) das Glycerin nicht als Abschwächungs-, sondern als Konservierungsmittel. Nach den Angaben von PHILLIPS muß jedenfalls angenommen werden, daß die hergestellte 15%ige Stammemulsion (15 mg Gehirn pro 0,1 g konzentriertes Glycerin) unter anaerober Aufbewahrung im Kühlschrank bei —2° bis —4° ihre ursprüngliche Infektiosität über mehrere Monate beibehält. Der gebrauchsfertige PHILLIPSsche Impfstoff (0,1 ccm Stammemulsion + 1,9 ccm 0,5%ige Phenol-Kochsalzlösung) dürfte demnach vollvirulentes bzw. kaum abgeschwächtes Virus enthalten. Dasselbe trifft wohl für das von ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 1) angewendete Verfahren zu, bei welchem frisches Passagemark in 80% Glycerin konserviert und innerhalb 15 Tagen zu einer 10%igen Emulsion verarbeitet wird.

5. Olivenöl, Lanolin. BOTAFOGO GONSALVES (54, 2) stellte fest, daß eine in wässriger Lösung sicher tödliche Dosis von Virus fixe, in Olivenöl emulgiert, bei subcutaner Applikation für Ratten unschädlich ist und bei ausreichender Dosierung (0,5 g Passagegehirn in 5 ccm Olivenöl) rasch und zuverlässig immunisiert. Diese Beobachtung führte zur Herstellung einer „Lipovaccine“ (54, 4), die in der folgenden Weise zubereitet wird:

1—2 g Passagegehirn bzw. Rückenmark werden in 0,5% phenolisiertem Olivenöl zu einer homogenen Paste zerrieben und nach Zusatz von 0,5—1,0 g Lanolin in

¹ Das Glycerin kann auf Grund seiner dehydrierenden bzw. trocknenden Wirkung als physikalisches Abschwächungsmittel betrachtet werden.

2,5—5,0 ccm reinem Olivenöl emulgiert. Der Impfstoff läßt sich in phenolisiertem Olivenöl ohne Einbuße an Wirksamkeit während 3 Monaten konservieren.

GONSALVES vermochte mit dieser Lipovaccine, die zweifellos die Eigenschaften eines infektiösen Depotimpfstoffes besitzt, Hunde einzeitig wirksam zu immunisieren und glaubt, daß dieser Impfstoff — zufolge seiner völligen Unschädlichkeit — auch zur menschlichen Schnellimmunisierung verwendet werden kann.

6. Dialyse, Photodynamie, Ultraviolettlcht, Ultraschall. Eine Reihe von Verfahren ermöglicht die Herstellung von praktisch inaktivierten Impfstoffen:

a) *Dialyse.* Wie CUMMING (34) feststellte, wird eine 1%ige Gehirnemulsion vom Titer 1:25000 durch die 24stündige Dialyse in Collodiumhülsen gegen fließendes destilliertes Wasser inaktiv, behält jedoch — wie im Tierversuch und am Menschen gezeigt werden konnte — die Eigenschaft eines hochimmunisierenden Antigens bei.

b) *Photodynamie.* Nach GALLOWAY (45) gelingt es, auf photodynamischem Wege einen Impfstoff (5%ige filtrierte Gehirnemulsion + Methylenblau bzw. Proflavin 1:5000, 15—60 Minuten Lichtexposition) herzustellen, der nicht mehr infektiös ist, jedoch Kaninchen in einem hohen Prozentsatz immunisiert. SHORTT und BROOKS (170, 1) stellten dagegen — in einer veränderten Versuchsanordnung — fest, daß der antigene Wert von photodynamisch inaktiviertem Virus fixe nur gering ist, und daß derartige Impfstoffe für die praktische Anwendung kaum in Betracht kommen.

c) *Ultraviolettlcht.* PHYSALIX und PASTEUR (137) und SANKARAN und BEER (166) untersuchten den Einfluß der ultravioletten Strahlung auf Lyssavirus und kamen zum Ergebnis, daß bestrahltes und inaktiviertes Virus keine antigene Wirkung mehr aufweist. Die Eignung des ultravioletten Lichtes als Inaktivierungsmittel wurde nun aber durch spätere, von WEBSTER und Mitarbeitern durchgeführte Untersuchungen sichergestellt, in welchen Kulturvirus (67, 68, 188, 3), Virus aus Mäusegehirn (188, 3) und Hundgehirn (188, 1, 3) durch geeignete Ultraviolettbestrahlung inaktiviert und als unschädlich und zuverlässig wirksame Impfstoffe zur Immunisierung von Mäusen und Hunden verwendet werden konnten.

d) *Ultraschall.* KASAHARA und SHA-SHI-NAN (81) inaktivierten eine 10%ige Emulsion von Passagerückenmark im Ultraschallfeld und gewannen so einen Impfstoff, mit welchem Kaninchen durch die mehrmalige intraspinale Vorbehandlung gegen die intracerebrale Reinfektion mit 1—5 minimal letalen Virusdosen geschützt werden konnten.

Die angeführten physikalischen Inaktivierungsverfahren sind bisher noch kaum über das Versuchsstadium hinausgekommen. Experimentell am besten untersucht und wohl auch — hinsichtlich seiner Wirksamkeit — am beachtenswertesten ist der mit Ultraviolettlcht bestrahlte Impfstoff von WEBSTER. Zur menschlichen Impfung ist bisher nur der dialysierte Impfstoff von CUMMING — und zwar von diesem Autor selbst — verwendet worden.

β) Immunserum als Abschwächungsmittel.

1. Virus-Antiserum-Gemische. Die *experimentellen Grundlagen* der prä- und postinfektionellen Impfung mit Virus-Antiserum-Gemischen wurden von MARIE, REMLINGER u. a. in zahlreichen Versuchen, in welchen Meerschweinchen (109, 1), Kaninchen (109, 1, 156, 3, 4), Hunde (109, 2, 4, 156, 4, 183), Hammel (156, 1), Affen (172) und Pferde (156, 5) erfolgreich immunisiert werden konnten, festgelegt. Die erzielten Immunisierungserfolge müssen als auffallend günstig bewertet werden, da es gelang, Versuchstiere nicht nur durch eine einmalige Impfung bzw. kurzfristige Vorbehandlung in kürzester Zeit gegen eine nachfolgende intraokuläre und selbst intracerebrale Nachinfektion zuverlässig zu immunisieren (109, 1, 2, 156, 3, 4), sondern auch dann noch zu schützen, wenn die Behandlung erst am 3. Tag nach der intraokulären Infektion eingeleitet wurde (156, 1). Wie REMLINGER (156, 3) feststellte, sind neutrale Gemische bei subcutaner Applikation auch in unverhältnismäßig großen Dosen — 30 ccm im Selbstversuch; 80—300 ccm für Kaninchen — unschädlich. Die größte Wirksamkeit zeigen — erwartungsgemäß — Gemische, die einen hohen Virusgehalt

aufweisen und in denen das Virus gegenüber dem Serum im Überschuß vorhanden ist (109, 2, 4, 156, 4).

Der hauptsächlichste Vorzug der Immunisierung mit Virus-Serum-Gemischen besteht wohl darin, daß große Virusmengen rasch und — anscheinend — auch gefahrlos appliziert werden können und somit eine Schnellimmunisierung möglich wird. Von MARIE (109, 5, 6) wurde daher empfohlen, die PASTEURSche Impfung zumindest bei Schwerverletzten — durch eine 4tägige Serie von Virus-Antiserum-Gemischen einzuleiten.

Der Impfstoff von MARIE wird in der folgenden Weise zubereitet: 1 g Passagemark (Bulbus) wird in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und durch Leinen filtriert; 2 ccm dieser 10%igen Emulsion werden mit 4 ccm inaktiviertem Immuneserum, das durch Hyperimmunisierung von Hammeln (109, 6) gewonnen wird, versetzt.¹ Die tägliche Injektionsdosis beträgt 6 bzw. 2×3 ccm.

Den Virus-Serum-Impfstoffen nach MARIE haften nun aber einige Nachteile an, die deren Verwendung zur tierischen und menschlichen Schutzimpfung als nicht erwünscht erscheinen lassen. So dürfte feststehen, daß Gemische, die lediglich nach gleichbleibenden Mengenverhältnissen hergestellt und nicht jeweils im Neutralisationstest ausbalanciert werden, einen variablen Grad von Neutralität aufweisen. Die Forderung nach streng neutralen bzw. unterneutralisierten Gemischen ist nun zweifellos in Hinsicht auf die Wirksamkeit und Ungefährlichkeit derartiger Impfstoffe berechtigt, läßt sich jedoch schon deshalb praktisch kaum erfüllen, weil selbst genau eingestellte Gemische erfahrungsgemäß im Tierkörper in unterschiedlicher Weise dissoziieren. Außerdem wurde nachgewiesen, daß Virus-Antiserum-Gemische oft wenig gut verträglich sind, d. h. bei Hunden lokale Abszesse [VALLÉE und RINJARD (183)] und beim Menschen stärkere örtliche Reaktionen bzw. Serumexantheme (VIALA) bewirken.

FERMI (40, 5, 6, 9, 15) kombinierte seinen Phenolimpfstoff ebenfalls mit Immuneserum und überzeugte sich in Tierversuchen, daß dieser Serumimpfstoff — „Siero-vaccino“ — im Vergleich zum serumfreien noch wirksamer und vor allem rascher immunisiert. In Sassari wird daher dieser kombinierte Impfstoff zur Behandlung von schweren Bißverletzungen allgemein angewendet.

Der kombinierte Impfstoff von FERMI besteht aus 2 Teilen Phenolimpfstoff (5%ige Passagegehirnemulsion in 1%iger Phenolkochsalzlösung) und 1 Teil Pferdehyperimmuneserum (40, 9, 15), wobei das Gemisch während 24 Stunden im Kühlschrank gehalten wird. Nach FERMI garantiert dieses Mengenverhältnis die Herstellung eines unterneutralisierten, subdural noch infektiösen Gemisches.² Als tägliche Impfdosis werden 6 ccm injiziert.

Durch den Zusatz von Immuneserum bezweckt FERMI anscheinend weder eine Abschwächung noch eine Verstärkung seines Impfstoffes; eine Abschwächung erscheint schon in Hinsicht auf die subcutane Unschädlichkeit des gewöhnlichen, nicht kombinierten Phenolimpfstoffes als überflüssig und eine Verstärkung wird nicht angestrebt, da der Virusgehalt im kombinierten Impfstoff nicht gesteigert wird. Nach den zahlreichen Versuchen von FERMI, in welchen die Wirk-

¹ Auf die nachträgliche Entfernung des Immuneserums durch Zentrifugieren der 24stündigen Gemische und Waschen des Sediments mit physiologischer Kochsalzlösung wurde späterhin anscheinend verzichtet.

² NIKOLAJEWA (122) vermochte dagegen diese Angabe nicht zu bestätigen; ein nach FERMI hergestellter sensibilisierter Impfstoff erwies sich nämlich, intracerebral appliziert, als inaktiv, ein Befund, der hinsichtlich der wechselnden Infektiosität des Passagevirus und der unterschiedlichen Wertigkeit der Immunesera nicht erstaunen kann.

samkeit der prä- und postinfektionellen Seroprophylaxe nachgewiesen wurde, muß vielmehr angenommen werden, daß durch die tägliche Verabreichung von Immuserum eine passive, die Straßenwutinfektion abbremsende Immunität erzeugt werden soll. Ob dieses Ziel durch die verhältnismäßig kleinen Serumengen, die dem Impfstoff zugesetzt werden, erreicht wird, erscheint jedoch fragwürdig. Der kombinierte Impfstoff nach FERMI wäre daher — hinsichtlich seines immunisierenden Prinzipes — eher den Verfahren der Simultanimpfung (vgl. unten) zuzurechnen.

SHORT, MCGUIRE, BROOKS und STEPHENS (172) versuchten ebenfalls, einen Phenolimpfstoff (nach SEMPLE) durch den Zusatz von Immuserum bzw. eines Virus-Antiserum-Gemisches zu verbessern; im Tierversuch wurden denn auch mit derartigen Kombinationen anscheinend sehr günstige Immunisierungserfolge erzielt.

2. Simultanimpfung. Bei der Simultanimpfung des Menschen [BABÈS (4, 3), PROCA und BOBES (143, 144, 4), BORGER (109, 6), COVELL et al. (28)] erfolgt die Einverleibung des Immuserums getrennt vom Impfstoff, wobei Serumengen von mindestens 40 ccm entweder in größeren Einzeldosen zu Beginn (109, 6, 28), in der Mitte bzw. am Ende (4, 3) der Behandlung oder auf kleinere Dosen verteilt während der gesamten Impfperiode (143, 144, 4) verabreicht werden. Durch eine solche postinfektionelle Seroprophylaxe soll einerseits die Inkubationszeit der Straßenwut verlängert und damit für die Immunisierung Zeit gewonnen, und andererseits auch eine ungefährliche, abgekürzte Intensivbehandlung ermöglicht werden. Der Erfolg dieser Serumbehandlung scheint in einer Senkung der Mortalität bei Schwerverletzten zum Ausdruck zu kommen (143, 28).

Die *Ergebnisse des Tierversuches* vermochten nun allerdings die Berechtigung der prä- und postinfektionellen Seroprophylaxe zunächst nicht zu erweisen. Außer den ersten Versuchen von BABÈS und LEPP (5), in welchen Hunde durch die Vorbehandlung mit Hundeimmunblut gegen eine nachfolgende Straßenwutinfektion geschützt werden konnten, ergaben zahlreiche Nachprüfungen (KRAUS und FUKUHARA, MARIE, REMLINGER, KRAIOUCHKINE, SEMPLE u. a.) ein völlig negatives Resultat, indem auch durch ausgiebige Serumbehandlung keine irgendwelche Schutzwirkung erzielt werden konnte. In späteren Untersuchungen wurde nun aber doch der eindeutige Nachweis geleistet, daß eine Seroprophylaxe möglich ist, wenn das injizierte Serum mit dem Virus in Kontakt kommen kann. Diese Vorbedingung ist dann erfüllt, wenn das Immuserum an der Eintrittspforte [PROCA, BOBES und JONNESCO (144, 2)], in der Nähe der Zuleitungsbahnen [KRAUS und HOLOBUT (93), MURILLO (117)] oder intraspinal [PFEILER (135), PONOMAREFF und TSCHECKHOFF (142)] injiziert wird. Bei kleineren Versuchstieren, wie Mäusen, Ratten und Meerschweinchen bewirkt die subcutane bzw. intraperitoneale Einverleibung hochwertiger Sera auch eine allgemeine passive Immunität, an der wohl auch das Zentralnervensystem teilnimmt, so daß derartig vorbehandelte Tiere gegenüber peripheren und intracerebralen Infektionen größtenteils geschützt sind [FERMI (40, 5, 6, 9), REPETTO (168, 6), HOYT et al. (70, 71, 72, 1, 2), KONDO (87), NIKOLAJEWA (122), PROCA, BOBES und JONNESCO (144, 1)]. Schließlich konnten auch Kaninchen und Hunde durch intravenöse Seruminjektionen gegen cerebrale Infektionen immunisiert werden, falls die Blut-Liquor- bzw. Gehirnschranke durch Pompage bzw. Diuretica durchgängig gemacht wurde [PONOMAREFF et al. (141, 142), LOEFFLER und SCHWEINBURG (107, 3), SCHWEINBURG (168, 6)]. Unter den erwähnten Bedingungen liegt auch eine postinfektionelle Seroprophylaxe, die namentlich im Mäuseversuch demonstriert werden kann, im Bereich der Möglichkeit (40, 5, 6, 9, 71, 72, 2, 144, 1, 142, 168, 6).

γ) Chemische Abschwächungs- bzw. Inaktivierungsmittel.

1. Phenol. Das Verdienst, auf die Eignung der Karbolsäure als vorzügliches Inaktivierungsmittel erstmalig hingewiesen zu haben, gebührt FERMI (40, 1—3).

Genauere und systematische Untersuchungen über die inaktivierende Wirkung verschiedener Phenolkonzentrationen gegenüber unterschiedlich dichten Virus-

Phenolkonzentration in Prozenten	Konzentration der Virus- emulsion in Pro- zenten	Temperatur	Inaktivierungszeit ¹
0,5	0,5—5,0	20°	15—20 Tage (Abschwächung)
0,5	5,0	37°	3 Tage
1,0	1,0—5,0	20°	6—8—10 Tage
1,0	5,0—8,0	37°	24 Stunden
1,0	20,0	37°	24—144 Stunden
2,0	4,0	20°	24 Stunden

emulsionen bei wechselnden Temperaturen wurden von SEMPLE (169), PUNTONI (148, 1, 15), STUART und KRIKORIAN (177, 3) u. a. an- gestellt und führten zu den nebenstehenden Ergeb- nissen.

Für die Herstellung von Phenolimpfstoffen² ergeben sich aus diesen Ermittlungen, sowie aus Versuchen, in welchen die antigene

Wirksamkeit unterschiedlich phenolisierter Virusemulsionen geprüft wurde, die folgenden Grundsätze: 1. Eine 1%ige Phenolkonzentration besitzt optimale Wirkung; eine schwächere oder stärkere Phenolisierung erscheint nicht zweckmäßig, da im einen Fall eine zuverlässige Inaktivierung nicht ausnahmslos gewährleistet, im anderen das antigene Vermögen beeinträchtigt bzw. aufgehoben wird. 2. Die Konzentration des virushaltigen Gewebes sollte 5% nicht unterschreiten; stärker verdünnte Gehirnemulsionen erweisen sich in immunisatorischer Hinsicht als unterlegen (40, 9, 102, 2, 35, 2, 171). 3. Die Temperatur, bei welcher die — 24stündige — Inaktivierung vorgenommen wird, entscheidet darüber, ob der Impfstoff nach seiner Herstellung noch infektiös oder inaktiviert ist. In dieser Hinsicht unterscheiden sich die beiden hauptsächlichsten Impfstoffverfahren nach FERMI bzw. SEMPLE.

Impfstoff nach FERMI (40, 4, 9, 10, 14, 15). Als optimal wirksamen Impfstoff empfiehlt FERMI eine 5%ige Gehirnemulsion in 1%iger Phenolkochsalzlösung, die während 24 Stunden bei 20—22° C abgeschwächt wird. Die hohe Qualität dieses Impfstoffes ist nach FERMI (40, 14, 15), MULAS (116, 1, 2) und LÉPINE und SAUTTER (102, 2) an die vorgeschriebene Konzentration des Phenols, des Gewebes und die Inaktivierungstemperatur gebunden. Nach LÉPINE (99, 2) wird dieser Impfstoff in der folgenden Weise hergestellt:

Das gesamte Gehirn (Groß- und Kleinhirn, Medulla oblongata) eines im prä- agonalen Zustand getöteten Kaninchens wird unter aseptischen Kautelen entnommen, gewogen und ohne Flüssigkeitszusatz solange mit Glasperlen geschüttelt, bis eine völlige Homogenisierung erreicht ist. Unter fortgesetztem Schütteln wird hierauf eine frisch hergestellte 1%ige Phenolkochsalzlösung (4 vol. Teile physiol. Kochsalz- lösung + 1 vol. Teil 5%ige Karbolsäure in Aq. dest.) im Verhältnis von 20 ccm auf 1 g Gehirngewebe sukzessive zugesetzt, dann durch Gaze filtriert und das Filtrat während 24 Stunden, vor Licht geschützt, bei 20—22° C inaktiviert. Der sofort ge- brauchsfertige Impfstoff kann bei +4° (ein Einfrieren ist zu vermeiden) während 3—4 Monaten konserviert werden. Die tägliche Injektionsdosis beträgt für Er- wachsene 5—6 ccm (250—300 mg); die Gesamtdosis 100—120 ccm (5000—6000 mg).

¹ Geprüft im intracerebralen Test bei Kaninchen.

² Nach VAN STOCKUM (176) besitzen die üblichen, mit 1%iger Phenollösung her- gestellten Impfstoffe einen unzureichenden Phenolgehalt, da die Verteilung des Phenols auf das emulgierte Gewebe meist nicht berücksichtigt wird. Für die zu- verlässige Inaktivierung (einer 10%igen Virusemulsion bei 37°) wäre daher — nach Ansicht dieses Autors — eine 1,5%ige Phenollösung, die jedoch die antigene Qualität des Impfstoffes bereits zerstört und daher praktisch nicht in Frage kommt, erforderlich.

In den ersten 8—10 Tagen nach seiner Herstellung enthält dieser Impfstoff zweifellos noch aktives, im intracerebralen Test nachweisbares Virus. Eine praktisch ausreichende Inaktivierung ist jedoch schon nach der 24stündigen Phenolisierung erreicht, da die subcutane Haftfähigkeit — wie FERMI beim Virus Sassari nachgewiesen hat — aufgehoben ist und eine Neuroprobiasie nicht mehr nachgewiesen werden kann [LÉPINE und SAUTTER (102, 2)]. Auch bei länger gelagerten Impfstoffen ist kaum mit einer völligen Inaktivität zu rechnen. So vermochten LÉPINE und SAUTTER (102, 3) nachzuweisen, daß nach FERMI hergestellte und bei niederen Temperaturen (+1 bzw +2° C) bis zu 3 Monaten konservierte Impfstoffe bei der intracerebralen Verimpfung gelegentlich noch letale Infektionen auslösen und regelmäßig bei den überlebenden Tieren histologisch nachweisbare, für Lyssavirus charakteristische Gehirnveränderungen (Kernläsionen an der Injektionsstelle und im Ammonshorn) erzeugen.

Nach FERMI ist die immunisierende Wirksamkeit weitgehend an die noch erhaltene Infektiosität des Impfstoffes gebunden, so daß die besten Immunisierungserfolge mit einem frisch hergestellten oder höchstens 8 Tage alten Impfstoff erzielt werden. Auch aus den Untersuchungen von LÉPINE und SAUTTER (102, 2, 3) würde hervorgehen, daß das immunisierende Vermögen mit der zunehmenden Virusinaktivierung gleichsinnig abfällt und schließlich völlig erlischt, wenn auch keine infektiösen Eigenschaften mehr nachgewiesen werden können. In Sassari wird daher der FERMISCHE Impfstoff jede Woche frisch hergestellt und nur in den ersten 8—10 Tagen nach seiner Zubereitung verwendet. Kühl konservierte Impfstoffe sind jedoch auch nach 1—2 Monaten zur Impfung noch durchaus geeignet und können während dieser Frist auch nach außen abgegeben bzw. versandt werden.

Impfstoff nach PUNTONI (148, 1, 2, 7, 15). Die von PUNTONI vorgenommene Modifikation des FERMISCHEN Verfahrens besteht darin, daß der Impfstoff zwar genau nach der Vorschrift von FERMI (5%ige Gehirnemulsion in 1%iger Phenolkochsalzlösung) hergestellt, jedoch während unterschiedlich langer Zeit (1, 2, 3 usw. bis 10 Tage) bei 20—22° C inaktiviert wird. Mit der so gewonnenen Serie von graduell abgeschwächten bzw. inaktivierten Impfstoffen wird die Schutzimpfung nach dem PASTEURSchen Immunisierungsprinzip durchgeführt. Die tägliche Injektionsdosis beträgt 6 ccm (300 mg), die totale Impfstoffmenge, je nach der Schwere des Falles, 6,6—7,8—15,0 g.

In Hinsicht auf die noch erhaltene Infektiosität des frisch zubereiteten FERMISCHEN Impfstoffes entbehrt diese Modifikation nicht der Logik und gewährleistet zweifellos eine vorsichtiger Dosierung. Andererseits ist die Frage gerechtfertigt, ob die Anwendung des PASTEURSchen Prinzips bei einem — schon durch die 24stündige Phenolisierung — so weitgehend abgeschwächten und praktisch zuverlässig inaktivierten Impfstoff überhaupt einen Sinn hat. Möglicherweise wird denn auch beim Verfahren von PUNTONI ein zweifelhafter Vorteil durch offensichtliche Nachteile — Notwendigkeit der täglichen Impfstoffherstellung in Ermanglung eines Konservierungsverfahrens;¹ Unmöglichkeit des Impfstoffversandes — erkauft.

Impfstoff nach SEMPLE (169). Nach der Originalvorschrift von SEMPLE wird eine 8%ige Gehirnemulsion in 1%iger Phenolkochsalzlösung während 24 Stunden bei 37° C inaktiviert und hierauf zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, so daß der gebrauchsfertige Impfstoff eine 4%ige Emulsion mit einem Phenolgehalt von 0,5% darstellt. Durch die Phenolisierung

¹ Nach einer späteren Angabe von PUNTONI wäre eine Konservierung in Glycerin möglich.

bei 37° C wird — im Gegensatz zum FERMISCHEN Impfstoff — eine rasche, anscheinend vollständige Inaktivierung¹ erreicht; die nachträgliche Verdünnung bezweckt, den Phenolgehalt auf ein zur Konservierung erforderliches Minimum herabzusetzen.

Phenolimpfstoffe nach SEMPLE.

Methoden Autoren und Institute	Konzentration		Totale Impfstoffmenge
	Stammemulsion in Prozenten	Impfstoff in Prozenten	g feuchte Ge- hirnsubstanz
SEMPLE (Orig.)	8,0	4,0	1,12—1,6
KASAULI 1912	2,0	1,0	0,14
1913	1,0	0,5	0,07
1914	0,5	0,25	0,035
1914/24	1,0	0,5	0,28
1924	1,0—2,0	0,5—1,0	0,28—0,56
1925	2,0	1,0	0,7 —1,9
1933	8,0	5,0	0,32—6,0
1934	8,0	5,0	0,7 —7,0
1935	8,0	5,0	1,2 —7,0
PEREIRA DA SILVA	5,0	5,0	3,75—10,0
STUART und KRIKORIAN	2,0	2,0	0,7 — 2,1
MULFORD	25,0	2,0—2,5	0,56— 1,0
Berlin 1938	2,0—4,0	1,0—2,0	0,7 — 1,3
Breslau 1939	1,0	1,0	0,7
Wien 1939	2,0	1,0	0,7 — 1,4

Bei den zahlreichen *Modifikationen*, welche das SEMPLESCHE Verfahren in den verschiedenen Instituten erfahren hat, wurde zwar das Inaktivierungsprinzip — nämlich die 24stündige Einwirkung einer 1%igen Phenollösung bei 37° C — durchwegs beibehalten, dagegen die Konzentration der Stammemulsion bzw. des gebrauchsfertigen Impfstoffes und auch dessen Dosierung erheblich variiert. Nach der Gesamtmenge des injizierten Impfstoffes (Gramm feuchte Gehirnssubstanz) können diese Modifikationen in abgeschwächte und in verstärkte Verfahren klassifiziert werden. Schwach konzentrierte Impfstoffe kamen vorübergehend (1912—1930) in Kasauli [CUNNINGHAM und MALONE (35, 1)] zur Anwendung und kennzeichnen noch heute die Verfahren von STUART und KRIKORIAN (177, 1, 3), MULFORD² und der reichsdeutschen Impfinstitute (17, 192,

¹ VAN STOCKUM (176) bezweifelt — auf Grund von Inaktivitätsprüfungen, bei welchen jeweils eine größere Anzahl von Meerschweinchen mit derselben Impfstoffprobe intracerebral injiziert wurde —, daß der SEMPLESCHE Impfstoff ausnahmslos und völlig inaktiviert ist. PIRINGER (138, 1) stellte ebenfalls fest, daß ein nach SEMPLE hergestellter Impfstoff bei der cerebralen Überimpfung auf 112 Meerschweinchen noch bei 2 Tieren letale Infektionen auslöste. Auch SÁIZ (165) beobachtete, daß der Impfstoff nach SEMPLE für Kaninchen subcutan appliziert in den größten Dosen (100 ccm) unschädlich, bei subduraler Verimpfung dagegen gelegentlich noch infektiös ist. Schließlich vermochte HABEL (57, 2) im Impfstoff nach SEMPLE noch nach 2 Monaten Reste von aktivem Virus nachzuweisen.

² Das Verfahren von MULFORD unterscheidet sich von den übrigen Modifikationen dadurch, daß 1. eine ungewöhnlich konzentrierte (25%ige) Stammemulsion hergestellt;

138, 1). Eine beträchtliche Intensivierung der ursprünglichen Methode von SEMPLE stellen dagegen das Verfahren von PEREIRA DA SILVA (134, 4) und die später in Kasauli [CUNNINGHAM et al. (35, 2), SHORTT et al. (171)] eingeführten Impfmethode dar. Die nebenstehende Übersicht, die keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit erhebt,¹ zeigt, in welcher Weise die Originalmethode von SEMPLE hinsichtlich der Konzentration der Stammemulsion, des gebrauchsfertigen Impfstoffes und der Dosierung modifiziert wurde.

Hinsichtlich der Einfachheit der Herstellung, der Bakteriosterilität, der Konservierbarkeit und Versandmöglichkeit besitzt der Impfstoff nach SEMPLE dieselben Vorzüge wie das Impfstoffverfahren von FERMI. Dagegen steht die immunisierende Gleichwertigkeit dieser beiden Impfstoffe zur Diskussion (vgl. S. 440). Nach den vorliegenden Befunden muß wohl angenommen werden, daß der nach SEMPLE inaktivierte Impfstoff — in der gleichen Konzentration und Dosierung — eine geringere antigene Wirksamkeit aufweist (102, 2). Dieser Nachteil kann nun aber bei einem zuverlässig inaktivierten Impfstoff dadurch weitgehend ausgeglichen werden, daß die Impfstoffkonzentration erhöht bzw. die Impfdosen vergrößert werden. Die zunehmende Tendenz, das Impfstoffverfahren nach SEMPLE zu verstärken, erscheint daher gerechtfertigt.

2. Formol. Für die Inaktivierung von Lyssavirus kommt dem Formol einstweilen nicht dieselbe Bedeutung zu, wie dies bei anderen Virusarten der Fall war, wohl nur deshalb nicht, weil das Phenol zuerst untersucht und als Inaktivierungsmittel zu befriedigen vermochte. Nach den tierexperimentellen Untersuchungen von PUNTONI (148, 8), PLANTUREUX (139, 3, 5—7, 9—11), COSTA, BOYER und PLACIDI (27), KONIEFF und RAMSINE (88), TZEKNOVITZER und GOLDBERG (180), LÉPINE und SAUTTER (102, 2), JACOTOT, COLSEN und LE ROUX (74), SHORTT et al. (173), VAN STOCKUM (176), BOECKER (16, 2) und KLIGLER und BERNKOPF (84, 1, 2) besteht nun aber kein Zweifel darüber, daß sich Mäuse (84, 1), Meerschweinchen (74), Kaninchen (139, 3, 27, 88, 180, 102, 2, 16, 2, 84, 2), Hunde (148, 8, 139, 7, 9—11, 88), Schafe (139, 3) und Affen (173) mit Formolimpfstoffen erfolgreich immunisieren lassen.

Die erzielten Versuchsergebnisse sind sogar — größtenteils — auffallend günstig und lassen sich dahin zusammenfassen: 1. daß Formolimpfstoffe schon in verhältnismäßig kleinen Mengen — als ausreichend immunisierende Dosis wurde ermittelt für Meerschweinchen 20—50 mg (74), für Kaninchen 150—700 mg (180, 16, 2), für Hunde 1000—2000 mg präinfektionell und 5000—6000 mg postinfektionell (148, 8, 139, 3, 88) — und in wenigen Dosen appliziert (139, 3, 88, 74) einen zuverlässigen und lange dauernden Schutz gegen subcutane (74), intramuskuläre (102, 2, 16, 2), intraokuläre (139, 3, 27) und sogar subdurale bzw. intracerebrale (148, 8, 88, 180, 84, 1) Infektionen mit Virus fixe oder Straßenwutvirus bewirken; 2. daß sich Kaninchen auch durch die subdurale, intracerebrale und meningeale Impfstoffapplikation immunisieren lassen (88, 180), und 3. daß Formolimpfstoffe zur raschen Immunisierung geeignet sind (16, 2).

Die Herstellung von Formolimpfstoffen erfolgt nach denselben Prinzipien — sorgfältige Homogenisierung einer abgewogenen Menge von Passagegehirn im mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Inaktivierungsmittel, Filtration der Emulsion durch Gaze, Watte oder Leinen, Inaktivierung während unterschiedlicher Zeit bei verschiedenen Temperaturen — wie die Zubereitung phenolierter Impfstoffe. In den meisten Fällen werden 5—10%ige Gehirnemulsionen

2. diese Stammemulsion zunächst über 30 Tage im Kühlschrank gehalten und hierauf 3. derart verdünnt wird, daß der gebrauchsfertige Impfstoff 0,5 g Trockensubstanz in 100 ccm 0,5%ige Phenolkochsalzlösung enthält.

¹ Vgl. die ausführlichen Angaben von MCKENDRICK (111, 1).

mit einem Formalinzusatz von 1—6⁰/₁₀₀ während kürzerer Zeit (24 Stunden) bei 37° C oder einigen Tagen bei Temperaturen von 15—30° C inaktiviert. Aus den Untersuchungen von VAN STOCKUM (176) würde hervorgehen, daß zuverlässig inaktivierte und zugleich optimal immunisierende Impfstoffe dann erreicht werden, wenn 10%ige Gehirnemulsionen mit einem Formalinzusatz von 1,5⁰/₁₀₀ während 5 Tagen bei 37° C inaktiviert werden. Von einigen Autoren (139, 3, 180, 74) wird Wert darauf gelegt, das überschüssige Formalin nach der Inaktivierung durch Zentrifugieren und Auswaschen der Gehirnemulsion zu entfernen; bei den üblichen Formalinzusätzen von 1—1,5⁰/₁₀₀ scheint jedoch eine solche Maßnahme — zumindest, wenn keine längere Konservierung angestrebt wird — kaum erforderlich.

Über die gute Verträglichkeit und Unschädlichkeit von Formolimpfstoffen herrscht allgemeine Übereinstimmung; nach PLANTUREUX (139, 3) erweisen sich Mengen von 150 ccm für Kaninchen und von 300 ccm für Schafe als völlig unschädlich. Aus den vorliegenden Versuchen gewinnt man fernerhin den Eindruck, daß das Formol — im Vergleich zum Phenol — nicht nur zuverlässiger inaktiviert, sondern auch den Antigenbestand in geringerem Maße alteriert. Die Stabilität der (ausgewaschenen) Formolimpfstoffe scheint ebenfalls eine ungewöhnlich große zu sein; die Impfstoffe von PLANTUREUX (139, 3) zeigten bei 15—25° C während 3 Monate und bei 10° während 8 Monate keine nachweisbare Abschwächung, und JACOTOT und Mitarbeiter (74) vermochten noch mit Impfstoffen, die über 16 Monate bei 25—30° C konserviert wurden, wirksam zu immunisieren.¹ Berücksichtigt man schließlich die außergewöhnlich günstigen Immunisierungserfolge, die PLANTUREUX (139, 5, 7, 9, 10) bei Hunden und VAN STOCKUM (176) — mit einem formalinisierten Virus fixe aus Affengehirn — beim Menschen erzielten, so wäre nicht ausgeschlossen, daß die Formolimpfstoffe eine zunehmende praktische Verwendung erlangen könnten.

3. Äther. Nach den ersten Beobachtungen von ROUX und von REMLINGER (156, 6, 8) wird die Infektiosität eines in Äther eingetauchten Kaninchenpassagegehirnes in zunehmendem Maße abgeschwächt und schließlich aufgehoben. In welcher *minimalen Zeit eine völlige Virusinaktivierung* erreicht wird, ist von den folgenden Faktoren abhängig: 1. *Von der Größe des virushaltigen Organstückes.* Intakte Kaninchengehirne verlieren ihre Infektiosität später als kleinere Gehirnstücke [LENGAR und BEER (80)] bzw. Rückenmarksegmente, ein Befund, der nicht überraschen kann, da die virusinaktivierende Wirkung des Äthers von der Peripherie nach der Mitte des Organstückes fortschreitet und daher die zentralen Gewebsbezirke um so länger infektiös bleiben, je größer das Organstück ist [REMLINGER (156, 6, 8)]. 2. *Vom Virusgehalt des Gewebes bzw. der Infektiosität der verwendeten Virusstämme.* Daß die „Ätherresistenz“ nicht bei allen Virusstämmen dieselbe ist, und auch bei ein und demselben Stamm variiert, geht aus den Untersuchungen von REMLINGER (156, 7, 160, 2, 157, 11), ALIVISATOS (1, 1), CORNWALL und BEER (25, 2) und CUNNINGHAM und Mitarbeiter (36, 1—5, 35, 1), deren Versuchsergebnisse S. 423 zusammengestellt sind, eindeutig hervor.

Die für die verschiedenen Virus-fixe-Stämme (Gehirnvirus) ermittelten Inaktivierungszeiten schwanken zwischen 72 und 215 Stunden, während die untersuchten Straßennutstämme sich hinsichtlich ihrer Ätherresistenz anscheinend gleichmäßiger verhalten, d. h. meist nach 144 Stunden völlig inaktiviert sind. Fernerhin erscheint bemerkenswert, daß bei fixierten Virusstämmen das Rückenmark durchwegs bedeutend rascher inaktiviert wird als das Gehirn, ein Befund, der sich aus der unter-

¹ Nach LÉPINE und SAUTTER (102, 2) wäre dagegen die Haltbarkeit von Formolimpfstoffen — im Vergleich zum Impfstoff nach FERMI — geringer.

Autor	Virusstamm	Inaktivierungszeit (Stunden)
REMLINGER (156, 8, 7)	Virus fixe Tanger	120—125
REMLINGER et al. (160, 2)	Virus fixe Tanger (2525. Passage)	144
	Virus fixe Z	144
	Virus fixe V	168
	Virus fixe B	192
	Virus renforcé „Chisinau“	144
	Virus „Rosenbusch“ (Mal de Caderas)....	144
REMLINGER und BAILLY (157, 11)	Virus fixe Tanger (2670. Passage)	210—215
ALIVISATOS (1, 1)	Virus fixe Nisch	140
CORNWALL und BEER (25, 2)	Virus fixe Coonoor (Zweigstamm Kasauli)	72
CUNNINGHAM et al. (36, 1—5, 35, 1)	Virus fixe Kasauli I { Gehirn	84
	(859. Passage) { R. M.	< 12
	Virus fixe Kasauli II { Gehirn	84—96
	(38. Passage) { R. M.	84—96
	Virus fixe Paris { Gehirn	168
	(1301. Passage) { R. M.	96
	Ind. Straßenvirus	144
	Ind. Straßenvirus { Gehirn	96
	{ R. M.	96

schiedlichen Größe der Organstücke allein nicht erklären läßt, da bei Straßenvirus bzw. noch nicht völlig fixierten Virusstämmen (Stamm Kasauli II) Gehirn und Rückenmark annähernd dieselbe Ätherresistenz aufweisen. Die naheliegende Vermutung, daß der Grad der Ätherresistenz in erster Linie vom jeweiligen Virusgehalt des untersuchten Gewebes, der bekanntlich bei hinreichend fixierten Stämmen für das Gehirn meist hoch, für das Rückenmark dagegen niedrig ist,¹ abhängt, wird durch die von REMLINGER (156, 7, 160, 2, 157, 11) bei ein und demselben Virus-fixe-Stamm erhobenen Befunde in hohem Grade wahrscheinlich. REMLINGER stellte nämlich für den Virus-fixe-Stamm von Tanger fest, daß im Verlaufe von mehreren hundert Passagen nicht nur die cerebrale Infektiosität, sondern auch die Ätherresistenz dieses Stammes erheblich zunimmt.

Die Ätherresistenz ist demnach wohl eine Funktion der Infektiosität eines Virusstammes bzw. des quantitativen Virusgehaltes des geprüften Gewebes.

Die vorzügliche Eignung von ätherisierten Gehirnemulsionen zur prä- und postinfektionellen Immunisierung wurde von REMLINGER (156, 6, 8, 20), ALIVISATOS (1, 1), HEMPT (65, 1) und CUNNINGHAM und MALONE (35, 1, 2) in Versuchen an zahlreichen Tierspezies (Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Schafe, Schweine, Rinder, Pferde, Affen) nachgewiesen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind — zusammengefaßt — die folgenden: 1. Abgeschwächte, aber nicht völlig inaktivierte Impfstoffe werden bei subcutaner Applikation auch in den größten Dosen — 8 g (= 1 Kaninchenhirn) für Ratten, Meerschweinchen; 20—40 g (= 3—5 Kaninchenhirne) für Kaninchen, Hunde, Schafe — ohne jede Schädigung vertragen [REMLINGER (156, 8, 20), ALIVISATOS (1, 1)]. 2. Auch völlig inaktivierte Impfstoffe immunisieren [REMLINGER (156, 8)], nur abgeschwächte und noch infektiöse Ätherimpfstoffe erweisen sich jedoch in jedem Fall als

¹ FUST und BOEHRINGER ermittelten — in noch unveröffentlichten Untersuchungen mit dem Berner Virus fixe (Stamm Paris-Breslau-Berlin) — einen Virustiter von 1:1 Million für das Gehirn und von 1:100 für das Rückenmark.

überlegen [CUNNINGHAM, MALONE und CRAIGHEAD (35, 2)]. 3. Einige wenige, rasch aufeinanderfolgende Injektionen von großen Impfstoffmengen vermögen Kaninchen — präinfektionell — gegen intracerebrale, Schafe, Meerschweinchen und Affen — postinfektionell — gegen intramuskuläre bzw. corneale Reinfektionen in einem höheren Prozentsatz zuverlässig zu schützen [REMLINGER (156, 7, 8), ALIVISATOS (1, 1), CUNNINGHAM, MALONE und CRAIGHEAD (35, 2)]. Bei Hunden gelingt eine solche prä- und postinfektionelle Schnellimmunisierung gegen die intramuskuläre Straßenwutinfektion mit großer Regelmäßigkeit [BAILLY (6, 1, 2)].

Für die tierische und menschliche Schutzimpfung sind die folgenden Impfstoffe gebräuchlich:

Impfstoff nach REMLINGER. Der für die Hundeimmunisierung bestimmte Impfstoff von REMLINGER (156, 20) und BAILLY (6, 1, 2) besteht aus 3 Kaninchenpassagegehirnen,¹ die während 25, 20 und 15 Stunden in Äther belassen, hierauf in je 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und schließlich durch Gaze filtriert werden. Die Impfung besteht in 3 subcutanen Injektionen zu 50 ccm in 24stündigen Intervallen; die Gesamtdosis beträgt somit 20—30 g Kaninchengehirn. Die Passagegehirne können vor oder nach der Ätherbehandlung in Glycerin konserviert werden.

Impfstoff nach ALIVISATOS. Nach der ursprünglichen Vorschrift von ALIVISATOS (1, 1) werden Kaninchenpassagegehirne von den Hirnhäuten befreit, gewogen und während 84—72 Stunden in Äther bei Kühlschranktemperatur eingetaucht. Die ätherisierten Gehirne werden hierauf in kleine Fragmente zerteilt und — nach 1stündiger Abdunstung des Äthers — in physiologischer Kochsalzlösung zu einer 5%igen Emulsion verarbeitet.

Späterhin verwendete ALIVISATOS (1, 2) für die Herstellung von Impfstoffen nur die bedeutend virusreichere graue Substanz von 72 Stunden lang der Ätherwirkung ausgesetzten Kaninchengehirnen und stellte sich hiervon eine 1,3%ige Emulsion her.

Beide Ätherimpfstoffe von ALIVISATOS werden — mit der HÖGYESSchen Schutzimpfung kombiniert — innerhalb der ersten 10 Behandlungstage in Mengen von total 8 g (beim ursprünglichen Impfstoff) und von 0,78—2,6 g (beim späteren Impfstoff) appliziert.

Das Verfahren von PEREIRA DA SILVA (134, 1, 3) befolgt die Originalmethode von ALIVISATOS und unterscheidet sich von dieser nur dadurch, daß die Ätherbehandlung auf 90 Stunden ausgedehnt und auf eine gleichzeitige Impfung nach HÖGYES verzichtet wird. SCHWEINBURG (168, 6) verlängert die Ätherwirkung auf 120 Stunden, läßt den Äther während 1—2 Stunden bei 37° C abdunsten und stellt sich dann eine 10%ige Emulsion her, welche während der ersten 6 Tage der Högyesbehandlung in einer Gesamtmenge von 60 ccm (6,0 g) appliziert wird. In der Modifikation von CUNNINGHAM und MALONE (35, 1) wird das Gehirn nach einer 72stündigen Ätherisierung in zwei Hälften geteilt, während 10 Tage in 50% Glycerin — zur weiteren Abschwächung — eingelegt und erst hierauf eine 5%ige Emulsion hergestellt.

Impfstoff nach HEMPT. HEMPT (65, 1, 2) verwendete zunächst einen ebenfalls nur abgeschwächten Ätherimpfstoff (Gehirn bzw. Rückenmark 72 Stunden in Äther; 1,6%ige Emulsion) in mittelgroßen Gesamtdosen (1,0—4,0 g; später 1,6—2,0 g), ging jedoch späterhin (65, 3) zu inaktivierten Impfstoffen über, bei welchen an die Ätherbehandlung (96 Stunden für Gehirn bzw. 72 Stunden für Rückenmark) noch eine mindestens 20tägige Konservierung in phenolisiertem Glycerin (30% Glycerin, 1% Phenol) angeschlossen wird. Der gebrauchsfertige,

¹ Nach REMLINGER und BAILLY (157, 6) sind auch Hundegehirne geeignet.

1,6%ige Impfstoff wird in 3—6 Tagen bis zu einer Gesamtmenge von 150 ccm (3,0 g) verimpft.

Der hauptsächlichste Vorteil der Ätherimpfstoffe besteht wohl darin, daß dieselben — ebenso wie Virus-Antiserum-Gemische — die Anwendung einer Schnellimmunisierung, d. h. die Verimpfung großer, meist noch infektiöser Impfstoffmengen in kurzer Zeit, erlauben. Daß sich hierdurch eine rasch auftretende Immunität erreichen läßt, geht nicht nur aus den angestellten Tierversuchen (vgl. oben), sondern auch aus Beobachtungen am Menschen, bei welchen ein ungewöhnlich frühzeitiges Erscheinen von Antikörpern im Blut festgestellt werden konnte [ALIVISATOS (1, 1), PEREIRA DA SILVA (134, 1, 2), HEMPT (65, 3)] hervor. Für dieses rasche Immunisierungsvermögen ist wohl in erster Linie der Gehalt an aktivem Virus [CUNNINGHAM, MALONE und CRAIGHEAD (35, 2)] und weniger die von HEMPT (65, 3, 4) betonte erhöhte Resorbierbarkeit dieser Impfstoffe maßgebend. Hinsichtlich der völligen Unschädlichkeit der Ätherimpfstoffe sind nun allerdings Zweifel berechtigt. So ist nicht zu übersehen, daß die Technik der Ätherbehandlung in keinem Fall eine gleichmäßige Virusabschwächung erlaubt, sondern eben nur, falls — wie üblich — auf eine völlige Inaktivierung verzichtet wird, die Herstellung eines Gemisches von aktivem und inaktivem Virus. Es ist daher auch durchaus verständlich, daß auch bei den Befürwortern der Ätherimpfstoffe die zunehmende Tendenz besteht, durch die Verwendung von schwächer konzentrierten bzw. vorsichtiger dosierten Impfstoffen, Verlängerung der Ätherbehandlung, Nachbehandlung in Glycerin bzw. nachträglicher Phenolisierung, noch eine zuverlässige Abschwächung bzw. Inaktivierung zu erreichen. Fernerhin erfordert die Herstellung von Ätherimpfstoffen eine periodische Überprüfung der Ätherresistenz der verwendeten Virus-fixe-Stämme, da alte Passagestämme eine stark erhöhte Ätherresistenz aufweisen können [REMLINGER und BAILLY (157, 11)] und daher auch länger der Ätherbehandlung unterworfen werden müssen. Die von SCHWEINBURG (168, 6) beobachtete geringe Verträglichkeit konzentrierter Impfstoffe beruht wohl auf technischen Mängeln bei der Impfstoffherstellung und läßt sich — nach den Angaben dieses Autors — durch eine möglichst vollständige Beseitigung des Äthers aus dem Gehirngewebe vermeiden.

4. Chloroform. Als lipoidlösliches Inaktivierungsmittel verwendet KELSER (82) das Chloroform. Der einstweilen nur für die Hundeimmunisierung bestimmte Impfstoff besteht aus einer 33 $\frac{1}{3}$ —50%igen Emulsion (von Kaninchen- bzw. Kälbergehirn), welche nach vorgängiger Filtration durch Gaze bzw. ein feines Metallsieb einen Zusatz von 1% Chloroform erhält. Das frisch zubereitete Gemisch wird zunächst während 24 Stunden bei Zimmertemperatur und hierauf über 3—4 Wochen bei +5° C gehalten, wobei täglich während 15 Minuten durchgeschüttelt wird. Ein derart gelagerter Impfstoff erweist sich bei der subduralen Verimpfung als inaktiv (82, 167, 2, 96, 2) und kann — bei kühler Verwahrung — während mindestens eines Jahres verwendet werden (155, 2, 96, 2).

Im Tierversuch wurden mit dem Chloroformimpfstoff von KELSER ausnehmend günstige Immunisierungserfolge erzielt. Kaninchen werden nach KELSER (82) durch die zweimalige Vorbehandlung (1,3—2,0 g Impfstoff) in 50% gegenüber der intracerebralen, und durch die einmalige Impfung (0,65—1,0 g Impfstoff) in 90—100% gegen die intramuskuläre Infektion mit Straßenvirus zuverlässig geschützt. REICHEL und SCHNEIDER (155, 1, 2) erzielten mit ähnlichen Impfstoffdosen bei der intralingualen Immunitätsprüfung einen wirksamen Impfschutz bei 60% der Versuchstiere. Zu besonders befriedigenden Ergebnissen gelangten SCHOENING (167, 2—4), LEACH und JOHNSON (96, 2) und WEBSTER und CASALS (188, 2) bei der präinfektionellen Schutzimpfung von Hunden; einmalig mit 1,5—3,0 g Impfstoff vorbehandelte Tiere widerstanden nahezu ausnahmslos der intramuskulären Nachinfektion. Schließlich

wurde die hohe Wirksamkeit von Chloroformimpfstoffen auch im Mäusetest von WEBSTER (187, 5, 6), WYCKOFF und BECK (190) und WYCKOFF und TESAR (191) festgestellt. Fernerhin ergaben Versuche, in welchen die immunisierende Wirksamkeit von Phenol- und Chloroformimpfstoffen vergleichend untersucht wurde, eine deutliche Überlegenheit der letzteren (167, 2, 187, 6, 190, 191, 96, 2, 76), wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß die Konzentration der Gehirnemulsion in Chloroformimpfstoffen wesentlich größer ist.

3. Die Applikation der Impfstoffe.

Der Vielgestaltigkeit der Impfstoffe entspricht eine ebenso große Mannigfaltigkeit der Immunisierungsverfahren (vgl. Anhang, Übersicht A, S. 445). Sämtliche Verfahren tragen jedoch unverkennbar den Stempel der PASTEURSchen Originalmethode und sind durch das Bestreben gekennzeichnet, eine für die Immunisierung ausreichende Virusmenge in möglichst kurzer Zeit und bei geringster Gefährdung des Impflings einzuverleiben. Im Vordergrund stehen zwei Tendenzen, eine alte, die Impfung zu intensivieren, abzukürzen und damit wirksamer zu gestalten, und eine neuere, durch die Verwendung von inaktivierten Impfstoffen jedes Impfrisiko auszuschalten. Ob sich diese Zielsetzungen in einem einzigen Impfverfahren verwirklichen lassen, ist wohl zur Zeit noch eine unentschiedene Frage.

a) Immunisierungsprinzip nach PASTEUR.

Für das Impfverfahren von PASTEUR ist vor allem charakteristisch, daß die größten Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden, um der Impfung einen hohen Grad von Sicherheit bzw. Ungefährlichkeit zu verleihen. Dieses Bestreben kommt ebenso sehr in der Herstellung des Impfstoffes — Verwendung eines qualitativ und quantitativ abgeschwächten Virus — wie auch in dessen Applikation — Anwendung des Prinzipes der „einschleichenden Immunisierung“ in Form einer in Zyklen gesteigerten Virusdosierung; Wahl eines bestimmten subcutanen Inokulationsmodus — zum Ausdruck.

Von den übrigen — mit biologisch abgeschwächten Virusarten — ausgeführten Infektionsimpfungen (Pocken, Gelbfieberschutzimpfung usw.) unterscheidet sich das PASTEURSche Verfahren vornehmlich dadurch, daß die Impfung nicht einzeitig, sondern auf zahlreiche Impfinjektionen verteilt durchgeführt wird. Dieser Umstand ergibt sich nicht nur zwangsläufig aus der Verwendung von unterschiedlich abgeschwächten Impfstoffen und der Anwendung eines — sonst nur bei vollvirulenten Erregern und unabgeschwächten Toxinen üblichen — Immunisierungsprinzipes, sondern erscheint auch für die Erzielung eines wirksamen Impfschutzes erforderlich. Berücksichtigt man nämlich, daß das nach PASTEUR abgeschwächte Virus fixe bei subcutaner Applikation nicht zu infizieren vermag und daher — wie im allgemeinen angenommen wird — nur antigene Wirkung entfaltet, so muß der Impferfolg — ebenso wie bei anderen Antigenimpfungen — in hohem Grade von der Größe der Impfstoffdosis und von deren zeitlicher Verteilung abhängig sein. Dagegen ist das von PASTEUR — aus Gründen der Vorsicht — verwendete Prinzip der einschleichenden Immunisierung insofern anfechtbar, als kaum angenommen werden kann, daß eine kleinere Virusdosis schon innert 24 Stunden gegen eine nächst größere zu schützen vermag.

Das Prinzip der PASTEURSchen Immunisierung wurde von den meisten Impfverfahren, die eine Serie von unterschiedlich abgeschwächten bzw. infektiösen Impfstoffen verwenden (Methoden von HÖGYES, BABÈS-PUSCARIU, REMLINGER, PUNTONI) übernommen. Andere Verfahren verwenden dagegen nur einheitlich abgeschwächte bzw. inaktivierte Impfstoffe und steigern kontinuierlich — ohne

Anwendung der PASTEURSchen Impfzyklen — die Impfdosen (Methoden von HARRIS, ISABOLINSKY und ZEITLIN, HEMPT) oder verzichten auf eine einschleichende Immunisierung gänzlich (Methoden von PHILLIPS, FERMI, SEMPLE). Allen Lyssaschutzimpfungen gemeinsam ist das Festhalten an den täglichen Impfinjektionen und — mit wenigen Ausnahmen, in welchen eine intravenöse Immunisierung versucht wurde [WYSOKOWICZ (91), TEODORASCO (179, 1, 2) MORISON (114), KOLDAJEW (85)] — am subcutanen, abdominellen Inokulationsmodus.

b) Intensivierung der Impfverfahren.

Die Notwendigkeit, die Lyssaschutzimpfung — zumindest für die Behandlung von schweren Bißverletzungen — zu verstärken und wenn möglich auch abzukürzen, ist ein altes Postulat und zugleich ein noch immer ungelöstes Problem. Die Tendenz zur Intensivierung findet sich bei sämtlichen Impfverfahren, vermochte sich jedoch — je nach den lokalen Erfordernissen, der praktischen Erfahrung und theoretischen Einstellung — in sehr ungleichem Ausmaße durchzusetzen. Eine Intensivierung läßt sich erreichen 1. durch die Verwendung von nur wenig oder überhaupt nicht abgeschwächtem Virus fixe; 2. durch die Steigerung der Impfstoffdosis; 3. durch die Wahl eines bestimmten Inokulationsmodus, und 4. durch die Verlängerung oder Abkürzung der Impfdauer. Alle diese Möglichkeiten werden häufig miteinander kombiniert.

Einschränkung der Virusabschwächung. Bei allen Verfahren, die sich physikalischer Mittel (Trocknung, Erhitzung, Verdünnung) zur Virusabschwächung bedienen, wurde in zunehmendem Maße auf die Einleitung der Behandlung mit inaktiviertem bzw. hochgradig abgeschwächtem Virus verzichtet, während der Immunisierung auch rascher zu höher infektiösen Impfstoffen übergegangen und die Impfung häufig mit kaum abgeschwächtem oder sogar unabgeschwächtem Virus fixe abgeschlossen. Diese Entwicklung tritt beim Impfverfahren nach PASTEUR besonders deutlich zutage; während die Impfung — am Pariser Institut — in den ersten Jahrzehnten mit 15—10tägigem Mark begonnen und mit 2—1tägigem Mark abgeschlossen wurde, kamen späterhin nur noch Marksegmente, die während 5—2 (1921) bzw. 4—2 (1935) Tagen getrocknet wurden, zur Anwendung [vgl. LÉPINE und CRUVELHIER (100, 2)]. Auch die meisten übrigen Pasteur Institute leiten derzeit die Behandlung mit 6—4tägigem Mark ein [vgl. MCKENDRICK (111, 2)]. Der Verzicht auf länger getrocknete Markimpfstoffe bedeutet nun aber keineswegs immer eine Intensivierung der Impfmethode, sondern häufig nur eine notwendige Anpassung an die bei alten Passagestämmen beobachtete stark herabgesetzte Resistenz des Markvirus gegenüber der Trocknung und Glycerinkonservierung (vgl. S. 401). Die derzeitige in Paris geübte Impfmethode [vgl. CRUVELHIER und VIALA (33, 2)], welche diesem Umstand Rechnung trägt, dürfte demnach wohl kaum als Intensivverfahren zu bezeichnen sein. Eine wesentliche Verstärkung der PASTEURSchen Impfung liegt wohl erst dann vor, wenn schon in den ersten Tagen der Impfung 2—1tägiges Mark zur Anwendung kommt und derart wenig abgeschwächte Impfstoffe — eventuell abschließend auch frisches Virus fixe — wiederholt appliziert werden. Impfungen dieser Art wurden von BABÈS (4, 2) empfohlen und standen in Kairo,¹ Niederländisch-Indien [v. D. H. VAN GENDEREN (48)] und in reichsdeutschen Instituten [PAPAMARKU (131), BOECKER (16, 1)] zumindest vorübergehend in Gebrauch. In vollends extremer Form wurde die PASTEURSche Impfung in Riga, wo ausschließlich nur 1tägig getrocknetes Mark verwendet wurde, intensiviert.¹ In ähnlicher Weise ist die Impfmethode von HÖGYES verstärkt worden, indem auch hier

¹ Cit. nach KRAUS, GERLACH und SCHWEINBURG.

auf die Verwendung von höheren Virusverdünnungen (1:10000—6000) sehr bald verzichtet und die Behandlung späterhin mit Verdünnungen von 1:5000 (Madrid), 1:2000 (Budapest) bzw. 1:500 (Wien) eingeleitet wurde. In russischen Instituten wurde sogar die gesamte Impfung mit einheitlich niederen Verdünnungen von 1:300 [PROTOPOFF (147, 1)], 1:200 bzw. 1:100 [KOLDAJEW (85)] durchgeführt. Dieselben Merkmale einer zunehmenden Verstärkung zeigt schließlich auch das Impfverfahren von BABÈS und PUSCARIU; über 65° C erhitzte Impfstoffe kommen seit 1908 nicht mehr zur Anwendung, in vermehrtem Maße dagegen nur auf 45° C erwärmte und unerhitzte Virussuspensionen [TEODORASCO (179, 1, 2), BOTEZ (18, 2)].

Steigerung der Impfstoffmenge. Schon die Verwendung von nur wenig abgeschwächten Impfstoffen bedeutet de facto eine *quantitative* Verstärkung eines Impfverfahrens, da auch bei gleichbleibender Impfstoffdosis eine größere Menge von aktivem Virus einverleibt wird. Durch die Applikation von stärker konzentrierten Impfstoffen bzw. größeren Impfstoffdosen wird dasselbe Ziel erreicht. Eine derartige Intensivierung kann prinzipiell bei jeder Impfmethode angewendet werden, kommt jedoch vor allem bei Impfstoffen, die in einheitlicher Weise abgeschwächt bzw. inaktiviert sind, also den Phenol-, Formol-, Äther- und Chloroform-Impfstoffen in Betracht. Nach der Menge der injizierten Nervensubstanz stellen die Immunisierungsmethoden von BABÈS und seiner Schule, ALIVISATOS, FERMI und PUNTONI Intensivverfahren dar, um so mehr, als alle diese Verfahren nur abgeschwächte, noch infektiöse Impfstoffe verwenden. FERMI hat denn auch wiederholt darauf hingewiesen, daß die günstigen Erfolge seiner Impfung in hohem Grade von der vorgeschriebenen Impfstoffkonzentration und Dosierung abhängig sind. Für die Wirksamkeit von inaktivierten Impfstoffen kommt der Impfstoffmenge noch eine ungleich größere Bedeutung zu; so sahen sich die indischen Impfinstitute veranlaßt, das Impfverfahren nach SEMPLE durch die Erhöhung der Impfstoffkonzentration und die Vergrößerung der Injektionsdosen in zunehmendem Maße zu intensivieren.

Intravenöse, statt subcutane Impfstoffapplikation. In der Absicht, die Resorption des Impfstoffes und damit auch die Ausbildung der Immunität zu beschleunigen, wurde die intravenöse Impfung auch am Menschen versucht und als ausschließliche oder unterstützende Maßnahme zur Schnellimmunisierung in Vorschlag gebracht. WYSOKOWICZ (91) behandelte 70 Fälle mit intravenösen Injektionen von frischem Virus fixe. KOLDAJEW (85) empfiehlt, bei Schwerverletzten die intensivierte Schutzimpfung nach PASTEUR durch 1—3 intravenöse Injektionen von 15—20 ccm 1:300 bis 1:400 verdünntem Virus fixe zu verstärken. In ähnlicher Art geht TEODORASCO (179, 1, 2) vor; zur Behandlung von schweren Bißverletzungen wird die subcutane Impfung in den ersten 7 Tagen durch die tägliche intravenöse Verimpfung von 5—10—20 ccm unterschiedlich erhitzten (55—50—45; 50—45—45—45° C) Virus fixe ergänzt und verstärkt. MORISON (114) führte die intravenöse Impfung mit einem 1%igen SEMPLESchen Impfstoff bei 169 Impfungen durch; bei insgesamt 720 intravenösen Injektionen wurden keine Zwischenfälle beobachtet. Eine allgemeinere Anwendung hat die intravenöse Impfung jedoch — aus naheliegenden Gründen — bisher nicht gefunden.

Abkürzung der Impfzeit — Rapidverfahren. Die Intensivierung der meisten Impfverfahren besteht bekanntlich darin, daß die Einbringung einer größeren Virusmenge auf eine größere Anzahl von Impfinjektionen verteilt wird, und hat daher eine Verlängerung der Impfdauer zur Folge. Bei schweren Biß- und namentlich Kopfverletzungen, die erfahrungsgemäß kurze Inkubationszeiten aufweisen,

erscheint nun aber eine solche — mit einer Verlängerung der Impfzeit verbundene — Verstärkung der Impfung kaum zweckmäßig, wenn nicht widersinnig. Die Notwendigkeit einer wirksamen Schnellimmunisierung wurde daher schon frühzeitig erkannt und führte zur Anwendung zahlreicher Rapidverfahren.

Durch die Verwendung von *vollvirulenten Impfstoffen gelangten* FERRAN, PROESCHER und HARRIS erstmalig zu stark abgekürzten Impfverfahren.

Die ursprüngliche Schutzimpfung von FERRAN (41) bestand in der Verimpfung von 1500—2000 mg frischem Passagegehirn innert 5 Tagen; späterhin wurde die gesamte Impfstoffdosis jedoch auf 300 mg und außerdem der Impfstoff — wohl zur weiteren Abschwächung — in einer nicht näher definierten Quecksilbersalzlösung zubereitet. PROESCHER (146, 2) injizierte zunächst 240 mg Passagegehirn in 10, später in 5 Tagen, verringerte schließlich jedoch ebenfalls die Impfstoffmenge auf 50 mg, die in 5 Injektionen zu 10 mg appliziert wird. Bei der Schutzimpfung von HARRIS (59, 4) erhalten leichte Fälle während 6—7 Tagen 7000—10000 M.I.D. (= 28—40 mg)¹ Trockenvirus, schwere Fälle in 10—15 Tagen 30000—70000 M.I.D. (= 120 bis 280 mg).¹ Nach RIGNEY D'AUNOY (3, 1) ergibt die Impfung nach HARRIS die besten Resultate, wenn für leichte Bißverletzungen 11 Dosen (= 17750 M.I.D.) bzw. 15 Tagesdosen (= 25750 M.I.D.) für schwere Fälle appliziert werden.

Die Schnellimmunisierung mit *abgeschwächten Impfstoffen* erfordert entweder die Verwendung von nur geringfügig abgeschwächtem Virus oder die Steigerung der täglich applizierten Impfstoffdosis. Die erste Art von Intensivierung kennzeichnet die auf 6—10 Tage abgekürzten Pasteurverfahren von BUJWID, WYSOKOWICZ und NITSCH (124, 1), die rapide Högyesmethode von PROTOPOPOFF (147, 1) und die von ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 1) geübte Schutzimpfung mit glycerinisierten Impfstoffen. Alle diese Schnellmethoden stehen zweifellos den Intensivverfahren mit vollvirulentem Virus sehr nahe. Die Zusammendrängung von zahlreichen Impfinjektionen auf eine geringe Anzahl von Impftagen geht auf die ersten Immunisierungsversuche von PASTEUR selbst zurück und charakterisiert die abgekürzten Impfmethode von REMLINGER. Nach REMLINGER (156, 9) kann die PASTEURSche Impfung dadurch erheblich beschleunigt werden, daß, je nach der Schwere des Falles, 20—30 Injektionen von 4—2 bzw. 4—0tägigem Mark innerhalb von 5 Tagen verabfolgt werden, wobei täglich 4—6 Marksegmente in 4—6 Injektionen à 1 ccm verimpft werden. Diese Vorschrift wurde späterhin von REMLINGER (156, 13, 14, 19) dahin abgeändert, daß die doppelte Impfstoffmenge in nur noch 2 bzw. 3 Injektionen pro die verabreicht wird. Dieselbe Art von Schnellimmunisierung verwendet REMLINGER (156, 13, 14, 16, 19) auch für seinen Glycerinimpfstoff. Die erhebliche Intensivierung der Impfung hält REMLINGER im Hinblick auf die zunehmende Abschwächung und verringerte Trocknungsresistenz des Virus fixe für unbedenklich.

Auf die Möglichkeit einer ungefährlichen und wirksamen Schnellimpfung mit *inaktivierten Impfstoffen* hat HEMPT (65, 2—4) zuerst hingewiesen. Sein Rapidverfahren besteht in der Verimpfung von insgesamt 25—150 ccm (= 400 bis 2400 mg) eines in Äther abgeschwächten und nachträglich in Phenol-Glycerin inaktivierten Impfstoffes innerhalb von 3—6 aufeinanderfolgenden Tagen. Bei schweren Bißverletzungen wird 1 Monat nach Abschluß der Behandlung noch eine „Injection de rappel“ in Form einer einmaligen Injektion von 25 bzw. 40 ccm Impfstoff angeschlossen. Für die rasche Ausbildung der Immunität ist nach HEMPT weniger die Impfstoffmenge als vielmehr die beschleunigte Resorption des durch Äther entfetteten Impfstoffes maßgebend. Mit phenolisierten Impf-

¹ Bezogen auf die Infektiosität des von HARRIS verwendeten Passagestammes:
 $\frac{1}{250}$ mg = 1 M.I.D.

stoffen sind — für die menschliche Schutzimpfung — bisher keine eigentlichen Rapidverfahren durchgeführt worden. FERMI lehnt eine Verkürzung der Impfung ausdrücklich ab und hält seine „Serovaccination“ zur Erzielung einer raschen Immunität für ausreichend. An den indischen Impfinstituten besteht dagegen die offensichtliche Tendenz, die Impfung nach SEMPLE nicht nur durch die Vergrößerung der Impfdosen zu intensivieren, sondern auch abzukürzen, d. h. in keinem Fall über 14 Tage auszudehnen. Die von MORISON (114) versuchte intravenöse SEMPLE-Impfung verfolgt wohl denselben Zweck.

Grundlagen und Bewertung der Intensivierungsverfahren. Einfluß der Virusmenge. Sämtliche Intensivierungsverfahren gehen von der — durch die Ergebnisse des Tierversuches und der Impfstatistik fundierten — Annahme aus, daß der Immunisierungserfolg von der verimpften Virusmenge in hohem Grade abhängig ist; und sind daher bestrebt, den Impfschutz durch die Verwendung von wenig abgeschwächten bzw. stärker konzentrierten oder höher dosierten Impfstoffen zu verstärken. Für den Grad der Intensivierung — und die Intensität jedes Impfverfahrens überhaupt — fehlen nun aber die exakten quantitativen Grundlagen. Angaben über den Abschwächungsgrad der Impfstoffe und die Menge der verimpften Nervensubstanz vermögen die Stärke eines Impfverfahrens nur in unzureichendem Maße zu charakterisieren, da bekanntlich die Infektiosität der Passagestämme sehr unterschiedlich ist und damit auch der Virusgehalt der Impfstoffe erheblich variiert. Zur quantitativen Einschätzung eines Impfverfahrens steht nur *ein* Maßstab zur Verfügung, nämlich die Virusmenge, bzw. die Anzahl M. I. D. Virus, die zur Immunisierung verwendet werden. Von allen Schutzimpfungsmethoden erfüllt nun nur das Verfahren von HARRIS diese Forderung und stellt in dieser Hinsicht einen wesentlichen Fortschritt dar. Die großen Vorteile, die sich aus einer einheitlichen, quantitativen Messung der Impfverfahren ergeben würden, sind doppelter Art: 1. wäre die Möglichkeit gegeben, die verschiedenen Impfverfahren nach ihrer Intensität zu klassifizieren und zu vergleichen. Ein derartiger Versuch wurde bereits von HARVEY und MCKENDRICK (62) und HARRIS unternommen; nach den Berechnungen dieser Autoren werden bei der Impfung nach PASTEUR im Minimum 2160, nach HÖGYES 2183—3898 und nach HARRIS 7000—10000 bzw. 30000—70000 M. I. D. Virus fixe verimpft. Die starke Intensivierung der Methode von HARRIS kommt in diesen Zahlen in eindeutiger Weise zum Ausdruck, und 2. könnte die immer noch ungelöste Frage, welche Menge von vollvirulentem, bzw. abgeschwächtem oder inaktiviertem Virus zur Erzielung einer ausreichenden Immunität beim Menschen erforderlich ist, abgeklärt werden. Von WEBSTER und seinen Mitarbeitern (187, 3, 5, 67, 68, 188, 1, 3) wurden in dieser Richtung bereits außerordentlich bedeutungsvolle Tierversuche angestellt. Durch die quantitative Bestimmung der immunisierenden Virusdosis von vollvirulenten bzw. durch Bestrahlung inaktivierten Impfstoffen und die ebenfalls quantitative Auswertung der erzielten Immunität konnten die folgenden Feststellungen gemacht werden: 1. daß die Größe der minimalen, noch ausreichend immunisierenden Virusdosis nicht nur von der Art der verwendeten Impfstoffe abhängt, d. h. bei vollvirulenten Impfstoffen wesentlich kleiner ist als bei inaktivierten — das diesbezügliche Verhältnis betrug im Mäuseversuch 1000 : 50000 M. I. D. —, sondern auch — zumindest bei inaktivierten Impfstoffen — proportional dem Körpergewicht der zu immunisierenden Tierspezies zunimmt; zwischen Mäusen (20 g) und Hunden (10 kg) wurde entsprechend der 500fachen Gewichts Differenz das Verhältnis von 50000:25000000 M. I. D. ermittelt; 2. daß zwischen der immunisierenden Virusdosis und dem Grad der erzielten Immunität eine weitgehende Proportionalität besteht.

Mit diesen Untersuchungen ist die alte Beobachtung, daß die zur Immunisierung verwendete Virusmenge den Grad der Immunität in entscheidender Weise beeinflußt, erstmalig auf eine exakte Grundlage gestellt und eröffnet sich die Perspektive einer systematischen Überprüfung der zur menschlichen Schutzimpfung verwendeten Impfstoffe und Impfverfahren.

Einfluß des Applikationsmodus. Die subcutane Impfung bietet beim Menschen zwar das geringste Impfrisiko, dagegen kaum ein Optimum an immunisierender Wirksamkeit. Aus den vorliegenden Tierversuchen gewinnt man jedenfalls den bestimmten Eindruck, daß die intravenöse, intramuskuläre und intraperitoneale Impfstoffapplikation insofern der subcutanen überlegen ist, als zur Vorbehandlung eine oder einige wenige Impfinjektionen häufig ausreichen [GALTIER (46), NOCARD und ROUX (125), PROTOPOPOFF (147, 2) MARX (110, 1), WEBSTER (187, 5), WEBSTER und CASALS (188, 1), JONNESCO und BOBES (78)], die Immunität rascher auftritt [GALTIER (46), NOCARD und ROUX (125), KRASMITZKI (91), TEODORASCO (179, 1)] und häufiger auch ein höherer und länger dauernder Impfschutz erreicht wird [NOCARD und ROUX (125), PROTOPOPOFF (147, 2), KRASMITZKI (91), POKSCHISCHESKI (140), BAKI (7), TZEKNOVITZER und GOLDENBERG (180), BEHRENS und Mitarbeiter (12), LIEOU (106)]. Von besonderem Interesse sind die von BAKI (7) angestellten Untersuchungen, in welchen der Einfluß des Inokulationsmodus bei nach HÖGYES, FERMI und ALIVISATOS immunisierten Kaninchen vergleichsweise geprüft wurde; hinsichtlich der Antikörperbildung konnten bei subcutan, intraperitoneal, intramuskulär und intravenös vorbehandelten Tieren keine Unterschiede nachgewiesen werden, wohl aber hinsichtlich der cerebralen Immunität, die nach subcutaner Impfung nur einen flüchtigen, nach intraperitonealer und besonders intramuskulärer und intravenöser Vorbehandlung dagegen einen dauernden Charakter hatte. Die Überlegenheit der intravenösen, intramuskulären und intraperitonealen Immunisierung ist demnach wohl kaum zu bestreiten und dürfte darin begründet sein, daß diese Einverleibungsarten nicht nur eine raschere Resorption der Impfstoffe erlauben, sondern auch — wie auf Grund der rasch auftretenden und lange dauernden intraokulären bzw. cerebralen Immunität vermutet werden kann — das Zustandekommen von latenten Infektionen begünstigen. Mit dieser Möglichkeit ist allerdings nur dann zu rechnen, wenn große Dosen von noch infektiösen Impfstoffen einverleibt werden. Zugunsten dieser Annahme spricht nun auch die bei der intravenösen und — in vermindertem Grade — auch bei der intraperitonealen Immunisierung häufig gemachte Beobachtung, wonach zwischen der zuverlässig immunisierenden und der bereits manifest infizierenden Virusdosis nur eine kleine Amplitude besteht. Eine Ausnahme von dieser Regel stellt wohl nur die intraperitoneale Immunisierung der weißen Maus dar, die an Zuverlässigkeit und Ungefährlichkeit den subcutanen Impfmodus weit übertrifft [WEBSTER (187, 5)]. Für die intravenöse Schutzimpfung beim Menschen dürfte sich — aus den vorliegenden Tierversuchen — die Schlußfolgerung ergeben, daß dieses Impfverfahren wohl eine Beschleunigung und Verstärkung der Immunität erlaubt, gleichzeitig aber auch das Impfrisiko vergrößert.

Einfluß der Immunisierungszeit. Hinsichtlich der Frage, ob die Impfdauer ohne Beeinträchtigung der Immunität wesentlich abgekürzt werden kann, herrscht keine Übereinstimmung. FERMI (40, 13), PEREIRA DA SILVA (134, 1), STUART und KRIKORIAN (177, 3) und HERRMANN (66, 5) vertreten den Standpunkt, daß ein und dieselbe Impfstoffmenge auf kleinere Dosen und über längere Zeit verteilt weitaus zuverlässiger immunisiert, als in wenigen, rasch aufeinanderfolgenden Impfdosen. MOSS (115) stellte außerdem fest, daß täglich mehrmals ausgeführte Impfinjektionen die Ausbildung der Immunität erheblich hemmen.

Alle diese Autoren sind daher keine Anhänger eines abgekürzten Impfverfahrens. Zu entgegengesetzten Befunden gelangten ALIVISATOS (1, 1, 2) und HEMPT (65, 3) mit Ätherimpfstoffen; bei gleicher Virusdosierung wurde durch die kurzfristige Immunisierung eine weitaus rascher einsetzende und anscheinend auch ebenso zuverlässige Immunität erzielt, als durch die protrahierte Impfung. Aus den tierexperimentellen Untersuchungen von SHORTT et al. (173), WEBSTER (188, 3) und WYCKOFF und TESAR (191) würde fernerhin hervorgehen, daß der Immunisierungserfolg bei der Verwendung von inaktivierten Impfstoffen in erster Linie von der Größe der Virusdosis abhängt und daß es weitgehend gleichgültig ist, auf welche Anzahl von Impfinjektionen dieselbe verteilt wird.

Die gegensätzliche Beurteilung der Leistungsfähigkeit von abgekürzten Impfverfahren ist wohl darin begründet, daß einerseits der Impferfolg nach unterschiedlichen Gesichtspunkten eingeschätzt, und andererseits Impfstoffe von recht unterschiedlicher Qualität verwendet wurden. Hinsichtlich des Immunisierungserfolges wäre stets zu unterscheiden zwischen der Ausbildungszeit, dem Grad und der Dauer der erzielten Immunität. Durch die Schnellimmunisierung kann nämlich die Ausbildung der Immunität zwar erheblich beschleunigt werden, es wird jedoch keineswegs immer dieselbe Stärke und Dauer des Impfschutzes wie durch eine längere Vorbehandlung erreicht; derartige Verhältnisse sind von PEREIRA DA SILVA (134, 1, 2) für Ätherimpfstoffe nachgewiesen worden. Fernerhin sind zur Schnellimmunisierung nicht alle Impfstoffe gleichermaßen geeignet. Diese Tatsache kommt am deutlichsten in denjenigen Versuchen zum Ausdruck, in welchen die Impfung in extremer Form abgekürzt, d. h. auf 1 Impfinjektion beschränkt wurde. Die *Möglichkeit der einzeitigen Immunisierung* ist mit vollvirulentem Virus — wie seit den Untersuchungen von FERRAN bekannt ist und durch die Versuche von WEBSTER (187, 3, 68) und KLIGLER und BERNKOPF (84, 1) erneut bewiesen wurde — zweifellos gegeben; sie besteht aber auch für abgeschwächte und sogar anscheinend völlig inaktivierte Impfstoffe. So liegen mehr oder weniger zuverlässige Berichte über erfolgreiche einzeitige Tierimpfungen mit Virus-Antiserum-Gemischen [MARIE (109, 1, 2, 4)], Chloroformimpfstoffen [KELSER (82), LEACH und JOHNSON (96, 2), SCHOENING (167, 2, 4)], Phenol-Glycerin-Impfstoffen [UMENO und DOI (181), EICHHORN und LYON (39), UMEMO und UMEMO (182)], Formolimpfstoffen [JACOTOT, COLSEN und LE ROUX (74), KLIGLER und BERNKOPF (84, 1)] und neuerdings auch mit durch Ultraviolettlicht inaktivierten Impfstoffen [WEBSTER und CASALS (188, 3)] vor. Mit Äther- und Formolimpfstoffen genügen — zur Hundeimmunisierung — zumindest 2—3 Impfinjektionen [REMLINGER (156, 20), BAILLY (6, 1, 2), PLANTUREUX (139, 7, 9)]. Nach WEBSTER (187, 4) müssen nun aber die bisherigen durch einzeitige Impfung mit abgeschwächten bzw. inaktivierten Impfstoffen bei größeren Versuchstieren (Kaninchen, Hunden) bewirkten Immunisierungserfolge als Ausnahmen bewertet und können auch nicht durchwegs als beweisend angesehen werden. Mit den im Handel befindlichen, völlig inaktivierten Phenol- und Chloroformimpfstoffen wurden jedenfalls eindeutig negative Ergebnisse erzielt (BARNES, METCALFE, MARTINDALE und LENTZ (9), WEBSTER und CASALS (188, 2)], so daß sich die unzweifelhaften Immunisierungserfolge wohl auf jene Fälle einengen, in welchen noch sicher infektiöse Impfstoffe angewendet wurden, wie z. B. die von UMEMO und DOI und EICHHORN und LYON verwendeten Phenol-Glycerin-Impfstoffe, die frisch nach KELSER zubereiteten Chloroformimpfstoffe oder die bestrahlten Impfstoffe nach WEBSTER. Der von WEBSTER und CASALS (188, 1, 3) geleistete Nachweis, daß Hunde durch eine einmalige Impfung mit einer ausreichenden Dosis von praktisch völlig inaktiviertem Virus zuverlässig immunisiert werden können, ist von prinzipieller Bedeutung

und läßt selbst eine einzeitige Impfung beim Menschen als nicht mehr völlig utopisch erscheinen.

Einfluß auf die Impfstatistik. Daß die Intensivierung der menschlichen Schutzimpfung die Impfstatistik verbessert, d. h. eine Senkung der gesamten bzw. reduzierten Mortalität zur Folge hat, wurde für die Impfvorfahren von PASTEUR [GAMALEIA (47), BABÈS (4, 2), NITSCH (124, 1), KOLDAJEW (85), GENEVRAY und DODERO (50, 1) u. v. a.¹], für die Impfung nach HÖGYES [v. D. H. VAN GENDEREN (48), BOECKER (16, 1), KOLDAJEW (85)], für das Verfahren nach BABÈS-PUSCARIU [BABÈS (4, 3), TEODORASCO (179, 2) BOTEZ (18, 1—3), PROCA und BOBES (143)], für die Methode von ALIVISATOS [ALIVISATOS (1, 2), NICOLIĆ (123), SCHWEINBURG (168, 1)] und für die SEMPLÉSsche Impfung [STUART und KRIKORIAN (177, 3), CUNNINGHAM, MALONE und CRAIGHEAD (35, 2)] gleichermaßen nachgewiesen. Mit den im Tierversuch erhobenen Befunden, wonach der Immunisierungserfolg der verimpften Virusdosis proportional ist, stehen diese statistischen Erhebungen in Einklang. Ebenso unzweifelhaft ist nun aber auch die statistische Feststellung, daß die Intensivierung von Impfvorfahren, die infektiöse Impfstoffe verwenden, das Impfrisiko erhöht, d. h. die Frequenz von Impflähmungen erheblich steigert [vgl. die Übersichten von SIMON (174), KOZEWALOW (90), FIELDER (42), PELSER (133), HEMPT (65, 1) und REMLINGER (156, 22)]. Das Auftreten von Impfschädigungen wird anscheinend durch bestimmte Intensivierungsverfahren ganz besonders begünstigt; so wurde festgestellt, daß die frühzeitige Anwendung von 2-, 1- und 0tägig nach PASTEUR getrockneten Marksegmenten [PAPAMARKU (131), v. D. H. VAN GENDEREN (48), BOECKER (16, 1), ALIVISATOS (1, 2), SCHWEINBURG (168, 1), KORITSCHNER und SCHWEINBURG (89)] sowie der rasche Übergang zu niederen Virusverdünnungen beim Högyes-Verfahren [VAN GENDEREN (48), ALIVISATOS (1, 2), KOLDAJEW (85)] in besonders hohem Grade gefährdet. Auf die Gefahr einer unfreiwilligen Verstärkung der Högyes-Impfung durch die Anwendung von Virusverdünnungen, welche der stark erhöhten Infektiosität alter Passagestämmen nicht in adäquater Weise angepaßt sind, hat REMLINGER (157, 11, 12) erstmalig aufmerksam gemacht. Die bei der Högyesschen Impfung beobachtete auffallende Zunahme an schwer verlaufenden Impflähmungen, deren Frequenz im Jahre 1913 noch 1:17139 [SIMON (174)], in den Jahren 1932—1939 dagegen bereits im Durchschnitt 1:3194 [MCKENDRICK (111, 2)] betrug, ist nach REMLINGER (156, 25—29) die Folge einer solchen unbeabsichtigten Überdosierung. PROCA und BOBES (143) stellten schließlich auf Grund der Impfstatistiken von GENEVRAY und DODERO (50, 1) und des BABÈSschen Instituts fest, daß die Intensivierung der PASTEURschen Impfung (frühzeitige Verwendung von 1- bzw. 0tägig getrocknetem Mark) auf die Inkubationszeiten der registrierten Todesfälle insofern Einfluß hat, als der prozentuale Anteil der Fälle mit kurzer Inkubation deutlich ansteigt. PROCA und BOBES interpretieren diese Beobachtung — im Sinne von NITSCH (124, 2) und DODERO (38, 4) — dahin, daß unter dem Einfluß der verstärkten Impfung der Verlauf der Straßenwutinfektion beschleunigt wird, und berufen sich hierbei auf die von LÉPINE und SAUTTER (102, 4) durchgeführten Tierversuche, aus welchen hervorzugehen scheint, daß Kaninchen mit nach PASTEUR getrocknetem Virus fixe soweit „sensibilisiert“ werden können, daß die cerebrale Reinfektion den beschleunigten Exitus der Versuchstiere zur Folge hat. PROCA und BOBES deuten demnach die im Anschluß an eine verstärkte Schutzimpfung

¹ Nach PAPAMARKU (131), v. D. H. VAN GENDEREN (48) und BOECKER (16, 1) bewirkt dagegen die intensivierete Impfung nach PASTEUR keine deutliche Verbesserung der Impferfolge.

häufiger werdenden Todesfälle mit kurzer Inkubation nicht als Virus-fixe-, sondern als beschleunigte Straßenwutinfektionen, eine Hypothese, die nun allerdings erst durch ätiologische Untersuchungen verifiziert werden könnte.

Die unbestrittene Zunahme von Impfkomplicationen setzt dem Grad der Intensivierung bei Infektionsimpfungen bestimmte Grenzen. Ob sich das erhöhte Impfrisiko durch die gleichzeitige Verabreichung von Immuneserum nach dem Vorschlag von MARIE (109, 5, 6) und PROCA, BOBES und JONNESCO (144, 4) oder durch die Anwendung von Depotimpfstoffen im Sinne von BOTAFOGO GONSALVES (54, 2, 4) ausschalten läßt, ist noch unentschieden. Auch bei der Verwendung von inaktivierten Impfstoffen scheint eine starke Intensivierung nicht völlig unbedenklich; in den indischen Instituten machte sich jedenfalls die Verstärkung der SEMPLIESchen Impfung in einer erhöhten Frequenz der Myelitisfälle bemerkbar [SMITH (175)]. Andererseits besteht nun aber doch, wie die bisherigen Erfolge mit dem bestrahlten Impfstoff von WEBSTER erwarten lassen, die Aussicht, die Impfung mit optimal inaktivierten Impfstoffen quantitativ so zu verstärken und möglicherweise auch auf wenige Impfinjektionen abzukürzen, daß ein zuverlässiger Impfschutz ohne erhöhte Gefährdung des Impflings erreicht werden kann.

4. Die Bewertung der Impfstoffe bzw. der Impfverfahren.

Die Tatsache, daß zur menschlichen Schutzimpfung die verschiedenartigsten Impfstoffe verwendet und die unterschiedlichsten Impfverfahren angewendet werden, muß im Zeitalter der standardisierten Methoden als ärgerlicher Anachronismus empfunden werden und stellt die Forderung nach einer einheitlichen und weitgehend standardisierten Schutzimpfungsmethode. Ein Fortschritt in dieser Hinsicht ist an die Lösung der Frage, welchem Verfahren die größte Leistungsfähigkeit und zugleich das geringste Impfrisiko zukommt, gebunden. Zur Bestimmung der Wirksamkeit und Unschädlichkeit eines Impfverfahrens stehen nun prinzipiell zwei Methoden, nämlich die Analyse der menschlichen Impfstatistik und die Auswertung der Impfstoffe im Tierversuch zur Verfügung.

a) Ergebnisse und Bewertung der Impfstatistik.

Die statistische Bewertung der Impfergebnisse erfolgt bekanntlich durch die *Bestimmung der Mortalität* bei den Schutzgeimpften. Dieser Maßstab erlaubt wohl, die Wirksamkeit der verschiedenen Schutzimpfungsverfahren vergleichend zu prüfen, gibt jedoch über den tatsächlichen Erfolg der Impfung schon deshalb keine genaue Auskunft, weil die Morbiditäts- und Mortalitätsfrequenz bei Ungeimpften mit Sicherheit nicht bekannt ist, sondern lediglich auf Grund von älteren und größtenteils unzuverlässigen Statistiken auf einen Durchschnittswert von 10—15% eingeschätzt werden kann.

Die Frage, ob die Wirksamkeit der Schutzimpfung nach der *Gesamt mortalität* (sämtliche Todesfälle im Anschluß an die Impfung) oder nach der „*relativen bzw. reduzierten Mortalität*“ [Anzahl der Sterbefälle, die sich nach einem bestimmten Intervall nach Abschluß der Impfung (PASTEUR) bzw. dem Infektionstermin (VAN STOCKUM) ereignen] beurteilt werden soll, ist von der ersten internationalen Lyssakonferenz zugunsten des strengeren Maßstabes, der Gesamt mortalität,¹ entschieden worden.

Die von PASTEUR zur Beurteilung des Impferfolges vorgeschlagene „reduzierte Mortalität“ berücksichtigt bekanntlich nur diejenigen Todesfälle, die nach dem

¹ Bei einer vorgeschriebenen Beobachtungszeit von mindestens 6 Monaten, wenn möglich 1 Jahr.

15. Tag nach Abschluß der Behandlung auftreten, wobei die Vorstellung maßgebend war, daß früher eintretende Todesfälle schon deshalb nicht als Mißerfolge der Impfung gebucht werden können, weil die PASTEURSche Schutzimpfung erfahrungsgemäß erst 14 Tage nach der letzten Impfinjektion einen nachweisbaren Grad von Immunität erreicht. Die Untauglichkeit dieses Maßstabes besteht nun darin, daß die reduzierte Mortalität je nach der Dauer der Schutzimpfung unterschiedlich groß ist, d. h. bei einer kurzen Impfzeit mehr Todesfälle registriert als bei einer langen. VAN STOCKUM (176) brachte daher in Vorschlag, alle Todesfälle, die sich vom 30. Tage nach der stattgefundenen Bißverletzung an ereignen, als reduzierte Mortalität und zugleich als Mißerfolge der Impfung zu betrachten, wobei von der Annahme ausgegangen wird, daß kein Impfverfahren auf die Mortalität innerhalb der ersten 30 Tage post infectionem irgendwelchen Einfluß hat. Das Neuartige an der impfstatistischen Methode von VAN STOCKUM liegt darin, daß als Maßstab zur Bestimmung der Wirksamkeit eines Schutzimpfungsverfahrens weder die gesamte, noch die reduzierte Mortalität, sondern das Verhältnis der Mortalität innerhalb der ersten 30 Tage p. i. zur Gesamtmortalität verwendet wird. Dieses Verhältnis ist nun auf Grund der europäischen Mortalitätsstatistiken der französischen Hygienekommission (1862 bis 1872), von HÖGYES, BAUER, NITSCH, BOECKER (16, 3), PROCA und BOBES (143) auch bei Ungeimpften bekannt und ist durch die weitgehend konstante Verhältniszahl 1:5 gekennzeichnet. Die Leistungsfähigkeit einer Schutzimpfung muß demnach nach VAN STOCKUM in der Veränderung dieses Mortalitätsverhältnisses klar zum Ausdruck kommen; ein Impferfolg wird sich in einer Senkung der reduzierten, und damit auch der gesamten Mortalität äußern, so daß die oben erwähnte Verhältniszahl im günstigsten Fall 1:1 wird, im ungünstigsten dagegen, d. h. bei einer wertlosen Impfung, unverändert bleibt. Der offensichtliche Vorteil der statistischen Meßmethode von VAN STOCKUM liegt zweifellos darin, daß die Mortalität der Geimpften mit derjenigen der Ungeimpften in Beziehung gesetzt und verglichen werden kann. Die Grundlagen dieses statistischen Prinzips müßten allerdings noch eingehender geprüft werden. BOECKER (16, 3) hat sich dieser Aufgabe unterzogen und gelangte zum vorläufigen Schluß, daß das als Vergleichsgröße in Frage stehende Mortalitätsverhältnis für ungeimpfte Lyssafälle wohl innerhalb der europäischen Bevölkerung den annähernd konstanten Wert von 1:5 besitzt, für außereuropäische Verhältnisse dagegen andere Proportionen Gültigkeit haben dürften. Tatsächlich geht aus den Lyssastatistiken von DODERO (38, 4) und JORDAN (cit. nach BOECKER) hervor, daß in Tonkin bzw. Shanghai der prozentuelle Anteil der Lyssasterblichkeit bei Ungeimpften im ersten Monat nach der Bißverletzung bedeutend größer ist, so daß sich zur Gesamtmortalität ein Verhältnis von 1:2,6 bzw. 1:2,7 ergibt. Gegen das statistische Prinzip von VAN STOCKUM könnte fernerhin der Einwand erhoben werden, daß die Annahme, wonach die Mortalität in den ersten 30 Tagen durch die Schutzimpfung in keiner Weise beeinflusst werden kann, für Intensiv- und Schnellimmunisierungsverfahren nicht unbedingt zutreffen muß. Wäre nämlich ein Schutzimpfungsverfahren auch gegen Straßenwutinfektionen mit stark abgekürzter Inkubation wirksam, so würde ein derartiger Impferfolg im Mortalitätsverhältnis von VAN STOCKUM möglicherweise überhaupt nicht zum Ausdruck kommen.

Von der ersten internationalen Lyssakonferenz wurde fernerhin festgelegt, daß die totale bzw. globale Mortalität auf sämtliche Faktoren, die erfahrungsgemäß die Lyssamortalität beeinflussen, bezogen werden muß, nämlich 1. die Art der lyssaübertragenden Tierspezies; 2. den Sicherheitsgrad der Lyssadiagnose beim wutverdächtigen Tier (Kategorien A, B, C und D); die Schwere der Verletzung (tiefe, oberflächliche bzw. unsichtbare Verwundung); 4. die Beschaffenheit der Infektionsstelle (nackte oder bekleidete Haut); 5. den Sitz der Verletzung (Kopf, Arm, Rumpf, Bein¹), und 6. die zwischen der Bißverletzung und dem Beginn der Behandlung verfllossene Zeit (0—4, 5—7, 8—14, mehr als 14 Tage).

¹ Z. B. nach der Klassifikation nach HEMPT (vgl. Anhang A, S. 451).

Von besonderer Bedeutung erwies sich schließlich die gesonderte Betrachtung der Lyssamortalität bei schutzgeimpften Europäern bzw. Nichteuropäern. Mit diesen Richtlinien war die Basis für eine internationale, nach einheitlichen Gesichtspunkten durchgeführte Impfstatistik, mit deren Verarbeitung MCKENDRICK beauftragt wurde, geschaffen.

Aus den neun bisher erschienenen „Revue analytiques des rapports des Instituts Pasteur sur les résultats de la vaccination antirabique“ von MCKENDRICK (vgl. die zusammenfassende Übersicht im Anhang B) ergeben sich die folgenden Feststellungen:

1. daß die durchschnittliche Gesamtmortalität bei insgesamt 1060832 Schutzgeimpften für alle menschlichen Rassen zusammen 0,33%, für Europäer 0,15% und für Nichteuropäer 0,56% beträgt. Die Lyssagefährdung der Nichteuropäer ist demnach 3,7mal größer (vgl. Anhang B, Tab. 1 und 2);

2. nach der lyssaübertragenden Tierspezies fällt die Mortalität in der folgenden Reihenfolge ab: Wölfe (7,76%)—Schakale (1,53%)—Hunde (0,26%)—Katzen (0,03%)—andere Tierarten;

3. bei Bißverletzungen durch Tiere der Kat. A und B ist die Mortalität 1,5—2mal größer als bei Tieren der Kat. C und D (vgl. Tab. 3 und 4);

4. tiefe Bißverletzungen weisen eine 3—6mal höhere Lebensbedrohung auf als oberflächliche (vgl. Tab. 5);

5. nach dem Sitz der Verletzung steigt die Mortalität in der Reihenfolge: Rumpf—Bein—Arm—Kopf an (vgl. Tab. 6);

6. der Termin des Behandlungsbeginnes hat auf die Mortalität erst einen nachweisbaren Einfluß, wenn das Intervall zwischen Biß und Einleitung der Schutzimpfung mehr als 14 Tage beträgt; die Mortalität steigt in diesem Fall bei Nichteuropäern auf 1,08% an, bleibt dagegen bei Europäern unverändert (!) (vgl. Tab. 7);

7. hinsichtlich der immunisierenden Wirksamkeit lassen sich zwischen den Verfahren von PASTEUR, HÖGYES, BABÈS, FERMI, PUNTONI, SEMPLE und HEMPT keine statistisch bedeutsamen Unterschiede nachweisen. Nur für die intensivierete Schutzimpfung nach HÖGYES-ALIVISATOS kann mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% eine Überlegenheit gegenüber den anderen Verfahren angenommen werden;

8. die Frequenz der postvaccinalen Myelitiden fällt bei den am häufigsten verwendeten Verfahren in der folgenden Reihenfolge ab: HÖGYES-ALIVISATOS (0,045%) — HÖGYES (0,031%) — PASTEUR (0,029%) — FERMI (0,014%) — SEMPLE (0,011%) — HEMPT (0,010%) — BABÈS-PUSCARIU (0,006%). Die Häufigkeit der Impfparalysen ist demnach bei den Verfahren von SEMPLE und HEMPT, die inaktivierte Impfstoffe verwenden, um etwa dreimal geringer als bei den klassischen Infektionsimpfungen von PASTEUR und HÖGYES. Die im Anschluß an die Högyes-Impfung auftretenden Myelitidfälle weisen die höchste Sterblichkeit auf (vgl. Tab. 8).

Die internationale Impfstatistik von MCKENDRICK bestätigt demnach an einem außergewöhnlich großen Untersuchungsmaterial schon früher erhobene Befunde über den Einfluß zahlreicher Faktoren auf die Lyssamortalität bei Schutzgeimpften. Das eigentliche Ziel, nämlich die statistische Erfassung der Leistungsfähigkeit der verschiedenen Impfverfahren wurde dagegen nicht erreicht. Jedenfalls dürfte die Feststellung, daß sämtliche Impfverfahren annähernd dieselbe Wirksamkeit haben, den tatsächlichen Verhältnissen nicht entsprechen. Eine der-

artige Uniformität der Impfergebnisse würde eher Zweifel an der Zuverlässigkeit der menschlichen Schutzimpfung überhaupt aufkommen lassen.

Die mutmaßlichen Gründe für diese unzureichende Leistungsfähigkeit der statistischen Methode werden von MCKENDRICK selbst hervorgehoben; rein statistisch ergibt sich die Schwierigkeit, daß der Vergleich von derartig niederen Mortalitätsziffern nur dann den Nachweis von bedeutsamen Differenzen ermöglicht, wenn außerordentlich große Vergleichszahlen zur Verfügung stehen. Für das Impfverfahren von FERMI ist z. B. diese Vorbedingung noch nicht erfüllt, so daß der Wert dieser Impfmethode statistisch noch nicht beurteilt werden kann. Zweitens ist die Einheitlichkeit des Untersuchungsmaterials wohl stets eine scheinbare, da qualitativ sehr unterschiedliche Impfstoffe unter denselben Verfahren rubriziert, gleichschwere Verletzungen unterschiedlich klassifiziert werden usw.

Unter diesen Umständen erscheint es mehr als fraglich, ob durch die Bestimmung der Gesamtmortalität jemals der reelle Wert der verschiedenen Schutzimpfungsverfahren eruiert werden kann. Das von VAN STOCKUM vorgeschlagene statistische Untersuchungsprinzip, das von der Frequenz der Fälle weitgehend unabhängig ist, verdient daher für zukünftige impfstatistische Analysen zweifellos erhöhtes Interesse.

b) Ergebnisse des Tierversuches (vgl. Anhang, Übersicht C).

Die überaus große Anzahl von Tierversuchen, in welchen die immunisatorische Wirksamkeit der verschiedenartigsten Impfstoffe geprüft wurde, würde a priori erwarten lassen, daß sich eindeutige Schlußfolgerungen über den Wert der Lyssaschutzimpfung im allgemeinen und über die Leistungsfähigkeit der einzelnen Impfverfahren im besonderen ableiten lassen. Aus der verdienstvollen Arbeit von WEBSTER (187, 4), in welcher insgesamt 300 Tierversuche seit der Zeit von PASTEUR bis zum Jahre 1937 in kritischer Weise auf ihre statistische Beweiskraft geprüft wurden, ergibt sich nun aber die erstaunliche Tatsache, daß die Großzahl aller Versuche den Beweis des Impferfolges schuldig bleibt. So ist nach WEBSTER die Möglichkeit einer postinfektionellen Schutzimpfung nur in den von FERMI (40, 3) angestellten Versuchen, in denen subcutan mit Passagevirus infizierte Ratten durch die Nachbehandlung mit großen Dosen Virus fixe bzw. Phenolimpfstoff in einem wechselnd hohen Prozentsatz geschützt werden konnten, mit Sicherheit nachgewiesen worden. Die menschliche Schutzimpfung hätte demnach nur eine schwache experimentelle Grundlage. Auch die Erfolge der präinfektionellen Immunisierung sind nach WEBSTER größtenteils zweifelhaft, unbefriedigend und widerspruchsvoll. In besonders hohem Grade gilt dies für diejenigen Versuche, bei welchen ein strenger Modus der Immunitätsprüfung (subdurale bzw. intraokuläre Reinfektion) zur Anwendung kam. So wäre — nach der WEBSTERSchen Analyse — eine Immunisierung des Zentralnervensystems nur in den Versuchen von PASTEUR (132, 1), KELSER (82), STUART und KRIKORIAN (177, 7) und OKUWADA (127) mit Sicherheit gelungen. Eine eindeutige Überlegenheit eines bestimmten Impfstoffes läßt sich schließlich nach WEBSTER ebenfalls nicht nachweisen.

Man wird nun nicht übersehen dürfen, daß WEBSTER für die Bewertung der vorliegenden Tierversuche einen ungewöhnlich strengen Maßstab verwendete, indem zahlreiche, sonst wohl als positiv bewertete Immunisierungserfolge — auf Grund einer unzureichenden Anzahl von Versuchstieren, fehlender oder ungenügender Kontrollen oder einer statistisch nicht beweiskräftigen Mortalitätsdifferenz zwischen den immunisierten und nicht vorbehandelten Versuchstieren — als zweifelhaft oder negativ qualifiziert werden. Es ist demnach möglich, ja

wahrscheinlich — aber eben nicht streng bewiesen —, daß die Anzahl der erfolgreichen Immunisierungsversuche de facto weit größer ist, als aus der WEBSTERschen Analyse hervorzugehen scheint. Eine Vergleichsmöglichkeit zwischen den verschiedenen Versuchen und damit auch eine Abschätzung der Leistungsfähigkeit bestimmter Impfverfahren wird aber nicht zu erreichen sein, solange die Auswertung von Impfstoffen nicht nach einheitlichen Prinzipien und unter quantitativen Versuchsbedingungen durchgeführt wird.

c) Quantitative Auswertung der Impfstoffe.

Auf die Notwendigkeit, den Tierversuch zur Bestimmung der Wirksamkeit von Impfstoffen zu standardisieren, ist zwar öfters hingewiesen worden; eine Einigung über die Wahl des geeignetsten Versuchstieres, den Immunisierungsmodus und die Art der Immunitätsprüfung (Infektionsmodus, Verwendung von Straßen- oder Passagievirus) konnte jedoch bis vor kurzem nicht erzielt werden.

CORNWALL und BEER (25, 1) verwendeten als Testtiere Ratten und Meerschweinchen, die mit einer bestimmten, dem Körpergewicht der Versuchstiere proportionalen Impfstoffmenge (10 mg/100 g) subcutan vorbehandelt und mit derselben Menge Straßenvirus subcutan auf Immunität geprüft werden. Zur Bewertung jedes Impfstoffes sind mindestens 100 und dieselbe Anzahl von Kontrolltieren erforderlich. REICHEL und SCHNEIDER (155, 1, 2) untersuchten die Frage, welcher Infektionsmodus für die Immunitätsprüfung am geeignetsten ist. Die subdurale bzw. intraokuläre Testinfektion wird als zu streng, die subcutane und intramuskuläre Testung als unzuverlässig abgelehnt, dagegen erwies sich die intralinguale Immunitätsprüfung bei subcutan vorbehandelten Kaninchen als durchaus geeignet. Ein Impfstoff wird dann als brauchbar bewertet, wenn von den vorbehandelten Tieren mindestens 60% überleben, von den Kontrolltieren dagegen mindestens 60% ad exitum kommen. Allen an die quantitative Auswertung von Impfstoffen zu stellenden Anforderungen entspricht wohl aber erst der von WEBSTER (187, 5, 6) ausgearbeitete „Mäusetest“. Die Grundlage dieses Testes ist die Feststellung, daß bestimmte Inzuchtstämme weißer Mäuse („W-Swiss mice“) für intracerebral und intramuskulär einverleibtes Lyssavirus eine — im Vergleich zu Kaninchen und Meerschweinchen — besonders hohe und gleichmäßige Empfänglichkeit aufweisen [WEBSTER und DAWSON (189)], und auf intraperitonealem Wege leicht und regelmäßig zu immunisieren sind. Im Prinzip besteht der Mäusetest darin, daß eine Serie von Mäusen mit einer bestimmten Impfstoffmenge intraperitoneal vorbehandelt und der Grad der erzeugten Immunität in M. I. D. ausgewertet wird. Die zur Auswertung inaktivierter Impfstoffe vorgeschriebene Technik ist die folgende:

Der zu prüfende (inaktivierte) Impfstoff wird 1:10 verdünnt und zum eventuellen Nachweis von noch vorhandenem aktivem Virus auf 5 — zwei Wochen alte — Mäuse cerebral verimpft. Dieselbe Impfstoffverdünnung dient zur intraperitonealen Immunisierung von 16—20 (3 Wochen alten) Mäusen, wobei das täglich verabreichte Impfstoffvolum ein Achtel der für den Menschen bzw. den Hund vorgeschriebenen Tagesdosis — z. B. statt 2 bzw. 5 ccm = 0,25 bzw. 0,6 ccm — beträgt. Die Anzahl der präparierenden Injektionen richtet sich danach, ob der Impfstoff für die Immunisierung des Menschen oder des Hundes bestimmt ist; im einen Fall werden an sechs aufeinanderfolgenden Tagen täglich 0,25 ccm, im anderen nur eine einzige Impfinjektion verabreicht. 16—20 Mäuse desselben Alters erhalten keine Vorbehandlung und dienen als Kontrollen. 3 Wochen nach der ersten Impfinjektion wird der Grad der Immunität mit einem vortitrierten Virus fixe bzw. Straßenvirus (1 M. I. D. = diejenige Verdünnung, die eben noch 50% der Versuchstiere mit Sicherheit tötet)¹

¹ Die Bestimmung dieses „50%-Endpunktes“ erfolgt durch die cerebrale bzw.

quantitativ bestimmt, derart, daß je 4 Tiere entweder cerebrally mit 1, 10, 100 und 1000 M.I.D. (je 0,03 ccm) oder intramuskulär (M. gastrocnemius) mit 2, 4, 8, 16 und 32 M.I.D. (je 0,01 ccm) infiziert werden. Die geprüften Tiere bleiben hierauf während 60 Tagen in Beobachtung.

Nach WEBSTER und CASALS (188, 2) kann die Prüfung von Impfstoffen, namentlich, wenn dieselben für die Hundeimmunisierung bestimmt sind, auch im „Hundetest“ erfolgen. Im Prinzip ist die Auswertung am Hund dem Mäusetest nachgebildet und wird technisch in der folgenden Weise durchgeführt:

Von 30 (4—6 Monaten alten) Hunden werden 15 durch 1 subcutane Injektion von 5 ccm des zu prüfenden Impfstoffes vorbehandelt; die restlichen 15 Hunde bleiben als Kontrollen ungeimpft. 3 Wochen später erfolgt die intramuskuläre (beidseitige Nackenmuskulatur) Immunitätsprüfung mit 1, 10, 100 M.I.D. (in 0,25 ccm) Straßenvirus (Mäusegehirn), wobei jede dieser Prüfungsdosen 5 Tieren injiziert wird. Die Beobachtungszeit wird auf 2—5 Monate ausgedehnt. Der Grad der Immunität wird wiederum nach der Anzahl M.I.D., die von 50% der Tiere einer Prüfungsgruppe vertragen werden, beurteilt.

Nach den Untersuchungen von WEBSTER und CASALS (188, 2) stimmt der Hundetest in den Ergebnissen mit dem Mäusetest völlig überein, so daß sich die routinemäßige Impfstoffprüfung auf die Ausführung des Mäusetestes beschränken kann.

Von WYCKOFF und BECK (190) wurde der Mäusetest von WEBSTER noch dahin vereinfacht und zeitlich abgekürzt, daß zur intraperitonealen Vorbehandlung der Mäuse ausnahmslos fünf in täglichen Intervallen applizierte Impfinjektionen — $5 \times 0,25$ ccm für menschliche Impfstoffe, bzw. $5 \times 0,6$ ccm, falls Impfstoffe für den Menschen bzw. den Hund verglichen werden sollen — ausgeführt werden. Die bereits am 12. Tag nach dem Beginn der Immunisierung vorgenommene Immunitätsprüfung beschränkt sich auf die intracerebrale Verimpfung von 100 und 1000 M. I. D. Virus fixe auf je 5 Mäuse. Der Versuchsausfall wird zwei Wochen nach der Immunitätsprüfung registriert.

HABEL (57, 1) analysierte neuerdings nochmals sämtliche Faktoren, die den Mäusetest zu beeinflussen vermögen, in der Absicht, den Test soweit zu standardisieren, daß die Ergebnisse in jedem Fall reproduzierbar sind. Fernerhin wurde der Versuch unternommen, den Test weitgehend an die jeweiligen bei der menschlichen Schutzimpfung bestehenden Verhältnisse anzupassen und außerdem zu vereinfachen und abzukürzen. Für die Wertbestimmung von inaktivierten Impfstoffen (Phenol-, Formol-, Äther-, Chloroform- und hitzeinaktivierten Impfstoffen) ergibt sich auf Grund dieser Untersuchungen die folgende Vorschrift:

Vorbehandlung. Der zu prüfende Impfstoff wird entsprechend seiner Konzentration verdünnt: 5% Impfstoff = Verdünnung 1:10; 25% Impfstoff = Verdünnung 1:50. 30 weiße Inzuchtmäuse — desselben, vorzugsweise weiblichen Geschlechts; desselben Alters (1 Monat) und Gewichtes (11—13 g) — erhalten 6 intraperitoneale Injektionen à 0,25 ccm des verdünnten Impfstoffes in 48stündigen Intervallen. 18 Mäuse bleiben unbehandelt und dienen als Kontrollen.

Immunitätsprüfung. Zur Gewinnung des Testvirus werden mindestens 3 Mäuse mit je 0,03 ccm einer 10%igen Mäusegehirnemulsion (Virus fixe) 7 Tage nach Beginn der Vorbehandlung intracerebral infiziert, nach dem Auftreten klinischer Symptome getötet und das Gehirn bis zur Immunitätsprüfung bei 0° C verwahrt. Am Tage der Immunitätsprüfung — 14 Tage nach der ersten Impfinjektion — wird eine 10%ige

intramuskuläre Virustitration und kann erforderlichenfalls nach der Methode von REED und MUENCH (154) berechnet werden.

Gehirnemulsion (in Aq. dest. + 10% Pferdeserum) hergestellt und während 10 Minuten bei 1000 Umdrehungen per Minute zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird hierauf in Zehnerpotenzen von 10^{-1} — 10^{-7} verdünnt und wie folgt intracerebral verimpft: von den geimpften Mäusen werden Gruppen von je 6 Tieren mit den Virusverdünnungen 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} auf Immunität geprüft; die Kontrollmäuse erhalten ebenfalls in Gruppen von je 6 Mäusen die Grenzverdünnungen 10^{-5} , 10^{-6} und 10^{-7} zur Bestimmung des 50%igen Endtiters.

Bewertung. Sämtliche Tiere bleiben während 21 Tagen in Beobachtung. Als Lyssatodesfälle werden nur diejenigen, bei denen vorgängig Symptome beobachtet werden konnten, diagnostiziert. Die niedrigste Virusverdünnung, bei welcher mindestens 50% der geimpften Tiere überleben, repräsentiert den Immunitätstiter. Gegen welche Anzahl M.I.D. Virus ein Schutz erreicht wird, läßt sich aus der Differenz der Titer bei den geimpften und nicht geimpften Mäusen unschwer ermitteln, eventuell auch nach REED und MÜNCH (154) berechnen. Welche Mindestanforderung an das immunisierende Vermögen eines Lyssaimpfstoffes gestellt werden muß, ist nach HABEL noch nicht endgültig abgeklärt; vorläufig gilt das Postulat, daß ein Impfstoff im standardisierten Mäusetest gegen mindestens 1000 M.I.D. Virus schützen soll.

Nach HABEL kann der Mäusetest auch zur Auswertung von noch infektiösen Impfstoffen (Impfstoffe nach PASTEUR, HÖGYES, HARRIS usw.) verwendet werden. Die Vorbehandlung der Mäuse erfolgt in diesem Fall — in Anpassung an die menschliche Schutzimpfung — mit Impfstoffen zunehmender Infektiosität.

Die praktische Leistungsfähigkeit des Mäuse- bzw. Hundetestes für die Bestimmung des immunisatorischen Wertes von inaktivierten Lyssaimpfstoffen steht außer Zweifel. Von WEBSTER (187, 1, 5, 6), WEBSTER und CASALS (188, 2), WYCKOFF und BECK (190), HABEL (57, 1) und WYCKOFF und TESAR (191) wurden bereits eine größere Anzahl von im Handel befindlichen Phenol- und Chloroformimpfstoffen geprüft, mit dem Ergebnis, daß das immunisierende Vermögen derartiger Impfstoffe außerordentlich unterschiedlich ist und daß einzelne Impfstoffe zufolge ihrer unzureichenden bzw. völlig fehlenden Wirksamkeit ausgeschlossen werden müssen. Außer dieser praktischen Verwendbarkeit des Mäusetestes steht nun aber auch eine quantitative Methode des Tierversuches, die eine vergleichsweise Prüfung von Impfstoffen unterschiedlicher Qualität gestattet, zur Verfügung. *An Stelle des unsystematisch durchgeführten Tierversuches und des approximativen Vergleiches empirisch ermittelter Impfstoffverfahren tritt die quantitative Auswertung von Impfstoffen unter weitgehend standardisierten Versuchsbedingungen.* Damit ist wohl auch die versuchstechnische Basis geschaffen, welche die Lösung einer Reihe für die Herstellung optimal wirksamer Impfstoffe bedeutungsvoller Fragen — Wahl des geeignetsten Abschwächungs- bzw. Inaktivierungsmittels, minimal erforderlicher Virusgehalt, Unterschiede in der Leistungsfähigkeit von infektiösen und inaktivierten Impfstoffen — ermöglicht.

d) Überlegenheit der infektiösen über die inaktivierten Impfstoffe.

Der immunisierende Wert eines Impfstoffes kommt in zahlreichen Faktoren zum Ausdruck und kann demnach auch nach verschiedenen Maßstäben beurteilt werden. Schon nach der *Intensität der Vorbehandlung* — Größe der erforderlichen Virusdosis, Anzahl der notwendigen Impfinjektionen — läßt sich die Wirksamkeit eines Impfstoffes ermessen. Fernerhin kann die Leistungsfähigkeit eines Impfstoffes nach der *Art der erzeugten Immunität* („histogene“ bzw. „humorale“, „zentrale“ bzw. „periphere Immunität“), dem *Immunitätsgrad* (Größe der tolerierten Infektionsdosis — Antikörpertiter) und schließlich auch nach der *Ausbildungszeit und der Dauer des Impfschutzes* bemessen werden. Zur richtigen Bewertung

eines Impfstoffes müssen alle diese Faktoren berücksichtigt werden; jedenfalls lassen sich aus Tierversuchen, die nicht nach quantitativen Gesichtspunkten und nur nach Maßgabe einer Art von Immunitätsprüfung durchgeführt werden, niemals sichere Schlußfolgerungen über die Gleichwertigkeit bzw. Überlegenheit eines Impfstoffes ableiten. Diese Aussage trifft für die von STUART und KRİKORIAN (177, 3, 8), REMLINGER und BAILLY (157, 17), LÉPINE und SAUTTER (102, 2) und CRUVEILHIER, LÉPINE und VIALA (31) durchgeführten Untersuchungen zu, in welchen die immunisierende Wirksamkeit von vollvirulentem, bzw. nach PASTEUR abgeschwächtem *Virus fixe* und von Phenolimpfstoffen im Tierversuch verglichen wurde und aus denen die Gleichwertigkeit oder sogar Überlegenheit der Antigenimpfstoffe hervorzugehen scheint. In diesen Versuchen wurde höchstens bewiesen, daß sich mit Phenolimpfstoffen — unter bestimmten, quantitativ nicht gleichartigen bzw. nicht vergleichbaren Immunisierungsbedingungen — bei einer bestimmten Art von Immunitätsprüfung ebenso gute oder bessere Impfergebnisse wie mit vollinfektiösen oder nur wenig abgeschwächten Impfstoffen erzielen lassen. STUART und KRİKORIAN immunisierten Ratten und Kaninchen zwar mit annähernd derselben Menge von vollvirulentem, phenolisiertem und ätherisiertem *Virus fixe*, prüften jedoch nur mit einer und zudem noch minimalen Virusdosis intramuskulär bzw. intracerebral auf Immunität; die für alle drei Impfstoffe festgestellte, gleichgroße Mortalitätsfrequenz spricht noch nicht mit Eindeutigkeit für deren Gleichwertigkeit, da eine quantitative Auswertung der Immunität möglicherweise Unterschiede ergeben hätte. Auch der von LÉPINE und SAUTTER erhobene Befund, wonach sich Kaninchen mit Phenolimpfstoffen nach FERMI und SEMPLE in einem wesentlich höheren Prozentsatz gegen eine subdurale Testinfektion schützen lassen als durch die Vorbehandlung mit dem PASTEURSchen Impfstoff, kann nicht unbedingt im Sinne einer Überlegenheit der phenolisierten Impfstoffe interpretiert werden, da dieselben in der 2—3fach größeren Menge appliziert wurden. Schließlich ist der von STUART und KRİKORIAN (177, 3, 6, 8) und CRUVEILHIER, LÉPINE und VIALA (31) geleistete Nachweis, daß Kaninchen auf die Immunisierung mit vollinfektiösen, nach PASTEUR abgeschwächten und phenolisierten Impfstoffen hinsichtlich der Antikörperbildung gleichartig reagieren, ebenfalls nicht geeignet, die immunisatorische Gleichwertigkeit dieser Impfstoffe sicherzustellen, da der Nachweis humoraler Antikörper über den tatsächlichen Immunitätsgrad bekanntlich keine zuverlässige Auskunft gibt [GLUSSMANN und SSOLOWJEWA (52), WEBSTER (187, 1), CRUVEILHIER u. VIALA (33, 1), DODERO (38, 2) CASALS (22), HABEL (57, 3)].

Im quantitativen Mäuse- und Hundetest konnte nun auch die a priori zu erwartende Überlegenheit der infektiösen über die inaktivierten Impfstoffe nachgewiesen werden, und zwar in mehrfacher Hinsicht: 1. ist die zur Immunisierung im Minimum erforderliche Virusdosis bei aktiven Impfstoffen wesentlich kleiner als bei inaktivierten. So hat WEBSTER (187, 3, 68, 188, 3) nachgewiesen, daß zur cerebralen Immunisierung von Mäusen 1000 M. I. D. von vollvirulentem *Virus fixe*, dagegen 50000 M. I. D. von durch Ultraviolettlicht inaktiviertem Virus notwendig sind. Bei Hunden wurden zur wirksamen Immunisierung 5000—20000 M. I. D. vollvirulentes Virus und 25000000 M. I. D. des bestrahlten Impfstoffes benötigt; 2. gelingt die einzeitige Immunisierung bei infektiösen Impfstoffen häufig, bei inaktivierten dagegen nur ausnahmsweise. Aus den Versuchen von WEBSTER (187, 5) und HABEL (57, 3) geht jedenfalls hervor, daß die einmalige Vorbehandlung von Mäusen mit phenolisierten Handelsimpfstoffen — im Gegensatz zu Impfstoffen, die aktives Virus enthalten — keine Gehirnimmunität bewirkt. Denselben Befund erhoben KLIGLER und BERNKOPF (84, 1); während vollvirulentes Kulturvirus in einer einzigen Impfdosis

Mäuse gegenüber einer cerebralen Reinfektion zuverlässig schützte, konnte durch die einzeitige Verimpfung derselben Menge von formolisiertem Kulturvirus höchstensfalls eine periphere Immunität erzeugt werden. Die Möglichkeit einer einzeitigen Immunisierung auch mit inaktivierten Impfstoffen ist nun allerdings - wie die erfolgreichen Versuche von KELSER (82) und LEACH und JOHNSON (96, 2) mit Chloroformimpfstoffen und von HODES, WEBSTER und LAVIN (68) und WEBSTER und CASALS (188, 3) mit bestrahltem Virus beweisen - nicht zu bestreiten; sie ist dann gegeben, wenn optimal inaktivierte Impfstoffe in einer ausreichend großen Virusdosis appliziert werden; 3. ist nachgewiesen, daß gleiche Mengen von infektiösen und inaktivierten Impfstoffen nicht denselben Grad von Immunität bewirken. So stellte HABEL (57, 3) fest, daß Mäuse, die mehrmals mit denselben Dosen von frischem und - vergleichsweise - phenolisiertem Virus fixe vorbehandelt werden, zwar in beiden Fällen eine cerebrale Immunität erlangen, jedoch gegen unterschiedlich große Virusmengen - 10 M. I. D. im einen und 1 M. I. D. im anderen Tierkollektiv - geschützt sind. Dieselbe Überlegenheit des infektiösen über den inaktivierten Impfstoff zeigte sich auch im Ausmaß der Antikörperbildung bei quantitativ gleichartig immunisierten Kaninchen; das Serum der geimpften Tiere neutralisierte in der einen Tierserie mindestens 100, in der anderen nicht mehr als 50 M. I. D. Virus. Ähnliche Unterschiede im Antikörpertiter beobachteten auch STUART und KRİKORIAN (177, 3) bei Kaninchen, die vergleichsweise mit denselben Mengen von aktivem bzw. phenolisiertem Virus fixe vorbehandelt wurden.

Die Ergebnisse des quantitativen Tierversuches bestätigen in einwandfreier Art zunächst nur die schon früher bekannte und von zahlreichen Autoren [FERMI (40, 3), STUART und KRİKORIAN (177, 3), TAYLOR und MENON (178), LÉPINE und SAUTTER (102, 2) u. a.] hervorgehobene Tatsache, daß bedeutend größere Mengen von inaktiviertem, als von aktivem Virus einverleibt werden müssen, um denselben Grad von Immunität zu erzielen. Dieser Umstand erscheint auch dadurch hinlänglich begründet, daß durch jede Art von Inaktivierung der antigene Wert eines Impfstoffes vermindert wird, und sich ein solcher Verlust nur durch eine höhere Dosierung ausgleichen läßt. Stellt man sich auf diesen Standpunkt, so würden zwischen den infektiösen und inaktivierten Impfstoffen lediglich graduelle Unterschiede in der antigenen Wertigkeit bestehen, und wäre die Annahme naheliegend, daß Lyssaimpfstoffe, gleichgültig, ob sie aktives oder inaktives Virus enthalten, stets nach Art von Antigenimpfstoffen, d. h. - im Sinne von LÖFFLER und SCHWEINBURG (107, 1, 2, 4) - durch die Erzeugung humoraler Antikörper immunisieren. Andererseits muß nun auch die Möglichkeit zugegeben werden, daß infektiöse Impfstoffe nicht nur antigene Wirkung entfalten, sondern gelegentlich - namentlich bei der Verabreichung von großen Impfstoffmengen - zu latenten Infektionen und damit auch zur Ausbildung einer histogenen Immunität des Zentralnervensystems Anlaß geben. Die immunisatorische Überlegenheit von virusaktiven Impfstoffen wäre hierdurch ebenfalls hinlänglich begründet. Auf Grund der vorliegenden Tierversuche ist nun aber diese prinzipiell wichtige Frage, ob infektiöse und inaktivierte Impfstoffe nach demselben oder einem verschiedenen Mechanismus immunisieren, überhaupt nicht zu entscheiden. Die Gründe für diese Unsicherheit liegen einerseits in der noch immer mangelhaften Kenntnis des Mechanismus der Lyssaimmunität überhaupt, und andererseits in der Schwierigkeit, die sog. Antigenimpfstoffe, deren Inaktivitätsgrad wechselnd und oft keineswegs eindeutig ist [vgl. LÉPINE und SAUTTER (102, 2)], von den nur abgeschwächten Infektionsimpfstoffen scharf abzugrenzen.

Die Annahme, daß der *Mechanismus der Lyssaimmunität* nicht einheitlicher, sondern — je nach der Qualität der verwendeten Impfstoffe und den Immunisierungsbedingungen — vielgestaltiger Art ist, erscheint auf Grund der bei anderen neurotrophen Virusinfektionen festgestellten Immunitätsverhältnisse¹ in hohem Grade wahrscheinlich. In Betracht kommen zwei, grundsätzlich verschiedene Immunitätsmechanismen, nämlich:

1. *Infektionsimpfungen*, bei welchen das verimpfte aktive Virus in das Nervensystem übertritt und, nach dem „Prinzip der immunisierenden Schieneninfektion“ immunisiert. Die erzeugte Immunität hat einen *histogenen* Charakter und ist gekennzeichnet durch die Raschheit der Ausbildung, Solidität und Dauerhaftigkeit. Der Bereich dieser Immunität deckt sich mit der räumlichen Ausdehnung der latenten Infektion, wobei in der Regel das gesamte Zentralnervensystem, gelegentlich aber auch nur Teile desselben oder sogar nur die periphere Zuleitungsbahn gegenüber massiven Reinfektionen geschützt sind. Das Vorkommen derartiger Infektionsimpfungen bei der Verwendung von infektiösen Lyssaimpfstoffen scheint durch die Untersuchungen von QUAST (151, 152), ISABOLINSKY und ZEITLIN (79, 4) und BUSSON (20, 1, 3), denen bekanntlich der Nachweis von *Virus fixe* im Zentralnervensystem schutzgeimpfter Tiere gelungen ist, kaum mehr zweifelhaft. Die negativ verlaufenden Nachprüfungen von REMLINGER (157, 2, 4, 160, 1), BURNET (19, 2), VAN GENDEREN und DICK (49), LEGEZYNSKI und MARKOWSKI (98) und NICOLAU, VIALA und KOPCIOWSKA (121) vermögen diese Befunde nicht zu entkräften, da der Nachweis von *Virus* im autosterilisierten Gewebe auch unter Verwendung von Reaktivierungsverfahren bekanntlich keineswegs regelmäßig gelingt. Aus den späteren Untersuchungen von NICOLAU, CRUVEILHIER und KOPCIOWSKA (118, 1, 2) geht denn auch hervor, daß im Zentralnervensystem von nach PASTEUR schutzgeimpften Kaninchen histologische Veränderungen nachzuweisen sind, die für den Ablauf einer latenten Infektion bzw. von Autosterilisationsvorgängen als beweisend angesehen werden können. Die neuerdings von HABEL (57, 3) durchgeführten Immunitätsstudien, in welchen das Schicksal von Straßenwutvirus im peripheren und zentralen Nervensystem analysiert wurde, sind wohl ebenfalls — zumindest bei den mit aktivem *Virus fixe* vorbehandelten Mäusen — im Sinne einer histogenen Immunität der peripheren Zuleitungsbahn (Ischiadicus) und des zentralnervösen Gewebes zu deuten.

2. *Antigenimpfungen*, die dann zustandekommen, wenn die Voraussetzungen für eine Infektion des Zentralnervensystems fehlen, so daß das verimpfte aktive bzw. inaktive Virus nur extraneurale Antigenfunktionen auszuüben vermag. Die erzielte *humorale* Immunität ist an die Anwesenheit in der Blutbahn kreisender Antikörper gebunden und verleiht im allgemeinen nur einen peripheren Schutz, wohl dadurch, daß das Virus bereits an der Eintrittspforte neutralisiert wird. Bei hochgradiger Immunisierung ist allerdings auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Zentralnervensystem durch den Übertritt von Antikörpern passiv immunisiert wird und hierdurch einen relativen und kurzfristigen Impfschutz erwirbt.

e) Vorteile der auf chemischem Wege abgeschwächten bzw. inaktivierten Impfstoffe.

Nach MCKENDRICK (111, 2) verteilen sich die in den Jahren 1930—1937 ausgeführten 1062707 Schutzimpfungen in folgender Weise auf die verschiedenen Impfverfahren:

Methode	SEMPLE	490670	Fälle
„	PASTEUR	152899	„
„	BABÈS-PUSCARIU	140959	„
„	HEMPT	90919	„
„	HÖGYES	75141	„

¹ Vgl. HALLAUER: „Die erworbene Immunität gegen Virusinfektionen“, dieses Handbuch, Bd. II, S. 1244.

Methode	HÖGYES-ALIVISATOS	57 227 Fälle
„	FERMI (Orig.)	28 159 „
„	PASTEUR-FERMI	7 307 „
„	PUNTONI	7 006 „
„	FERMI-ALIVISATOS	6 646 „
„	YATREN	5 384 „
„	FERMI (Serovaccin)	390 „

Die Antigenimpfungen befinden sich demnach gegenüber den älteren Infektionsimpfungen bereits in der Überzahl; mehr als die Hälfte aller Schutzimpfungen wurden mit inaktivierten Impfstoffen (nach SEMPLE bzw. HEMPT) durchgeführt und rund drei Fünftel aller Fälle wurden mit chemisch abgeschwächten bzw. inaktivierten Impfstoffen (nach FERMI, PUNTONI, SEMPLE, HEMPT) behandelt. Die ständig zunehmende Anwendung von phenolisierten und zum Teil auch ätherisierten Impfstoffen zur menschlichen Schutzimpfung erscheint aus den folgenden Gründen gerechtfertigt:

1. Für die menschliche Schutzimpfung bieten phenolisierte bzw. chemisch inaktivierte Impfstoffe — gegenüber infektiösen Impfstoffen — den unzweifelhaften und hauptsächlichsten Vorteil eines stark herabgesetzten Impfrisikos bei annähernd gleich großer Wirksamkeit. Auch bei der SEMPLEschen Impfung lassen sich zwar Fälle von postvaccinalen Myelitiden nicht völlig vermeiden [vgl. STUART und KRIKORIAN (177, 2, 4, 9), VAN STOCKUM (176), SMITH (175), PIRINGER (138, 2)], deren Frequenz beträgt jedoch nach der Sammelstatistik von MCKENDRICK (111, 2) nur 0,011% (55 Fälle auf 488 795 Impfungen) und ist somit um etwa das Dreifache geringer als bei den Impfverfahren nach PASTEUR oder HÖGYES. Ob die im Anschluß an die Verabreichung von Phenolimpfstoffen von BERNARD (13), LÉPINE (99, 3), NOURY (126), BÉGUET und HERRENBERGER (11) und RAYNAL und LIEOU (153) beobachteten Schock- und Kollapszustände, deren Ätiologie noch nicht sichergestellt ist, oder die von CRUVELHIER, DIERYCK und VIALA (30) beschriebenen stärkeren Lokalreaktionen der Anwendung von höher konzentrierten Phenolimpfstoffen bestimmte Grenzen setzen, läßt sich zur Zeit noch nicht beurteilen.

2. Für die Zubereitung der Impfstoffe ergeben sich aus der Verwendung von chemisch inaktivierten Impfstoffen ebenfalls nicht zu unterschätzende Vorteile, wie z. B. die leichtere Herstellbarkeit, längere Konservierbarkeit, Transportfähigkeit der Impfstoffe, vereinfachte Kontrolle der Passagestämmen und eventuell auch die — von GOLOVINE (53) und REMLINGER und BAILLY (157, 20) in Betracht gezogene — Möglichkeit, an Stelle von fixierten Virusstämmen Straßenvirus zu verwenden.

3. Die Ausführung der Impfung wird dadurch vereinfacht, daß auf eine einschleichende Immunisierung verzichtet werden kann und somit täglich dieselben Impfstoffdosen verabreicht werden können. Schließlich kann die Schutzimpfung nach Bedarf dezentralisiert werden.

Anhang.

A. Übersicht über die hauptsächlichsten Impfverfahren.

I. Normalverfahren.

1. *Methode PASTEUR* [Impfschema Paris 1941 (33, 2)].

Impfstoff: 4—2tägig getrocknetes Mark, täglich 4—5 mm in 3 ccm NaCl-Lösung emulgiert.

Behandlungsdauer: 15—18—21—25 Tage je nach Schwere des Falles.

Impftage	Trocknungs- dauer des Markes	Menge ccm	Impftage	Trocknungs- dauer des Markes	Menge ccm	Impftage	Trocknungs- dauer des Markes	Menge ccm
1. Tag	4tägig	3	10. Tag	3tägig	3	18. Tag	2tägig	3
2. „	4 „	3	11. „	3 „	3	19. „	3 „	3
3. „	4 „	3	12. „	2 „	3	20. „	2 „	3
4. „	4 „	3	13. „	3 „	3	21. „	2 „	3
5. „	3 „	3	14. „	3 „	3	22. „	2 „	3
6. „	3 „	3	15. „	2 „	3	23. „	2 „	3
7. „	4 „	3	16. „	3 „	3	24. „	2 „	3
8. „	3 „	3	17. „	3 „	3	25. „	2 „	3
9. „	2 „	3						

2. *Methode HÖGYES* [ursprüngliches Impfschema (109, 6)].

Impfstoff: Mark 1:10000—1:100 verdünnt.

Behandlungsdauer: 14—20 Tage.

Impfstoffmenge: 90—237,5 mg.

Leichte Fälle			Schwere Fälle		
Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm
1. Tag	{ 10000—8000 6000—5000	3—3 3—3	1. Tag	{ 10000—8000—6000 5000—2000	3—3—3 3—2
2. „	{ 5000 2000	3,0 2,0	2. „	{ 5000—2000 1000— 500	3—2 1,5—1,0
3. „	{ 2000 1000	2,0 1,5	3. „	200	1,0
4. „	{ 1000 500	1,5 1,0	4. „	{ 6000—6000 2000—1000	3—3 2—1,5
5. „	200	1,0	5. „	{ 1000— 500 200	1,5—1,0 1,0
6. „	{ 6000—5000 2000	3—3 2,0	6. „	{ 6000—5000 2000—1000	3—3 2—1,5
7. „	{ 2000 1000	2,0 1,5	7. „	{ 1000 500	1,5 1,0
8. „	{ 1000 500	1,5 1,0	8. „	200	1,0
9. „	200	1,0	9. „	{ 6000—5000 2000—1000	3—3,5 2,5
10. „	{ 6000—5000 2000	3—3 2,0	10. „	{ 1000 500	1,5 1,0
11. „	{ 2000 1000	2,0 1,5	11. „	200	1,0

Fortsetzung der Tabelle 2.

Leichte Fälle			Schwere Fälle		
Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm
12. Tag	1000	1,5	12. Tag	6000—5000	3—3
	500	1,0		2000—1000	2—1,5
13. „	200	1,0	13. „	1000—500	1,5—1
				200	1,0
14. „	200	1,0	14. „	6000—5000	3—3
	100	1,0		2000—1000	2—1,5
			15. „	1000	1,5
				500	1,0
			16. „	200	1,0
				6000—5000	3,0—3,0
			17. „	2000—1000	2,0—1,5
				1000	1,5
			18. „	500	1,0
				200	1,0
			19. „	200	1,0
				100	1,0
			20. „	100	1,0

3. Modifizierte Högyes-Methode [Budapest 1927¹ (McKENDRICK S. d. N. Org. Hyg. 1930)].

Impfstoff: Mark (konserviert 24 Stunden in 50% Glycerin + 0,5% Phenol 1:5000—1:100.

Behandlungsdauer: I 9 Tage = 9 Injektionen

II 13 „ = 11 „

III 17 „ = 13 „

Impfstoffmenge: Total 16,65—74,15—134,15 mg.

Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm
1. Tag	1:2000	4	6. Tag	1:2000	3	10. Tag	1:100	2,75
2. „	1:1000	4	7. „	1:1000	2	13. „	1:100	3,0
3. „	1:5000	3	8. „	1:1000	2,25	15. „	1:100	3,0
4. „	1:5000	4	9. „	1:1000	2,5	17. „	1:100	3,0
5. „	1:2000	2						

4. Methode HÖGYES-PHILLIPS [Impfschema Berlin 1923—1937 (16, I)].

Stammlösung: 10%ige Gehirn-Glycerinemulsion.

Gebrauchsfertiger Impfstoff: 1:25 verdünnt (1 ccm = 4 mg).

Behandlungsdauer: 20 Tage.

Impfstoffmenge: 90 mg.

Impftage	Menge		Impftage	Menge		Impftage	Menge	
1. Tag	0,25 ccm	1,0 mg	8. Tag	0,75 ccm	3,0 mg	15. Tag	0,75 ccm	3,0 mg
2. „	0,5 „	2,0 „	9. „	0,75 „	3,0 „	16. „	0,75 „	3,0 „
3. „	0,75 „	3,0 „	10. „	0,75 „	3,0 „	17. „	1,25 „	5,0 „
4. „	0,75 „	3,0 „	11. „	1,25 „	5,0 „	18. „	1,25 „	5,0 „
5. „	1,25 „	5,0 „	12. „	1,25 „	5,0 „	19. „	1,25 „	5,0 „
6. „	1,25 „	5,0 „	13. „	1,25 „	5,0 „	20. „	2,5 „	10,0 „
7. „	2,0 „	8,0 „	14. „	2,0 „	8,0 „			

¹ Späterhin (bis 1935) intensiviert: Behandlungsdauer: 6—10 Tage; Impfstoffmenge: 100—270 mg.

5. *Methode PUSCARIU* [Impfschema Jassy (149)].*Impfstoff*: 1%ige Gehirnemulsion, 65—45° erhitzt.*Behandlungsdauer*: 10—13—14 Tage.*Impfstoffmenge*: 300—480—550 mg.

Impftage	Leichte Fälle		Schwere Fälle		Sehr schwere Fälle	
	Erhitzung °C	Menge ccm	Erhitzung °C	Menge ccm	Erhitzung °C	Menge ccm
1. Tag	65	3	65	3	65	3
2. „	60	3	60	3	60	3
3. „	55	3	55	3	55	3
4. „	65	3	50	3	50	3
5. „	60	3	65	4	45	3
6. „	55	3	60	4	65	4
7. „	50	3	55	4	60	4
8. „	60	3	50	4	55	4
9. „	50	3	45	4	50	4
10. „	45	3	45	4	45	4
11. „			60	4	60	5
12. „			50	4	50	5
13. „			45	4	45	5
14. „					unerhitzt	5

6. *Methode FERMI* (40, 4, 9, 10, 14, 15).*Impfstoff*: 5% Gehirnemulsion, 1% Phenol, 24 Stunden, 20—22° C.*Behandlungsdauer*: 15—20 Tage, täglich 3—6 ccm, je nach Alter.*Totale Impfstoffmenge*: 2250—6000 mg.7. *Methode PUNTONI* (148, 1, 2, 7, 15).*Impfstoff*: 5% Gehirnemulsion, 1% Phenol, 10—2 Tage, 20—22° C.*Behandlungsdauer*: 22 (eventuell 26) Tage.*Impfstoffmenge*: 6600—7000—15 000 mg.

Impftage	Phenolisierungsdauer Tage	Menge ccm	Impftage	Phenolisierungsdauer Tage	Menge ccm	Impftage	Phenolisierungsdauer Tage	Menge ccm
1. Tag	10	6 (2×3)	9. Tag	2	6 (2×3)	16. Tag	2	6 (2×3)
2. „	9	6 (2×3)	10. „	8	6 (2×3)	17. „	7	6 (2×3)
3. „	8	6 (2×3)	11. „	7	6 (2×3)	18. „	5	6 (2×3)
4. „	7	6 (2×3)	12. „	6	6 (2×3)	19. „	4	6 (2×3)
5. „	6	6 (2×3)	13. „	5	6 (2×3)	20. „	3	6 (2×3)
6. „	5	6 (2×3)	14. „	4	6 (2×3)	21. „	2	6 (2×3)
7. „	4	6 (2×3)	15. „	3	6 (2×3)	22. „	2	6 (2×3)
8. „	3	6 (2×3)						

8. *Methode SEMPLE* (Impfschema Kasauli 1937).*Impfstoff*: 5% Gehirnemulsion, 0,5% Phenol, 24 Stunden, 37° C.

Klasse	Tage	täglich ccm	insgesamt mg
I ¹	7	2	700
II	14	2	1400
III	14	5	3500
IV	14	7—10	4900—7000

¹ Nach HEMPT.

II. Intensivierungsverfahren.

1. *Methode FERRAN (41).*

Impfstoff: 0,8 g Bulbus + 8 ccm Quecksilbersalzlösung.

Behandlungsdauer: 5 Tage.

Impfstoffmenge: Total 3000 mg.

Impftage	Impfstoffmenge
1. Tag	6 (2 × 3) ccm 600 mg
2. „	6 (2 × 3) „ 600 „
3. „	6 (2 × 3) „ 600 „
4. „	6 (2 × 3) „ 600 „
5. „	6 (2 × 3) „ 600 „

2. *Methode PROESCHER (146, 2).*

Impfstoff: 120 mg frisches Kaninchengehirn in 30 ccm NaCl-Lösung.

Behandlungsdauer: 10 bzw. 5 Tage.

Impfstoffmenge: Total 240 bzw. 60 mg.

Originalmethode		Spätere Modifikation	
Impftage	Impfstoffmenge	Impftage	Impfstoffmenge
1. Tag	6 (2 × 3) ccm 24 mg	1. Tag	3 ccm 12 mg
2. „	6 (2 × 3) „ 24 „	2. „	3 „ 12 „
3. „	6 (2 × 3) „ 24 „	3. „	3 „ 12 „
4. „	6 (2 × 3) „ 24 „	4. „	3 „ 12 „
5. „	6 (2 × 3) „ 24 „	5. „	3 „ 12 „
6. „	6 (2 × 3) „ 24 „		
7. „	6 (2 × 3) „ 24 „		
8. „	6 (2 × 3) „ 24 „		
9. „	6 (2 × 3) „ 24 „		
10. „	6 (2 × 3) „ 24 „		

3. *Methode HARRIS (59, 4).*

Impfstoff: Gehirn, trocken konserviert; 1 Einheit = 1 M.I.D.

Behandlungsdauer: 10 Tage.

Virusmenge: 7000—10000 bzw. 30000—70000 M.I.D.

Impftage	Einheiten	Impftage	Einheiten
1. Tag	500 E.	6. Tag	3000 E.
2. „	1000 „	7. „	3000 „
3. „	1500 „	8. „	3000 „
4. „	2000 „	9. „	3000 „
5. „	3000 „	10. „	3000 „

4. *Methode PHILLIPS (136).*

StammLösung: 15 mg Gehirn in 0,1 ccm Glycerin.

Gebrauchsfertiger Impfstoff: 0,1 ccm StammLösung + 2,0 ccm NaCl-Lösung.

Behandlungsdauer: 14—22 Tage.

Impfstoffmenge: Total 165—285 mg.

Impftage	Impfstoffmenge	Impftage	Impfstoffmenge	Impftage	Impfstoffmenge
1. Tag	4 ccm 60 mg ¹	9. Tag	2 ccm 15 mg	16. Tag	2 ccm 15 mg
2. „	4 „ 60 „ ¹	10. „	2 „ 15 „	17. „	2 „ 15 „
3. „	4 „ 60 „ ¹	11. „	2 „ 15 „	18. „	2 „ 15 „
4. „	2 „ 15 „	12. „	2 „ 15 „	19. „	2 „ 15 „
5. „	2 „ 15 „	13. „	2 „ 15 „	20. „	2 „ 15 „
6. „	2 „ 15 „	14. „	2 „ 15 „	21. „	2 „ 15 „
7. „	2 „ 15 „	15. „	2 „ 15 „	22. „	2 „ 15 „
8. „	2 „ 15 „				

5. *Intensivierte Pasteur-Methode* [Berlin 1914—1917 (16, 1)].

Impfstoff: 3—1tägig getrocknetes Mark.

Behandlungsdauer: 21 Tage.

Impftage	Trocknungs- dauer des Markes	Impftage	Trocknungs- dauer des Markes	Impftage	Trocknungs- dauer des Markes
1. Tag	3tägig	8. Tag	1tägig	15. Tag	1tägig
2. „	2 „	9. „	3 „	16. „	1 „
3. „	1 „	10. „	2 „	17. „	3 „
4. „	1 „	11. „	1 „	18. „	2 „
5. „	3 „	12. „	1 „	19. „	1 „
6. „	2 „	13. „	3 „	20. „	1 „
7. „	1 „	14. „	4 „	21. „	1 „

6. *Rapide Pasteur-Methode* nach REMLINGER (156, 9, 13, 14, 19).

Impfstoff: 4—2tägig getrocknetes Mark (leichte Fälle), 4—0tägig getrocknetes Mark (schwere Fälle) bzw. nur in Glycerin abgeschwächter Impfstoff (156, 16).

Behandlungsdauer: 5 Tage. Anzahl der Injektionen: täglich 4, total 20 (leichte Fälle); täglich 6, total 30 (schwere Fälle).

Impftage	Leichte Fälle		Schwere Fälle	
	Trocknungsdauer des Markes in Tagen	Menge ccm	Trocknungsdauer des Markes in Tagen	Menge ccm
1. Tag	4—4—4—4	4 × 1	4—4—4—4—3—3	6 × 1
2. „	3—3—4—4	4 × 1	3—3—3—3—2—2	6 × 1
3. „	3—3—2—2	4 × 1	3—3—3—3—2—2	6 × 1
4. „	3—3—2—2	4 × 1	2—2—1—1—2—2	6 × 1
5. „	3—3—2—2	4 × 1	2—2—1—1—0—0	6 × 1

7. *Intensivierte Högyes-Methode* [Budapest (108) vor 1927].

Impfstoff: Mark 1:2000—1:100.

Behandlungsdauer: 14 Tage = 9 Injektionen (schwächste Behandlung),
22 „ = 13 „ (stärkste Behandlung).

Impfstoffmenge: Total = 1125—2375 mg.

¹ 24 Stunden, Phenol 37° C.

Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm
1. Tag	1:2000	4	8. Tag	1:200	3	16. Tag	1:100	2,75
2. „	1:1000	4	10. „	1:100	2	18. „	1:100	3,25
3. „	1:500	3	12. „	1:100	2,25	20. „	1:100	3,0
4. „	1:500	4	14. „	1:100	2,5	22. „	1:100	3,5
6. „	1:200	2						

8. *Intensivierte Högyes-Methode* [Wien 1927 (McKENDBRICK S. d. N. Org. Hyg. 1930)].

Impfstoff: Mark 1:500—1:100 (leichte Fälle), kombiniert mit Ätherimpfstoff nach ALIVISATOS (schwere Fälle).

Behandlungsdauer: 13 Tage.

Impfstoffmenge: HÖGYES: 237,5 mg; ALIVISATOS: 6000 mg.

Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm	Impftage	Verdünnung	Menge ccm
1. Tag	1:500	1 ¹	6. Tag	1:100	1,5 ¹	10. Tag	1:100	2,75
2. „	1:500	2 ¹	7. „	1:100	2,0	11. „	1:100	3,0
3. „	1:500	3 ¹	8. „	1:100	2,25	12. „	1:100	3,25
4. „	1:500	4 ¹	9. „	1:100	2,5	13. „	1:100	3,5
5. „	1:100	1 ¹						

9. *Intensivierte Methode PUSCARIU nach TEODORASCO* (179, 2).

Impfstoff: 4—5% Gehirnemulsion, auf 60—45° C erhitzt.

Behandlungsdauer: 13 Tage.

Impftage	Subcutane Applikation		Intravenöse Applikation	
	Erhitzung °C	Menge ccm	Erhitzung °C	Menge ccm
1. Tag	60	20—40—60	55	5—10—20
2. „	55	20—40—60	50	5—10—20
3. „	50	20—40—60	45	5—10—20
4. „	45	20—40—60	50	5—10—20
5. „	60	20—40—60	45	5—10—20
6. „	50	20—40—60	45	5—10—20
7. „	45	20—40—60	45	5—10—20
8. „	45	20—40—60		
9. „	45	20—40—60		
10. „	45	20—40—60		
11. „	45	20—40—60		
12. „	45	20—40—60		
13. „	45	20—40—60		

10. *Methode BOTEZ* (18, 2, 3).

Impfstoff: Gehirnemulsion erhitzt auf 60—45° C bzw. unerhitzt + Rückenmark 4—12tägig getrocknet bzw. ungetrocknet.

Behandlungsdauer: 5—10—15 Tage.

¹ Eventuell kombiniert mit 10% Impfstoff nach ALIVISATOS, täglich 10 ccm.

Impftage	Erhitzte Gehirnemulsion in Grad	Getrocknetes Mark
1. Tag	60	4tägig
2. „	55	3 „
3. „	50	2 „
4. „	45	1 „
5. „	unerhitzt	ungetrocknet

Dieser Zyklus wird je nach der Schwere des Falles 2—3mal wiederholt.

11. Methode ALIVISATOS¹ (1, 1, 2).

Impfstoff: Gehirn in Äther 84—72 Stunden, 5% + Virusverdünnungen nach HÖGYES.

Behandlungsdauer: Ätherimpfstoff 15 Tage (8 Injektionen).

Impfstoffmenge: Total 8500 mg.

Impftage	Dauer der Ätherbe- handlung in Stunden	Menge	Impftage	Dauer der Ätherbe- handlung in Stunden	Menge
1. Tag	84	30 ccm 1500 mg	9. Tag	72	20 ccm 1000 mg
2. „	84	30 „ 1500 „	12. „	72	20 „ 1000 „
5. „	72	30 „ 1500 „	14. „	72	10 „ 500 „
7. „	72	20 „ 1000 „	15. „	72	10 „ 500 „

12. Methode HEMPT (65, I) (Impfschema für Erwachsene).

Impfstoff: Gehirn 96 Stunden in Äther; 20 Tage in Phenolglycerin; verdünnt 1:60. Rückenmark 72 Stunden in Äther; 20 Tage in Phenolglycerin; verdünnt 1:120.

Behandlungsdauer: 3—6 Tage.

Impfstoffmenge: 400—2400—3000 mg.

Klassifikation der Fälle ²	I	II	III	IV	V	VI
	in Kubikzentimeter					
1. Tag	5	5	5	5	5	5
2. „	10	10	10	10	10	10
3. „	10	15	20	20	20	20
4. „		20	20	20	20	30
5. „			20	20	30	40
6. „				25	40	40
Nach 1 Monat ...			25	40	40	40

¹ Das Verfahren wurde späterhin dahin modifiziert, daß das Gehirn während 72 Stunden im Äther belassen und nur die graue Substanz zu einer 1,3%igen Emulsion verarbeitet wird. Von diesem Impfstoff werden in schweren Fällen total 150—170 ev. 200 cc verabreicht, wobei in den ersten 5—10 Tagen 100—120 ccm injiziert werden. Leichte Fälle erhalten 60—150 ccm. Die Kombination mit dem Högyes-Verfahren wird beibehalten.

² I Bei beleckter intakter Haut.

II Bei beleckten unbedeckten, nicht einwandfrei intakten Hautstellen.

III Bei leichten Verletzungen an Extremitäten und Rumpf ohne Durchtrennung der Haut.

IV Bei Bißverletzungen einfacher Natur an Rumpf und Extremitäten.

V Bei Gesichtsbissen und schweren Verletzungen der Hände.

VI Bei schweren Gesichts- und tiefen multiplen Körperverletzungen.

B. Internationale Lyssstatistik von MCKENDRICK.
[Rev. I—IX; 1932—1940 (111, 2).]

Tabelle I. Globale Mortalität.

Impfmethoden	alle Rassen in Prozent	Europäer in Prozent
1. PASTEUR	0,34	0,15
2. HÖGYES	0,19	0,17
3. SEMPLE, MULFORD	0,48	0,17
4. PUNTONI	0,09	0,09
5. FERMI (Orig.)	0,17	0,13
6. FERMI (Serovaccin)	0	0
7. BABÈS-PUSCARIU	0,18	0,18
8. HEMPT	0,12	0,12
9. HÖGYES + ALIVISATOS	0,11	0,11
10. PASTEUR + FERMI	0,19	0,19
11. FERMI + ALIVISATOS	0,12	0,12
12. YATREN	0,24	0,24
Total ...	0,33	0,15

Tabelle II. Globale Mortalität (Zusammenfassung).

Impfstoffe	Alle Rassen in Prozent	Europäer in Prozent	Nichteuropäer in Prozent
1. Inaktivierte ¹	0,42	0,14	0,57
2. Infektiöse ²	0,25	0,15	0,53
3. Erhitzte	0,18	0,18	—
4. Andere ³	0,17	0,15	0,27
Total ...	0,33	0,15	0,56

Tabelle III. Mortalität nach Lyssdiagnose bzw. Verdacht
beim wütenden Tier.

Impfmethoden	Alle Rassen			
	Kat. A	Kat. B	Kat. C	Kat. D
	in Prozent			
1. PASTEUR	0,68	0,51	0,31	0,03
2. HÖGYES	0,22	0,29	0,13	0,10
3. SEMPLE, MULFORD	0,45	0,32	0,52	0,12
4. PUNTONI	0	0,06	0,11	0
5. FERMI (Orig.)	0,37	0,07	0,15	0
6. FERMI (Serovaccin)	0	0	0	0
7. BABÈS-PUSCARIU	0,31	0,12	0,20	0
8. HEMPT	0,23	0,11	0,12	0
9. HÖGYES + ALIVISATOS	0,11	0,16	0,08	0,04
10. PASTEUR + FERMI	0,52	0,72	0,07	0
11. FERMI + ALIVISATOS	0,26	0,34	0	0
12. YATREN	0	0,34	0,27	0
Total ...	0,36	0,26	0,38	0,05

¹ Impfstoff nach SEMPLE, MULFORD, HEMPT.² Impfstoff nach PASTEUR, HÖGYES, PUNTONI, HÖGYES + ALIVISATOS, PASTEUR + FERMI.³ Impfstoff nach FERMI (Orig. bzw. Serovaccin), FERMI + ALIVISATOS, YATREN.

Tabelle IV. Mortalität nach Lyssadiagnose bzw. Verdacht beim wütenden Tier (Zusammenfassung).

Impfmethoden	Europäer		Nichteuropäer	
	Kat. A+B	Kat. C	Kat. A+B	Kat. C
	in Prozent		in Prozent	
1. PASTEUR	0,18	0,09	1,27	0,38
2. HÖGYES	0,25	0,11	0,42	0
3. SEMPLE	0,20	0,20	0,54	0,52
4. FERMI (Orig.)	0,22	0,07	0	11,11
Total	0,21	0,12	0,73	0,51

Tabelle V. Mortalität nach Schwere der Verletzung.

Impfmethoden	Europäer		Nichteuropäer	
	tief	oberflächlich	tief	oberflächlich
	in Prozent		in Prozent	
1. PASTEUR	0,44	0,05	1,91	0,17
2. HÖGYES	0,74	0,07		
3. SEMPLE	0,86	0,12	0,71	0,24
4. PUNTONI	0,14	0,07		
5. FERMI (Orig.)	0,45	0	12,50	0
6. FERMI (Serovaccin)	0	0		
7. BABÈS-PUSCARIU	0,55	0,12		
8. HEMPT	0,43	0,07		
9. HÖGYES + ALIVISATOS	0,30	0,06		
10. PASTEUR + FERMI	1,33	0,16		
11. FERMI + ALIVISATOS	0,18	0		
12. YATREN	3,74	0,18		
Total	0,52	0,08	0,75	0,23

Tabelle VI. Mortalität nach Sitz der Verletzung.

Impfmethoden	Europäer				Nichteuropäer			
	Kopf	Arm	Rumpf	Bein	Kopf	Arm	Rumpf	Bein
	in Prozent				in Prozent			
1. PASTEUR	0,72	0,09	0	0,09	5,48	0,51	0,28	0,19
2. HÖGYES	1,43	0,14	0	0,06	2,08	0,25	0	0
3. SEMPLE	1,24	0,16	0	0,07	3,29	0,54	0,21	0,29
4. PUNTONI	0,43	0,09	0	0,04				
5. FERMI (Orig.)	1,43	0,05	0	0,02	25,00	0	0	0
6. FERMI (Serovaccin)	0	0	0	0				
7. BABÈS-PUSCARIU	1,57	0,19	0,02	0,06				
8. HEMPT	1,37	0,20	0	0,003				
9. HÖGYES + ALIVISATOS ..	0,79	0,11	0,12	0,05				
10. PASTEUR + FERMI	0,91	0,23	0	0,04				
11. FERMI + ALIVISATOS	1,36	0,07	0	0				
12. YATREN	3,33	0,15	0	0,12				
Total ...	1,29	0,15	0,02	0,05	3,47	0,53	0,22	0,27

Tabelle VII. Mortalität nach Termin der Schutzimpfung
(Tage nach Bißverletzung).

Impfmethoden	Europäer				Nichteuropäer			
	0—4	5—7	8—14	> 14	0—4	5—7	8—14	> 14
1. PASTEUR	0,16	0,11	0,07	0,06	0,42	0,43	0,39	1,56
2. HÖGYES	0,23	0,15	0,09	0,21	0	0	0	1,63
3. SEMPLE	0,27	0,06	0,14	0	0,47	0,47	0,51	1,04
4. PUNTONI	0,13	0,07	0	0				
5. FERMI (Orig.)	0,17	0,07	0	0	0	50,0	0	0
6. FERMI (Serovaccin)	0	0	0	0				
7. BABÈS-PUSCARIU	0,20	0,12	0,04	0,13				
8. HEMPT	0,15	0,05	0,07	0,03				
9. HÖGYES + ALIVISATOS ..	0,14	0,11	0,06	0,07				
10. PASTEUR + FERMI	0,24	0,10	0	—				
11. FERMI + ALIVISATOS	0,16	0,17	0,07	—				
12. YATREN	0,38	0,27	0	0,16				
Total ...	0,19	0,10	0,07	0,12	0,47	0,47	0,5	1,08

Tabelle VIII. Frequenz der postvaccinalen Paralysen, Letalität.

Impfmethoden	Zahl der Geimpften	Zahl der Paralys.	Verhältnis 1:	in Prozent	Todesfälle	Tödl.	Nicht
						Fälle in Prozent	tödl. Fälle in Prozent
1. PASTEUR	152899	45	3398	0,029	5	0,003	0,024
2. HÖGYES	75141	24	3194	0,031	17	0,018	0,013
3. SEMPLE, MULFORD	488795	55	8887	0,011	14	0,003	0,008
4. PUNTONI	7006	0	0	0	0	0	0
5. FERMI (Orig.)	28159	4	7040	0,014	3	0,011	0,003
6. FERMI (Serovaccin)	390	0	0	0	0	0	0
7. BABÈS-PUSCARIU	140959	8	17620	0,006	2	0,001	0,005
8. HEMPT	90919	9	10102	0,010	4	0,004	0,006
9. HÖGYES + ALIVISATOS ..	57227	28	2044	0,049	3	0,005	0,044
10. PASTEUR + FERMI	7307	2	3654	0,027	0	0	0,027
11. FERMI + ALIVISATOS	6646	3	2215	0,045	0	0	0,045
12. YATREN	5384	3	1795	0,056	0	0	0,056
Total ...	1060832	181	5861	0,017	48	0,005	0,012

C. Übersicht über die Ergebnisse der Tierversuche¹.

Tabelle I. Postinfektionelle Immunisierung.

Testinfektion		Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
Applikation	Virus ²					
subdural	Str.V.	v. FRISCH (43)	1887	Kaninchen, Hunde	PASTEUR	negativ
	Str.V.	BARDACH (8)	1888	Hunde	PASTEUR	zweifelhaft
	Str.V.	HÖGYES (69, 3)	1889	Hunde	PASTEUR, HÖGYES	negativ
	Str.V.	FERMI (40, 3)	1908	Ratten	Phenol(FERMI)	zweifelhaft

¹ Nach WEBSTER (187, 4), ergänzt und teilweise abgeändert.² (Str. V. = Straßenvirus, V. f. = Virus fixe).

Fortsetzung der Tabelle I.

Applikation	Virus	Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
intra- okulär	V. f.	REMLINGER (156, 1)	1904	Hammel	Virus- Antiserum	positiv?
	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Ziegen	Dextrin	zweifelhaft
corneal	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Hunde	Dextrin	positiv?
	Str.V.	CUNNINGHAM et al. (35, 1, 2)	1930	Kaninchen, Affen	Phenol (SEMPLE), Äther	zweifelhaft
	Str.V.		1933	Affen	Phenol (SEMPLE), Äther	zweifelhaft
intra- muskulär	Str.V.	REMLINGER (156, 8)	1919	Ziegen, Meerschw.	Äther	positiv?
	V. f.					
	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Hunde	Dextrin	positiv?
	Str.V.	SHORT et al. (171, 172)	1934	Affen	Phenol (SEMPLE)	negativ- zweifelh.
			1935	Affen	Phenol (SEMPLE)	negativ- zweifelh.
	Str.V.	COVELL et al. (28)	1936	Affen	Phenol (SEMPLE)	negativ- zweifelh.
	Str.V.	LÉPINE u. SAUTTER (102, 2)	1937	Kaninchen	Phenol(FERMI)	positiv?
	V. f.	WEBSTER (187, 2)	1937	Mäuse	Virus fixe	negativ
	Str.V.	HABEL (57, 1)	1940	Meerschw.	Phenol (SEMPLE)	positiv?
subkutan	Str.V.	v. FRISCH (43)	1887	Kaninchen	PASTEUR	negativ
	V. f.					
	Str.V.	HÖGYES (69, 3)	1889	Hunde	PASTEUR, HÖGYES	unbe- friedigend
	V. f.	FERMI (40, 3)	1908	Ratten	Phenol(FERMI)	positiv
	Str.V.	ALVISATOS (1, 1)	1922	Schafe	Äther	positiv?
	V. f.	MULAS (116, 1, 2)	1936	Kaninchen	Phenol(FERMI)	zweifelhaft
Biß		PASTEUR (132, 1)	1884	Hunde	PASTEUR	unbe- friedigend
		HÖGYES (69, 3)	1889	Hunde	HÖGYES	unbe- friedigend

Tabelle II. Präinfektionelle Immunisierung.

Immunitätsprüfung		Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
Applikation	Virus					
subdural	Str.V.	PASTEUR (132, 1)	1884	Hunde	PASTEUR	zweifelhaft
	V. f.	PROTOPOPOFF (147, 2)	1888	Hunde	PASTEUR	zweifelhaft
	Str.V.	HÖGYES (69, 3)	1889	Hunde	PASTEUR, HÖGYES	zweifelhaft
	Str.V.	FERRAN (41)	1888	Hunde	Virus fixe	positiv?

Fortsetzung der Tabelle II.

Applikation	Virus	Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
subdural	Str.V.	HELMAN (64, 2)	1888	Hunde	Virus fixe	positiv ?
	V. f.	REMLINGER (156, 3)	1905	Kaninchen	Virus- Antiserum	positiv ?
	Str.V.	SEMPLE (169)	1911	Affen, Hunde, Kaninchen	Phenol (SEMPLE)	unbe- friedigend
	Str.V.	HARRIS (49, 4)	1916	Kaninchen	Virus fixe	positiv ?
	V. f.	REMLINGER (156, 8)	1919	Kaninchen	Äther	positiv ?
	Str.V.	HARVEY u. ACTON (61)	1923	Hunde, Affen	PASTEUR, HÖGYES, Phenol (SEMPLE)	negativ
	Str.V.	PUNTONI (148, 5, 8)	1923	Hunde, Kaninchen	Formol	zweifelhaft
	Str.V.	HERRMANN (66, 1)	1924 1925	Kaninchen	Phenol (SEMPLE)	zweifelhaft
	V. f.	ISABOLINSKY u. ZEITLIN (79, 2)	1927	Kaninchen	Glycerin	positiv ?
	V. f.	KONIEFF u. RAMSINE (88)	1928	Kaninchen	Formol	positiv ?
	V. f.	TZEKNOVITZER u. GOLDENBERG (180)	1930	Kaninchen	Formol	positiv ?
	Str.V.	KELSER (82)	1930	Kaninchen	Chloroform	positiv
	V. f.	STUART u. KRIKORIAN (177, 7)	1931	Kaninchen	Phenol (SEMPLE)	positiv
	V. f.	JONNESCO (77, 2)	1932	Hunde	Virus fixe	positiv ?
	V. f.	OKUWADA (127)	1933	Kaninchen	zahlreiche Impfstoffe	positiv
	V. f.	HODES, WEBSTER u. LAVIN (68)	1937	Mäuse	bestrahltes Virus fixe	positiv
	V. f.	WEBSTER (187, 3)	1938	Mäuse, Hunde	Virus fixe (Kultur)	positiv
	V. f.	KLIGLER u. BERNKOPF (84, 1)	1938	Mäuse	Virus fixe, Formol	positiv
	V. f.	WEBSTER (187, 5)	1939	Mäuse, Hunde	Virus fixe (Kultur)	positiv
	V. f.	WYCKOFF u. BECK (190)	1940	Mäuse	Phenol (SEMPLE)	positiv
V. f.	HABEL (57, 1)	1940	Mäuse	Phenol (SEMPLE)	positiv	
V. f.	WYCKOFF u. TESAR (191)	1941	Mäuse	Phenol (SEMPLE)	positiv	
Str.V.	WEBSTER u. CASALS (188, 3)	1941	Mäuse, Hunde	bestrahltes Virus fixes	positiv	
intra- okulär	Str.V.	HÖGYES (69, 3)	1889	Hunde	HÖGYES	positiv ?
	Str.V.	MARIE (109, 4)	1908	Kaninchen, Hunde	Virus Antiserum	positiv
	Str.V.	UMENO u. DOI (181)	1921	Hunde	Phenol- Glycerin	positiv ?

Fortsetzung der Tabelle II.

Applikation	Virus	Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
intra- okulär	Str.V.	EICHHORN u. LYON (39)	1924	Hunde	Phenol- Glycerin	positiv
	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Kaninchen	Dextrin	positiv?
	Str.V.	PLANTUREUX (139, 3)	1926	Schafe, Hunde, Kaninchen	Formol	positiv
	Str.V.	KONIEFF u. RAMSINE (88)	1928	Hunde	Formol	positiv
	Str.V.	SCHOENING (167, 2)	1930	Hunde	Phenol (SEMPLE)	zweifelhaft
	Str.V. Str.V.	JONNESCO (77, 2) BARNES et al. (9)	1932 1934	Hunde Hunde	Virus fixe Phenol (SEMPLE), Chloroform	positiv? negativ
corneal	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Hunde	Dextrin	positiv?
	Str.V.	CUNNINGHAM et al. (35, 1)	1930	Kaninchen	Phenol (SEMPLE), Äther	positiv
	Str.V.	TAYLOR u. MENON (178)	1930	Kaninchen	Phenol (SEMPLE)	positiv
intra- venös (Ischiadi- cus)	Str.V.	JONNESCO (77, 2)	1932	Hunde	Virus fixe	positiv
	Str.V.	CRUVEILHIER et al. (32)	1935	Kaninchen	PASTEUR	positiv
intra- lingual	V. f.	REICHEL u. SCHNEIDER (155, 1, 2)	1934	Kaninchen	Phenol (SEMPLE), Chloroform	positiv
intra- muskulär	V. f.	REMLINGER (156, 3)	1919	Meerschw.	Äther	positiv
	Str.V.	HARVEY u. ACTON (61)	1923	Affen	HÖGYES, Phenol (SEMPLE)	negativ
	Str.V.	PLANTUREUX (139, 6)	1926	Kaninchen	Dextrin	positiv
	Str.V.	STUART u. KRIKORIAN (177, 3)	1929	Ratten, Kaninchen	Phenol (SEMPLE)	positiv
	Str.V.	KELSER (82)	1930	Kaninchen	Chloroform	positiv
	Str.V.	SCHOENING (167, 2)	1930	Hunde	Phenol (SEMPLE), Chloroform	positiv
	Str.V.	BARNES et al. (9)	1934	Hunde	Chloroform	unbe- friedigend
	Str.V.	SHORTT et al. (171, 172, 173)	1934 1935 1937	Affen, Hunde	Phenol, For- mol, Virus- Antiserum	positiv
	Str.V.	JACOTOT et al. (74)	1938	Meerschw.	Formol	positiv
	Str.V. Str.V.	BOECKER (16, 2) LEACH u. JOHNSON (96, 1)	1939 1940	Kaninchen Hunde	Formol Phenol (SEMPLE)	positiv positiv?
Str.V.	JOHNSON u. LEACH (76)	1940	Hunde	Phenol (SEMPLE)	positiv?	

Fortsetzung der Tabelle II.

Applikation	Virus	Autor	Jahr	Tierspecies	Impfstoff	Resultat
intra- muskulär	Str.V.	LEACH u. JOHNSON (96, 2)	1940	Hunde	Chloroform	positiv
	V. f.	WEBSTER (187, 5)	1940	Mäuse, Hunde	Phenol (SEMPLE), Chloroform	negativ
	Str.V.	WEBSTER u. CASALS (188, 2)	1940	Hunde	Phenol (SEMPLE), Chloroform	positiv negativ
	Str.V.	WEBSTER u.	1941	Mäuse,	bestrahltes	positiv
	V. f.	CASALS (188, 3)	1941	Hunde	Virus fixe	positiv
	V. f.	HODES, WEBSTER u. LAVIN (68)	1941	Mäuse, Hunde	bestrahltes Virus fixe	positiv

Literaturverzeichnis.

- ALIVISATOS: (1) Die Schutzimpfung gegen Lyssa durch das mit Äther behandelte Virus fixe. Dtsch. med. Wschr. **1922**, 295.
— (2) Neue Erfahrungen bei der Schutzimpfung gegen Lyssa durch das ätherisierte Virus fixe. Zbl. Bakter. usw., I. Orig. **98**, 394 (1926).
- ANDO: Untersuchungen über das Virus fixe der Lyssa. II. Vergleichende Immunisierungsversuche mit Virus fixe-Stämmen. Jap. J. exper. Med. (e.) **13**, 149 (1935).
- D'AUNOY: (1) Antirabic vaccination by means of desiccated virus. J. infect. Dis. (Am.) **34**, 425 (1924).
— (2) Antirabic vaccination by means of desiccated virus. Amer. J. publ. Health **1929**, 986.
- BABÈS: (1) Studien über die Wutkrankheit. Virchows Arch. **1887**.
— (2) Über die Notwendigkeit der Abänderung des PASTEURSchen Verfahrens der Wutbehandlung. Z. Hyg. **58**, 401 (1908).
— (3) Traité de la rage. Paris, 1912.
- BABÈS et LEPP: Recherches sur la vaccination antirabique. Ann. Inst. Pasteur, Par. **3**, 384 (1889).
- BAILLY: (1) Vaccination antirabique du chien par la méthode de REMPLINGER. C. r. Soc. Biol. **95**, 1317 (1926).
— (2) Contribution à l'étude de la vaccination antirabique des animaux domestiques. Thèse Doct. vétér. Lyon, 1928; vgl. Bull. Inst. Pasteur, Par. **26**, 928 (1928).
- BAKI: Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Immunisierungsverfahren bei Wut. Z. Immunit.forsch. **83**, 184 (1934).
- BARDACH: Sur la vaccination intensive des chiens inoculés de la rage par trépanation. Ann. Inst. Pasteur, Par. **1**, 84 (1888).
- BARNES, METCALFE, MARTINDALE and LENTZ: Canine rabies experimental vaccination. Second and third reports. J. amer. vet. med. Assoc. **84**, 740 (1934).
- BARONI: Action de la dessiccation rapide du cerveau rabique au moyen du sulfate de magnésie anhydre sur le virus fixe. C. r. Soc. Biol. **97**, 1022 (1927).
- BÉGUET et HORRENBARGER: Résultats d'une enquête sur les incidents observés au cours de la vaccination antirabique par le vaccin phéniqué. Bull. Soc. Path. exot. **33**, 230 (1940).
- BEHRENS, SCHWEIZER, BARKER and REEVES: Immunization against rabies using avirulent purified vaccines. J. infect. Dis. (Am.) **64**, 252 (1939).
- BERNARD: Incident au cours du traitement antirabique. Bull. Soc. Path. exot. **32**, 799 (1939).

14. BERNKOPF and KLIGLER: Characteristics of a fixed rabies virus cultivated on developing chick embryos. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **45**, 332 (1940).
15. BERTONI: Sur la méthode classique de PASTEUR pour la vaccination antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **60**, 189 (1938).
16. BOECKER: (1) Zur Frage der Impflähmungen und der Erfolge bei verschiedenen Methoden der Tollwutschutzimpfung. *Z. Hyg.* **106**, 151 (1926).
— (2) Tierversuche zur Frage der immunisatorischen Wirksamkeit von Wutschutzimpfstoffen aus formalisiertem Virus fixe. *Z. Hyg.* **121**, 735 (1939).
— (3) Inkubationszeiten und Lebensfristen bei der menschlichen Tollwut und ihre Auswertung bei der Beurteilung von Wutschutzbehandlungsverfahren. *Z. Hyg.* **122**, 387 (1940).
17. BOECKER u. JAHN: Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabteilung des Preussischen Institutes für Infektionskrankheiten Robert Koch in Berlin in den Jahren 1937 und 1938. *Veröff. Volksgesdh.dienst* **55**, 207 (1941).
18. BOTEZ: (1) Quelques données sur les résultats de la méthode de vaccination antirabique employée à Cluj. *C. r. Soc. Biol.* **103**, 1351 (1930).
— (2) Quelques données sur les résultats de la vaccination antirabique obtenus à Cluj durant la période de 1928—1932. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **8**, 191 (1935); *Suppl.-No. commémoratif sur la rage.*
— (3) Vaccinarea antirabică la Cluj, S. 8.
19. BURNET: (1) Sur la conservation des moelles pour le traitement antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **92**, 562 (1925).
— (2) Traitement antirabique intensif chez le lapin. *C. r. Soc. Biol.* **98**, 359 (1928).
20. BUSSON: (1) Zur Frage der Ätiologie der postvaccinalen Lähmungen nach Wutschutzimpfungen. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **99**, 80 (1926).
— (2) Experimentelle Studien über das Lyssavirus. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **115**, 294 (1930).
— (3) Das Übertreten und die Speicherung von Virus fixe im Zentralnervensystem geimpfter Menschen und Tiere. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **135**, 331 (1935).
21. CALMETTE: Notes sur la rage en Indochine et sur les vaccinations antirabiques pratiquées à Saigon. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **5**, 633 (1891).
22. CASALS: Influence of age factors on immunizability of mice to rabies virus. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 453 (1940).
23. CASALS and WEBSTER: Age factors in susceptibility and immunizability of mice to rabies virus. *J. Bacter. (Am.)* **39**, 66 (1940).
24. CHIARI: Il virus fisso dell'Istituto Siero Vaccinogeno Eritrico di Asmara (Ceppo PASTEUR). *Boll. Ist. sieroter. milan.* **17**, 47 (1938).
25. CORNWALL and BEER: (1) The assessment of the infectivity of rabies fixed-virus by means of albino rats. *Indian J. med. Res.* **13**, 803 (1926).
— (2) The effect of etherized normal brain substance injected subcutaneously into rabbits. *Indian J. med. Res.* **13**, 807 (1926).
26. CORRIA: Das Phänomen der Spaltung des Wutvirus. Unität oder Pluralität des Wutvirus? *Rev. méd. cub.* **40**, 985 (1939).
27. COSTA, BOYER et PLACIDI: Essai de vaccination antirabique par un vaccin formolé. *C. r. Soc. Biol.* **96**, 293 (1927).
28. COVELL, MCGUIRE, STEPHENS and LAHIRI: Notes on antirabic immunization. *Indian J. med. Res.* **24**, 373 (1936).
29. COWDRY: Comparison of a virus obtained by KOBAYASHI from cases of epidemic encephalitis with the virus of rabies. *J. exper. Med. (Am.)* **45**, 799 (1927).
30. CRUVELHIER, DIERYCK et VIALA: Nature des accidents locaux non septiques observés pendant le traitement antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **62**, 652 (1939).
31. CRUVELHIER, LÉPINE et VIALA: Pouvoir rabicide du sérum sanguin de lapins vaccinés contre la rage comparativement par la méthode des moelles deséchées et au moyen du vaccin phéniqué. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **61**, 187 (1938).

32. CRUVEILHIER, NICOLAU et KOPCIEWSKA: Action du traitement antirabique pastorien envisagé au point de vue expérimental. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **55**, 200 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
33. CRUVEILHIER et VIALA: (1) Pouvoir rabicide et immunité antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **59**, 207 (1937).
— (2) Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1940. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **66**, 483 (1941).
34. CUMMING: Rabies Hydrophobia. A study of fixed virus, determination of the M. L. D., vaccine treatment (HÖGYES, PASTEUR and dialyzed vaccine) and immunity tests. *J. infect. Dis. (Am.)* **14**, 33 (1914).
35. CUNNINGHAM and MALONE: (1) An investigation into the value of an etherized vaccine in the prophylactic treatment of rabies. *Indian med. Res. Mem.* **1930**, Nr. 15.
— (2) An investigation into the value of an etherized vaccine in the prophylactic treatment of rabies. *Indian med. Res. Mem.* **1933**, Nr. 26.
36. CUNNINGHAM, NICHOLAS and LAHIRI: An investigation into the value of an etherized vaccine in the prophylactic treatment of rabies.
— (1) *Indian J. med. Res.* **14**, 505 (1926).
— (2) *Indian J. med. Res.* **15**, 85 (1927).
— (3) *Indian J. med. Res.* **16**, 245 (1928).
— (4) *Indian J. med. Res.* **16**, 253 (1928).
— (5) *Indian J. med. Res.* **16**, 259 (1928).
37. DAWSON: (1) Infection of chicks and chick embryos with rabies. *Science* **89**, 300 (1939).
— (2) Preliminary observations on rabies in the chick embryo. 27th Annual Meeting New Orleans 1940; ref. *Arch. Path. (Am.)* **29**, 721 (1940).
— (3) A study of chick embryo adapted rabies virus. *Amer. J. Path.* **17**, 177 (1941).
38. DODERO: (1) Le virus rabique fixe de l'Institut Pasteur de Hanoi. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **57**, 638 (1936).
(2) Recherches des substances rabicides chez les mordus traités. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **59**, 382 (1937).
— (3) Dessiccation et conservation en glycérine des moelles rabiques (Virus fixe de Hanoi). *Bull. Soc. Path. exot.* **30**, 348 (1937).
— (4) Sur la durée d'incubation de la rage au Tonkin. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **61**, 193 (1938).
39. EICHHORN and LYON: Prophylactic rabies immunization by the one-injection method. *J. amer. vet. med. Assoc.* **64**, 690 (1924).
40. FERMI: (1) L'azione di vari agenti chimici sul virus rabido. Scansano 1906 *Tip. Olmi*; vgl. *Riforma med.* **21**, Nr. 36 (1905).
— (2) Die Wirkung verschiedener chemischer Agentien auf das Wutvirus. *Arch. Hyg.* **63**, 315 (1907).
— (3) Über die Immunisierung gegen Wutkrankheit. *Z. Hyg. (D.)* **58**, 233 (1908).
— (4) Nuovi contributi allo studio della rabbia. *Ann. Ig.* **19**, 325 (1909); vgl. auch *Dtsch. med. Wschr.* **1909**, Nr. 34.
— (5) Wirkung der Antiwutimpfstoffe und Sera je nach der Tierespecies, aus welcher sie entstammen und welcher sie verabreicht werden. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **49**, 452 (1909).
— (6) Comparaison entre le pouvoir lyssicide et immunisant du sérum antirabique de différents animaux et de différents instituts. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **52**, 576 (1909).
— (7) Kann das fixe Hundevirus an Stelle des fixen Kaninchenvirus zur Bereitung von Wutimpfstoff dienen? *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **61**, 407 (1911).
— (8) Über Virulenzaufreten im Gehirn von subcutan mit fixem und Straßenvirus infizierten Muriden. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **66**, 503 (1912).
— (9) Il nuovo metodo italiano per la cura antirabbica. *Ann. Ig.* **16**, 9 (1916).
— (10) Metodi FERMI di vaccinazione e di sierovaccinazione antirabbica confrontati con tutti gli altri metodi esistenti. *Publ. Ist. sieroter. milan.* 1924.

- (11) Die Lyssaschutzimpfungsmethode nach FERMI verglichen mit allen derzeit verwendeten Hundswutschutzimpfungsverfahren. Seuchenbkpf. **3**, 114 (1926).
- (12) Die antirabische Vaccination und Serovaccination FERMI. Seuchenbkpf. **4**, 102 (1927).
- (13) Sull'efficacia delle vaccinazione antirabbiche intensive, abbreviate e prolungata. Policlinico Sez. prat. **1929**, 1103.
- (14) Revue critique sur les principales méthodes antirabiques. Sassari: G. Gallizzi, 1934.
- (15) Metodi di cura antirabbica FERMI confrontati con tutti gli altri esistenti. Medicina e Biologia **4** (1943).
- 41. FERRAN: Sur la vaccination antirabique de l'homme. Gaceta medica Catalana **11**, Nr. 4 (1888); ref. Ann. Inst. Pasteur, Par. **2**, 97 (1888); vgl. SIMON: Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **65**, 358 (1912).
- 42. FIEDLER: Paralysis during Pasteur antirabic treatment. J. amer. med. Assoc. **66**, 1769 (1916).
- 43. v. FRISCH: Die Behandlung der Wutkrankheit. Wien: L. W. Seidel & Sohn, 1887.
- 44. GALAVIELLE et MARTIN: Essais d'immunisation contre le virus de la rage des rues avec des cerveaux ayant perdu leur virulence par un séjour prolongé en glycérine. C. r. Soc. Biol. **54**, 664 (1902).
- 45. GALLOWAY: The "fixed" virus of rabies: the antigenic value of the virus inactivated by the photodynamic action of methylene blue and proflavine. Brit. J. exper. Path. **15**, 97 (1934).
- 46. GALTIER: Nouvelles expériences tendant à démontrer l'efficacité des injections intraveineuses de virus rabique en vue de préserver de la rage les animaux mordus par des chiens enragés. C. r. Acad. Sci. **107**, 798 (1888).
- 47. GAMALEIA: Sur les vaccinations préventives de la rage. Ann. Inst. Pasteur, Par. **1**, 226 (1888).
- 48. VAN GENDEREN: Über eine Anzahl von Paralysen, die im Verlauf der antirabischen Behandlung im Institut Pasteur zu Weltevreden vorkamen. Z. Hyg. **105**, 427 (1920).
- 49. VAN GENDEREN u. DICK: Zur Frage des Vorkommens von Virus fixe im Gehirn bei der Antirabiesbehandlung. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **108**, 52 (1928).
- 50. GENEVRAY et DODERO: (1) Traitement antirabique au Tonkin et mortalité chez les sujets traités pendant une période de sept années (1^{er} janvier 1926 à 31 décembre 1932). Ann. Inst. Pasteur, Par. **52**, 352 (1934).
— (2) Le virus rabique fixe de l'Institut Pasteur de Hanoi. Ann. Inst. Pasteur, Par. **57**, 638 (1936).
- 51. GIRARD et ROVIC: Influence de la température à laquelle sont conservées les moelles rabiques glycérimées sur la durée de leur virulence. C. r. Soc. Biol. **96**, 952 (1927).
- 52. GLUSSMANN u. SSOBOWJEW: Zur Frage der Bedeutung der Virulicidie des Serums für die Beurteilung des Vorhandenseins einer antirabischen Immunität. Z. Hyg. **112**, 40 (1931).
- 53. GOLOVINE: A propos du traitement antirabique. Presse méd. **1941**, 82.
- 54. GONSALVES: (1) Lipovaccination antirabique. Conservation du virus rabique dans l'huile d'olive. C. r. Soc. Biol. **90**, 876 (1924).
— (2) La Lipovaccine, une nouvelle voie ouverte à l'immunisation antirabique. C. r. Soc. Biol. **93**, 871 (1925).
— (3) Lipovaccination antirabique. Action de l'huile phéniquée sur le virus rabique. C. r. Soc. Biol. **94**, 167 (1926).
— (4) La vaccination antirabique des chiens au moyens d'une seule inoculation. C. r. Soc. Biol. **95**, 996 (1926).
- 55. GRYZEZ: (1) Action de certaines températures sur la conservation de l'activité du virus fixe de PASTEUR. Ann. Inst. Pasteur, Par. **58**, 125 (1937).
— (2) Observations sur les causes modificatrices de l'évolution de la rage chez les lapins inoculés avec le virus fixe. Ann. Inst. Pasteur, Par. **66**, 187 (1941)

56. GRYZEZ et MARNEFFE:—Les modifications du virus fixe de PASTEUR entretenu à Lille de 1895—1935. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **55**, 151 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
57. HABEL: (1) Evaluation of a mouse test for the standardization of the immunizing power of antirabies vaccines. *Publ. Health Rep.* **1940**, 1473.
— (2) Factors influencing the efficacy of phenolized rabies vaccines. *Publ. Health Rep.* **1940**, 1619.
— (3) Tissues factors in antirabies immunity of experimental animals. *Publ. Health Rep.* **1941**, 692.
58. HAMPIL and ROBERTS: Investigations on the immunogenic properties of fixed rabies virus strains. *J. Bacter. (Am.)* **43**, 397 (1942).
59. HARRIS: (1) Recherches sur les propriétés du virus rabique conservé à l'état sec. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **26**, 732 (1912).
— (2) The production of antirabic immunity by intraspinal injections of virus. *J. infect. Dis. (Am.)* **11**, 397 (1912).
— (3) Further studies on the effects of desiccation of the virus of rabies, and the use of this material in immunization. *J. infect. Dis. (Am.)* **13**, 155 (1913).
— (4) Comparative results in antirabic treatment. With the PASTEUR method and with desiccated virus. *J. amer. med. Assoc.* **67**, 923 (1916).
60. HARRIS and SHACKELL: The effect of vacuum desiccation on the virus of rabies, with remarks on a new method. *J. infect. Dis. (Am.)* **8**, 47 (1911).
61. HARVEY and ACTON: An examination into the degree of efficacy of antirabic treatment. *Indian J. med. Res.* **10**, 1020 (1923).
62. HARVEY and MCKENDRICK: Theory and Practice of antirabic immunity. Calcutta, 1907.
63. HAVENS and MAYFIELD: (1) The antigenic properties of rabies virus. *J. infect. Dis. (Am.)* **50**, 367 (1932).
— (2) Antigenic properties of rabies virus. *J. infect. Dis. (Am.)* **51**, 511 (1932).
— (3) Composition of serological variants and nature of fixed virus. *J. infect. Dis. (Am.)* **52**, 364 (1933).
64. HELMAN: (1) Études sur les formes furieuse et paralytique de la rage chez le lapin. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **2**, 274 (1888).
— (2) Action du virus rabique introduit, soit dans le tissu cellulaire sous-cutané soit dans les autres tissus. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **3**, 15 (1889).
65. HEMPT: (1) Sur une méthode rapide de traitement antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **39**, 632 (1925).
— (2) Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabteilung des staatlichen hygienischen Instituts zu Novi-Sad (Jugoslavien) im Jahre 1926, nebst Mitteilungen über den derzeitigen Stand des daselbst geübten abgekürzten Wutschutzverfahrens. *Seuchenbkpf.* **4**, 204 (1927).
— (3) Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabteilung in Novi-Sad im Jahre 1926. *Seuchenbkpf.* **5**, 57 (1928).
— (4) Über eine karbolisierte antirabische Äthervaccine und ihren Schutzwert bei Mensch und Tier. *Behringwerk-Mitt.* **1938**, H. 9, 150.
66. HERRMANN: (1) Immunisation gegen Tollwut mit verschiedenen Vaccinen. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **94**, 296 (1925).
— (2) Inaktivierte antirabische Vaccine „58—60“. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **96**, 131 (1925).
— (3) Über den Virulenzverlust des in Glycerin konservierten fixen Virus. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **110**, 45 (1929).
— (4) Dauer des Impfschutzes gegen Lyssa. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **117**, 141 (1930).
— (5) Über die Intensivierung der Tollwutschutzimpfungen. *Z. Immunit.forsch.* **70**, 536 (1931).
67. HODES, LAVIN and WEBSTER: Antirabic immunization with culture virus rendered avirulent by ultraviolet light. *Science* **86**, 447 (1937).
68. HODES, WEBSTER and LAVIN: The use of ultraviolet light in preparing a non-virulent antirabies vaccine. *J. exper. Med. (Am.)* **72**, 437 (1940).

69. HÖGYÉS: (1) Vereinfachung des PASTEURSchen Verfahrens der Hundswut-präventivimpfung. *Lancet* 1887, 1185.
 — (2) Le virus rabique des chiens des rues dans ses passages de lapin à lapin. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* 2, 133 (1888).
 — (3) Die experimentelle Basis der antirabischen Schutzimpfungen PASTEURS. Stuttgart: F. Enke, 1889.
70. HOYT, FISK and MOORE: Experimental rabies in white mice. Studies on passive immunization. *Proc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* 32, 1560 (1935).
71. HOYT, FISK, MOORE and TRACY: Experimental rabies in white mice. Studies on passive immunization. *J. infect. Dis. (Am.)* 59, 152 (1936).
72. HOYT and GURLEY: (1) Experimental street-virus rabies in white mice. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* 37, 454 (1937).
 — (2) Experimental street-virus rabies in white mice. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* 38, 40 (1938).
73. HURST and PAWAN: (1) An outbreak of rabies in Trinidad without history of bites, and with symptoms of acute ascending myelitis. *Lancet* 1931 II, 622.
 — (2) A further account of the Trinidad outbreak of acute rabic myelitis: Histology of the experimental disease. *J. Path. (Am.)* 35, 301 (1932).
74. JACOTOT, COLSEN et LE ROUX: Contribution à l'étude expérimentale de la vaccination antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* 61, 92 (1938).
75. JACOTOT et LE ROUX: Effets produits chez le veau et chez le cheval par l'inoculation intracrânienne de virus fixe. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* 59, 517 (1937).
76. JOHNSON and LEACH: Canine rabies vaccination; an experimental study of the efficacy of the single intraperitoneal injection method with phenol-treated vaccine. *Amer. J. Hyg.* 32, Sect. B, 69 (1940).
77. JONNESCO: (1) Vaccination préventive antirabique des chiens au moyen du virus fixe pour le chien. *C. r. Soc. Biol.* 104, 719 (1930).
 — (2) Recherches sur la vaccination préventive des chiens avec le virus rabique fixe-chien. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* 49, 332 (1932).
78. JONNESCO et BOBES: Valeur de vaccination antirabique des chiens en une injection unique. *Bull. Acad. Méd. Roum. Bucarest (Fr.)* 12, 210 (1942).
79. ISABOLINSKY u. ZEITLIN: (1) Über das intensive Verfahren der Schutzimpfungen gegen Lyssa. *Z. Immunit.forsch.* 45, 301 (1926).
 — (2) Über die biologischen Eigenschaften des Virus-fixe. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I,* 103, 427 (1927).
 — (3) Zur Frage über die biologischen Eigenschaften des Virus fixe. *Z. Immunit.forsch.* 49, 67 (1927).
 — (4) Über die Speicherung des Virus fixe im Gehirn immunisierter Kaninchen. *Z. Immunit.forsch.* 62, 233 (1929).
80. LENGAR and BEER: Studies in the value of etherized sheep vaccine in the prophylactic treatment of rabies. *Indian J. med. Res.* 18, 1 (1930).
81. KASAHARA u. SHA-SHI-NAN: Über die Schutzwirkung des mit Ultra-Schallwellen behandelten Lyssavirus. *Klin. Wschr.* 1940, 866.
82. KELSER: Chloroform treated rabies vaccine. *J. amer. vet. med. Assoc.* 30, 595 (1930).
83. KERBLER: Über die Gewinnung von Virus fixe aus Schafen. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I,* 119, 427 (1930/31).
84. KLIGLER and BERNKOPF: (1) Studies on antirabic immunization with formolized culture virus. *Brit. J. exper. Path.* 19, 378 (1938).
 — (2) Studies on the cultivation and antigenic characters of rabies virus. *Amer. J. Hyg.* 33, Sect. B, 1 (1941).
85. KOLDAJEW: Ergebnisse der antirabischen Impfungen nach der PASTEURSchen und der Verdünnungsmethode. *Z. Hyg.* 107, 523 (1927).
86. KOLDAJEW u. PIKUL: Über den Einfluß der H-Ionenkonzentration auf das Virus fixe der Tollwut. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I,* 131, 6 (1934).
87. KONDO: On the rabicidal property of antirabies serum. *J. Jap. Soc. vet. Sci.* 1, 279 (1922).

88. KONIEFF et RAMSINE: Essais sur la vaccination contre la rage par le formol vaccine. C. r. Soc. Biol. **99**, 1259 (1928).
89. KORITSCHONER u. SCHWEINBURG: Klinische u. experimentelle Beobachtungen über Lähmungen nach Wutschutzimpfung. Z. Immunit.forsch. **42**, 217 (1925).
90. KOZEWALOW: Zur Virulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **73**, 54 (1914).
91. KRASMITZKI: Immunisation antirabique au moyen des injections intravasculaires du virus rabique. Ann. Inst. Pasteur, Par. **16**, 393 (1902).
92. KRAUS u. DURAN: (1) Nachtrag zur Arbeit über die in Südamerika vorkommenden Epidemien der Hundswut bei Rindern und Pferden. Z. Immunit.forsch. **75**, 363 (1932).
— (2) Über Varietäten der Lyssa. Über eine besondere Form der Hundswut beim Menschen auf der Insel Trinidad und über die Zugehörigkeit zur klassischen Form der Lyssa. Z. Immunit.forsch. **76**, 285 (1932).
93. KRAUS u. HOLOBUT: Über die Wirkung des intraokulär injizierten rabiciden Serums. Z. Immunit.forsch. **3**, 130 (1909).
94. KRAUS u. TAKAKI: Der Nachweis der neurotrophen Virusarten mittels Komplementablenkung mit Koktoantigen. Wien. klin. Wschr. **1926**, 624.
95. KRITSCHESKY: Die experimentelle Begründung der Berliner Methode der antirabischen Impfungen. Z. Immunit.forsch. **60**, 337 (1929).
96. LEACH and JOHNSON: (1) Canine rabies vaccination. An experimental study of the efficacy of the single subcutaneous infection method with phenol treated vaccine. Amer. J. Hyg., Sect. B, **32**, 46 (1940).
— (2) Canine rabies vaccination. An experimental study of the efficacy of the single subcutaneous injection method with chloroformed treated vaccine. Amer. J. Hyg., Sect. B, **32**, 74 (1940).
97. LE FÈVRE DE ARRIC et TSCHANG KOUO-NGEN: Activité comparée du virus rabique fixe entre tenu à Paris et à Bruxelles. C. r. Soc. Biol. **90**, 980 (1924).
98. LEGEZYNSKI et MARKOWSKI: Recherches expérimentales sur les porteurs éventuels de germes rabiques. C. r. Soc. Biol. **99**, 917 (1928).
99. LÉPINE: (1) Action comparée de l'immersion en glycérine et de la congélation sur la conservation de la virulence des moelles rabiques. C. r. Acad. Sci. **201**, 172 (1935).
— (2) Technique de préparation du vaccin antirabique phéniqué. Rev. Hyg. (Fr.) **59**, 555 (1937).
— (3) A propos des accidents syncopaux au cours du traitement antirabique. Bull. Soc. Path. exot. **32**, 800 (1939).
— (4) On the evolution of fixed strains of rabies virus. J. Hyg. Cambr. **38**, 180 (1938).
100. LÉPINE et CRUVEILHIER: (1) Action de la dessiccation sur la neuroprobiasie du virus rabique. C. r. Soc. Biol. **119**, 1338 (1935).
— (2) Cinquante années de vaccination antirabique à l'Institut Pasteur. Ann. Inst. Pasteur, Par. **55**, 18 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
— (3) Recherches sur la virulence des moelles rabiques en relation avec l'état actuel du virus fixe de l'Institut Pasteur. Ann. Inst. Pasteur, Par. **55**, 127 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
101. LÉPINE, MATHIS et SAUTTER: Sur quatre souches de virus rabique des rues, originaire de l'A. O. F. Bull. Soc. Path. exot. **32**, 852 (1939).
102. LÉPINE et SAUTTER: (1) Aptitude négrigène du virus fixe de Sassari. C. r. Soc. Biol. **122**, 542 (1936).
— (2) Essais expérimentaux sur la valeur pratique des vaccins antirabiques phéniqués. Ann. Inst. Pasteur, Par. **59**, 39 (1937).
— (3) État du virus fixe dans les vaccins antirabiques phéniqués. C. r. Soc. Biol. **127**, 192 (1938).
— (4) Moment d'apparition de l'immunité antirabique chez les lapins traités. C. r. Soc. Biol. **130**, 617 (1939).
103. LEVADITI, LÉPINE et SCHOEN: Mutation brusque du virus rabique des rues en une variété particulière de virus fixe. C. r. Soc. Biol. **101**, 1050 (1929).

104. LEVADITI, NICOLAU et SCHOEN: Recherches sur la rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **40**, 973 (1926).
105. LEVADITI et SCHOEN: Le potentiel négroigène du virus rabique fixe. *C. r. Soc. Biol.* **119**, 811 (1935).
106. LIEOU: Immunité acquise contre la rage par voie péritonéale. *C. r. Soc. Biol.* **133**, 241 (1940).
107. LÖFFLER u. SCHWEINBURG: (1) Zur Theorie der Immunität der Lyssa. *Virchows Arch.* **279**, 181 (1930).
 — (2) Zur Theorie der Immunität bei Tollwut. *Virchows Arch.* **283**, 540 (1932).
 — (3) Rabizides Serum im Tierversuch. *Wien. klin. Wschr.* **1932**, 813.
 — (4) Beitrag zur Theorie der Immunität bei der Tollwut. *Zbl. Bakter. usw., Orig.* **I**, **130**, 329 (1933/34).
108. LUBINSKI u. PRAUSNITZ: Lyssa. *Erg. Hyg. usw.* **8**, 1 (1926).
109. MARIE: (1) Immunisation par des mélanges de virus rabique et de sérum antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **54**, 1364 (1902).
 — (2) Préservation du chien contre la rage par les mélanges de virus fixe et de sérum antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **59**, 637 (1906).
 — (3) L'inoculation du virus des rues au chien. *C. r. Soc. Biol.* **62**, 293 (1907).
 — (4) Recherches sur le sérum antirabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **22**, 271 (1908).
 — (5) Étude expérimentale de la rage. Paris, 1909.
 — (6) Rapport conférence de la rage. Paris, 1927.
 — (7) 1^{ère} Conférence Internationale de la Rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par., Suppl.*, **1927**, 16.
110. MARX: (1) Beiträge zur Lyssaimmunität. *Dtsch. med. Wschr.* **1899**, 671.
 — (2) Zur Theorie der PASTEURSchen Schutzimpfung gegen Tollwut. *Dtsch. med. Wschr.* **1900**, 461.
111. MCKENDRICK: (1) Huitième Revue analytique des rapports des instituts Pasteur sur les résultats de la vaccination antirabique. *S. d. N. Bull. Org. Hyg.* **VII**, Nr. 1. Genève, 1938.
 — (2) Neuvième Revue analytique des rapports des instituts Pasteur sur les résultats de la vaccination antirabique. *S. d. N. Bull. Org. Hyg.* **IX**, Nr. 2. Genève, 1940.
112. MILLISCHER et MARTEAU: Observations sur la congélation des moelles rabiques. *C. r. Soc. Biol.* **122**, 727 (1936).
113. MILLISCHER et MILLISCHER: Expertise du virus rabique fixe utilisé à Beyrouth. *Bull. Soc. Path. exot.* **29**, 626 (1936).
114. MORISON: Intravenous administration of antirabic vaccine. *Indian J. med. Res.* **12**, 333 (1924).
115. MOSS: Protection against rabies. The effect of frequency of dosage of vaccine upon immunity. *J. Labor. a. clin. Med. (Am.)* **25**, 702 (1940).
116. MULAS: (1) Dannose ed assurde modificazioni inglesi al metodo antirabbico FERMI. *Boll. Ist. sieroter. milan.* **15**, 576 (1936).
 — (2) Valeur comparée de la méthode de FERMI et des autres vaccins phéniqués pour la vaccination antirabique. *Rev. Hyg. (Fr.)* **53**, 419 (1936).
117. MURILLO: Experimentaluntersuchungen über Antiwutserum. *Bol. Inst. nac. Hig. Alfonso XIII.* **1911**, Nr. 25; *Ref. Zbl. Bakter. usw., Ref.* **51**, 409 (1912).
118. NICOLAU, CRUVEILHER et KOPCOWSKA: (1) Modifications histologiques provoquées par la vaccination antirabique dans le système nerveux des lapins. *C. r. Soc. Biol.* **108**, 871 (1931).
 — (2) Interprétation des modifications histologiques provoquées par la vaccination antirabique dans le système nerveux des lapins. *C. r. Soc. Biol.* **108**, 937 (1931).
119. NICOLAU et KOPCOWSKA: (1) Identification d'un virus prétendu herpétique, en réalité rabique, par des expériences d'immunité croisée avec la rage. *C. r. Soc. Biol.* **101**, 655 (1929).
 — (2) Le virus fixe existe-t-il dans le névraxe de lapins qui subissent la vaccination antirabique? *C. r. Soc. Biol.* **110**, 348 (1932).

- (3) Essais de transformation du virus rabique fixe en virus des rues. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **8**, 35 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
120. NICOLAU, MATHIS et CONSTANTINESCO: Sur la transformation en virus fixe d'une souche particulière de virus rabique des rues. *C. r. Soc. Biol.* **110**, 433 (1932).
121. NICOLAU, VIALA et KOPCIOWSKA: Peut-on mettre en évidence le virus rabique fixe dans le système nerveux des animaux vaccinés à l'aide de la méthode pasteurienne. *C. r. Soc. Biol.* **104**, 1134 (1930).
122. NIKOLAJEWA: Antiwutimpfung mittels Karbolvakzine nach der Methode von Prof. FERMI. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **95**, 423 (1925).
123. NIKOLIČ: Über die Resultate der Dezentralisation der Tollwutbekämpfung in Jugoslawien. *Vet. Archiv* **5**, 247 (1935).
124. NITSCH: (1) Bemerkungen über die PASTEURSche Methode der Schutzimpfungen gegen Tollwut. *Wien. klin. Wschr.* **1904**, 959.
— (2) Bemerkungen über die PASTEURSche Methode der Schutzimpfungen gegen Tollwut. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I*, **42**, 647 (1906).
125. NOCARD et ROUX: Expériences sur la vaccination des ruminants contre la rage par injection intraveineuse de virus rabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **2**, 341 (1888).
126. NOURY: Un cas d'hémiplégie transitoire au cours de traitement antirabique par vaccin phéniqué. *Bull. Soc. Path. exot.* **33**, 4 (1940).
127. OKUWADA: Comparative experimental study of various methods used for anti-rabic preventive treatment. *Kitasato Arch. exper. Med. (e.)* **10**, 279 (1933).
128. OLÁH: Phenol-Kochsalzlösung als Konservierungsmittel des fixen Virus der Wut. *Z. Immunit.forsch.* **93**, 44 (1938).
129. OSHIDA: Über die prophylaktische Impfung von Lyssa mittels des in der Hitze bereiteten Giftes. *Mitt. med. Ges. Tokyo* **16**, 9 (1902); *Ref. Zbl. Bakter. usw., Ref.* **34**, 146 (1904).
130. PALAWANDOW u. SEREBRENNAJA: (1) Beitrag zum Vergleich biologischer Eigenschaften der Stämme des Virus fixe Sassari mit dem Odessaer Virus fixe. *Z. Immunit.forsch.* **69**, 267 (1930).
— (2) Über einige Eigentümlichkeiten der im Odessaer Bakteriologischen Institut isolierten Straßenvira. *Z. Immunit.forsch.* **78**, 230 (1933).
131. PAPAMARKU: Wutschutzimpfung und Paraplegien. *Z. Hyg.* **86**, 85 (1918).
132. PASTEUR: (1) Rapport par la Commission chargée de contrôler les expériences de M. PASTEUR sur la prophylaxie de la rage. *J. Off. Rép. franç. Nr.* 216, 4228 (1884).
— (2) Lettre de PASTEUR sur la rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **1**, 1 (1888).
133. PELSER: Zur Klinik, Kasuistik und Pathogenese der nervösen Störungen im Gefolge der Wutschutzimpfung. *Z. Neur., Ref. u. Erg.* **22**, 1, 121 (1920).
134. PEREIRA DA SILVA: (1) Apparition précoce de substances rabicides dans le sang des individus traités par le virus rabique fixe étherisé. *C. r. Soc. Biol.* **95**, 323 (1926).
— (2) Persistence des substances rabicides dans le sang des individus traités par le virus rabique étherisé. *C. r. Soc. Biol.* **95**, 326 (1926).
— (3) Substances rabicides dans le sang des individus traités par le virus rabique fixe étherisé. *Arqu. Inst. Bacter. Camara Pestana* **6**, 42 (1928).
— (4) Substances rabicides dans le sang des individus vaccinés au virus fixe phéniqué mort. *Arqu. Inst. Bacter. Camara Pestana* **6**, 138 (1930).
135. PFEILER: Neue Immunisierungsversuche bei Tollwut. *Berl. tierärztl. Wschr.* **1913**, 249, 269.
136. PHILLIPS: Prophylactic treatment for rabies by means of standardized glycerinated virus. *J. Immunol. (Am.)* **7**, 409 (1922).
137. PHISALIX et F. PASTEUR: Action des rayons ultraviolets sur le virus rabique et ses antigènes rabiques et vénimeux. *C. r. Acad. Sci.* **188**, 276 (1929).
138. PIRINGER: (1) Bericht der Abteilung für Wutschutzimpfung der Staatlichen Impfanstalt und des staatlichen Serumprüfungsinstitutes in Wien. *Veröff. Volksgesdh.dienst* **55**, 241 (1941).

- (2) Myelitis postvaccinationem contra lyssam nach der Methode von SEMPLE. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **148**, 321 (1942).
139. PLANTUREUX: (1) Influence de la dessiccation, de la température et de la glycérine sur un virus rabique fixe au 1500^e passage. Conservation des moelles rabiques en sérum formolé. C. r. Soc. Biol. **92**, 253 (1925).
- (2) Conservation des moelles rabiques en sérum formolé, glyciné et en sérum phéniqué. C. r. Soc. Biol. **92**, 1292 (1925).
- (3) Vaccin antirabique formolé. C. r. Acad. Sci. **132**, 1578 (1926).
- (4) Le virus rabique fixe d'Alger au 1550^e passage n'a rien perdu de son pouvoir immunisant contre le virus des rues. C. r. Soc. Biol. **95**, 192 (1926).
- (5) Traitement antirabique des animaux par un vaccin formolé. Rev. gén. Méd. Vét. **35**, 619 (1926).
- (6) Contribution à l'étude du traitement préventif de la rage chez les animaux. Ann. Inst. Pasteur, Par. **40**, 141 (1926).
- (7) Vaccin antirabique formolé, nouvelle méthode, simple pratique, de vaccination préventive des chiens contre la rage. Rec. Méd. vét. **103**, 288 (1927).
- (8) Modifications du pouvoir pathogène du virus rabique fixe d'Alger, pour la chambre antérieure de l'œil. C. r. Soc. Biol. **98**, 935 (1928).
- (9) Traitement des animaux après morsure par le vaccin antirabique formolé. Bull. Acad. vét. France **2**, 156 (1929).
- (10) Sur la vaccination préventive des chiens et la prophylaxie de la rage. Rev. vét. (Toulouse) **1929**, 409.
- (11) Sur la vaccination antirabique des chiens avant morsure. Ann. Inst. Pasteur, Par. **55**, 176 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
140. POKSCHISCHEWSKI: Über Methoden der Schutzimpfung gegen Tollwut. Z. Hyg. **76**, 453 (1914).
141. PONOMAREFF et SOLOVIEFF: Nouveau procédé de la préparation du vaccin antirabique et essai d'application de ce vaccin pour l'obtention d'un sérum antirabique de haute activité. Ann. Inst. Pasteur, Par. **42**, 1661 (1928).
142. PONOMAREFF et TCHECHKOFF: Les conditions de l'action du sérum antirabique. C. r. Soc. Biol. **97**, 376 (1927).
143. PROCA et BOBES: L'immunisation contre la rage: vaccins vivants et vaccins tués. Bull. Org. Hyg. Soc. Nat. **9**, Nr. 3, 85.
144. PROCA, BOBES et JONNESCO: (1) Sur la sérothérapie préventive de la rage. C. r. Soc. Biol. **115**, 1001 (1934).
- (2) Sur quelques essais de sérothérapie locale de la rage. C. r. Soc. Biol. **117**, 133 (1934).
- (3) Séro vaccination et sérothérapie de la rage chez la souris. C. r. Soc. Biol. **118**, 729 (1935).
- (4) Sérothérapie de la rage. Bull. Acad. Méd. Roum., Bucarest (Fr.) **4**, 609 (1937).
145. PROCA et JONNESCO: Sur une modification durable du virus rabique de passage. C. r. Soc. Biol. **120**, 1274 (1935).
146. PROESCHER: (1) A danger free method of using freshly prepared virus from brain of the hydrophobic rabbit. New York Med. J. **1909**.
- (2) Further experience in the preventive treatment of rabies with unchanged virus. Arch. int. Med. (Am.) **8**, 351 (1911).
147. PROPOPOFF: (1) Les injections préventives antirabiques. Charkow, 1888.
- (2) Über die Vaccination der Hunde gegen Tollwut. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **4**, 787 (1888).
- (3) Über die Hauptursache der Abschwächung des Tollwutgiftes. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **6**, 129 (1889).
148. PUNTONI: (1) L'azione dell'acido fenico sul virus rabico fisso e la preparazione de vaccini antirabici fenicati. Ann. Ig. **29**, 13 (1919).
- (2) La pluralità del virus rabico. Ann. Ig. **31**, fasc. 1 (1921).
- (3) Un metodo di vaccinazione antirabica con emulsioni fenate di virus fisso a virulenza graduata. Ann. Ig. **31**, 27, 389 (1921).

- (4) Virus rabico fisso ad esclusiva virulenza cerebrale. *Ann. Ig.* **32**, 253 (1922).
- (5) L'autovaccinazione antirabica. *Ann. Ig.* **33**, fasc. 4 (1923).
- (6) L'acido fenico nella vaccinazione e nella diagnosi della rabbia. *Ann. Ig.* **33**, 1 (1923).
- (7) La pluralità biologica del virus rabico da strada. *Ann. Ig.* **33**, fasc. 1 (1923).
- (8) L'autovaccinazione antirabica. *Clin. vet. (It.)* **1924**, Nr. 8.
- (9) Effetti della glicerina e del freddo sulla sopravvivenza e sul periodo di incubazione del virus rabico. *Ann. Ig.* **34**, 716 (1924).
- (10) Applicazioni pratiche dell'autovaccinazione antirabica. *Ann. Ig.* **36**, 569 (1926).
- (11) La vaccinazione antirabica con i vaccini fenicati. *Ann. Ig.* **36**, 765 (1926).
- (12) Die karbolisierten Impfstoffe gegen die Tollwut. *Seuchenbkpf.* **3**, 260 (1926).
- (13) Applicazione pratiche dell'autovaccinazione antirabica. *Clin. vet. (It.)* **1926**, Nr. 7.
- (14) Die antirabischen phenolisierten Vakzinen. *Seuchenbkpf.* **4**, 210 (1927).
- (15) I vaccini antirabici fenicati et loro odierni applicazioni. Roma: Bucciarelli Edit., 1927.
- 149. PUSCARIU u. LEBELL: Bericht über die im antirabischen Institut zu Jassy vom 1. August 1891 bis 31. Dezember 1913 gegen Lyssa angewandte Präventivbehandlung. *Hyg. Rdsch.* **24**, 1149 (1914).
- 150. PUSCARIU et VESESCO: Essais de vaccination antirabique avec le virus atténué par la chaleur. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **9**, 210 (1895).
- 151. QUAST: Ein Beitrag zur Frage des Verbleibens des durch die Wutschutzimpfung dem menschlichen Körper einverleibten Virus. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **97**, 53 (1926).
- 152. QUAST u. ROTTER: Über das Vorkommen von Virus fixe im Gehirn wutschutzgeimpfter Hunde. *Zbl. Bakter. usw., Orig. I.* **106**, 313 (1928).
- 153. RAYNAL et LIEOU: Shoc expérimental par solutions phéniquées faibles. *C. r. Soc. Biol.* **133**, 242 (1940).
- 154. REED and MUENCH: A simple method of estimating 50 percent end points. *Amer. J. Hyg.* **27**, 493 (1938).
- 155. REICHEL and SCHNEIDER: (1) Rabies vaccine protection test. *J. amer. vet. med. Assoc.* **84**, 752 (1934).
- (2) Rabies vaccine protection tests. *Amer. J. publ. Health* **24**, 625 (1934).
- 156. REMLINGER: (1) Vaccination du mouton contre la rage à l'aide du mélange virus-sérum. *C. r. Soc. Biol.* **56**, 310 (1904).
- (2) Contribution à l'étude du virus rabique fixe. Son inocuité relative pour le chien. *C. r. Soc. Biol.* **56**, 414 (1904).
- (3) Contribution à l'étude du mélange de sérum antirabique et de virus fixe. *C. r. Soc. Biol.* **57**, 658 (1905).
- (4) Contribution à l'étude du sérum antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **62**, 961 (1907).
- (5) Vaccination du cheval contre la rage à l'aide du mélange de virus rabique et de sérum antirabique. *Rec. méd. vét.* **1908**, 523.
- (6) Action de l'éther sur le virus rabique. *C. r. Acad. Sci.* **161**, 750 (1918).
- (7) Immunisation du lapin contre l'inoculation sous-dure-mérienne de virus rabique fixe au moyen de cerveaux traités par l'éther. *C. r. Soc. Biol.* **82**, 52 (1919).
- (8) Action de l'éther sur le virus rabique. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **33**, 616 (1919).
- (9) La durée du traitement antirabique peut-elle être écourtée? *Arch. Inst. Pasteur Afr. N.* **1**, 40 (1920).
- (10) Contribution à l'étude de l'atténuation du virus rabique fixe pour l'homme. *Arch. Inst. Pasteur Afr. N.* **1**, 233 (1921).
- (11) Contribution à l'étude de l'action de la dessiccation sur le virus rabique. *C. r. Soc. Biol.* **89**, 1082 (1923).

- (12) Différence d'action de la glycérine à l'égard du virus rabique de rue et du virus fixe. C. r. Soc. Biol. **89**, 1132 (1923).
 - (13) Méthodes rapides et simplifiées de traitement antirabique. Par. méd. **51**, 527 (1924).
 - (14) Sur quelques modifications susceptibles d'être apportées au traitement antirabique. Comm. Acad. Méd. **91**, 199 (1924).
 - (15) Contribution à l'étude de l'action de la glycérine sur le virus rabique. C. r. Soc. Biol. **90**, 70 (1924).
 - (16) Une nouvelle méthode de traitement antirabique. C. r. Soc. Biol. **90**, 272 (1924).
 - (17) L'huile d'olives peut-elle remplacer la glycérine pour la conservation du virus rabique? C. r. Soc. Biol. **91**, 59 (1924).
 - (18) Conservation du virus rabique dans l'huile camphrée. C. r. Soc. Biol. **91**, 350 (1924).
 - (19) Méthodes rapides et simplifiées de traitement antirabique. Par. méd. **51**, 527 (1924).
 - (20) Vaccination du chien et du chat contre la rage au moyen du virus-éther. C. r. Soc. Biol. **92**, 1195 (1925).
 - (21) A quelle température faut-il dessécher et conserver les moelles rabiques? C. r. Soc. Biol. **93**, 19 (1925).
 - (22) Les accidents du traitement antirabique. S. d. N. Rapports Conférence de la Rage Paris **1927**, 54.
 - (23) La rage peut-elle prendre place parmi les neuro-infections mortelles auto-stérilisables? C. r. Soc. Biol. **99**, 118 (1928).
 - (24) Les paralysies du traitement antirabique. Ann. Inst. Pasteur, Par., Suppl.-Bd., **1928**, 71.
 - (25) Sur la fréquence et la gravité des paralysies susceptibles d'apparaître au cours du traitement antirabique par la méthode d'HÖGYES. C. r. Soc. Biol. **98**, 103 (1928).
 - (26) Contribution à l'étude de la rage de laboratoire. Presse méd. **1935**, 1772.
 - (27) La rage dite de laboratoire. Ann. Inst. Pasteur, Par. **8**, 35 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
 - (28) Deux cent deux cas accidents paralytiques du traitement antirabique. Bull. Acad. Méd. **118**, 419 (1937).
 - (29) Les accidents paralytiques du traitement antirabique par la méthode d'HÖGYES et leur cause. Off. int. Hyg. publ. **29**, 2354 (1937).
 - (30) Quelques considérations sur le traitement antirabique. Rev. Hyg. (Fr.) **61**, 241 (1939).
157. REMLINGER et BAILLY: (1) Le sérum formolé ne peut pas remplacer la glycérine pour la conservation du virus rabique. C. r. Soc. Biol. **92**, 1196 (1925).
- (2) Le virus fixe passe-t-il dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique? C. r. Soc. Biol. **96**, 683 (1927).
 - (3) Sur l'atténuation du virus rabique fixe pour la chambre antérieure de l'œil. C. r. Soc. Biol. **96**, 824 (1927).
 - (4) Le virus fixe ne passe pas dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique. Ann. Inst. Pasteur, Par. **42**, 729 (1928).
 - (5) La rage et les neuro-infections mortelles auto-stérilisables. C. r. Soc. Biol. **102**, 296 (1929).
 - (6) Substitution du cerveau de chien au cerveau de lapin dans la préparation du vaccin antirabique vétérinaire. C. r. Soc. Biol. **104**, 18 (1930).
 - (7) Unicité ou pluralité du virus rabique. Ann. Inst. Pasteur, Par. **45**, 376 (1930).
 - (8) Étude sur la rage. Ann. Inst. Pasteur, Par. **47**, 608 (1931).
 - (9) Action de la congélation sur le virus rabique. C. r. Soc. Biol. **116**, 407 (1934).
 - (10) Influence des passages à lapin sur la sensibilité du virus rabique à la dessiccation et à la glycérine. C. r. Soc. Biol. **118**, 1206 (1935).
 - (11) Influence des passages de lapin à lapin sur la sensibilité du virus rabique à l'éther et à la dilution. C. r. Soc. Biol. **119**, 29 (1935).

- (12) Influence des passages de lapin à lapin sur la sensibilité du virus fixe à divers agents d'atténuation. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **55**, 157 (1935); Suppl.-No. commémoratif sur la rage.
 - (13) La vaccination antirabique à domicile. *Presse méd.* **1935**, 1121.
 - (14) Contribution à l'étude de la vaccination antirabique par les vaccins phéniqués. *Presse méd.* **1936**, 1100.
 - (15) Les vaccins antirabiques phéniqués ou la méthode italienne du traitement de la rage. *Presse méd.* **1936**, 1682.
 - (16) La congélation des moelles rabiques est-elle applicable à la pratique de la vaccination? *C. r. Soc. Biol.* **121**, 1614 (1936).
 - (17) Contribution à l'étude de la vaccination antirabique par les vaccins phéniqués. *Bull. Acad. Méd., Par.* **115**, 788 (1936).
 - (18) La dessiccation n'atténue pas le virus rabique, elle le conserve. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **65**, 130 (1940).
 - (19) Action comparée des dessiccations lente et brusque sur le virus de la rage et de la maladie d'AUJESZKY. *C. r. Soc. Biol.* **133**, 395 (1940).
 - (20) Peut-on vacciner l'homme contre la rage au moyen de l'encéphale du chien mordeur? *Bull. Acad. Méd., Par.* **125**, 107 (1941).
 - (21) Les virus rabiques naturellement atténués. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **68**, 314 (1942).
158. REMLINGER et CURASSON: Identité de l'Oulou Fato (Maladie du chien fou de l'Ouest Africain) et de la rage. *Bull. Acad. Méd., Par.* **92**, 1112 (1924).
159. REMLINGER et NOURI: Sur la dessiccation du virus rabique en présence de l'acide sulfurique. *C. r. Soc. Biol.* **64**, 945 (1908).
160. REMLINGER, PALMOWITCH et BAILLY: (1) Nouveaux faits démontrant que le virus fixe ne passe pas dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique. *C. r. Soc. Biol.* **107**, 203 (1931).
- (2) Action de l'éther sur diverses souches de virus rabique. *C. r. Soc. Biol.* **107**, 760 (1931).
 - (3) Pluralité des virus rabiques fixes. Nocivité de quelques-uns. *C. r. Soc. Biol.* **107**, 1050 (1931).
 - (4) Contribution à l'étude de l'action de la dilution sur le virus rabique. *C. r. Soc. Biol.* **107**, 1244 (1931).
161. ROCHAIX: L'atténuation du virus fixe par la glycérine et le moyen pratique de l'éviter. *C. r. Soc. Biol.* **89**, 1309 (1923).
162. RODET: A propos de l'action de la glycérine sur le virus rabique. *C. r. Soc. Biol.* **90**, 1259 (1924).
163. RODET et GALAVIELLE: (1) Existence dans les centres nerveux rabiques, d'une matière antagoniste du virus. *C. r. Soc. Biol.* **53**, 63, 1144 (1901).
- (2) Influence du séjour prolongé dans la glycérine du virus rabique. *C. r. Soc. Biol.* **53**, 1147 (1901).
164. ROUX: (1) Notes sur un moyen de conserver les moelles rabiques avec leur virulence. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **1**, 87 (1887).
- (2) Notes de laboratoires sur l'immunité conférée aux chiens contre la rage par injections intraveineuses. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **2**, 479 (1888).
165. SÁIZ: Über die Epidemiologie der Wut und die immunisierende Kraft des SEMPLE-Impfstoffes. *Rev. Hig. y San. pec.* **25**, 335 (1935).
166. SANKARAN and BEER: The effect of exposure of suspensions of rabies-infected brain to radiation from a quartz mercury vapour lamp. *Indian J. med. Res.* **22**, 581 (1935).
167. SCHOENING: (1) Studies on the single-injection method of vaccination as a prophylactic against rabies in dogs. *J. agric. Res.* **30**, 431 (1925).
- (2) Experimental studies with killed canine rabies vaccines. *J. amer. vet. med. Assoc.* **76**, (29), 25 (1930).
 - (3) Prophylactic vaccination of dogs against rabies. *J. amer. vet. med. Assoc.* **78** (31), 703 (1931).
 - (4) Immunization of dogs against rabies by the one-injection method. *Amer. J. publ. Health* **1931**, 637.

168. SCHWEINBURG: (1) Bericht über die Tätigkeit der staatlichen Schutzimpfungsanstalt gegen Wut in Wien in den Jahren 1913—1923. Seuchenbkpf. **1925**, 223.
 — (2) Über das Virus KORITSCHONER. Z. Immunit.forsch. **42**, 552 (1925).
 — (3) Zur Frage der Virulenz des Virus fixe. Wien. klin. Wschr. **1928**, 1149.
 — (4) Über die Ursachen der Lähmungen nach Wutschutzimpfungen. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **115**, 307 (1930).
 — (5) Über den Nachweis von Lyssavirus in verschiedenen Organen. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **123**, 434 (1932).
 — (6) Neuere Ergebnisse der Tollwutforschung. Weichardts Erg. **20**, 1 (1937).
169. SEMPLE: The preparation of a safe and efficient antirabic vaccine. Scientific memoirs by officers of the Medical and sanitary departments of the government of India 1911, Nr. 44.
170. SHORTT and BROOKS: (1) On the photodynamic action of methyleneblue on fixed rabies virus. Indian. J. med. Res. **21**, 581 (1934).
 — (2) Note on rabies fixed virus as an antigenic agent when inactivated by the photodynamic action of methylene blue. Indian J. med. Res. **22**, 557 (1935).
171. SHORTT, MALONE, CRAIGHEAD and MCGUIRE: An investigation into the relation immunizing value of the Kasauli and Paris strains of rabies fixed virus. Indian med. Res. Mem. Nr. **28**, 1 (1934).
172. SHORTT, MCGUIRE, BROOKS and STEPHENS: Anti-rabic immunization: probable lines of progress in improvement of methods. Indian J. med. Res. **22**, 537 (1935).
173. SHORTT, MCGUIRE, BROOKS, STEPHENS and LAHIRI: The relative immunizing values of different forms of antirabic vaccines and the duration of immunity in experimentally immunized animals. Indian J. med. Res. **25**, 483 (1937).
174. SIMON: Über Lähmungen im Verlauf der Tollwutschutzimpfung. Zbl. Bakter. usw., Orig. I, **68**, 72 (1913).
175. SMITH: 35th Ann. Rep. Inst. Kasauli, 1936.
176. VAN STOCKUM: New principles of antirabic treatment and rabies statistics, Bd. 1. Haag: Martinus Nijhoff, 1935.
177. STUART and KRIKORIAN: (1) Antirabic procedure in Palestine with special reference to decentralization of treatment. Ann. trop. Med. **19**, 391 (1925).
 — (2) The neuroparalytic accidents of antirabies treatment. Ann. trop. Med. **22**, 327 (1928).
 — (3) Studies in antirabies immunization. J. Hyg. (Am.) **29**, 1 (1929).
 — (4) A fatal neuroparalytic accident of antirabies treatment. Lancet **1930**, 1123.
 — (5) Antirabies immunisation, value of killed carbolised Virus in cases of wolf-bite. Trans. Soc. trop. Med. **25**, 49 (1931).
 — (6) Appearance and persistence in rabbits blood of rabicidal antibodies produced by various methods of antirabies immunization. J. Hyg. (Am.) **31**, 414 (1931).
 — (7) Further studies in antirabies immunization. Rabies virus exalted and classical strains compared. J. Hyg. (Am.) **31**, 523 (1931).
 — (8) The rabicidal antibody content of rabbit immune serum as an index of acquired resistance to rabies infection. J. Hyg. (Am.) **32**, 489 (1932).
 — (9) Neuroparalytic accidents complicating antirabic treatment. Brit. Med. J. **1933** I, 501.
178. TAYLOR and MENON: Experiments in dosage of carbolized antirabic vaccine. Indian J. med. Res. **18**, 711 (1930).
179. TEODORASCO: (1) Renforcement avec raccourcissement de l'immunisation antirabique par injections sous-cutanées et intraveineuses combinées. C. r. Soc. Biol. **88**, 1235 (1923).
 — (2) Modifications techniques apportées à la méthode antirabique roumaine. C. r. Soc. Biol. **89**, 351 (1923).
 — (3) Études expérimentales sur la virulence particulière de deux souches de virus rabiques. C. r. Soc. Biol. **100**, 929 (1929).

180. TZEKNOVITZER et GOLDENBERG: Contribution à l'étude du mécanisme de l'immunité dans la rage. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **44**, 330 (1930).
181. UMENO and DOI: A study on the antirabic inoculation of dogs and the results of its practical application. *Kitasato Arch. exper. Med. (e.)* **4**, 89 (1921).
182. UMENO and UMENO: Results of the rabies preventive inoculation on dogs in Japan. *Kitasato Arch. exper. Med. (e.)* **8**, 174 (1931).
183. VALLÉE et RINJARD: Recherches sur la prévention de la rage du chien après morsure. *Bull. Soc. méd. vét. prat.* **1923**.
184. VANSTEENBERGHE: Procédé de conservation du virus rabique à l'état sec. *C. r. Soc. Biol.* **55**, 1646 (1903).
185. VIALA: Sur les causes de l'atténuation des moelles rabiques. *Ann. Inst. Pasteur, Par.* **5**, 695 (1891).
186. VIRGA: Ricerche su un virus rabbico di strade notevolmente rinforcato. *Giorn. Batter.* **26**, 447 (1941).
187. WEBSTER: (1) Diagnostic and immunological tests of rabies in mice. *Amer. J. publ. Health* **26**, 1207 (1936).
 — (2) Epidemiologic and immunologic experiments on rabies. *New Engl. J. Med.* **217**, 687 (1937).
 — (3) Experiments on antirabic vaccination with tissue culture virus. *Amer. J. publ. Health* **28**, 44 (1938).
 — (4) The immunizing potency of antirabies vaccines. *Amer. J. Hyg., Sect. B*, **30**, 113 (1939).
 — (5) A mouse test for measuring the immunizing potency of antirabies vaccines. *J. exper. Med. (Am.)* **70**, 87 (1939).
 — (6) A mouse test for measuring the immunizing potency of antirabies vaccines. *J. amer. vet. med. Assoc.* **96**, 65 (1940).
 — (7) Antirabic vaccination — present state. *Amer. J. publ. Health* **31**, 57 (1941).
188. WEBSTER and CASALS: (1) An irradiated non-virulent antirabies vaccine. *Science* **92**, 610 (1940).
 — (2) A dog test for measuring the immunizing potency of antirabies vaccines. *J. exper. Med. (Am.)* **71**, 719 (1940).
 — (3) The quantity of irradiated non-virulent rabies virus required to immunize mice and dogs. *J. exper. Med. (Am.)* **73**, 601 (1941).
189. WEBSTER and DAWSON: Early diagnosis of rabies by mouse inoculation. Measurement of humoral immunity to rabies by mouse protection test. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.)* **32**, 570 (1935).
190. WYCKOFF and BECK: The potency of antirabic vaccines. *J. Immunol. (Am.)* **39**, 17 (1940).
191. WYCKOFF and TESAR: The potencies of commercial antirabic vaccines. *J. Immunol. (Am.)* **40**, 383 (1941).
192. ZIMMERMANN u. HEYMANN: Die Tätigkeit der Wutschutzabteilung am Hygienischen Institut der Universität Breslau. *Veröff. Volksgsdh.dienst* **55**, 225 (1941).

General Pathology of Virus Infections in Plants.

By

L. O. KUNKEL, Princeton, New Jersey, U. S. A.

(The Rockefeller Institute for Medical Research.)

I. Introduction.

In this chapter an attempt will be made to describe and illustrate the most important effects of viruses on plants. Many of the examples used for illustrative purposes have been taken from studies on tobacco mosaic and aster yellows. Tobacco mosaic is the best known of all of the virus diseases of plants. Aster yellows, perhaps, is the best known of the yellows type of diseases. The symptoms of individual diseases, generally, have not been considered except for purposes of illustration. Those desiring detailed descriptions of the known virus diseases of plants are referred to the literature.

As work on plant viruses has progressed, less attention than formerly has been given to the minutiae of symptom details. This tendency has resulted from the discovery of new ways of identifying virus diseases and from a recognition of the futility of depending on descriptions of symptoms for diagnoses. It also has resulted in part from finding that many plant virus diseases belong in closely related groups, the different members of which can be studied without giving much attention to the symptoms produced by the diseases individually. An example will illustrate what is meant. Suppose a strain of virus belonging in the potato X-virus group is received for identification. It can be identified readily as a potato X-virus strain by the symptoms produced and by its serological and immunological reactions. The symptoms may not be distinctive enough to identify it as to strain, but this usually is not important. The strain in question would probably not produce identical effects in plants of different potato varieties nor would it produce identical effects in plants of a given variety under different environmental conditions. Moreover, the strain probably would be found to occur in combination with potato viruses belonging in other groups. The symptom complex would in that case not result from the action of any one virus. With these different possibilities in mind, it is evident that a detailed description of the symptoms produced by this particular strain in a given potato variety under a designated set of environmental conditions, alone or in combination with other viruses, would be of little value. Brief descriptions of symptoms produced by each virus in a few suitable host plants are, of course, useful.

From the standpoint of their effects on plants, viruses may be classified in two categories, as follows: those that cause well marked spots in the tissues and those that do not. The mosaic and ringspot diseases belong in the first group; the yellows, rosette, and witches' broom diseases in the second.

The virus diseases of plants are insidious maladies. Although a few are lethal,

their chief characteristic is mildness. The plants attacked usually do not die, but neither do they recover completely. They grow and take nourishment from nearby healthy plants but often yield little or nothing. In this way virus diseases tend to convert normal crop plants into weeds. Thus, they may do more damage than they would if they were severe enough to kill. Viruses that cause no well marked symptoms are said to be masked. Some are masked at all times, while others are masked only under appropriate environmental conditions. All viruses, including those that are masked, are deleterious to growth. None has been found that stimulates growth in the plant as a whole, though many stimulate growth in certain tissues. By promoting growth in some tissues and checking it in others, viruses disturb growth correlations and cause malformations of many different kinds.

II. Effects Described by Common Names.

The effects of virus diseases on plants are recorded in the common names under which a considerable number of these disorders are known. The mosaics are so called because of the mosaic patterns formed by light and dark green areas in affected leaves. They all cause chlorosis of foliage. The yellows diseases are those that cause a general yellowing and the ringspot diseases those that are characterized by zonate lesions of various types. The mottling diseases, such as mottle leaf of cherry (E. L. REEVES), are similar to the mosaics. There are mosaic diseases bearing names that suggest special types of mottling. Some of these are mild mosaic of black raspberry (W. H. RANKIN), yellow mosaic of wheat [H. H. MCKINNEY (3)], vein mosaic of red clover (H. T. OSBORN), and enation mosaic of tomato [G. C. AINSWORTH (2)]. Some diseases that cause marked growth disturbances in leaves have received such names as geranium crinkle [L. K. JONES (2)], yellow crinkle of papaw [K. M. THOMAS and C. S. KRISHNASWAMI (2)], strawberry crinkle (E. K. VAUGHAN; S. M. ZELLER and E. K. VAUGHAN), savoy of beets (G. H. COONS, J. E. KOTILA and D. STEWART), leaf curl of tobacco [A. P. D. MCCLEAN; H. H. STOREY (3)], and curly leaf of cassava [H. H. STOREY (2)]. Certain virus diseases affect the tops of plants to such an extent that they have received names emphasizing this fact. Some examples are bunchy top of banana [C. J. P. MAGEE (1, 2)], curly top of beets [C. W. BENNETT (1); H. H. P. SEVERIN and J. H. FREITAG], crazy top of corn (B. KOEHLER), and nettlehead of hops (C. A. W. DUFFIELD). Other virus diseases cause an abnormal production of secondary shoots and are known under names such as witches' broom of potato (C. W. HUNGERFORD and B. F. DANA; P. A. YOUNG and H. E. MORRIS) and witches' broom of alfalfa (E. T. EDWARDS). Spike of sandal (M. J. NARASIMHAN) and spike of *Vinca rosea* L. (A. V. VARADARAJA IYENGAR) are names that have been given diseases which cause plants to assume an upright habit of growth. Some viruses cause extreme shortening of internodes of stems. Rosette of wheat [H. H. MCKINNEY (1)], rosette of peach (J. A. MCCLINTOCK), and rosette of peanut [H. H. STOREY (4)] are a few examples of diseases in which this symptom is pronounced. Some cause a general dwarfing effect. The diseases they produce have received such names as stunt of dahlia (P. BRIERLEY), stunt of strawberry [R. V. HARRIS (1)], dwarf of rice [T. FUKUSHI (2)], dwarf of mulberry (I. KAWAI), and dwarf of loganberry (S. M. ZELLER). When the stunting effect has been on the leaves, such names as little leaf of lime trees (C. BLATTNÝ), little leaf of eggplant [K. M. THOMAS and C. S. KRISHNASWAMI (1)], and narrow leaf of tomato [E. E. CHAMBERLAIN (1)] have been applied. In certain cases dwarfing of fruit or storage organs is conspicuous and the diseases have received names such as little peach (M. A. BLAKE, M. T. COOK and C. H. CONNORS), small hop disease (E. S. SALMON and W. M. WARE), and spindle tuber of potato (R. W. GOSS).

Some viruses stimulate growth in certain organs and the diseases caused have received names such as big bud of tomato (B. F. DANA; G. SAMUEL, J. G. BALD and C. M. EARDLEY), big bud of black currant (A. H. LEES), big vein of lettuce (I. C. JAGGER and N. CHANDLER; R. C. THOMPSON and S. P. DOOLITTLE), and swollen shoot of cacao (A. F. POSNETTE). Some kill tissues and the diseases go under names that refer to this effect. Necrotic disease of tobacco [F. C. BAWDEN; W. C. PRICE (4); K. M. SMITH and J. G. BALD], necrotic disease of cabbage [R. H. LARSON and J. C. WALKER (2); C. M. TOMPKINS, M. W. GARDNER and H. R. THOMAS], and phloem necrosis of elm (J. G. LEACH and W. D. VALLEAU; R. U. SWINGLE) are examples. When viruses become systemic in plants, they may affect one side only. If one side of a stem is injured in the growing region, growth may be retarded or even stopped on that side. As the other side grows, the stem will be bent. This effect is recorded in the name given a tobacco and tomato disease known as kromnek (E. S. MOORE). Other malformations account for such names as false blossom of cranberry (J. D. DOBROSKY; N. E. STEVENS) and false sting of apple (J. F. HOCKEY). The stripe and streak diseases, such as stripe of corn (H. R. BRITON-JONES; C. F. STAHL), streak of tomato (K. M. SMITH; T. C. VANTERPOOL), streak of black raspberry [L. M. COOLEY (1); M. W. WOODS and I. C. HAUT], streak of pea [W. J. ZAUMEYER and B. L. WADE (2)], streak of rose (P. BRIERLEY and F. F. SMITH), and chlorotic streak of sugarcane [E. V. ABBOTT; J. P. MARTIN (1)], cause elongated lesions in stems or leaves. There are many viruses that affect the texture of tissues. Names such as brittle root of horseradish [K. J. KADOW and H. W. ANDERSON (1, 2)], stony pit of pear (J. R. KIENHOLZ), woodiness disease of the passion vine (R. J. NOBLE and N. S. NOBLE), and buckskin disease of cherry (T. E. RAWLINS and W. T. HORNE; T. E. RAWLINS and H. E. THOMAS) emphasize these effects. The name of the disease known as infectious sterility of hops (W. GOODWIN and E. S. SALMON) records the fact that viruses may cause sterility in plants.

Thus, viruses cause mosaics, mottles, stripes, streaks, crinkles, curls, bunchy tops, witches' brooms, spikes, rosettes, stunts, dwarfs, little fruits, big buds, chloroses, necroses, woodiness, sterilities, etc. The common names of plant virus diseases tell briefly the story of the injuries produced in plants. There are no conspicuous effects that have not been recorded in one or more common names. There probably is no one virus that causes all of the effects listed but many that cause a considerable number of them in one or another of the species they attack. Many diseases bear similar common names. This does not mean that the diseases are closely related. However, the similarities in names have frequently resulted from similarities in symptoms produced and to this extent they may be significant. For example, it is probable that the different mosaic diseases are caused by agents that are more closely related to each other than to agents causing yellows diseases and *vice versa*. HOLMES [F. O. HOLMES (9)] has classified plant viruses on the basis of the symptoms produced.

We now know that there are a considerable number of groups of closely related viruses prevalent in nature. The different strains of tobacco mosaic virus constitute the tobacco mosaic virus group, the strains of cucumber mosaic virus the cucumber mosaic virus group, the strains of sugarcane mosaic virus the sugarcane mosaic virus group, the strains of curly top virus the curly top virus group, etc. Little progress has been made in the study of relationships between groups. Relationships within the groups are shown by similarities in symptoms, by similarities in host ranges, by similarities in virus properties, by similarities in insect vector relationships, by serological reactions, and by cross-immunity reactions in plants.

III. Nature of Virus Infections.

Most and perhaps all viruses that cause disease in plants enter through wounds. Even such a highly infectious virus as that of tobacco mosaic may be sprayed

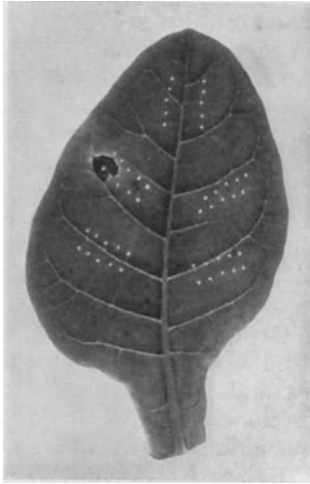


Fig. 1. Needle-puncture inoculation of a leaf of *Nicotiana glauca*. The leaf was inoculated by means of needles dipped in tobacco juice containing aucuba mosaic virus. The necrotic lesion on the left side of the leaf shows that infection occurred at only one needle puncture.



Fig. 2. Needle-puncture inoculation of tomato. A tomato leaflet of the variety Stirling Castle punctured 10 times by needles dipped in tobacco juice containing aucuba mosaic virus. Infection occurred at only 1 of the 10 punctures.

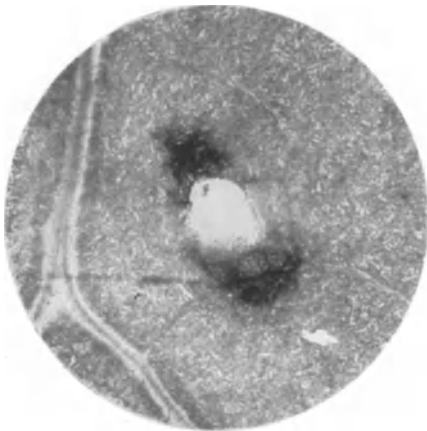


Fig. 3. Two-point infection from a needle-puncture inoculation of a bean leaf with tobacco mosaic virus. The picture shows small necrotic lesions on opposite sides of the puncture.

on the unwounded surfaces of leaves of such a highly susceptible host as the tobacco plant without causing infection. The slightest wound made in the presence of virus may cause infection. However, tobacco mosaic virus does not enter tobacco plants through all wounds made in its presence, even under the most favorable conditions. Needles dipped in undiluted juice from a mosaicdiseased tobacco plant may be jabbed into mature leaves of healthy tobacco plants without causing infection in more than 4 or 5 per cent of the punctures. There is at present no explanation of why infection is obtained at such a small percentage of wounds. A leaf of *Nicotiana glauca* WEINM. in which 50 needle

punctures were made with needles dipped in juice from a tobacco plant having aucuba mosaic of tomato [W. F. BEWLEY and W. CORBETT; SMITH, J. HENDERSON (1)] is shown in fig. 1. Since aucuba mosaic virus causes necrosis in plants of this species, conspicuous necrotic lesions develop at points where infection takes place. It will be seen that infection occurred at only 1 of the 50 punctures.

A better score was made with the tomato leaflet shown in fig. 2 which was exposed to the same inoculum by means of 10 needle punctures. Aucuba mosaic virus causes chlorosis in primary lesions in the tomato. It will be seen that infection was obtained in the second puncture below the tip on the left side of the midrib. The other 9 punctures failed to infect. Systemic infection is never obtained unless at least one primary lesion develops. If needle-punctured leaves or leaflets such as are shown in figs. 1 and 2 are placed under a microscope after appropriate intervals following inoculation, the symptoms due to early stages of infection may be observed. Necrosis or chlorosis does not begin at all points on the edge of the needle puncture but, if at all, usually only at one point. Careful

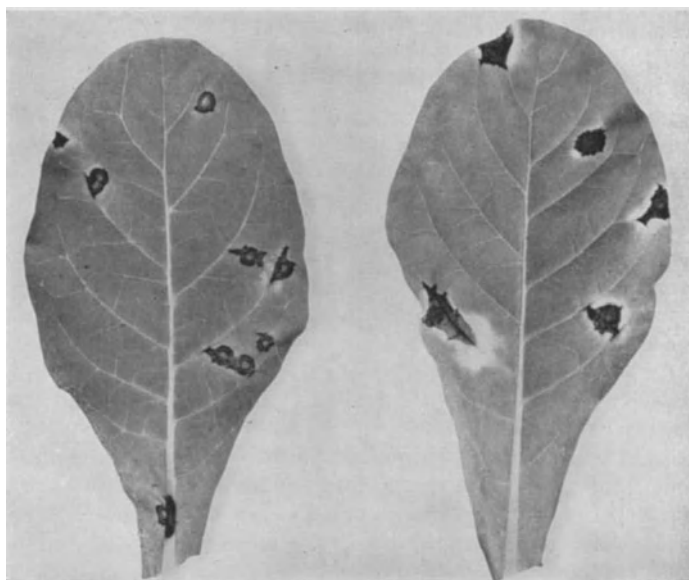


Fig. 4. Leaves of *Nicotiana sylvestris* bearing lesions caused by aucuba mosaic virus. The difference in size of lesions in the 2 leaves shows the extent to which they enlarge in 5 days.

observations indicate that, in some instances at least, only one host cell is at first involved. From this the mal-effects spread to adjoining cells and finally to all cells surrounding the puncture and to adjacent tissues. It is presumed that virus passes from cell to cell by means of the minute protoplasmic processes known as plasmodesmata that penetrate cellulose walls and connect the protoplasts of the entire plant body. The cell or cells showing the first evidence of infection may be located in the upper epidermis, the lower epidermis, or the mesophyll. In rare instances, as might be expected, infection occurs at more than one point on the edge of a needle puncture. Fig 3 shows a section of a bean leaf of the variety Early Golden Cluster that was inoculated with tobacco mosaic virus by needle puncture. In this instance infection occurred at two points on opposite sides of the puncture. The necrotic process spreading from the two points would have fused in a short time if the leaf had not been harvested. If this had been allowed to happen, there would have been no evidence that this particular lesion resulted from a two-point infection instead of a one-point infection.

Little is known as to what actually happens at points of inoculation. Presumably the essential step consists in virus entering one or more living cells. The rate at which virus spreads from a point of inoculation may be judged roughly by the rate of increase in the size of the lesion. Fig. 4 shows leaves from two *Nicotiana sylvestris* SPEG. and COMES plants of the same age that were inoculated with aucuba mosaic virus 9 and 14 days, respectively, before the picture was made. The lesions on the leaf at the right were the size of those on the leaf at the left 5 days before the picture was taken. The difference in size of lesions on the two leaves is a measure of the enlargement of the lesions during 5 days.

Apparently primary lesions always occur at points of infection, but virus diseases of plants had been studied for many years before any primary lesions were recognized [F. O. HOLMES (2, 3); C. N. PRIODE]. Many plant viruses cause symptomless primary lesions in mature leaf tissues. Tobacco mosaic virus inoculated into mature tobacco leaves may produce no visible local symptoms. However, if inoculated leaves are killed, cleared of chlorophyll, and stained with an iodine solution, starch patterns showing the location, size, and shape of primary lesions may be observed [F. O. HOLMES (5)]. Unless one or more starch-pattern lesions occur on an inoculated leaf, the leaf has escaped infection.

If virus infections were limited to primary lesions, most virus diseases would be of little consequence. Unfortunately, after virus has multiplied for a brief period in a primary lesion, it usually begins to spread to other parts of the plant. It may spread to all parts, in which case the infection is said to be generalized, or it may spread to a limited extent and produce a few or many secondary lesions. Local spread from a point of inoculation is a relatively slow process (B. N. UPPAL). Spread to distant points where secondary lesions are produced is a relatively rapid process [C. W. BENNETT (3); J. CALDWELL (1, 2, 3); J. GRAINGER; F. O. HOLMES (4, 6); W. A. McCUBBIN and F. F. SMITH; H. H. STOREY (1)]. The latter is believed to occur through phloem tissues. Mobilized food materials travel in the phloem and viruses are thought to be carried in the food stream [C. W. BENNETT (2, 3)]. In many instances little damage is done until virus spreads to the tips of branches where rapid growth and differentiation is taking place. There is good evidence that virus particles may pass through large numbers of cells without infecting them [L. O. KUNKEL (14); G. SAMUEL]. Early students of plant viruses experienced considerable difficulty in making mechanical transmissions with certainty, even with such an infectious virus as that of tobacco mosaic. We now know that percentage of infection may be increased either by concentrating the inoculum used or by increasing the number of wounds. In practice both methods are employed. The rubbing method of inoculation has facilitated wounding and therefore has greatly increased percentages of infection. There are a considerable number of plant viruses that, in spite of much effort, have never been transmitted mechanically by means of juice. Not much is known as to why they are so refractory, but it is known that most of the infections in this group are transmitted specifically by insects and that some at least multiply in their vectors [L. M. BLACK (2); T. FUKUSHI (3, 4); L. O. KUNKEL (12, 13)]. No plant virus has been shown to cause injury to the insect by which it is spread.

Considerable cytological and histological work has been done on plant tissues affected by virus diseases, but on the whole these studies have not contributed much towards the solution of virus disease problems. Color patterns such as are shown by mottled leaves are easily discerned with the naked eye but seem to disappear or almost disappear when viewed under a microscope. The effects of virus diseases on plants are without doubt the result of effects on individual cells, but the effects on the cells usually are so slight that they cannot be discerned

easily when living or dead stained cells are viewed at high magnification. Perhaps the most important result brought by cytological studies has been the discovery that inclusion bodies are associated with a considerable number of different plant virus diseases. The nature and significance of the inclusion bodies are not yet known [B. GOLDSTEIN; F. O. HOLMES (1); F. M. L. SHEFFIELD; SMITH, J. HENDERSON (2)]. Those associated with each disease that has been carefully studied show morphological characteristics and staining reactions that distinguish them from the bodies associated with other diseases, and therefore they are, when present, of considerable diagnostic value. The effects of virus diseases on cells may be summarized by saying that they cause stimulation, varying degrees of injury, and in exceptional cases killing. The injury to individual cells is usually so slight that it is difficult to describe. In some instances viruses stimulate both cell multiplication and cell growth. The Fiji disease of sugarcane is a systemic gall disease transmitted by leafhoppers. Instead of the Fiji disease virus causing chlorotic or necrotic lesions, it causes gall lesions [L. O. KUNKEL (1)]. The galls are confined to the phloem and adjacent tissues.

IV. Mosaic Diseases.

Many plant viruses belong in the group that produce spotting. The best known members cause mosaic and ringspot diseases. The mosaics will be considered first.

A long list of virus diseases of this type may be compiled from the literature. There are mosaics of abacá (M. R. CALINISAN; M. S. CELINO), *Abutilon* [E. BAUR

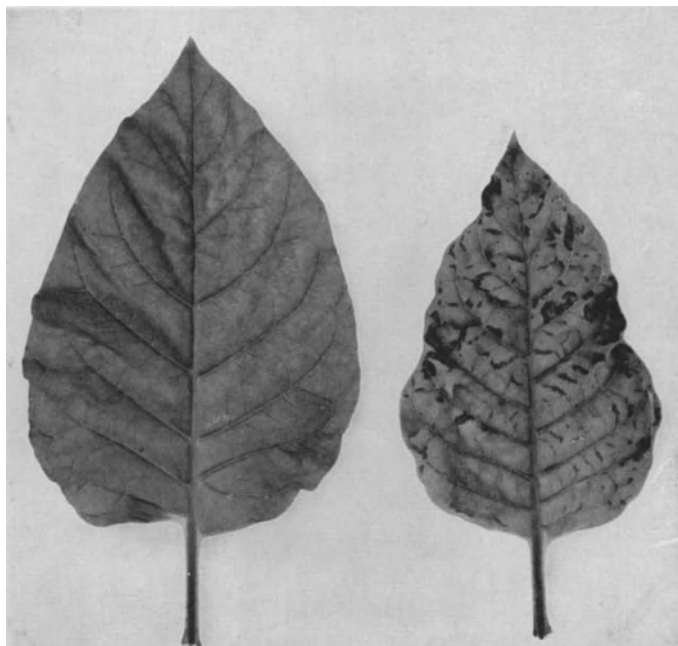


Fig. 5. Tobacco mosaic in a leaf of Turkish tobacco; showing stunting effect of tobacco mosaic.

(1, 2)], alfalfa (J. L. WEIMER), apple (H. E. THOMAS), bean (T. G. FAJARDO; W. H. PIERCE and C. W. HUNGERFORD), broadbean [K. BÖNING; T. FUKUSHI (1); T. F. YU], beet [L. K. JONES (1)], cabbage [R. H. LARSON and J. C. WALKER

(1)], cactus [H. PAPE (2)], calla lily (F. P. McWHORTER), cassava (H. H. STOREY and R. F. W. NICHOLS), cherry (H. E. THOMAS and T. E. RAWLINS), chicory (E. MARSHAL), cowpea (D. M. McLEAN), *Crotalaria* (H. W. JOHNSON and C. L. LEFEBVRE), cucumber (S. P. DOOLITTLE), dahlia (P. BRIERLEY), elm (R. U. SWINGLE, P. E. TILFORD and C. F. IRISH), fig (I. J. CONDIT and W. T. HORNE),

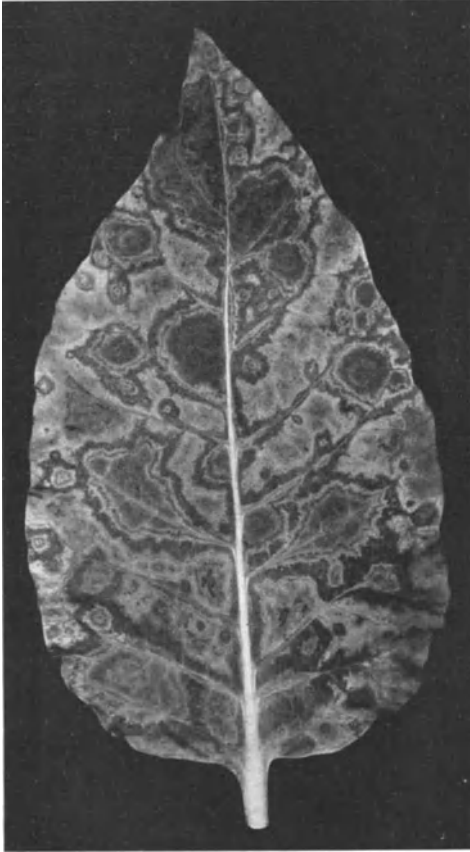


Fig. 6. A yellow type strain of tobacco mosaic virus on a leaf of Turkish tobacco; showing the zonation characteristic of the strain.

geranium [L. K. JONES (3)], gladiolus (A. W. DIMOCK), hibiscus (B. V. UPPAL, P. M. VARMA and S. P. CAPOOR), iris (P. BRIERLEY and F. P. McWHORTER), lettuce (G. C. AINSWORTH and L. OGILVIE), lily (L. OGILVIE and C. E. F. GUTERMAN), muskmelon (J. B. KENDRICK; C. H. MAHONEY), narcissus (V. K. GOULD; F. P. McWHORTER and F. WEISS), oat (K. S. SOUKHOV and A. M. VOVK), pea [E. E. CHAMBERLAIN (2); D. M. MURPHY and W. H. PIERCE; W. J. ZAUMEYER and B. L. WADE (1)], peach (L. M. HUTCHINS, E. W. BODINE and H. H. THORNBERRY), pepper (A. ROQUE and J. ADSUAR), petunia (T. MATSUMOTO), potato (E. S. SCHULTZ, D. FOLSOM, F. M. HILDEBRANDT and L. A. HAWKINS), rape (L. LING and J. Y. YANG), raspberry [L. M. COOLEY (2); R. V. HARRIS (2, 3)], rhododendron [H. PAPE (1)], rose (P. BRIERLEY and F. F. SMITH), sorghum (M. C. CHERIAN and M. S. KYLASAM), soybean (K. HEINZE and E. KÖHLER; J. B. KENDRICK and M. W. GARDNER), squash (J. H. FREITAG), sugarcane [E. W. BRANDES; L. O. KUNKEL (2); G. WILBRINK], tobacco (H. A. ALLARD; M. W. BEJERINCK; D. IWANOWSKI; W. M. STANLEY), tomato (P. H. BREWER, H. R.

KRAYBILL, R. W. SAMSON and M. W. GARDNER; M. W. GARDNER and J. B. KENDRICK), watermelon (M. N. WALKER), wheat [H. H. MCKINNEY (2); E. WADA and H. FUKANO], and many other plants. When the name mosaic is used without specifying the plant on which the mottling occurs, the virologist usually thinks of the pattern shown by tobacco leaves affected by ordinary tobacco mosaic, which may be considered as the type disorder of the mosaic group. The pattern of tobacco mosaic is shown by the tobacco leaf on the right in fig. 5. The healthy leaf on the left is of the same age as the mottled leaf. It is presented to show the stunting effect of the disease. Ordinary tobacco mosaic virus always produces the same kind of mosaic pattern in tobacco leaves, but some of its strains produce other types. The zonate pattern shown by the leaf in fig. 6 was produced by a yellow type strain of tobacco mosaic virus. The pattern produced by a distorting

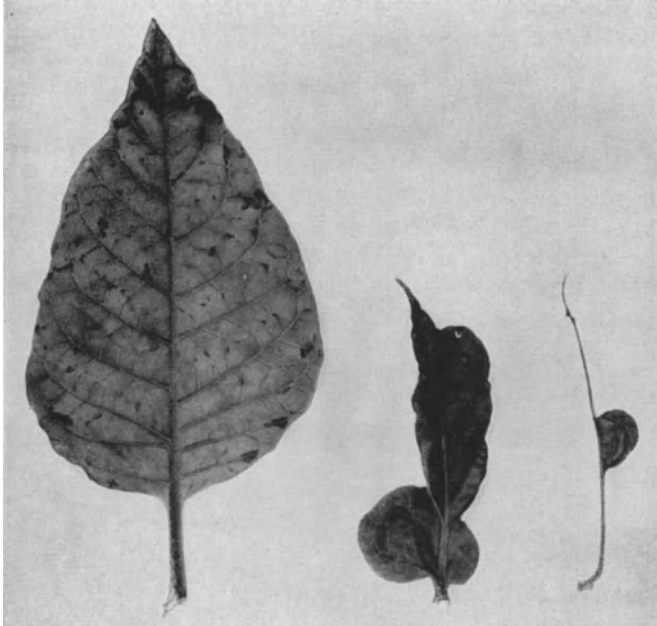


Fig. 7. Distortion of Turkish tobacco leaves by a distorting type strain of tobacco mosaic. The leaf on the left was affected by tobacco mosaic, the other 2 leaves by the disease caused by a distorting type strain of tobacco mosaic virus.

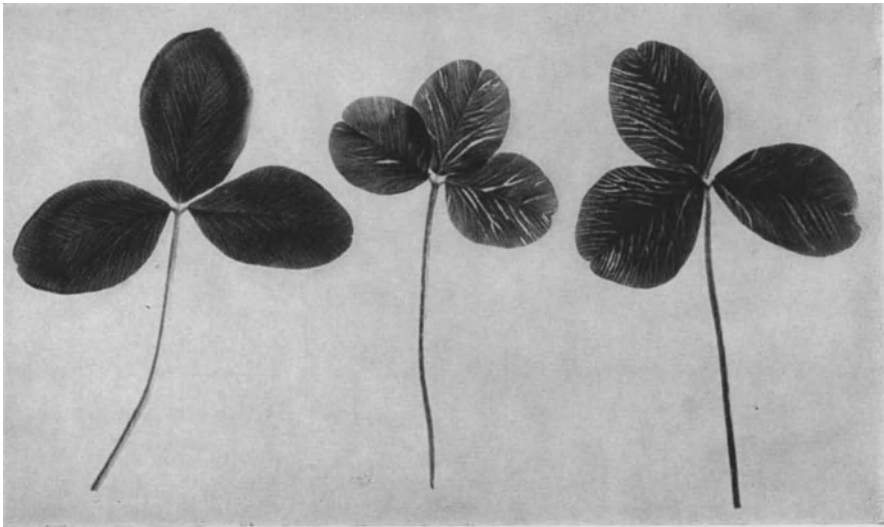


Fig. 8. Vein mosaic on red clover; showing the streaked type of pattern characteristic of the disease.

type strain is pictured in the middle and on the right in fig. 7. The leaf on the left was affected by ordinary tobacco mosaic.

The vein mosaic of red clover (H. T. OSBORN) illustrated in fig. 8 presents a chlorotic pattern entirely different from any shown by tobacco mosaic except

in its earliest stages. The first symptom of systemic infection in tobacco plants infected by tobacco mosaic virus consists in a clearing of veins that is not unlike the clearing shown by vein mosaic of red clover. This is a transitory symptom in tobacco leaves. The light green areas in the clover leaves follow the veins. There is some question as to whether the clover disease should be considered a mosaic. It resembles some of the stripe diseases.

The virus of aucuba mosaic of potato (T. P. DYKSTRA) produces another rather unusual type of mosaic pattern. Each chlorotic lesion consists in a whitish or yellowish blotch. The mosaic pattern results from an incomplete fusion of the blotches. A leaf of a potato seedling from the variety Green Mountain affected by aucuba mosaic of potato is presented in fig. 9.



Fig. 9. Aucuba mosaic of potato on a leaf of a seedling of the variety Green Mountain; showing the odd type of mottling produced.

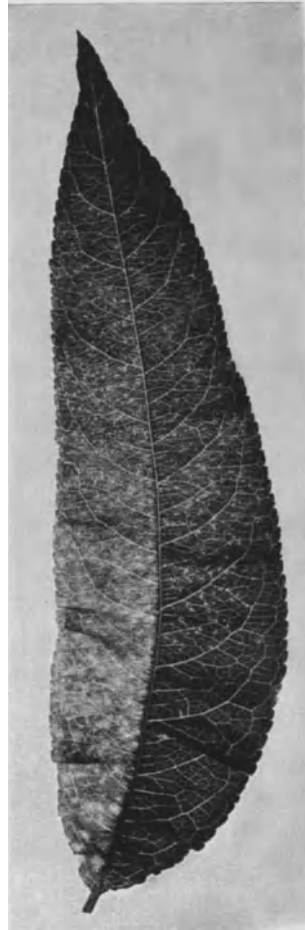


Fig. 10. A peach leaf of the variety Belle of Georgia bearing minute chlorotic lesions caused by the peach mosaic virus.

Still another type of pattern is produced by the peach mosaic virus (L. M. HUTCHINS, E. W. BODINE and H. H. THORNBERRY) which, on first becoming systemic, produces numerous minute chlorotic spots. In the first leaves affected the spots remain small and may not fuse or may fuse to only a limited extent. In leaves produced after a tree has been affected for some time there is good mottling. An early stage of chlorotic spotting in a leaf of the peach variety Belle of Georgia is shown in fig. 10. A twig from a tree of the same variety in a later stage with leaves that are stunted and malformed is pictured in fig. 11 beside a twig from a healthy Belle of Georgia tree. In some varieties of sugarcane the

sugarcane mosaic virus [L. O. KUNKEL (2)] produces scattered elongated chlorotic spots, many of which remain distinct in the mature leaves; in others it causes mottling. Since in the former the virus causes a typical stripe disease, it is not surprising that early students gave it the name yellow stripe. The virus infects many grasses other than sugarcane. In some it causes a stripe disease, in others a mottle. A section of a leaf from a mottled Sudan grass plant is shown in fig. 12. The virus is readily transmitted to Sudan grass by the rubbing method.

The pathologist occasionally experiences difficulty in determining whether or not a given disease should be classified as a mosaic. The leaf pattern given by potato yellow dwarf virus [L. M. BLACK (1)] in potato and other plants

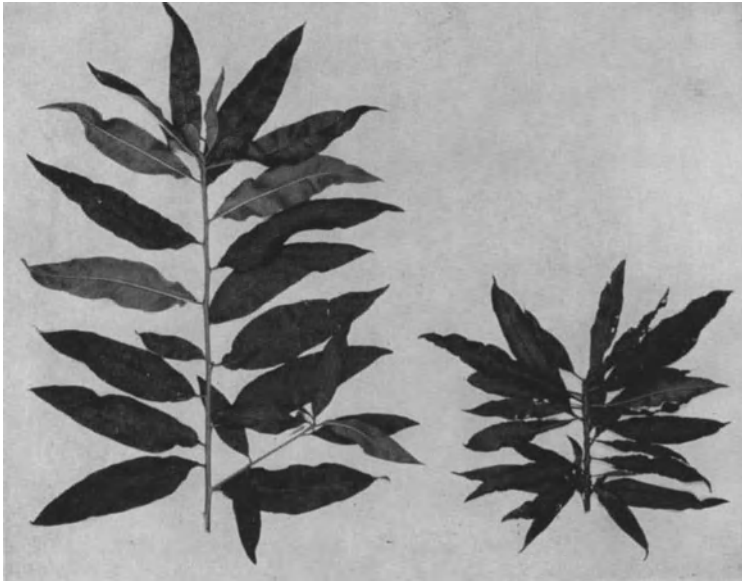


Fig. 11. Twigs from peach trees of the variety Belle of Georgia. The twig on the left was from a healthy tree, that on the right from a tree having peach mosaic. This twig shows effects of the disease on both stems and leaves,

furnishes an example of such a case. Potato yellow dwarf is a spotting disease. It does not produce a good mottle, as may be seen by inspection of fig. 13, in which an infected leaf of *Nicotiana rustica* L. is shown. It will be seen that the deep green areas consist of spots and that the spots are surrounded by chlorotic areas. Etch virus in tobacco [F. O. HOLMES (10); E. M. JOHNSON] causes spotting but does not produce a good mottle pattern. However, it does cause mottling in *Datura stramonium* L., where it also produces a peculiar effect on capsules. The fruiting capsules produced by healthy plants are covered by spines, but those produced by diseased plants are more or less spineless. *Datura* capsules showing different degrees of spinelessness due to severe etch virus infection are pictured in fig. 14. The capsule in the upper left-hand corner is normal; the other two capsules in the upper row bear a few spines. The capsule on the left in the lower row bears a single spine; the other two capsules in the row are smooth.

A number of mosaic diseases cause mottling of flowers as well as of leaves. In some cases the flower markings are distinctive and striking. Certain commercial varieties of tulips are nothing more than mosaic-diseased specimens of other

varieties. Gladiolus mosaic produces mottling of petals. Mosaic viruses may also cause distortion of flowers. This is striking in flowers of *Lilium auratum* LINDL. affected by lily mosaic. Fig. 15 presents on the left healthy and on the right mosaic-diseased flowers of this species. The affected flowers are badly distorted.

The mosaic viruses cause an almost endless variety of mottling patterns in leaves and flowers of different plants. However, mosaic

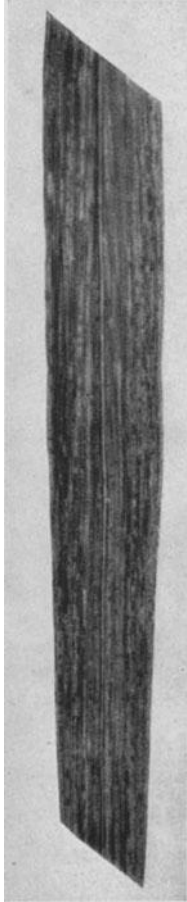


Fig. 12. Sugarcane mosaic on Sudan grass; showing a section of leaf mottled by the disease.

Fig. 13. A leaf of *Nicotiana rustica* affected by the potato yellow dwarf virus; showing an odd type of mottling.

viruses that are not closely related may produce in mutual host species patterns that are almost or quite alike. Some yellow type strains of cucumber mosaic [W. C. PRICE (2)] in tobacco cannot be distinguished from yellow type strains of tobacco mosaic [J. H. JENSEN (1)] in tobacco. The similarity in the patterns produced by the viruses of *Sida* mosaic [L. O. KUNKEL (5)] and *Abutilon* mosaic in leaves of *Abutilon striatum* DICKS. is shown in fig. 16. The leaf on the left has *Sida* mosaic, that on the right *Abutilon* mosaic.

Many mosaic viruses that produce typical patterns in leaves which develop after the diseases become fully systemic produce spotting only in the first leaves to bear symptoms. This is well shown when seedlings of *Sida rhombifolia* L. are infected by *Sida* mosaic virus. The virus apparently does not move into the

leaves that are mature when the plant becomes infected and moves to a limited extent only into leaves that are nearing maturity. It is in leaves that are approach-

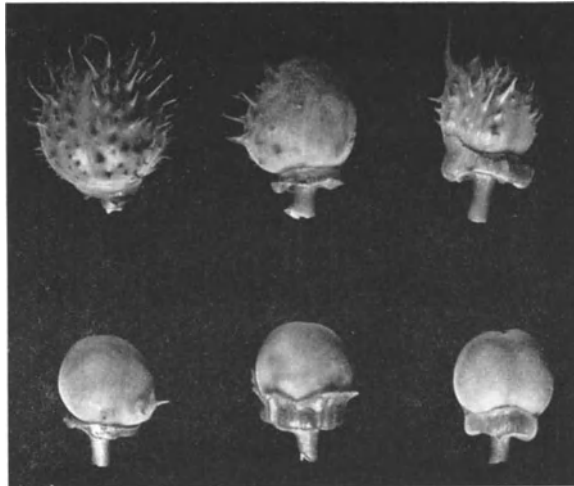


Fig. 14. Severe etch on *Datura stramonium*; showing the spine-inhibiting effect of the virus. The capsule in the upper right corner was from a healthy plant, the other capsules from diseased plants.

ing maturity that distinct chlorotic spots develop. In certain instances some of the leaves on a twig are mature enough to escape infection, while all others are immature enough to become systemically infected and to mottle. This is



Fig. 15. Lily mosaic on *Lilium auratum*; showing distortion of diseased flowers.

illustrated in the twig of *S. rhombifolia* shown in fig. 17. The lowermost leaf on the twig is unaffected, while the 4 uppermost leaves are badly mottled.

The mosaic diseases are a highly distinctive group, for the mosaic pattern distinguishes them not only from all other virus diseases but from all other

diseases of plants as well. No plant diseases caused by protozoa, bacteria, or fungi resemble mosaic diseases even superficially. Neither do physiological

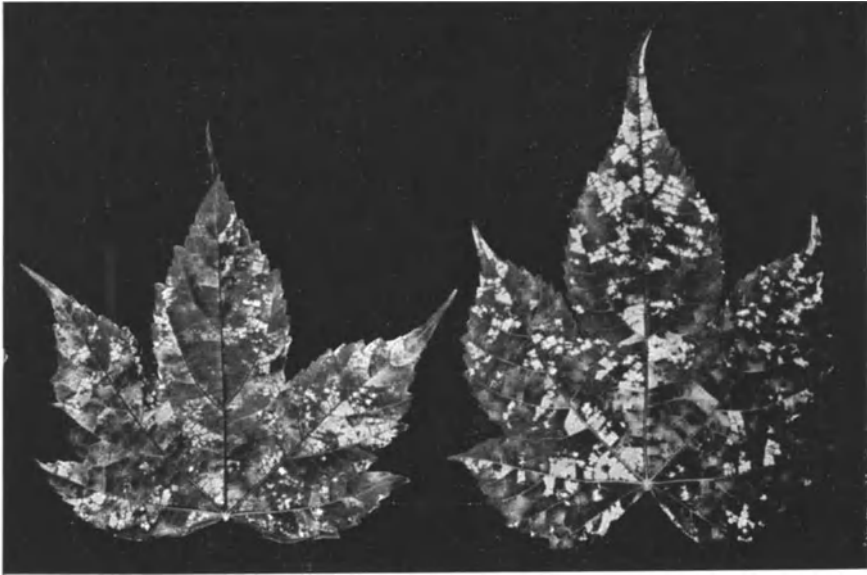


Fig. 16. *Sida* mosaic and *Abutilon* mosaic on leaves of *Abutilon striatum*; showing close similarity of mottling patterns produced.



Fig. 17. *Sida* mosaic on *Sida rhombifolia*; showing a leaf free of chlorosis immediately below fully mottled leaves.

diseases of plants resemble them. There are types of variegation in plants that sometimes are mistaken for mosaics by growers and others unfamiliar with virus diseases. When a new mosaic disease is discovered, its etiology need not be studied before assigning it to the virus disease group. It may be assumed that the disease belongs in this group, for none of the many mosaics that have been studied have been found to belong in any other group and none of the plant diseases due to other causes that have been studied up to the present time show mosaic symptoms. However, mosaic disease viruses may not always produce mosaic disease symptoms in plants. Ordinary tobacco mosaic virus produces

no mottling in plants of *Nicotiana glutinosa* L. In this species it causes necrosis only and usually does not become systemic. Even in *N. rustica*, where it produces

a systemic infection, it causes no mottling. There is killing of tissues and severe stunting, as may be seen in fig. 18. The diseased plant on the right is of the same age as the healthy plant on the left. The difference in size is due to the disease. Although tobacco mosaic virus produces mosaic symptoms in most varieties of tobacco, some of its strains do not. The J14 strain [J. H. JENSEN (2)] studied by JENSEN causes necrosis only. If the necrotic process generated in tobacco were met with in nature, it might not be recognized as resulting from a disorder in the virus disease group. It certainly would not be suspected of being related to a mosaic disease.

The mottling patterns typical of mosaic diseases of various kinds ordinarily are composed of two shades of green and appear with monotonous regularity in the succession of leaves produced on affected plants. In a number of mosaic



Fig. 18. Dwarfing effect of tobacco mosaic virus in *Nicotiana rustica*. The plant on the left was healthy, that on the right diseased.

diseases the regularity of the pattern is broken by occasional spots that appear in the mottled leaves. The spots are usually small and of variable shapes. They are conspicuous because they are a bright yellow color. The spots occur in tobacco, tomato [J. H. JENSEN (1)], and petunia leaves affected by tobacco mosaic, in cucumber and tobacco leaves affected by cucumber mosaic [W. C. PRICE (2)], and in *Abutilon* leaves affected by *Abutilon* mosaic. The bright yellow spots associated with tobacco mosaic have received considerable attention [L. O. KUNKEL (15)], and it has been found that yellow type strains of tobacco mosaic virus can be isolated from them. The spots are believed to be due to multiplication of mutant strains that are occasionally produced by ordinary tobacco mosaic virus. Similar spots associated with other mottling diseases probably arise in the same manner and have the same significance. Sections of Turkish tobacco leaves bearing bright yellow spots that appeared in leaves affected by ordinary tobacco mosaic and 3 closely related green type strains of this disease are shown in fig. 19. The 4 sections in the upper row are from leaves affected by tobacco

mosaic and the 4 in the second row from leaves affected by aucuba mosaic of tomato. The 4 in the third row are from leaves affected by a green mottling derivative of HOLMES' masked strain of tobacco mosaic virus [F. O. HOLMES (7)], and those in the bottom row from leaves affected by a green mottling derivative of a masked strain of tobacco mosaic virus that occurs naturally in petunia. It will be seen that the spots do not differ greatly in size and shape. They usually

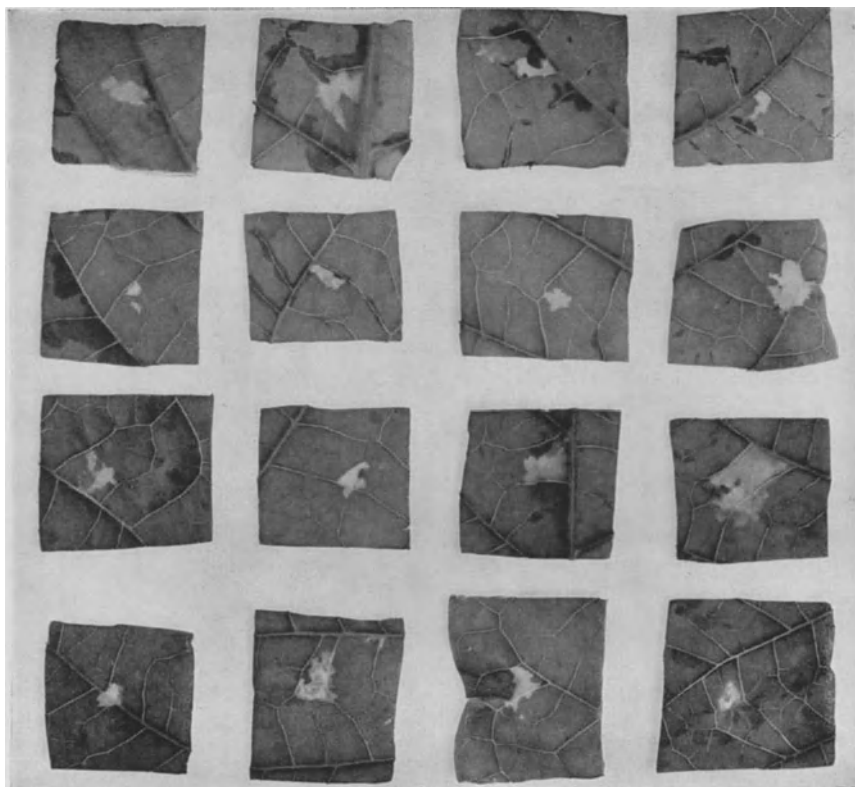


Fig. 19. Bright yellow spots in sections of leaves affected by tobacco mosaic and closely related diseases caused by green mottling type strains of tobacco mosaic virus; showing differences in sizes and shapes of bright yellow spots. The sections in upper row were from plants with tobacco mosaic, those in 2nd row from plants with green aucuba mosaic, those in 3rd row from plants with a green mosaic produced by a mottling type strain of tobacco mosaic virus derived from HOLMES' masked strain, and those in the bottom row from plants with a green mosaic produced by a tobacco mosaic virus derived from a masked strain from petunia.

occur between the larger leaf veins. However, the spot shown in the section in the lower left-hand corner of the picture extends across a large vein.

Plants affected by masked strains of tobacco mosaic virus show no mottling symptoms in their leaves. The only symptoms that appear in leaves of such plants are those that result from production of mutant strains of virus. The leaf presented in fig. 20 bears a single bright yellow spot on the right half. The spot was produced by a yellow type strain of tobacco mosaic virus that apparently arose from the masked strain present throughout the leaf.

Most mosaic diseases cause mottling of leaves without producing markings on stems or fruits, but there are a number of exceptions to this rule. Ordinary tobacco mosaic virus causes no blotching of stems or fruits, but the aucuba

mosaic strain and many other yellow type strains mark both stems and fruits. The two sections from tomato stems shown in the middle and on the right in fig. 21 bear chlorotic stripes caused by aucuba mosaic virus. The section on the left taken from a plant affected by ordinary tobacco mosaic virus was free of markings. The two tomato fruits pictured in Fig. 22 bear chlorotic areas caused by aucuba mosaic virus.

Other strains of tobacco mosaic virus produce other symptoms by which they may be distinguished from the ordinary strain. For example, a strain designated



Fig. 20. A Turkish tobacco leaf infected by a masked strain of tobacco mosaic virus from petunia. There is no mottling, but a bright yellow spot caused by a yellow type strain of tobacco mosaic virus derived from the masked strain is present in the right half of the leaf.

as K70 always causes stems of affected tobacco plants to bend sharply, as is shown in fig. 23. The plant at the right was inoculated with ordinary tobacco mosaic virus at the same time the other 2 plants were inoculated with the K70 strain. Many yellow type and necrotic type strains of tobacco mosaic virus differ from the ordinary strain in respect to stability in tobacco plants. When ordinary tobacco mosaic virus is inoculated into a number of different tobacco plants of the same size and age, the type of disease produced in each is the same and remains the same in subsequent passages. Although large numbers of mutant strains are produced in such plants, the ordinary strain is not replaced. When some of the yellow or necrotic type strains are inoculated into tobacco plants, the plants are not affected uniformly and frequently the strain used to inoculate is replaced by a mutant strain. When, for example, the J14 strain of tobacco mosaic virus is inoculated into a series of Turkish tobacco plants, the plants all come down with the same disease, but there are a variety of sequelae. Necrotic



Fig. 21. Chlorotic lesions on stems of Bonny Best tomato affected by aucuba mosaic. The section of stem on the left was affected by tobacco mosaic and bears no lesions; the other 2 sections were affected by aucuba mosaic and bear chlorotic stripes.

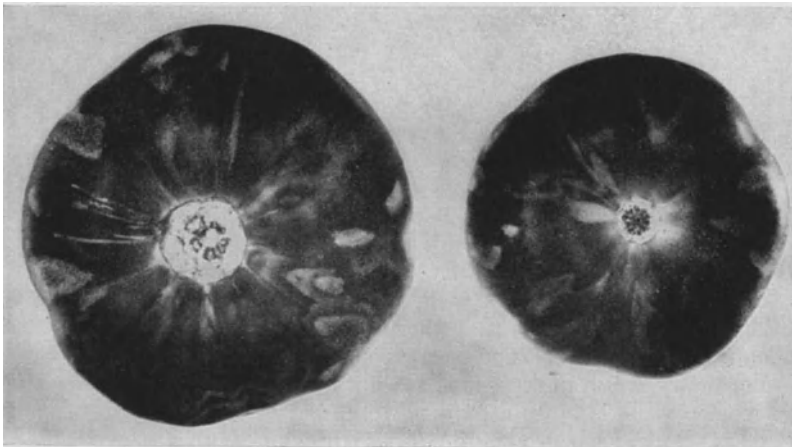


Fig. 22. Aucuba mosaic on fruits of Bonny Best tomato; showing chlorotic blotches caused by the disease.

spots are produced at points of infection. They enlarge slowly and in time kill the inoculated leaves. The necrotic process may or may not spread from inoculated leaves to the stems on which they are borne. If it does not spread to the stems, the plants will suffer no further injury. If it spreads to the stems, the plants may



Fig. 23. Crook-neck disease in Turkish tobacco plants. The plant on the right was inoculated with ordinary tobacco mosaic virus at the same time the other 2 plants were inoculated with the crook-neck type strain of tobacco mosaic virus. Showing bending of stems caused by the disease.



Fig. 24. Heart-shaped lesions produced in tobacco stems by a necrotic type strain of tobacco mosaic virus.

or may not be killed. When it passes from leaves into stems, the necrotic process typically produces heart-shaped lesions such as are shown in fig. 24. If enlargement of the stem lesion is slow, the plant may mature before serious damage is done. If enlargement is rapid, the plant will be killed unless a fast-moving mutant strain incapable of causing necrosis arises (L. P. NORVAL). If a fast-moving strain of virus is produced, it will move throughout the plant and will render it immune to the necrotic type strain. In this way enlargement of the necrotic lesion will

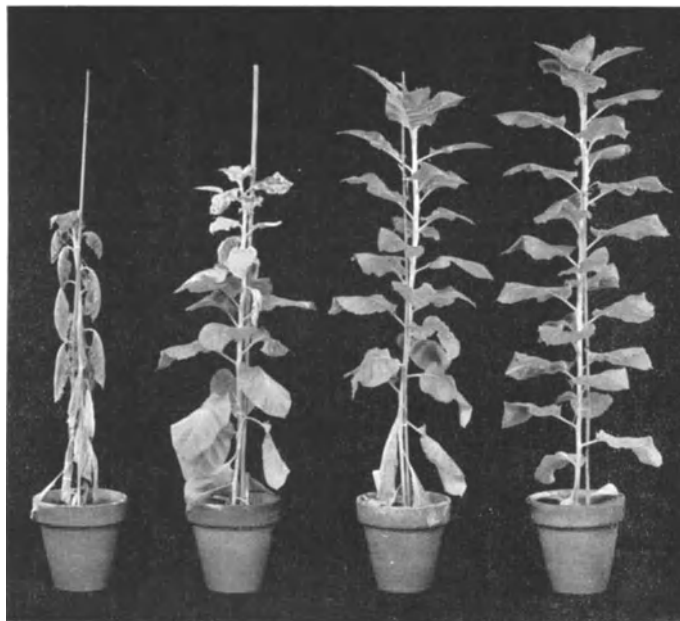


Fig. 25. Four Turkish tobacco plants as they appeared 40 days after inoculation with a necrotic type strain (J14 strain) of tobacco mosaic virus, showing variable results of infection. The plant at the left is dead; the 2nd plant is stunted but protected from the necrotic type strain by a yellow strain that arose as a mutant; the 3rd plant bears a necrotic stem lesion about 8 inches long that will soon prove fatal, while the plant on the right bears a necrotic stem lesion that is only $1\frac{1}{2}$ inches long and probably will not kill.

be stopped and the life of the plant saved. Four Turkish tobacco plants are shown in fig. 25. They were inoculated with the J14 strain of tobacco mosaic virus 40 days before the picture was taken. The stem of the plant on the left was invaded by the virus and killed. The stem of the second plant also was invaded, but a yellow type mutant strain of tobacco mosaic virus that stopped enlargement of necrotic stem lesions and thereby protected the plant against the J14 strain was produced. This plant will not be killed. The stem of the third plant was invaded by the J14 virus and a lesion about 8 inches long was produced. The plant will soon die unless a protecting mutant strain is produced. The stem of the plant on the right likewise has been invaded, but the lesion produced is only about $1\frac{1}{2}$ inches long. This plant probably will mature before the necrotic process has had time to kill.

V. Ringspot Diseases.

The distinctive feature of the ringspot group of virus diseases is that both primary and secondary lesions are typically zonate. In many instances the lesions show necrotic bands of tissue that alternate with healthy-appearing bands.

Some sections from tobacco leaves bearing different types of ringspot lesions are presented in fig. 26. The section in the upper left-hand corner is from a leaf affected by ordinary potato X-virus [J. JOHNSON (1)]; that in the lower left-hand corner is from a leaf affected by another strain of the same virus; the section in the upper right-hand corner is from a leaf affected by the virus of British Queen streak of potato (E. S. SCHULTZ and W. P. RALEIGH); and that in the lower right-hand corner from a leaf affected by the spotted wilt virus of tomato (G. SAMUEL, J. G. BALD and H. A. PITTMAN).

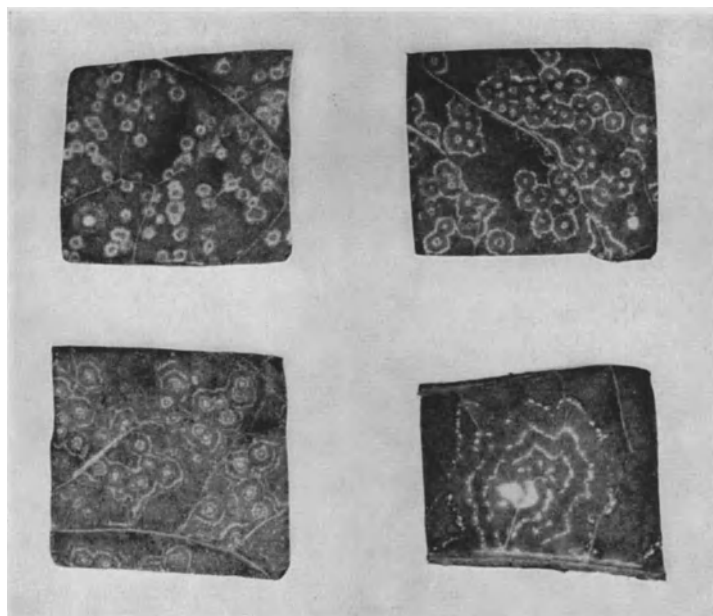


Fig. 26. Sections from tobacco leaves showing different types of ringspot lesions. The section on the left above bears a ringspot lesion produced by the ordinary strain of potato X-virus; the section on the left below bears a ringspot caused by a so-called ringspot strain of potato X-virus; the section on the right above bears a lesion caused by the British Queen streak virus; and the section on the right below a lesion caused by the spotted wilt virus.

Tobacco ringspot (F. D. FROMME, S. A. WINGARD and C. N. PRIODE; S. A. WINGARD and F. D. FROMME) is the best known of the virus diseases of this type. Infected tobacco plants show well marked acute and chronic stages. In the acute stage leaves are spotted by necrotic zonate lesions. After a time the disease becomes chronic and no further lesions are produced [W. C. PRICE (1)]. Leaves that develop at the tips of such plants are almost indistinguishable from leaves of healthy plants. However, ringspot virus is present in the leaves and they are immune from further attacks. Concentration of virus in recovered plants is only about one-fourth that in plants suffering from an acute attack [W. C. PRICE (3)]. Tobacco plants are subject to only one acute attack. Since plants in the chronic stage escape the severe effects of an acute attack and are only slightly stunted by the disease, it would seem advantageous in certain circumstances to grow plants from cuttings from recovered seedlings rather than from seeds. In this way it would be possible to avoid serious damage in the field. It must be noted that not all plants recover so completely from tobacco ringspot as do tobacco plants. New Zealand spinach, for example, shows the severe effects over a long

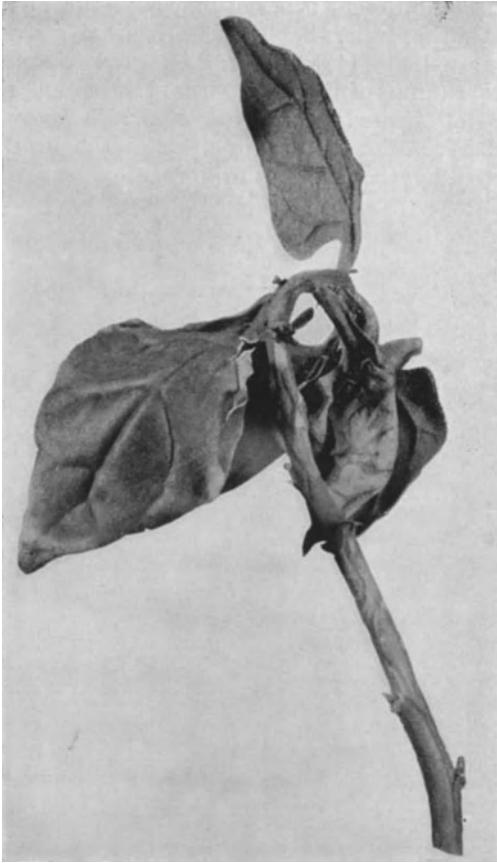


Fig. 27. Tobacco ringspot on New Zealand spinach; showing failure of this plant to recover from the disease.

period of time. The virus causes lesions in stems as well as in leaves and the lesions continue in the new growth for an indefinite period. A branch from a plant that had been infected for more than 6 months is shown in fig. 27. Then, too, there are ringspot diseases from which no plants are known to recover so completely as do tobacco plants affected by tobacco ringspot. Spotted wilt and ring mosaic of potato are good examples.

VI. Non-Spotting Diseases.

A large number of plant virus diseases are known under such names as yellows, rosette, and witches' broom. These are non-spotting diseases. Some well known examples are aster yellows [L. O. KUNKEL (3, 4)], peach yellows [M. A. BLAKE; L. O. KUNKEL (9); E. F. SMITH], peanut rosette [H. H. STOREY (4)], peach rosette [J. A. MC CLINTOCK; E. F. SMITH (2)], potato witches' broom (C. W. HUNGERFORD and B. F. DANA; P. A. YOUNG and H. E. MORRIS), and alfalfa witches' broom (E. T. EDWARDS). In the generalized stage these diseases

affect the tissues rather uniformly throughout. They never produce mottling. Most of the diseases in the yellows group have not been transmitted mechanically except by grafting. A number are known to be spread by insects, and a few have been carried to healthy plants by means of dodder [C. W. BENNETT (4); F. JOHNSON (1, 2); L. O. KUNKEL (17)]. Several have been cured by heat treatments. These apparently are caused by viruses having very low thermal inactivation points.

One of the best known diseases in the group is aster yellows. It affects a large number of different species belonging in many different families of plants [L. O. KUNKEL (6)]. It is transmitted by the aster leafhopper, *Macrostelus divisus* UHL., [L. O. KUNKEL (3)] and by a few other leafhoppers. It cannot be transmitted mechanically by means of juice but can be needle-inoculated from leafhopper to leafhopper (H. H. P. SEVERIN). The virus multiplies in the aster leafhopper [L. M. BLACK (2); L. O. KUNKEL (12, 13)] and in the different plants in which it causes disease. In nature it multiplies alternately in the aster leafhopper and in the aster or some other plant. The leafhopper becomes infected through feeding on diseased plants. Plants become infected through the feeding activities of infected aster leafhoppers. The virus does not spread naturally from leafhopper

to leafhopper or from plant to plant. The aster leafhopper is unable to transmit the virus immediately after first feeding on a yellows plant. A period of from

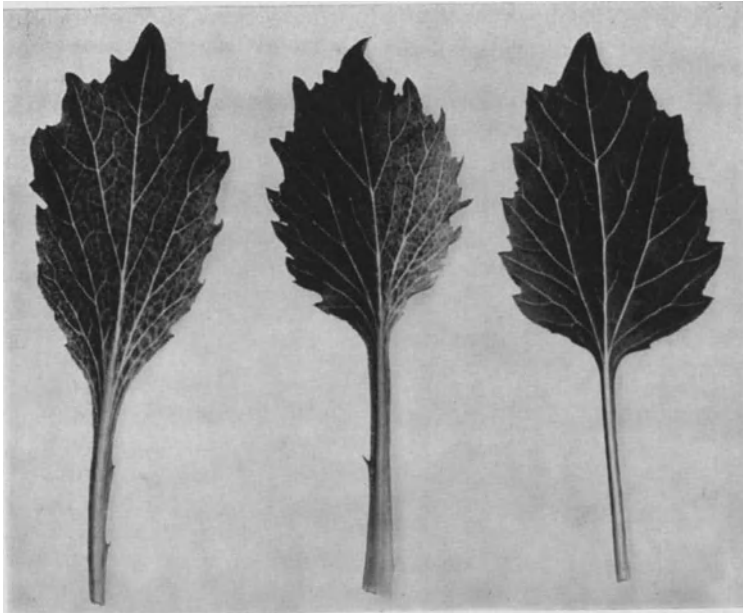


Fig. 28. Aster yellows on *Callistephus chinensis*; showing clearing of veins in leaves.

10 to 15 days must elapse between the time when the leafhopper first feeds on diseased tissues and the time when it is first capable of transmitting virus to a

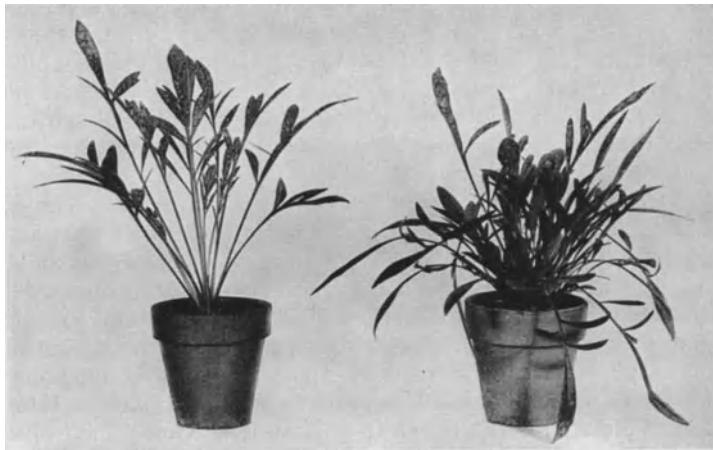


Fig. 29. Aster yellows on *Coreopsis lanceolata*; showing the rosetting effect of the disease.

healthy plant. During this interval, which is generally known as an incubation period, the virus multiplies in its insect vector. This is believed to be the basis of the specificity that exists between the virus and the leafhopper. A period of

several days must elapse between the time when a plant first becomes infected and the time when it first shows symptoms of yellows. During this interval, which is generally known as the incubation period in the plant, the virus multiplies. The disease produced in plants by aster yellows virus varies considerably with the species infected and the environmental conditions that prevail. The earliest symptom known to be produced in any plant is associated with systemic infection and consists in a clearing of veins in leaves such as are shown in fig. 28. In the leaf on the left there is vein-clearing throughout. In the leaf in the middle the clearing is almost entirely on the left side. The aster leaf on the right is from a healthy plant. As the name indicates, the most striking effect of aster yellows virus on asters and on many other plants is yellowing of foliage. The yellowing is especially characteristic of chronic stages of the disease. However, there are species in which the virus causes no yellowing. One



Fig. 30. Aster yellows on *Callistephus chinensis*; showing upright habit of growth assumed by a diseased plant.

of these is *Coreopsis lanceolata* L. In this plant the virus causes rosetting such as is shown in fig. 29. The plant on the right is diseased; the plant on the left is healthy. If the disease had been studied first in this species, it might have been designated as *Coreopsis* rosette.

One of the most important symptoms of aster yellows in many plants is associated with a change in habit of growth. Leaves that take an approximately horizontal position and branches that normally point away from the main stem

take an upright position in diseased plants. It was this upright habit of growth that suggested the name "rabbit-ears" for aster yellows in lettuce plants. The effect of aster yellows on habit of growth in an aster seedling is shown in fig. 30. The plant on the left with leaves that stand up has yellows; that on the right with leaves that lie flat is healthy.

Another striking symptom of aster yellows appears in the species *Thunbergia alata* Boj. This plant climbs by twining about any support that is available. Diseased plants are unable to hold and climb effectively. A healthy and a diseased *Thunbergia* plant are shown in fig. 31. As will be seen, the diseased plant was unable to hold to the bamboo stake furnished for its support and so slipped down. If aster yellows had been studied first in this plant, it might be known as *Thunbergia* "slip-down", just as a disease having a similar effect on hop vines is known as the slip-down disease of hops. If the grower who first observed the disease in *Thunbergia* had directed his attention to the flowers, he would have observed that the virus caused surprising effects on these structures. In healthy plants the flowers are borne singly, but in diseased plants they are frequently borne in chains of two, the second flower growing out of the end of the pistil of the first, as is shown in fig. 32. Moreover, he would have noted that the flowers were malformed and virescent. Hence, he might have named the disease false blossom of *Thunbergia*, just as growers have named a similar disease false blossom of cranberry.

The cranberry disease (I. D. DOBROSKY; N. E. STEVENS) causes dwarfing of leaves, shortening of internodes, abnormal production of secondary shoots, and reddening and yellowing of foliage. The most conspicuous effects are on the flowers, partly because cranberry plants are procumbent and flowers stand up above the foliage where they are easy to observe. Flowering tips from a diseased cranberry plant are shown in fig. 33. The tip on the left carries two flowers borne in a chain, just as were the yellows flowers of *Thunbergia alata* shown in fig. 32.

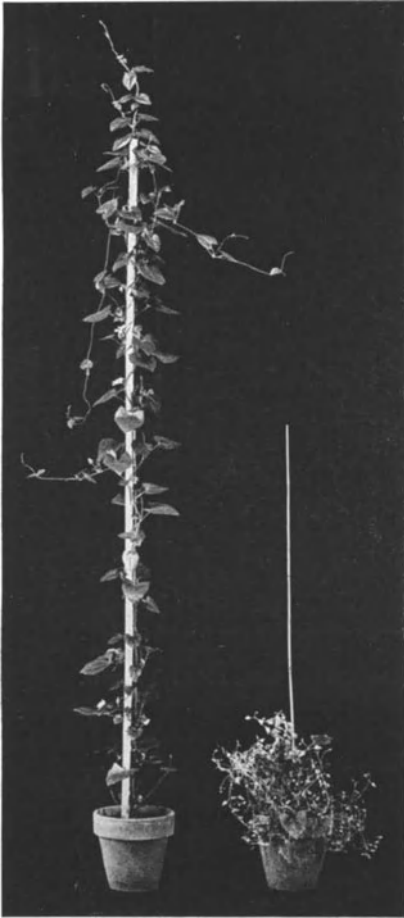


Fig. 31. Aster yellows on *Thunbergia alata*; showing inability of diseased plant to climb.

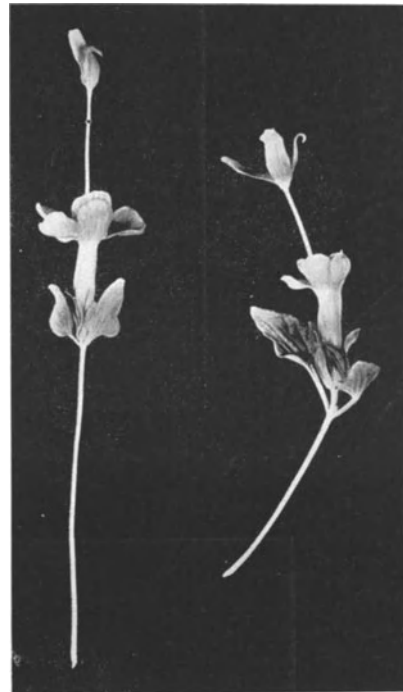


Fig. 32. Aster yellows on *Thunbergia alata*; showing flowers borne in chains.

There is a striking similarity between the symptoms produced by the false blossom and aster yellows viruses when they are taken to tomato. In this host it is frequently impossible to distinguish between the two diseases. Both cause gigantism in the flowers. In both, the sepals fuse and form large tubular structures. They thus produce symptoms that are practically identical with those caused by a disease known as big bud of tomato (B. F. DANA; G. SAMUEL, J. G. BALD and C. M. EARDLEY). If either aster yellows or cranberry false blossom had been studied first in the tomato, it might very appropriately have been designated big bud of tomato. However, false blossom virus usually causes somewhat more rapid growth in the sepals than does the aster yellows virus.

If aster yellows had been studied first in some other plant, it might have been



Fig. 33. False blossom on cranberry; showing shoots bearing distorted flowers.



Fig. 34. Aster yellows on *Caiophora lateritia*; showing burst capsules with leafy structures replacing seeds.

given a name that would have emphasized effects of the virus on fruiting structures. In *Caiophora lateritia* BENTH., for example, it causes a bursting of affected fruits such as is pictured in fig. 34. The seed-like structures have become green



Fig. 35. Peach rosette in a peach seedling; showing stunting effect of the disease.



Fig. 36. Witches' broom of black locust; showing slender branches, small leaves, and upright growth that are typical of diseased shoots.

in color and, as may be seen in the picture, have developed into short stems bearing leaves.

Other effects of viruses in this group result from abnormal production of secondary shoots. If the secondary shoots remain very short, rosettes are produced, but, if they grow to be long, witches' brooms are produced. A peach tree showing typical rosette symptoms is pictured in fig. 35. When black locust trees are infected by witches' broom virus (T. J. GRANT, D. C. STOUT and J. C. READEY; L. W. R. JACKSON and C. HARTLEY), they bear typical witches' brooms like that pictured in fig. 36. Peach yellows virus also causes a witches' broom type of

disease, as is shown by the seedling pictured in fig. 37. The diseased leaves are small and narrow.

Some other diseases belonging in this group produce less striking effects. Curly top of beet [C. W. BENNETT (1); H. H. P. SEVERIN and J. H. FREITAG], as the name indicates, causes curling of leaves. This apparently results from stimulation of leaf vein tissues. The virus also causes the leaves to roll up, as may be seen by inspection of fig. 38. In the tomato, curly top virus and peach rosette virus produce symptoms that are much alike. Potato leaf-roll (H. M. QUANJER; E. S. SCHULZ and D. FOLSOM) causes yellowing of potato leaves, but



Fig. 37. Peach yellows in a peach seedling; showing 'witches' broom' type of growth caused by the disease.



Fig. 38. Curly top on a potted sugar beet plant; showing curling and rolling of leaves.

it also causes rolling of leaves. The name under which it is known emphasizes the latter feature. That the virus causes other symptoms also may be seen in fig. 39 where a healthy and a leaf-roll plant of *Capsicum frutescens* L. are shown. In peppers the leafroll virus causes leaves to become yellow and drop off.

From the examples given above it will be seen that the non-spotting virus diseases produce a considerable number of different effects in plants. In certain plants certain effects are conspicuous, while in others, other effects are pronounced. The symptoms produced apparently depend as much on the plant in which the virus multiplies as on the nature of the virus. Many of the diseases cause similar symptoms. The symptomatology of any given disease can hardly be fully appreciated unless the disease is studied in a variety of different hosts and under a variety of different environmental conditions.

Mention has been made of the fact that several of the diseases in the yellows group have been cured by heat. This is possible probably because the viruses



Fig. 39. Leafroll of potato on *Capsicum frutescens* var. Celestial; showing yellowing, ro ling, and dropping of leaves.



Fig. 40. Inactivation of peach yellows virus in peach seedlings by heat. All trees were inoculated by inserting yellows buds in their tips. The tree on the left was not treated and came down with peach yellows; the other 5 trees were treated for 1, 2, 3, 4, and 5 days, respectively, at a temperature of 36° C. The trees treated for 1, 2, and 3 days came down with yellows and proved that these intervals were too short to inactivate all of the yellows virus. The other 2 trees remained healthy and proved that 4- and 5-day treatments were sufficient to inactivate the virus.

concerned have low thermal inactivation points and can be destroyed without injury to the treated plants. Peach yellows may be cured by subjecting diseased trees to a temperature of 50° C. for a few minutes [L. O. KUNKEL (10)]. However, it also may be cured by temperatures as low as 35° C. if the period of treatment is long. When potted yellows trees are heat-treated, the virus is inactivated in the aboveground parts long before it is inactivated in the roots and underground portions of stems. This is due to the protection from heat afforded by the soil.



Fig. 41. Peach yellows on peach; showing change in habit of growth in a secondary shoot after cure.

If trees that have been infected by inserting yellows buds in their tips are treated before the virus has had time to move from the tops into the roots, they are, as might be expected, much easier to cure than when treated after virus has passed into the underground parts. The ease with which trees carrying virus in their tops only may be cured is illustrated in fig. 40. The 6 trees were of the same age and were inoculated by means of yellows buds inserted in their tips. This method of inoculation invariably gives infection. Five of the trees were placed in a hot room held at 36° C. on the 14th day after inoculation. The yellows virus had not yet had time to move into the roots. The tree on the left was not treated and served as a control. Reading from left to right, the other 5 trees were treated for 1, 2, 3, 4,

and 5 days, respectively. It will be seen that the trees treated for 1, 2, and 3 days came down with yellows just as did the control tree, but that the trees treated for 4 and 5 days remained healthy. The test showed that when virus was present in the tops only it could be inactivated completely in 4 days but not in 3 days by a treatment at 36° C. Peach trees cured of yellows are free from yellows virus and remain healthy indefinitely unless it is re-introduced. Cured trees show no immunity from the disease. They look exactly like untreated trees immediately after cure. The new growth that develops after a successful treatment is free from symptoms. A branch from a treated tree is shown in fig. 41. It will be seen that there is a sharp bend in the twig at the point that marked the position of the terminal bud at the time of treatment. Before cure the twig took the upright position so characteristic of diseased branches. After cure it took a normal position with respect to the main stem. This change necessitated

a change in direction of growth of the terminal bud. The small narrow leaves below the bend were produced before cure; the large leaves above the bend developed after cure. The point to be emphasized is that after cure all symptoms of disease were absent from the new growth. This suggests that the disease is caused by multiplication of the virus rather than by toxic materials produced by either virus or diseased host.

Other peach viruses that have been cured by heat are red suture, little peach, rosette [L. O. KUNKEL (10)], and X-disease (E. M. HILDEBRAND). Mosaic of peach cannot be cured by heat [L. O. KUNKEL (11)]. Inactivation *in vivo* of the virus



Fig. 42. *Abutilon* mosaic on *Abutilon striatum*; showing a plant that was cured by amputating chlorotic lesions over a period of about 3 months.

of X-disease of peach by chemotherapy has recently been reported (E. M. STODDARD). Aster yellows [L. O. KUNKEL (16)] and false blossom of cranberry [L. O. KUNKEL (17)] in periwinkles have both been cured by heat. Sereh [G. WILBRINK (2)] and chlorotic streak [J. P. MARTIN (2)] of sugarcane also have been cured. *Abutilon* mosaic was the first of the virus diseases of plants to be cured [E. BAUR (2)]. It does not respond to heat treatments. Cure was accomplished in two ways, by shading and by cutting chlorotic spots out of leaves. Both treatments had to be continued for a considerable period of time. When the cutting treatment was used, the number of spots appearing in new leaves decreased progressively. Finally, when no more spots developed, the disease was cured. The plants shown in fig. 42 were grown from cuttings of the same mosaic-diseased *Abutilon* plant. They were equally diseased when treatment of the plant shown on the right was started. The treated plant was inspected daily and all chlorotic spots were removed as soon as observed. After about 3 months no more spots appeared. The plant remained healthy thereafter. It will be noted that the cured plant is somewhat smaller than the diseased plant. This is because of the severity of the treatment.

VII. Multiple Infections with Closely Related Viruses.

No account of the effects of viruses on plants would be complete without a discussion of the diseases in which two or more viruses are concerned. Many naturally occurring diseases result from multiple infections. The associated viruses may belong in the same group or in distinct groups. Up to the present

time all that have been found to belong in the same groups are mutually antagonistic. By mutually antagonistic is meant that, if either invades a tissue, the tissue will become immune from the other. If the associated viruses belong in distinct groups, mutual antagonism will be mild or entirely lacking.

Mention has been made of the fact that tobacco mosaic virus gives rise to yellow mottling strains in tobacco and other host plants and that the yellow mottling strains are present in bright yellow spots that appear from time to time in mottled leaves [J. H. JENSEN (1)].



Fig. 43. A Turkish tobacco leaf with tobacco mosaic; showing a bright yellow spot in the left half caused by a yellow type strain of tobacco mosaic virus. The yellow type strain has arisen by mutation from the ordinary strain.

A mosaic-diseased tobacco leaf bearing a yellow spot is pictured in fig. 43. If subinoculations are made to healthy tobacco plants from any part of such a leaf, except from the bright yellow spot, ordinary tobacco mosaic will be obtained, but, if subinoculations are made from the bright yellow spot, a virus producing yellow mottling in tobacco usually will be isolated. A single mature diseased tobacco plant may bear a score or more of bright yellow spots. Ordinarily each spot will contain a different yellow mottling type of virus, but sometimes the same yellow type strain will be obtained from two or more of the spots. Thus, a tobacco plant inoculated with ordinary tobacco mosaic virus and allowed to grow to maturity will be found to contain, in addition to ordinary tobacco mosaic virus, a whole series of yellow type strains. If plants that have been infected with tobacco mosaic virus for some time are carefully observed, they will be found to show at their tips only the green mottling that is typical of tobacco mosaic. Ordinarily there will be no trace of yellow mottling, although yellow mottling strains of virus are present in bright yellow spots in the leaves. The question that

naturally arises is, why do the yellow type strains remain local? Why do the viruses in the bright yellow spots not move to the tips of the plants and produce yellow mottling? The answer to the question is that ordinary tobacco mosaic virus renders the tobacco tissues solidly immune from the yellow type strains [H. H. MCKINNEY (4)].

All that has been said regarding the appearance of bright yellow spots in tobacco plants infected by tobacco mosaic and the yellow type strains of virus that may be isolated from them also may be said of tobacco plants infected by cucumber mosaic [W. C. PRICE (2)], except that the spots occur less frequently in such plants and the yellow type strains that may be isolated from them are strains of cucumber mosaic virus and not strains of tobacco mosaic virus. Little is known regarding the occurrence of bright yellow spots in leaves of plants affected by other mosaic diseases, but the phenomenon is believed to be a general

one. Yellow type and green type strains of wheat mosaic have been differentiated in wheat [H. H. MCKINNEY (2, 3)]. Some of the green and yellow type strains may be closely related. Bright yellow spots have been observed in tobacco plants affected by alfalfa mosaic and in tobacco plants having severe etch disease. Tobacco mosaic virus protects plants from infection by yellow type strains obtained from plants with tobacco mosaic, and cucumber mosaic protects them from infection by yellow type strains obtained from plants with cucumber mosaic. Tobacco mosaic will not protect plants from infection by yellow type strains obtained from plants with cucumber mosaic, nor will cucumber mosaic protect

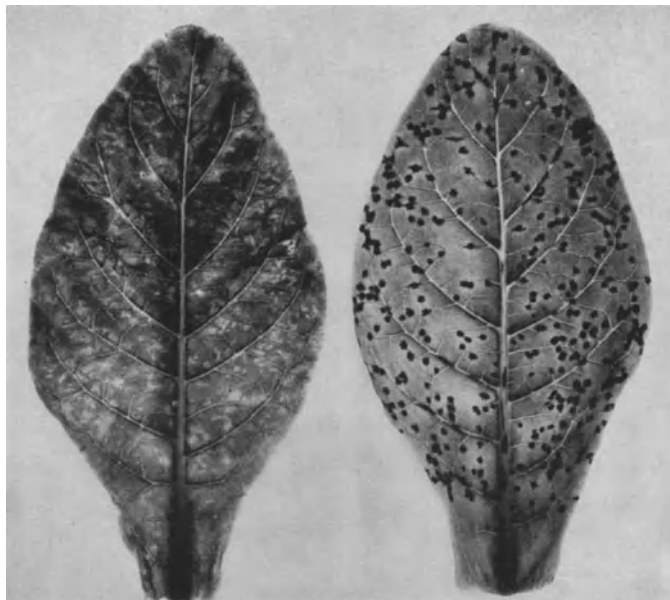


Fig. 44. Leaves of *Nicotiana sylvestris*, showing protection afforded by a mild green mottling type strain of tobacco mosaic virus against infection by aucuba mosaic of tobacco. The leaf on the left was inoculated by the protecting strain 7 weeks before both were inoculated with aucuba mosaic virus. The aucuba mosaic virus produced many necrotic lesions in the leaf on the right, but the other leaf was fully protected.

them from infection by yellow type strains obtained from plants with tobacco mosaic. This no doubt is because the yellow type strains obtained from plants with tobacco mosaic are closely related to tobacco mosaic virus and the yellow type strains obtained from plants with cucumber mosaic are closely related to cucumber mosaic virus. There is cross immunity between closely related viruses only.

The mechanism by which immunity is conferred has not yet been discovered. It is known that protection is afforded only to tissues that are actually invaded by the protecting virus [L. O. KUNKEL (7)]. Therefore, strains used to protect plants against more severe strains should produce a thoroughly systemic type of disease. The different strains of tobacco mosaic virus show different degrees of invasiveness with respect to the growing point [F. O. HOLMES (8)]. Strains that fail to invade growing points leave the growing point tissues open to infection. Some strains of tobacco mosaic virus move out of primary lesions much sooner than others. Strains used to protect should move out quickly. Ordinary tobacco

mosaic virus gives excellent protection against aucuba mosaic virus and other yellow type strains in the tobacco mosaic group. It is highly invasive and moves quickly from primary lesions. However, it is too severe to be satisfactory as an immunizing strain. HOLMES' masked strain of tobacco mosaic virus [F. O. HOLMES (7)] is satisfactory from this standpoint, but is not highly invasive and therefore leaves growing point tissues unprotected. The best strain found up to the present time causes a mild green mottling. It was obtained from a tobacco



Fig. 45. Leaf of *Nicotiana sylvestris*; showing lack of protection afforded by cucumber mosaic against aucuba mosaic virus. The plant from which the leaf was taken was inoculated with cucumber mosaic virus 7 weeks before the leaf was inoculated with aucuba mosaic virus. No protection was afforded.

field. Fig. 44 shows the protection afforded by this strain against aucuba mosaic virus. The leaf on the left was taken from a *Nicotiana sylvestris* plant inoculated with the mild strain 40 days before it was reinoculated with the aucuba mosaic virus. When healthy *N. sylvestris* leaves are infected by aucuba mosaic virus, local necrotic lesions such as are shown by the leaf on the right are produced. The leaf that was virus-free when inoculated with aucuba mosaic virus bears numerous necrotic lesions. The leaf affected by the mild mottling disease at the time of inoculation with aucuba mosaic virus bears no necrotic lesions. A leaf from a *N. sylvestris* plant inoculated with cucumber mosaic virus 40 days before it was reinoculated with aucuba mosaic virus is shown in fig. 45. It will be seen that the leaf bears numerous necrotic lesions. Cucumber mosaic did not protect against the aucuba mosaic virus. Aucuba mosaic virus does not generalize in *N. sylvestris* plants, but another yellow strain of tobacco mosaic virus isolated by JENSEN and given the name J111 [J. H. JENSEN (2)] produces yellow local lesions and becomes systemic. A derivative of this strain designated J111 D1 invariably kills young plants of *N. sylvestris*. The way in which the mild mottling strain mentioned above protects against this lethal strain is shown in

fig. 46. The 4 plants appearing in the picture were of the same size and age when taken for test. The two on the left were inoculated with the mild mottling virus. Then after 7 days the two middle plants were inoculated with the lethal strain. The plant on the right was not inoculated and served as a control. The picture shows that the third plant, which was inoculated with the lethal virus only, was killed while the second plant, which was inoculated with the protecting strain of virus one week before it was inoculated with the lethal strain, was saved. Not only was it saved; it was fully protected from injury, as a comparison with plant 1 will show. The difference in size between plants 1 and 2 and the control plant is due to the stunting effect of the protecting strain.

All attempts to protect young *Nicotiana sylvestris* plants from infection by the lethal virus J111 D1 in which viruses not belonging to the tobacco mosaic group were used resulted in failure. This is illustrated in fig. 47 where 4 *N. sylvestris* plants of the same age as those shown in fig. 46 are pictured. The test in

which these plants were used was exactly like that in which the plants shown in fig. 46 were used, except that the potato veinbanding virus was substituted for the mild mottling strain of tobacco mosaic virus. The two plants on the left were inoculated with the veinbanding virus which becomes systemic in *N. sylvestris*. Then 7 days later the two middle plants were inoculated with the J 111 D 1 strain



Fig. 46. Protection afforded on *Nicotiana sylvestris* plant against a lethal strain of tobacco mosaic virus by a mild green mottling strain of the same virus. The plant on the right was not inoculated; the 2 plants on the left were inoculated with the mild mottling strain of virus; then one week later the 2 middle plants were inoculated by a lethal strain of tobacco mosaic virus (J 111 D 1 strain). The 2nd plant received the protective inoculation and was not injured by the lethal virus. The 3rd plant received no protective inoculation and was killed.

of tobacco mosaic virus. It will be seen that the J 111 D 1 strain of virus killed both plants. The plant inoculated with the veinbanding virus was not protected in the slightest degree.

Nicotiana sylvestris plants were not fully protected against any of the yellow type strains of tobacco mosaic virus by any of the masked strains of this virus, but Bonny Best tomato plants were well protected by a masked strain obtained from petunia plants in which it occurs naturally. The protection afforded by this



Fig. 47. No protection afforded on *Nicotiana sylvestris* plant against a lethal strain of tobacco mosaic virus (J 111 D 1 strain) by an unrelated virus. The plant on the right was not inoculated. The 2 plants on the left were inoculated with the veinbanding virus of potato which produces a systemic infection. Then one week later the 2 middle plants were inoculated with a lethal strain of tobacco mosaic virus (J 111 D 1 strain). Since no protection was afforded by the veinbanding virus, both plants were killed.

strain is illustrated in fig. 48. The plants in the first and second rows were inoculated with the masked strain from petunia. Then 11 days later the plants in the first and third rows were inoculated with a virus designated as J 14 D 1 that was lethal for tomatoes. The plants in the fourth row were not inoculated and served as controls. The plants in the third row were almost dead when the picture was taken; those in the first row that were inoculated with the lethal virus and treated in every way like the plants in the third row, except that they were given a protective inoculation, were not injured by the lethal virus. The masked strain caused very little injury, as may be seen by comparing the plants in rows 1 and 2 with those in row 4, but it nevertheless gave full protection.

In order to obtain complete protection against lethal strains of tobacco mosaic virus, it was necessary to inoculate plants with the protecting virus a few

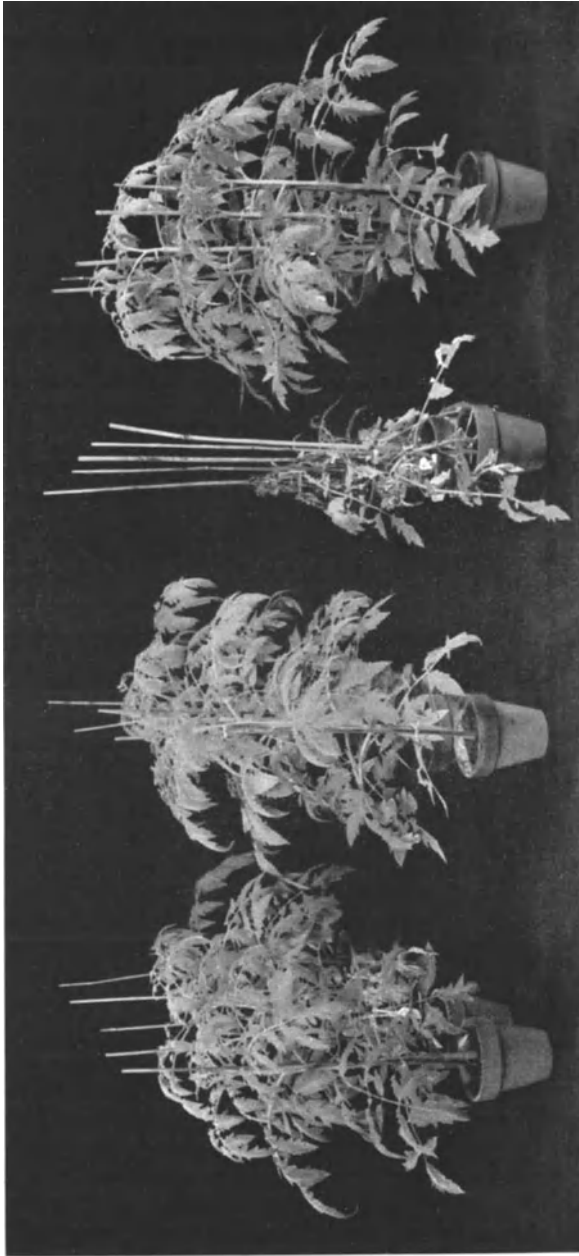


Fig. 48. Protection of Bonny Best tomato plants from infection by a necrotic type strain (J14 D I strain) of tobacco mosaic virus by a masked strain of this virus from petunia. Plants in row at left, inoculated with masked strain of tobacco mosaic virus and then 2 weeks later with the necrotic type strain, were not injured by the latter. Plants in 2nd row, inoculated with the masked strain only, were somewhat stunted. Plants in 3rd row, inoculated with the necrotic type strain only, were severely injured. Plants in row at right were not inoculated.

days before exposing them to infection by the lethal virus. However, some protection was secured even when plants were inoculated with protecting strains subsequent to infection with lethal strains. The effectiveness of the protection

was strikingly shown when tomato plants were inoculated with protecting strains of virus 1, 2, 3, and 4 days after inoculating them with the lethal virus. When young tomato plants became infected with the J14 D1 strain of tobacco mosaic virus, they were sure to die unless they received protection from an immunizing strain of virus before the disease caused by the lethal strain had progressed too far. The tomato plant shown in fig. 49 was inoculated with the J14 D1 virus by rubbing it into the lowermost leaf bearing a white tag. Four days later it was inoculated with tobacco mosaic virus by the rubbing method. The inoculum was applied to the uppermost leaf bearing a white tag. The top of the



Fig. 49. Rescue of a Bonny Best tomato plant, infected with a lethal strain of tobacco mosaic virus, from death by inoculation with ordinary tobacco mosaic virus. The lowermost leaf bearing a white tag was inoculated with the lethal virus and 4 days later the next leaf above was inoculated with tobacco mosaic virus.



Fig. 50. Healing effect of ordinary tobacco mosaic virus on necrotic lesions produced in a stem of a Bonny Best tomato plant by a necrotic type strain (J14 D1 strain) of tobacco mosaic virus.

plant was killed by the lethal virus, but the shoot growing from the axil of the leaf that received the immunizing inoculation was protected. The plant was badly crippled but its life was saved. If it had received the immunizing inoculation only one day after it was inoculated with the lethal virus, it would have suffered no noticeable injury beyond the stunting and chlorosis caused by tobacco mosaic virus.

The lethal virus J14 D1 causes necrotic lesions in stems and leaves of tomato plants. Death is caused by a slow enlargement of the lesions. There is one and only one means known by which this enlargement of lesions can be stopped. It can be stopped by causing a protecting strain of virus to invade the living tissues around the necrotic lesions. When this is done, the lesions heal and there is no further injury from the lethal virus. A section of a stem of a tomato plant

showing two elongated necrotic lesions is pictured in fig. 50. The plant from which the section was taken was inoculated with a necrotic strain of tobacco mosaic virus. After the two necrotic lesions shown in the picture had developed, the plant was reinoculated with a mild strain of the virus. The lesions were beginning to heal when the picture was taken. Invasion by the mild strain stopped the necrotic process caused by the severe strain.

Relatively little work has been done on the problem of protecting economic plants against viruses by inoculating them with mild strains of the viruses against which protection is sought. The method offers considerable promise, but any use to which it is put must of necessity be preceded by demonstrations proving that there is no better method of control, because use of the immune reaction involves inoculation of plants with mild strains of viruses, and even mild strains may cause injury. Moreover, mild strains may to some extent be replaced by more severe strains through mutations.

A use to which the immune reaction may be put without an undue amount of preliminary study has to do with the detection of virus relationships. We have seen that viruses belonging in the same group protect against each other and that viruses belonging in distinct groups do not. If an unidentified virus protects plants against a known virus or a known virus protects them against an unidentified virus, it is safe to conclude that the two belong in the same group. If, on the other hand, an unidentified virus does not protect against a known virus or the known virus against the unidentified virus, it is equally safe to conclude that the two belong in distinct groups. Thus, the immune reaction is a valuable tool for use in identifying viruses [L. O. KUNKEL (8)]. However, it is not always possible to use the immune reaction for this purpose. Cucurbit virus 3 (G. C. AINSWORTH; W. F. BEWLEY) is believed to be a strain of tobacco mosaic virus, but tobacco mosaic virus will not infect cucurbits and cucurbit virus 3 will not infect tobacco plants. No common hosts are known, so the tests for cross immunity cannot be made. Even if a common host were found, it might not prove to be an appropriate one. In order to be appropriate, at least one of the viruses in the pair to be tested should cause a systemic infection in it while the other should produce conspicuous symptoms.

VIII. Multiple Infection with Unrelated Viruses.

In those cases of multiple infection in which the viruses concerned belong in different groups, the effects produced are extremely diverse. No plant has yet been shown to acquire immunity from a virus belonging in one group from infection by a virus belonging in another group. It perhaps might be expected that the symptoms ordinarily resulting from infection by each virus separately would appear in the complex of symptoms resulting from a combination of viruses and that the total effect on the plant would approximate the sum of the effects produced by the different viruses when acting alone. This, however, does not seem to be the case. Some combinations produce effects that are less severe and some produce effects that are more severe than would be anticipated under such an assumption. A few examples will serve to illustrate the variable results that may be expected when plants are affected by two unrelated viruses simultaneously.

It has been found that tobacco plants infected by tobacco ringspot virus are spared from the severe effects ordinarily produced by some other viruses when introduced into healthy plants. For example, if tobacco plants having the tobacco ringspot disease are inoculated with ordinary tobacco mosaic virus by the rubbing method, they are readily infected, but the mottling produced in the leaves will

be less severe than the mottling caused by tobacco mosaic virus when introduced into comparable healthy plants. The same result is obtained when the two viruses are introduced into tobacco plants simultaneously, except that in this

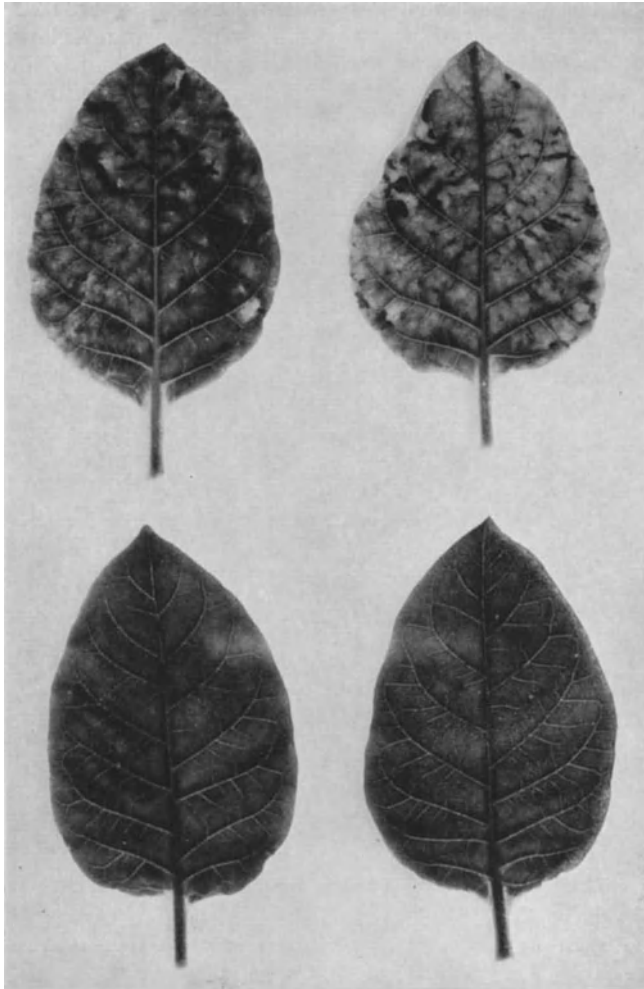


Fig. 51. A double infection that gives a milder disease than that caused by one of the component viruses. The leaf on the right below was from an uninoculated tobacco plant and is healthy; the leaf on the left below was from a plant affected by tobacco ringspot; the leaf on the right above was from a plant affected by tobacco mosaic; and the leaf on the left above from a plant affected by both tobacco ringspot and tobacco mosaic. The mild mottling of this leaf shows the sparing effect of ringspot on the mottling caused by tobacco mosaic virus in tobacco.

case characteristic ringspot lesions appear on many of the leaves shortly after infection. When the disease becomes chronic, the mottling caused by the tobacco mosaic virus component will be mild. Four leaves taken from four different Turkish tobacco plants of about the same age are shown in fig. 51. The leaf in the upper left-hand corner was from a plant that was infected by both tobacco ringspot virus and tobacco mosaic virus. The leaf in the upper right-hand corner was from a plant infected by tobacco mosaic virus only. The leaf in the lower

left-hand corner was from a plant infected by the tobacco ringspot virus only, while the leaf in the lower right-hand corner was from a healthy plant. It will be seen that the leaf infected by the two viruses was less chlorotic than that infected by tobacco mosaic virus alone.

A similar result was obtained when cucumber mosaic virus was substituted for tobacco mosaic virus to produce the combination disease. If, however, tobacco and cucumber mosaic viruses were combined, a very different kind of result was obtained. As is well known, ordinary tobacco mosaic virus alone and ordinary

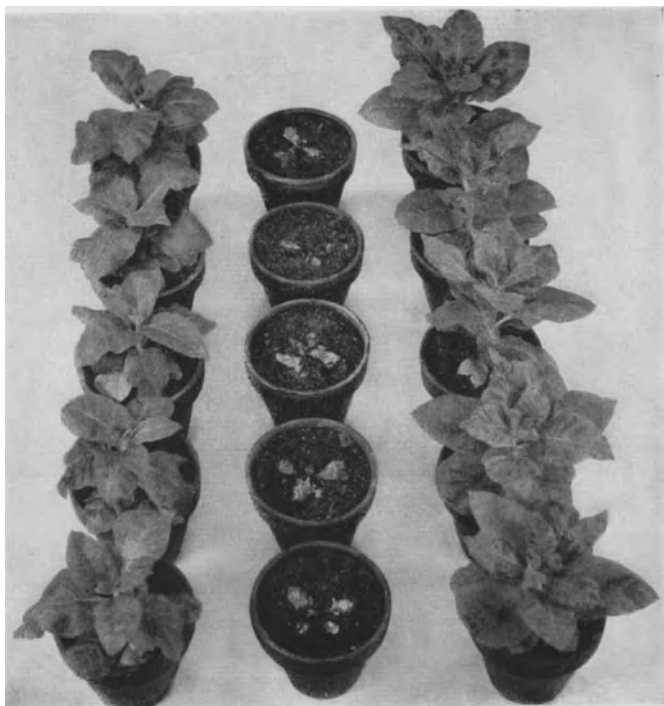


Fig. 52. Lethal effect of a combination disease produced by an inoculum composed of 1 part of tobacco juice with tobacco mosaic virus and 29 parts of tobacco juice with cucumber mosaic virus in Turkish tobacco plants. The plants in the row on the left were inoculated with tobacco mosaic virus; those in the row on the right with cucumber mosaic virus; and those in the middle row with the two viruses in the 1:29 combination.

cucumber virus alone cause moderately severe diseases in tobacco. Both cause chlorosis and stunting, but neither alone is capable of killing even when introduced into very young plants. If, however, the two viruses are combined in the proper fashion, they cause a disease that is lethal for young plants. When juice from tobacco plants affected by tobacco mosaic and juice from tobacco plants affected by cucumber mosaic are combined in equal parts and used to inoculate young tobacco plants, the plants come down with a disease that closely resembles tobacco mosaic, although both viruses can be shown to be present. But if, instead of combining the juices in equal parts, 1 part of juice from plants with tobacco mosaic is added to 29 parts of juice from plants with cucumber mosaic, the disease produced will be lethal for young plants. If inocula containing larger and larger proportions of either tobacco mosaic virus or cucumber mosaic virus are used, the diseases produced will be progressively less severe. Three rows of Turkish tobacco

plants consisting of 5 plants each are shown in fig. 52. The row on the left was inoculated with juice from a tobacco plant with ordinary tobacco mosaic, the row on the right with juice from a tobacco plant with ordinary cucumber mosaic, and the row in the middle with a mixture of the two juices in the proportion of 1 part of juice from plants with tobacco mosaic to 29 parts of juice from plants with cucumber mosaic. The picture was made 28 days after the plants were inoculated. It will be seen that the plants in the row on the right inoculated with cucumber mosaic virus were a little larger than the plants in the row on the left that were inoculated with tobacco mosaic virus. Those in the middle row inoculated with the 1:29 combination were killed. Cucumber mosaic has been reported on tobacco in Wisconsin [J. JOHNSON (2)]. It probably occurs in combination with tobacco mosaic in some plants.

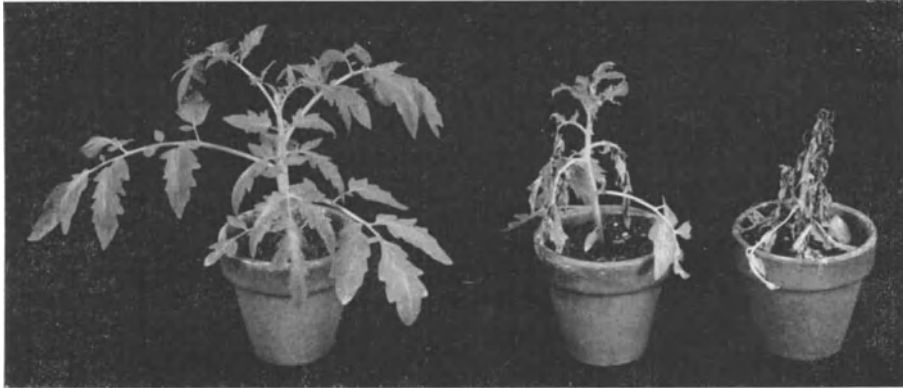


Fig. 53. Double-virus streak and streak due to a necrotic type strain (J14 D1 strain) of tobacco mosaic virus; showing the difference in severity of the two diseases.

The best known disease in which two plant viruses in combination cause marked necrosis, whereas either alone causes only mild symptoms, is the so-called double-virus streak of tomato (K. M. SMITH; T. C. VANTERPOOL). Tomato plants infected by X-virus of potato are slightly stunted but not very seriously injured. Tomato plants infected by ordinary tobacco mosaic virus also are stunted but are likewise not seriously injured. Tomato plants affected by the two viruses simultaneously are seriously injured. Necrotic lesions develop in their stems and leaves and their tips usually are killed back severely. The double-virus streak disease of tomato occurs naturally and causes considerable damage. A tomato plant affected by double-virus streak is shown in the middle position in fig. 53. The plant on the left was healthy, that on the right was infected by the J14 D1 strain of tobacco mosaic virus which caused a more severe streak than that produced by the double-virus infection. It is fortunate that the latter strain does not occur in nature. The examples cited show that diseases caused by virus combinations may be either less severe or more severe than might be expected. It is not possible to predict the severity of a combination disease from knowledge of the severity of the diseases caused by the viruses concerned when acting alone.

No attempt will be made here to describe effects produced in plants by infections in which more than two viruses are concerned. Diseases due to such combinations occur in nature, but they have received little attention up to the present time. Many species of plants are known to be susceptible to a number of different viruses. Peach trees are subject to infection by at least half a dozen

different viruses. Tobacco plants are affected by more than 20 different virus diseases. As has been pointed out, some viruses occur in an assortment of different strains. By using these it would be possible to make an almost endless number of different combinations that could be used to produce disease in tobacco. The same may be said of viruses that attack a number of other crop plants.

Summary.

All virus diseases are deleterious to growth. The mal-effects vary from the slight stunting produced by masked mosaic diseases to the killing caused by lethal diseases. The injury increases as we pass from the masked mosaic to mild mottling and typical mosaic diseases. Many virus diseases stimulate growth in certain tissues but check it in others. In this way they upset growth correlations and cause malformations of various kinds. A few virus diseases cause well marked overgrowths. Infection of plants by viruses occurs through wounds. Systemic infections result from spread of virus to growing points after multiplication at points of infection. Some plant viruses multiply in their insect vectors as well as in plants. They are not known to cause injury to insects. All of the most conspicuous effects of viruses in plants are recorded in common names such as have been given the mosaics, mottles, stripes, streaks, crinkles, curls, leafrolls, bunchy tops, witches' brooms, spikes, rosettes, stunts, dwarfs, big buds, chloroses, necroses, sterilities, etc., under which the virus diseases are known.

A few virus diseases have been cured either by elimination or by inactivation of virus. Cured plants produce normal healthy-appearing growth immediately after cure. This suggests that injuries due to virus infections are caused by the viruses themselves rather than by toxins. Cured plants are not immune from the diseases of which they have been cured.

Double infections are of two kinds: those in which the viruses concerned belong in closely related groups and those in which the viruses belong in distinct groups. Viruses belonging in the same group are mutually antagonistic. If one member of a group invades a tissue, the tissue acquires immunity from infection by other members of the group. The members of a virus group may cause diseases that vary in severity from some that are extremely mild to some that are lethal. Plants may be protected from the severe diseases by infection with viruses causing mild diseases.

Double infections in which viruses belonging in distinct groups are concerned cause some diseases that are milder and some that are more severe than would be expected from knowledge of the diseases caused by each virus acting alone. It is not possible to predict whether or not a given combination will give a mild or a severe disease.

Bibliography.

- ABBOTT, E. V.: Chlorotic streak of sugar cane in the United States. *Phytopathology* **28**, 855 (1938).
- AINSWORTH, G. C.: (1) Mosaic diseases of the cucumber. *Ann. appl. Biol.* **22**, 55 (1935).
- (2) "Enation mosaic" of tomato caused by a virus of the tobacco virus 1 type. *Ann. appl. Biol.* **24**, 545 (1937).
- AINSWORTH, G. C., and L. OGILVIE: Lettuce mosaic. *Ann. appl. Biol.* **26**, 279 (1939).
- ALLARD, H. A.: A review of investigations of the mosaic disease of the tobacco, together with a bibliography of the more important contributions. *Bull. Torrey botan. Club* **41**, 435 (1914).

- BAUR, E.: (1) Zur Ätiologie der infektiösen Panaschierung. Ber. dtsh. botan. Ges. **22**, 453 (1904).
- (2) Weitere Mitteilungen über die infektiöse Chlorose der Malvaceen und über einige analoge Erscheinungen bei *Ligustrum* und *Laburnum*. Ber. dtsh. botan. Ges. **24**, 416 (1906).
- BAVDEN, F. C.: The serological reactions of viruses causing tobacco necrosis. Brit. J. exper. Path. **22**, 59 (1941).
- BEIJERINCK, M. W.: Über ein *Contagium vivum fluidum* als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. Verhandel. konink. Akad. Wetensch., Amsterdam, II, **6**, no. 5, S. 1—22 (1898).
- BENNETT, C. W.: (1) Studies on properties of the curly top virus. J. agric. Res. **50**, 211 (1935).
- (2) Correlation between movement of the curly top virus and translocation of food in tobacco and sugar beet. J. agric. Res. **54**, 497 (1937).
- (3) Relation of food translocation to movement of virus of tobacco mosaic. J. agric. Res. **60**, 361 (1940).
- (4) Acquisition and transmission of viruses by dodder (*Cuscuta subinclusa*) Phytopathology **30**, 2 (1940). Abstr.
- BEWLEY, W. F.: Diseases of glasshouse plants, p. 144. London: Benn, Ltd. 1923.
- BEWLEY, W. F., and W. CORBETT: "Mosaic" disease of the tomato. Ann. Rept. Cheshunt exper. and res. Sta., Hertfordshire, 1927, **13**, 51 (1928).
- BLACK, L. M.: (1) Properties of the potato yellow-dwarf virus. Phytopathology **28**, 863 (1938).
- (2) Further evidence for multiplication of the aster-yellows virus in the aster leaf hopper. Phytopathology **31**, 120 (1941). Abstr.
- BLAKE, M. A.: Peach yellows and little peach. New Jersey agric. exper. Sta. Bull. **226** (1910).
- BLAKE, M. A., M. T. COOK, and C. H. CONNORS: Recent studies on peach yellows and little peach. New Jersey agric. exper. Sta. Bull. **356** (1921).
- BLATNÝ, C.: The virus disease "little leaf" and cup-like malformation of the leaves of lime trees. Ochrana Rostlin (Rus.) **14**, 80 (1938).
- BÖNING, K.: Die Mosaikkrankheit der Ackerbohne (*Vicia faba* L.). Ein Beitrag zu dem Mosaik der Papilionaceen. Forsch. Geb. Pflanzenkr. u. Immun. Pflanzenkr. **4**, 43 (1927).
- BRANDES, E. W.: The mosaic disease of sugar cane and other grasses. U. S. Dept. Agric. Bull. **829** (1919).
- BREWER, P. H., H. R. KRAYBILL, R. W. SAMSON, and M. W. GARDNER: Purification and certain properties of the virus of typical tomato mosaic. Phytopathology **20**, 943 (1930).
- BRIERLEY, P.: Studies on mosaic and related diseases of dahlia. Contr. Boyce Thomp. Inst. **5**, 235 (1933).
- BRIERLEY, P., and F. P. MCWHORTER: A mosaic disease of iris. J. agric. Res. **53**, 621 (1936).
- BRIERLEY, P., and F. F. SMITH: Mosaic and streak diseases of rose. J. agric. Res. **61**, 625 (1940).
- BRITON-JONES, H. R.: Stripe disease of corn (*Zea mays* L.) in Trinidad. Trop. Agric. (Trin.) **10**, 119 (1933).
- CALDWELL, J.: (1) The physiology of virus diseases in plants. I. The movement of mosaic in the tomato plant. Ann. appl. Biol. **17**, 429 (1930).
- (2) The physiology of virus diseases in plants. II. Further studies on the movement of mosaic in the tomato plant. Ann. appl. Biol. **18**, 279 (1931).
- (3) The physiology of virus diseases in plants. V. The movement of the virus agent in tobacco and tomato. Ann. appl. Biol. **21**, 191 (1934).
- CALINISAN, M. R.: A comprehensive study of symptoms of abacá mosaic. Philip. J. Agric. **10**, 121 (1939).
- CELINO, M. S.: Experimental transmission of the mosaic of abacá or Manila hemp plant (*Musa textilis* NÉE). Philip. Agriculturist **29**, 379 (1940).

- CHAMBERLAIN, E. E.: (1) Narrow-leaf — a virus disease of tomatoes. *New Zealand J. Agric.* **49**, 257 (1934).
 — (2) Pea-mosaic. Host range and methods of transmission. *New Zealand J. Sci. and Techn.* **18**, 544 (1936).
- CHERIAN, M. C., and M. S. KYLASAM: Preliminary studies on the "freckled yellow" and "stripe" diseases of cholam. *Proc. Assoc. econ. Biol., Coimbatore*, 1936, **4**, 57 (1937).
- CONDIT, I. J., and W. T. HORNE: A mosaic of the fig in California. *Phytopathology* **23**, 887 (1933).
- COOLEY, L. M.: (1) Mild streak of black raspberries. *Phytopathology* **22**, 905 (1932).
 — (2) The identity of raspberry mosaics. *Phytopathology* **26**, 44 (1936).
- COONS, G. H., J. E. KOTILA, and D. STEWART: Savoy, a virus disease of beet transmitted by *Piesma cinerea*. *Phytopathology* **27**, 125 (1937). Abstr.
- DANA, B. F.: Occurrence of big bud of tomato in the Pacific Northwest. *Phytopathology* **30**, 866 (1940).
- DARLINGTON, H. R.: Yellow-stripe of daffodils. *J. roy. hort. Soc., Lond.*, **34**, 161 (1908).
- DIMOCK, A. W.: The season's no. 1 gladiolus disease — mosaic. *The Gladiolus (Yearbk. New Engl. Glad. Soc.)* **16**, 117 (1940).
- DOBROSKY, I. D.: Studies on cranberry false blossom disease and its insect vector. *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **3**, 59 (1931).
- DOOLITTLE, S. P.: The mosaic disease of cucurbits. *U. S. Dept. Agric. Bull.* 879 (1920).
- DUFFIELD, C. A. W.: Nettlehead in hops. *Ann. appl. Biol.* **12**, 536 (1925).
- DYKSTRA, T. P.: A study of viruses causing yellow mosaics in European and American varieties of the potato, *Solanum tuberosum*. *Phytopathology* **29**, 917 (1939).
- EDWARDS, E. T.: The witches' broom disease of lucerne. *Sci. Bull. Dept. Agric. New South Wales* **52** (1936).
- FAJARDO, T. G.: Studies on the mosaic disease of the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopathology* **20**, 469 (1930).
- FREITAG, J. H.: Insect transmission, host range and properties of squash-mosaic virus. *Phytopathology* **31**, 8 (1941). Abstr.
- FROMME, F. D., S. A. WINGARD, and C. N. PRIODE: Ringspot of tobacco; an infectious disease of unknown cause. *Phytopathology* **17**, 321 (1927).
- FUKUSHI, T.: (1) On the mosaic disease of broad beans. *J. Plant Prot.* **17**, 707, 779 (1930).
 — (2) Studies on the dwarf disease of rice plant. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* **37**, 41 (1934).
 — (3) Multiplication of virus in its insect vector. *Proc. imp. Acad. Tokyo* **11**, 301 (1935).
 — (4) Retention of virus by its insect vectors through several generations. *Proc. imp. Acad. Tokyo* **15**, 142 (1939).
- GARDNER, M. W., and J. B. KENDRICK: Tomato mosaic. *Indiana agric. exper. Sta. Bull.* 261 (1922).
- GOLDSTEIN, B.: The x-bodies in the cells of dahlia plants affected with mosaic disease and dwarf. *Bull. Torrey botan. Club* **54**, 285 (1927).
- GOODWIN, W., and E. S. SALMON: Infectious sterility in the hop gardens in Czechoslovakia. *J. Inst. Brew., n. s.*, **33**, 209 (1936).
- GOSS, R. W.: The symptoms of spindle tuber and unmottled curly dwarf of the potato. *Nebraska agric. exper. Sta., Res. Bull.* 47 (1930).
- GOULD, N. K.: Stripe disease of daffodils. *J. roy. hort. Soc.* **60**, 492 (1935).
- GRAINGER, J.: The movement of tobacco mosaic virus in its host. *Ann. appl. Biol.* **20**, 236 (1933).
- GRANT, T. J., D. C. STOUT, and J. C. READEY: Systemic brooming, a virus disease of black locust. *J. For.* **40**, 253 (1942).
- HARRIS, R. V.: (1) The strawberry "yellow-edge" disease. *J. Pomol. and hort. Sci.* **11**, 56 (1933).

- HARRIS, R. V.: (2) Mosaic disease of the raspberry in Great Britain. I. Symptoms and varietal susceptibility. *J. Pomol. and hort. Sci.* **11**, 237 (1933).
- (3) Mosaic disease of the raspberry in Great Britain. II. Experiments in transmission and symptom analysis. *J. Pomol. and hort. Sci.* **17**, 318 (1940).
- HEINZE, K., and E. KÖHLER: Die Mosaikkrankheit der Sojabohne und ihre Übertragung durch Insekten. *Phytopath. Z.* **13**, 207 (1940).
- HILDEBRAND, A. A., and L. W. KOCH: Savoy disease of sugar beets in southwestern Ontario. *Phytopathology* **32**, 328 (1942).
- HILDEBRAND, E. M.: Rapid transmission of yellow-red virosis in peach. *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **11**, 485 (1941).
- HOCKEY, J. F.: False sting — a virus disease of apples. *Scient. Agr.* **21**, 242 (1941).
- HOLMES, F. O.: (1) Cytological study of the intracellular body characteristic of Hippeastrum mosaic. *Bot. Gaz.* **86**, 50 (1928).
- (2) Local lesions in tobacco mosaic. *Bot. Gaz.* **87**, 39 (1929).
- (3) Local symptoms of mosaic in the leaves of some *Nicotiana* species. *Phytopathology* **19**, 92 (1929). Abstr.
- (4) Local and systemic increase of tobacco mosaic virus. *Amer. J. Botany* **17**, 789 (1930).
- (5) Local lesions of mosaic in *Nicotiana tabacum* L. *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **3**, 163 (1931).
- (6) Movement of mosaic virus from primary lesions in *Nicotiana tabacum* L. *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **4**, 297 (1932).
- (7) A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology* **24**, 845 (1934).
- (8) Comparison of derivatives from distinctive strains of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology*, **26**, 896 (1936).
- (9) Handbook of phytopathogenic viruses. Minneapolis: Burgess Publishing Co. 1939.
- (10) Quantitative measurement of tobacco-etch virus. *Phytopathology* **31**, 12 (1941). Abstr.
- HUNGERFORD, C. W., and B. F. DANA: Witches' broom of potatoes in the Northwest. *Phytopathology* **14**, 372 (1924).
- HUTCHINS, L. M., E. W. BODINE, and H. H. THORNBERRY: Peach mosaic. Its identification and control. *U. S. Dept. Agric. Circ.* 427 (1937).
- IWANOWSKI, D.: Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bull. Acad. imp. Sci. St. Petersburg, n. s.*, III, **35**, 67 (1892).
- JACKSON, L. W. R., and C. HARTLEY: Transmissibility of the brooming disease of black locust. *Phytopathology* **23**, 83 (1933).
- JAGGER, I. C., and N. CHANDLER: Big vein, a disease of lettuce. *Phytopathology* **24**, 1253 (1934).
- JENSEN, J. H.: (1) Isolation of yellow-mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic. *Phytopathology* **23**, 964 (1933).
- (2) Studies on representative strains of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology* **27**, 69 (1937).
- JOHNSON, E. M.: Virus diseases of tobacco in Kentucky. *Kentucky agric. exper. Sta., Res. Bull.* 306 (1930).
- JOHNSON, F.: (1) Transmission of viruses by the parasitic activities of dodder. *Phytopathology* **31**, 13 (1941). Abstr.
- (2) Transmission of plant viruses by dodder. *Phytopathology* **31**, 649 (1941).
- JOHNSON, H. W., and C. L. LEFEBVRE: Crotalaria mosaic. *Phytopathology* **28**, 10 (1938). Abstr.
- JOHNSON, J.: (1) Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. *Wisconsin agric. exper. Sta., Res. Bull.* 63 (1925).
- (2) Cucumber mosaic on tobacco in Wisconsin. *Phytopathology* **23**, 311 (1933).
- JONES, L. K.: (1) The mosaic disease of beets. *Washington agric. exper. Sta. Bull.* 250 (1931).
- (2) Crinkle and mosaic of geranium. *Phytopathology* **28**, 11 (1938). Abstr.
- (3) Leaf curl and mosaic of geranium. *Washington agric. exper. Sta. Bull.* 390 (1940).

- KADOW, K. J., and H. W. ANDERSON: (1) Brittle root of horseradish in Illinois. U. S. Dept. Agric. Plant Dis. Repr. **20**, 288 (1936).
 — (2) A study of horse-radish diseases and their control. Bull. Illinois agric. exper. Sta. **469**, 531 (1940).
- KAWAI, I.: On the intracellular bodies associated with the dwarf disease of mulberry trees. Ann. phytopath. Soc. Japan **9**, 16 (1939).
- KENDRICK, J. B.: Cucurbit mosaic transmitted by muskmelon seed. Phytopathology **24**, 820 (1934).
- KENDRICK, J. B., and M. W. GARDNER: Soybean mosaic: seed transmission and effect on yield. J. agric. Res. **27**, 91 (1924).
- KIENHOLZ, J. R.: Stony pit, a transmissible disease of pears. Phytopathology **29**, 260 (1939).
- KOEHLER, B.: Crazy top of corn. Phytopathology **29**, 817 (1939).
- KUNKEL, L. O.: (1) Histological and cytological studies on the Fiji disease of sugar cane. Hawaiian Sug. Pl. Assoc. exper. Sta. Bull., Bot. Ser., **3**, 99 (1924).
 — (2) Studies on the mosaic of sugar cane. Hawaiian Sug. Pl. Assoc. exper. Sta. Bull., Bot. Ser., **3**, 115 (1924).
 — (3) Insect transmission and host range of aster yellows. Science **62**, 524 (1925).
 — (4) Studies on aster yellows. Amer. J. Botany **13**, 646 (1926).
 — (5) Transmission of Sida mosaic by grafting. Phytopathology **20**, 129 (1930). Abstr.
 — (6) Studies on aster yellows in some new host plants. Contr. Boyce Thomp. Inst. **3**, 85 (1931).
 — (7) Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. Phytopathology **24**, 437 (1934).
 — (8) Possibilities in plant virus classification. Bot. Rev. **1**, 1 (1935).
 — (9) Immunological studies on the three peach diseases, yellows, rosette, and little peach. Phytopathology **26**, 201 (1936).
 — (10) Heat treatments for the cure of yellows and other virus diseases of peach. Phytopathology **26**, 809 (1936).
 — (11) Peach mosaic not cured by heat treatments. Amer. J. Botany **23**, 683 (1936).
 — (12) Effect of heat on ability of *Cicadula sexnotata* (FALL.) to transmit aster yellows. Amer. J. Botany **24**, 316 (1937).
 — (13) Insects in relation to diseases of fruit trees and small fruits. J. econ. Ent. **31**, 20 (1938).
 — (14) Movement of tobacco-mosaic virus in tomato plants. Phytopathology **29**, 684 (1939).
 — (15) Genetics of viruses pathogenic to plants. Amer. Assoc. Adv. Sci., Publ. **12**, 22 (1940).
 — (16) Heat cure of aster yellows in periwinkles. Amer. J. Botany **28**, 761 (1941).
 — (17) False blossom in periwinkles and its cure by heat. Science **95**, 252 (1942).
- LARSON, R. H., and J. C. WALKER: (1) A mosaic disease of cabbage. J. agric. Res. **59**, 367 (1939).
 — (2) Ring necrosis of cabbage. J. agric. Res. **62**, 475 (1941).
- LEACH, J. G., and W. D. VALLEAU: Two reports on phloem necrosis of elm. U. S. Dept. Agric. Plant Dis. Repr. **23**, 300 (1939).
- LEES, A. H.: "Reversion" and resistance to "big bud" in black currants. Ann. appl. Biol. **5**, 11 (1918).
- LING, L., and J. Y. YANG: A mosaic disease of rape and other cultivated crucifers in China. Phytopathology **30**, 338 (1940).
- MAGEE, C. J. P.: (1) Investigation on the bunchy top disease of the banana. Bull. Counc. sci. a. ind. Res. Austral. **30** (1927).
 — (2) Pathological changes in the phloem and neighboring tissues of the banana (*Musa cavendishii* LAMB.) caused by the bunchy-top virus. Sci. Bull. Dept. Agric. New South Wales **67** (1940).
- MAHONEY, C. H.: Seed transmission of mosaic in inbred lines of muskmelon (*Cucumis melo* L.). Proc. Amer. Soc. hort. Sci. **32**, 477 (1935).
- MARCHAL, E.: Belgium: Short account of crop disease conditions in 1930. Intern. Bull. Plant Prot. **5**, 37 (1931).

- MARTIN, J. P.: (1) Chlorotic streak disease of sugar cane. Hawaiian Planters' Rec. **34**, 375 (1930).
 — (2) Pathology. (A report.) Hawaiian Sug. Pl. Assoc. exper. Sta. Rept. 1932, **23** (1932). In: Hawaiian Sug. Pl. Assoc. Proc. **52** (1932).
- MATSUMOTO, T.: Differentiation of two petunia mosaic diseases by means of serological, cytological, and inoculation experiments. Botany a. Zoology (Jap.) **3**, 893 (1935).
- MCCLEAN, A. P. D.: Some leaf-curl diseases in South Africa. Dept. Agric. and For., So. Afr., Sci. Bull. **225** (1940).
- MCCLEINTOCK, J. A.: Peach rosette, an infectious mosaic. J. agric. Res. **24**, 307 (1923).
- MCCUBBIN, W. A., and F. F. SMITH: Rate of virus spread in tomato plants. Science **66**, 486 (1927).
- MCLEAN, D. M.: Studies on mosaic of cowpeas, *Vigna sinensis*. Phytopathology **31**, 420 (1941).
- McKINNEY, H. H.: (1) Investigations of the rosette disease of wheat and its control. J. agric. Res. **23**, 771 (1923).
 — (2) A mosaic of wheat transmissible to all cereal species in the tribe Hordeae. J. agric. Res. **40**, 547 (1930).
 — (3) Differentiation of viruses causing green and yellow mosaics of wheat. Science **73**, 650 (1931).
 — (4) The inhibiting influence of a virus on one of its mutants. Science **82**, 463 (1935).
- McWHORTER, F. P.: Some diseases of ornamentals in Oregon. U. S. Dept. Agric. Plant. Dis. Repr. **2**, 18 (1935).
- McWHORTER, F. P., and F. WEISS: Narcissus mosaic or gray disease. In: Diseases of narcissus. Oregon State agric. Coll. agric. exper. Sta. Bull. **304**, 16 (1932).
- MOORE, E. S.: The kromnek or Kat River disease of tobacco and tomato in the East Province (South Africa). Dept. Agric. and For., So. Afr., Sci. Bull. **123** (1933).
- MURPHY, D. M., and W. H. PIERCE: Common mosaic of the garden pea, *Pisum sativum*. Phytopathology **27**, 710 (1937).
- NARASIMHAN, M. J.: Cytological investigations on the spike disease of sandal, *Santalum album*. Phytopathology **23**, 191 (1933).
- NOBLE, R. J., and N. S. NOBLE: Aphid vectors of the virus of woodiness or bullet disease in passion fruit (*Passiflora edulis* SIMS). J. a. Proc. roy. Soc. New South Wales **72**, 293 (1939).
- NORVAL, I. P.: Derivatives from an unusual strain of tobacco mosaic virus. Phytopathology **28**, 675 (1938).
- Ogilvie, L., and C. E. F. GUTERMAN: A mosaic disease of the Easter lily. Phytopathology **19**, 311 (1929).
- OSBORN, H. T.: Vein-mosaic virus of red clover. Phytopathology **27**, 1051 (1937).
- PAPE, H.: (1) Mosaikkrankheit bei Rhododendron. Gartenwelt **35**, 621 (1931).
 — (2) Mosaikkrankheit an Glieder-, Blatt- und Rutenkakteen. Gartenwelt **36**, 707, 731 (1932).
- PIERCE, W. H., and C. W. HUNGERFORD: Symptomatology, transmission, infection and control of bean mosaic in Idaho. Idaho agric. exper. Sta. Bull. **7** (1929).
- POSNETTE, A. F.: Swollen-shoot virus disease of cacao. Trop. Agric. (Trin.) **18**, 87 (1941).
- PRICE, W. C.: (1) Acquired immunity to ring-spot in *Nicotiana*. Contr. Boyce Thomp. Inst. **4**, 359 (1932).
 — (2) Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopathology **24**, 743 (1934).
 — (3) Virus concentration in relation to acquired immunity from tobacco ring spot. Phytopathology **26**, 503 (1936).
 — (4) Studies on the virus of tobacco necrosis. Amer. J. Botany **25**, 603 (1938).
- PRIODE, C. N.: Further studies in the ring-spot disease of tobacco. Amer. J. Botany **15**, 88 (1928).
- QUANJER, H. M.: Die Nekrose des Phlöems der Kartoffelpflanze. Die Ursache der Blattrollkrankheit. Med. rijks. hogere Land-Tuin-en Boschbouwschool, Wageningen, **6**, 40 (1913).

- RANKIN, W. H.: Probable identity of red and mild mosaic of black raspberries. *Phytopathology* **20**, 125 (1930). Abstr.
- RAWLINS, T. E., and W. T. HORNE: "Buckskin", a destructive graft-infectious disease of the cherry. *Phytopathology* **21**, 331 (1931).
- RAWLINS, T. E., and H. E. THOMAS: The buckskin disease of cherry and other stone fruits. *Phytopathology* **31**, 916 (1941).
- REEVES, E. L.: Mottle leaf, a virus disease of cherries. *J. agric. Res.* **62**, 555 (1941).
- ROQUE, A., and J. ADSUAR: Studies on the mosaic of peppers (*Capsicum frutescens*) in Puerto Rico. *J. agric. Univ. P. R.* **25**, 40 (1941).
- SALMON, E. S., and W. M. WARE: The small hop disease. *J. S.-E. agric. Coll., Wye, Kent*, **30**, 22 (1932).
- SAMUEL, G.: The movement of tobacco mosaic virus within the plant. *Ann. appl. Biol.* **21**, 90 (1934).
- SAMUEL, G., J. G. BALD, and C. M. EARDLEY: "Big bud", a virus disease of the tomato. *Phytopathology* **23**, 641 (1933).
- SAMUEL, G., J. G. BALD, and H. A. PITTMAN: Investigations on "spotted wilt" of tomatoes. *Bull. Counc. sci. a. ind. Res. Austral.* **44** (1930).
- SCHULTZ, E. S., and D. FOLSOM: Leafroll, net-necrosis, and spindling sprout of the Irish potato. *J. agric. Res.* **21**, 47 (1921).
- SCHULTZ, E. S., D. FOLSOM, F. M. HILDEBRANDT, and L. A. HAWKINS: Investigations on the mosaic disease of the Irish potato. *J. agric. Res.* **17**, 247 (1919).
- SCHULTZ, E. S., and W. P. RALEIGH: A new necrotic virus disease of potatoes. *Phytopathology* **23**, 32 (1933). Abstr.
- SEVERIN, H. H. P.: Transmission of California aster and celery-yellows virus by three species of leafhoppers. *Hilgardia (Am.)* **8**, 339 (1934).
- SEVERIN, H. H. P., and J. H. FREITAG: Some properties of the curly-top virus. *Hilgardia (Am.)* **8**, 1 (1933).
- SHEFFIELD, F. M. L.: The formation of intracellular inclusions in solanaceous hosts infected with aucuba mosaic of tomato. *Ann. appl. Biol.* **18**, 471 (1931).
- SMITH, E. F.: (1) Peach yellows: a preliminary report. *U. S. Dept. Agric., Botan. Div., Sec. Veg. Path., Bull.* **9** (1888).
- (2) The peach rosette. *J. Mycol.* **6**, 143 (1891).
- SMITH, J. HENDERSON: (1) Experiments with a mosaic disease of tomato. *Ann. appl. Biol.* **15**, 155 (1928).
- (2) Intracellular inclusions in mosaic of *Solanum nodiflorum*. *Ann. appl. Biol.* **17**, 213 (1930).
- SMITH, K. M.: Two strains of streak: a virus affecting the tomato plant. *Parasitology* **27**, 450 (1935).
- SMITH, K. M., and J. G. BALD: A description of a necrotic virus disease affecting tobacco and other plants. *Parasitology* **27**, 231 (1935).
- SOUKHOV, K. S., and A. M. VOVK: Mosaic disease of oats. *C. r. (Doklady) Acad. Sci. URSS.* **19**, 207 (1938).
- STAHL, C. F.: Corn stripe disease in Cuba not identical with sugar cane mosaic. *Trop. Plant Res. Found. Bull.* **7** (1927).
- STANLEY, W. M.: Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. *Science* **81**, 644 (1935).
- STEVENS, N. E.: Cranberry industry in critical state through false-blossom disease. *U. S. Dept. Agric. Yearbk.* **1931**, 174 (1931).
- STODDARD, E. M.: Inactivating in vivo the virus of X-disease of peach by chemotherapy. *Phytopathology* **32**, 17 (1942).
- STOREY, H. H.: (1) Transmission studies of maize streak disease. *Ann. appl. Biol.* **15**, 1 (1928).
- (2) Plant pathology. 2nd Ann. Rept. E. Afr. agric. Res. Sta., Amani, 1929-30, 13 (1930).
- (3) Virus diseases of East African plants: II. Leaf-curl disease of tobacco. *E. Afr. agric. J.* **1**, 148 (1935).
- (4) Virus diseases of East African plants: III. Rosette disease of groundnuts. *E. Afr. agric. J.* **1**, 206 (1935).

- STOREY, H. H., and R. F. W. NICHOLS: Virus diseases of East African plants. VII. A field experiment in the transmission of cassava mosaic. *E. Afr. agric. J.* **3**, 446 (1938).
- SWINGLE, R. U.: A phloem necrosis of elm. *Phytopathology* **28**, 757 (1938).
- SWINGLE, R. U., P. E. TILFORD, and C. F. IRISH: A transmissible mosaic of American elm. *Phytopathology* **31**, 22 (1941). Abstr.
- THOMAS, H. E.: Apple mosaic. *Hilgardia (Am.)* **10**, 581 (1937).
- THOMAS, H. E., and T. E. RAWLINS: Some mosaic diseases of *Prunus* species. *Hilgardia (Am.)* **12**, 623 (1939).
- THOMAS, K. M., and C. S. KRISHNASWAMI: (1) Little leaf — a transmissible disease of brinjal (egg plant). *Proc. Ind. Acad. Sci.* **10 (B)**, 201 (1939).
— (2) Leaf crinkle, a transmissible disease of papaya. *Current Sci.* **8**, 316 (1939).
- THOMPSON, R. C., and S. P. DOOLITTLE: Influence of temperature on the expression of big-vein symptoms in lettuce. *Phytopathology* **32**, 542 (1942).
- TOMPKINS, C. M., M. W. GARDNER, and H. R. THOMAS: Black ring, a virus disease of cabbage and other crucifers. *J. agric. Res.* **57**, 929 (1938).
- UPPAL, B. N.: The movement of tobacco mosaic virus in leaves of *Nicotiana sylvestris*. *Ind. J. agric. Sci.* **4**, 865 (1934).
- UPPAL, B. N., P. M. VARMA, and S. P. CAPDOR: Yellow mosaic of bhendi. *Current Sci.* **9**, 227 (1940).
- VANTERPOOL, T. C.: Streak or winter blight of tomato in Quebec. *Phytopathology* **16**, 311 (1926).
- VARADARAJA IYENGAR, A. V.: Biochemistry of the spike-disease of *Vinca rosea* LINN. *J. Ind. Inst. Sci.* **18 (A)**, 61 (1935).
- VAUGHAN, E. K.: Transmission of the crinkle disease of strawberry. *Phytopathology* **23**, 738 (1933).
- WADA, E., and H. FUKANO: On the difference and discrimination of wheat mosaics in Japan. *J. imp. agric. exper. Sta.* **3**, 93 (1937).
- WALKER, M. N.: Occurrence of watermelon mosaic. *Phytopathology* **23**, 741 (1933).
- WEIMER, J. L.: Studies on alfalfa mosaic. *Phytopathology* **24**, 239 (1934).
- WILBRINK, G.: (1) Een onderzoek naar de verbreiding der gelestrepenziekte door bladluizen. *Arch. Suikerind. Nederl.-Indie* **30**, 413 (1922).
— (2) Warmwaterbehandeling van stekken als geneesmiddel tegen de serehziekte van het suikerriet. *Meded. Proefsta. Java Suikerind.* **1** (1923).
- WINGARD, S. A., and F. D. FROMME: Tobacco ringspot; a virus disease with a wide host range. *Phytopathology* **18**, 133 (1928). Abstr.
- WOODS, M. W., and I. C. HAUT: Mild streak disease of black raspberries in Maryland. *U. S. Dept. Agric. Plant Dis. Repr.* **24**, 338 (1940).
- YOUNG, P. A., and H. E. MORRIS: Witches' broom of potatoes and tomatoes. *J. agric. Res.* **36**, 835 (1928).
- YU, T. F.: Mild-mosaic virus of broad bean. *Phytopathology* **29**, 448 (1939).
- ZAUMEYER, W. J., and B. L. WADE: (1) Pea mosaic and its relation to other legume mosaic viruses. *J. agric. Res.* **53**, 161 (1936).
— (2) Varietal reaction of pea to pea-streak virus 1. *Phytopathology* **27**, 1009 (1937).
- ZELLER, S. M.: Some facts about Loganberry "dwarf". *Phytopathology* **15**, 125 (1925). Abstr.
- ZELLER, S. M., and E. K. VAUGHAN: Crinkle disease of strawberry. *Phytopathology* **22**, 709 (1932).

Sachverzeichnis.

- Abiogenese 8, 70.
— der Eiweißkörper 73.
— der Virusarten 72.
Absterbeordnungen der Bakterien 35.
— von Bakterienverbänden 37.
—, mikrophysikalische Deutung 36.
— der Viruselemente (siehe auch Inaktivierung) 35.
Agalaktie der Ziegen 5, 51, 307.
Aktivierung latenter Virusinfektionen, siehe Provokation.
Alastrimvirus 352.
p-Aminobenzoësäure 284.
—, Beziehungen zu den Sulfonamiden 284f., 290.
— als essentieller Metabolit 284f.
—, quantitative Verhältnisse 286, 289, 291.
—, Verdrängung in Fermentsystemen 284, 286.
—, Verhalten zum Marfanil 291f.
— als Wuchsstoff 287.
Anabiose 4, 29.
Anaemia infectiosa, siehe Blutarmut.
Angina PLAUT-VINCENTI 252.
Anpassung von Virusarten an Wirte 195.
— von Influenzavirus an Frettchen 197, 226.
— — an Igel 201, 226.
— — an weiße Mäuse, Gehirn 222.
— —, Lunge 201, 223.
— von Maul- und Klauenseuche an Mäuse 201, 221.
— von Poliomyelitisvirus an Ratten und weiße Mäuse 214.
—, — an Meerschweinchen 219.
Anpassungsfähigkeit der Virusarten 68.
Antigenimpfstoffe 350, 365.
— gegen Lyssa 420, 440, 443.
— gegen Pocken 365.
Antikörper 41.
—, Bildung in vivo 62.
—, Entstehung in vitro 41.
—, Serumproteine und 41.
Asinovaccine 368.
Assoziationen, ätiologische 204, 243, 252.
—, —, provokatorische Funktion der bakteriellen Komponente 252.
Aucubamosaik der Kartoffel 482.
— des Tabaks 505.
— der Tomaten 9, 480.
Ausscheider, latent infizierte 88.
— bei Virusinfektionen 89, 93.
— — in der Inkubation 93, 114.
— — nach abgelaufener Erkrankung 93, 123.
—, —, Latenz während der ganzen Infektionsdauer 93.
—, —, — bei cyclischen Infektionen 93.
—, —, — infolge besonderer Lokalisation 101.
—, —, — infolge insuffizienter Chemotherapie 303, 311.
Auswertung von Dermovaccinen 372.
— von Eihautvaccinen 363.
— von Kulturvaccinen 363.
— von Lyssaimpfstoffen 438.
Autokatalyse (siehe auch Virusvermehrung) 55, 69.
Bakterien, autotrophe 73.
—, autokatalytische Vermehrung 70.
Bakteriophagen (siehe auch Phagenvorläufer) 46.
—, Dimensionen 46, 51.
—, Inaktivierung 6, 28, 37.
Blattrollkrankheiten (leaf curl) 474.
— der Kartoffel 500.
— —, Viruswirkung auf Capsicum 500.
— des Tabaks 474.
Blindpassagen 197, 208.
— als Anpassungsverfahren 198.
— als Anreicherungsverfahren 198, 199, 214.
— als Provokationsverfahren 197.
— zur Steigerung der Pathogenität 198.
—, Mechanismus 199.
—, Ort der Inokulation 200.
—, Provenienz der aktivierten Virusarten 198.

- Blindpassagen, Verwendung bei Elektromelie 199, 231.
 —, — bei Hühnerpest 201.
 —, — bei humanem Influenzavirus 201, 222, 223.
 —, — bei Maul- und Klauenseuche 201, 221.
 —, Zahl der erforderlichen Übertragungen 201.
 —, Zeitpunkt der Übertragungen 200.
 Blutarmut, ansteckende, der Pferde 161.
 —, Epizootologie 167.
 —, Immunität 165.
 —, — gegen Superinfektionen 165.
 —, Infektionen, latente 163.
 —, Krankheitsverlauf 163.
 —, Provokationsverfahren 164.
 —, Träger 166.
 —, Übertragung durch Insekten 166.
 —, — durch Kontakte 166.
 —, Virus, Ausscheidung 163, 166.
 —, —, Nachweis 163.
 —, —, — in Serum 164.
 —, —, Persistenz im Blute 161.
 —, —, —, Dauer 161.
 —, —, —, Konzentrationsschwankungen 162, 165, 167.
 BORNASche Krankheit 248.
 —, Chemotherapie 332.
 —, Kutaninfektion des Kaninchens 248.
 —, —, Beeinflussung, unspezifische 248.
 Bronchitis, infektiöse, des Rindes 253.
 Bronchopneumonie der Mäuse 229.
 —, Chemotherapie 307.
 Bushy-Stunt-Virus 9, 19, 42.
 —, Dimensionen 19.
 —, Isolierung 9.
 —, Kristalle 42.
- Cavitationseffekt 16.
 Chemotherapie 271.
 —, empirischer Charakter 278f.
 —, Abhängigkeit von der Ätiologie 271.
 —, — bei bakteriellen Infektionen 288f.
 —, — bei Rickettsiosen 308.
 —, — bei virusbedingten Infektionen 271, 307.
 —, AUJESZKYSche Krankheit 329, 332.
 —, BORNASche Krankheit 332.
 —, Buschkrankheit der Wiederkäuer 308.
 —, Choriomeningitis, lymphocytäre 318.
 —, Coryza avium enzootica 332.
 —, Einschlußblenorrhoen 313.
 —, Encephalitis (St. Louis) 328.
 —, — nach Grippe 329.
 —, — nach Röteln 329.
 —, — nach Vaccination 328.
 —, Erythema infectiosum multiforme 330.
 Chemotherapie, Fleckfieber 308.
 —, Geflügelpocken 332.
 —, Gelbfieber 329.
 —, Herpes (simplex und corneae) 318.
 —, Hundestaube 320f.
 —, Influenza 320, 332.
 —, Kaninchenfibrom 329.
 —, Keratoconjunctivitis der Schafe 308.
 —, Lymphogranuloma inguinale 298.
 —, Lymphogranulomatosis 330.
 —, Malaria 293.
 —, Masern 322.
 —, Maul- und Klauenseuche 329, 331.
 —, Meningopneumonie der Mäuse 307.
 —, Mononucleosis infectiosa 329.
 —, Myxomatose des Kaninchens 329.
 —, Parotitis epidemica 328.
 —, Pflanzenkrankheiten (virusbedingte) 503.
 —, Pemphigus vulgaris 330.
 —, Pleuropneumonie der Rinder 307.
 —, Pneumonie der Mäuse (Nigg) 307.
 —, Pocken, 323f.
 —, Poliomyelitis 326, 332.
 —, Psittacosis 307, 328.
 —, Rabies 328, 330f.
 —, Rift-valley-Fieber 329.
 —, Schweinelähmung, ansteckende 332.
 —, Trachom 312.
 —, Ulcus molle 309.
 —, venerisches Granulom der Hunde 308.
 —, Zona (Herpes zoster) 318.
 Chlorosen, infektiöse (Yellows) 494.
 —, Asternkrankheit (Callistephus) 494.
 —, —, Symptome 496.
 —, —, Übertragung 494.
 —, —, — durch Cicaden 494.
 —, —, — von Cicade zu Cicade 494.
 —, —, — durch Propfung 494.
 —, —, Inkubation im Insekt 495.
 —, —, Viruswirkung auf andere Pflanzen 496.
 —, —, —, Caiophora lateritia 499.
 —, —, —, Coreopsis lanceolata 496.
 —, —, —, Lattich („rabbit-ears“) 496.
 —, —, —, Thunbergia alata 496.
 —, —, —, Kettenblüten 496.
 —, —, —, Verlust der Klimmfähigkeit 496.
 —, —, —, Tomaten 497.
 —, Moosbeerenkrankheit (cranberry disease) 497.
 —, —, Symptome 497.
 —, Pfirsich 494, 502.
 Choriomeningitis, lymphocytäre 236.
 —, —, der Mäuse 195, 201, 203, 236, 260.
 —, —, —, Chemotherapie 318.

- Choriomeningitis, lymphocytäre, der Mäuse, Provokation, unspezifische 201, 239, 240.
 —, —, —, Übertragung auf Menschen 241.
- Chorionallantois (siehe auch Eihautvaccine) 58, 61.
 —, Speicherung von Trypanblau 58.
 —, Züchtung von Spirochäten 58.
 —, — von Trypanosomen 58.
 —, — von Virusarten 58.
- Chromomeren 64.
 —, Gene und 65.
- Chromosomen 65.
 —, Beziehungen zu den Genen 65.
 —, crossing over 65.
 —, Dimensionen 66.
 —, als Kettenmoleküle 66.
 —, Struktur 65.
- Colchicin 288.
- Common cold 203, 227, 254.
 —, Virus und Nasenflora 254.
- Competitive Inhibition 284.
- Curly top (siehe auch Kräuselkrankheit) 500.
- Dengue, cyclische Latenz 93.
 —, — beim Affen 95.
 —, —, epidemische Bedeutung 95.
 —, —, latente Passagen 95.
 —, — beim Meerschweinchen 94.
 —, — beim Menschen 93.
 —, — bei Ratten 95.
 —, —, Ursachen 94.
 —, —, Virusgehalt des Blutes 94.
- Dermovaccine 355, 366.
 —, Degeneration 353.
 —, Entkeimung 355, 370.
 —, Gewinnung 366, 369.
 —, Konservierung 375.
 —, Kultur 358, 372.
 —, Reinigung 356, 371.
- Desmodus, artibeus planirostris 175.
 —, rotundus murinus 174.
 —, rufus 174.
- Desoxyribosenucleotide 47.
- Eihautvaccine 358, 371.
 —, antigene Eigenschaften 361, 363.
 —, Auswertung 374.
 —, Bewertung 364.
 —, encephalitogenes Vermögen 360.
 —, Gewinnung 371.
 —, Impferfolge 362, 363.
 —, Infektiosität 359.
 —, Konservierung 375.
 —, Mindesttiter 363.
 —, Verträglichkeit 362.
- Ektromelie 195, 199, 204, 231, 249.
 —, Provokation durch Blindpassagen 199, 231.
 —, — durch Blutinjektionen 249.
- Elektronenmikroskopie 6, 19.
 —, humanes Poliomyelitisvirus 43, 104.
 —, murines Poliomyelitisvirus 43, 104.
 —, Tabakmosaikvirus 14.
 —, Vaccinevirus 6, 48.
- Elektrophorese 11, 27.
- Elementarkörperchen (siehe auch Virusarten) 5, 45.
 — aus normalen Hühnerembryonen 21.
 — aus Tumoren 21.
 —, Aggregate 45.
 —, Definition 45.
 —, Formen 13, 43.
 —, Formen, fadenförmige 13, 104.
 —, —, sphärische 13, 20, 43.
 —, —, stäbchenförmige 13, 14, 20.
 — als freie Gene 6, 40, 64, 68.
 —, Grenzmembranen 6, 48.
 —, infektiöse Einheiten und 45.
 —, Innenstruktur 6, 48.
 —, Teilungsformen 50.
- Encephalitis, amerikanische (St. Louis) 202, 237, 238.
 —, Chemotherapie 328.
 — postvaccinalis 244.
 — —, experimentelle, bei Hunden und Affen 244.
 — —, Chemotherapie 328.
 — nach Grippe, Chemotherapie 329f.
 — nach Röteln, Chemotherapie 329.
- Encephalomyelitis, equine 202.
- Encephalomyelitis der weißen Mäuse 103, 195, 203, 205, 256.
 —, Ausscheidung des Virus 103.
 —, Autosterilisation 103.
 —, Beziehungen zur Poliomyelitis 104, 156.
 —, experimentelle Übertragung 104.
 —, Kontagiosität 103.
 —, Latenz 103.
 —, Lokalisation in der Darmwand 103.
 —, — in den mesenterialen Lymphknoten 104.
 —, — im Zentralnervensystem 103.
 —, Morphologie 43, 104.
- Fadenmoleküle 10, 44.
 —, aufgeknäuelte 11.
 —, gestreckte 11.
- Ferkelgrippe 252.
- Fiji-Krankheit des Zuckerrohrs 479.
- Formaldehydcondensation 55.
- Frettchen, pneumotrope Virusarten bei 230.

- Geflügelpockenvirus** 353.
Gehirnlapine 357.
Gelbfieber 9, 97.
 —, abortive und latente Infektion 97.
 —, — bei Kindern 98.
 —, —, Übertragbarkeit durch Aedes 98, 100.
 —, —, Virus im Blute 99.
 —, —, —, Konzentration 100.
 —, erworbene Immunität 98.
 —, —, Antikörper 98.
 —, Impfstoffe, Verunreinigung 205, 259.
 —, Neutralisationstest 202.
 —, Schutzimpfung mit aktivem Virus 100.
 —, —, Virus im Blute 100.
 —, —, —, Übertragbarkeit durch Aedes 100.
 —, Virus, neurotropes 204, 241.
Gene 63.
 —, Chromosomen und 65.
 —, Dimensionen 64.
 —, hypothetischer Charakter 66.
 —, Vermehrung 67.
 —, Viruselemente und 63.
 —, —, Analogien 64, 67.
 —, —, Unterschiede 64, 68.
Glycerin als Konservierungsmittel 355, 401.
 — — von Lyssavirus 401, 407, 411, 414.
 — — von Vaccinevirus 355, 369, 370.
 —, Abschwächung von Lyssavirus durch 414, 429.
Hämocyanin, Zerfall der Moleküle 13, 32.
Hemmstoffe (siehe auch Wuchsstoffe) 285.
Herpes febrilis 150.
 —, Antikörper bei Gesunden 151.
 —, Chemotherapie 318.
 —, Kontagiosität 152.
 —, latente Infektionen 150.
 —, — als Folge von Stomatitis 150.
 —, Persistenz des Virus 152.
 —, —, unbekannte Lokalisation 152.
 —, Rezidive 151.
 —, — nach Inokulationen 151.
 —, Übertragung 152.
 —, Virus im Speichel 152.
 —, — bei Gesunden 152.
 —, — bei Herpeskranken 152.
Herpes zoster (Zona) 318.
 —, Heilung durch Sulfonamide 318.
 —, therapeutische Abgrenzung vom Herpes febrilis 318.
Heteroauxin 288.
Hexenbesen (witches broom) 474, 494.
 —, Akazie (black locust) 499.
Hexenbesen, Kartoffel 474, 494.
 —, Luzerne (alfalfa) 474, 494.
 —, Pflirsich 499.
Hirnblindpassagen 214.
 — mit humanem Influenzavirus 222.
 — bei Maul- und Klauenseuche 201, 221.
 — bei Poliomyelitis 214.
 — bei Rolling disease 220, 243.
Hodenblindpassagen 208.
 — bei Kaninchenpocken 214.
 — beim Virus III 208.
 — bei Virus „S“ 213.
Hodenlapine 357.
Hühnerpest 162.
 —, Ausscheider 162.
 —, Autosterilisation 162.
 —, Blindpassagen 201.
 —, Übertragung durch Spermia 162.
 —, Virämie, cyclischer Ablauf 162.
 —, —, Viruskonzentration, Serum 162.
 —, —, —, Vollblut 162.
Hühnersarkomvirus I 6.
 —, Lipoidgehalt 6.
Humanisierte Lymphe 353, 367.
Hundetest nach WEBSTER 439.
Husten, seuchenhafter, des Pferdes 252.
Hylozoismus 53.
Impflyssa 409, 433, 454.
Impfschäden bei Lyssaschutzimpfung 173, 409, 433, 454.
Impfschutz nach Lyssaschutzimpfung 434, 452.
 — nach Vaccination 384.
Impfstatistik, Lyssaschutzimpfung 434, 452.
 —, Vaccination 385, 387.
Inaktivierung von Virusarten 35, 38.
 — durch chemische Eingriffe 27, 417, 421, 425.
 — —, Reversibilität 28.
 — durch Erhitzen 35.
 — —, Prozeßablauf 36.
 — durch ionisierende Strahlen 6, 38.
 — —, empfindlicher Teil der Elemente 38.
 — durch ultraviolettes Licht 415.
 — durch Ultraschall 415.
Individuation der Viruselemente 68.
Infektionseinheiten der Virusarten 10, 15, 20, 45.
 —, Beziehungen zu den Elementarkörperchen 45.
 —, Makromoleküle und 10, 20.
Infektionserreger, monophage 195.
 —, oligophage 196.
Infektionsimpfstoffe 349, 440.
 — zur Lyssaschutzimpfung 440, 443.

- Infektiositätsspektrum 195.
 Influenza, Chemotherapie 320, 332.
 —, —, Chinin 332.
 —, —, Sulfonamide 321.
 —, —, — beim Menschen 321f.
 —, —, —, bakterielle Mischinfektionen 321.
 —, —, —, Differenzierung der Virusgrippe von anderen Formen 321.
 —, —, —, tierexperimentelle Untersuchungen 321.
 Influenza erysipelatosae, siehe Rotlaufseuche.
 Influenzavirus, humanes 197, 201, 202, 204, 222, 223, 249.
 —, Anpassung an Frettchen 197, 226.
 —, — an Igel 201, 226.
 —, — an weiße Mäuse 201, 222, 223.
 —, unspezifische Aktivierung 250.
 —, Rückübertragung von Frettchen auf Menschen 225.
 —, Übertragung auf Hamster 225.
 —, Verhalten gegen Sulfonamide 321.
 Intensivierung der Lyssaschutzimpfung 427, 448.
 Interferenzphänomen von HOSKINS 243.
 Intracutane Vaccination 380.
 Intranasale Vaccination 382.
 Ionisierende Strahlen, siehe Strahlen.
- Kanarienvogelpocken 256.**
Kaninchenpocken (Rabbit pox) 213, 214.
 Keimträger, Definition 88.
 —, geschlossene, und Ausscheider 88, 128.
 —, gesunde und rekonvaleszente 88.
 Kombinierte Pockenimpfung 383.
 Konkurrenzphänomen (MAGRASSI) 243.
 Konservierung von Lyssavirus 407.
 — von Vaccinevirus 349, 375.
 Kräuselkrankheit (curly top) der Rüben 474, 500.
 Kristalle der Virusproteine 41.
 —, Aufbau aus Makromolekülen 37, 45.
 —, Bushy-stunt-Virus 37, 42.
 —, Nekrosevirus des Tabaks 37, 42.
 —, Tabakmosaik- und verwandte Virusarten 42.
 —, flüssige (Parakristalle) 43.
 —, Quellbarkeit 44.
 —, Struktur, dreidimensionale 43.
 —, —, zweidimensionale 43.
 Kuhpockenvirus, originäres 352.
 Kulturvaccine 358, 371.
 —, antigene Eigenschaften 361, 363.
 —, Auswertung 374.
 —, Bewertung 364.
 —, encephalitogenes Vermögen 360.
 —, Gewinnung 371.
- Kulturvaccine, Impferfolge 362.
 —, Infektiosität 359.
 —, Konservierung 375.
 —, Mindesttiter 363.
 —, Verträglichkeit 362.
 Kulturimpfstoff gegen Lyssa 414.
- Lapine 368.**
 Latenz der Virusinfektionen 90, 196, 204, 303.
 —, Mechanismus 90.
 —, —, Erwachen der Immunität 94, 95.
 —, —, Fehlen von Toxinen 90.
 —, —, insuffiziente Chemotherapie 303, 311.
 —, —, Resistenz des Wirtes 95.
 —, —, subklinische Lokalisation 101.
 —, —, subpathogene Virusvermehrung 95.
 — nach abgelaufener Erkrankung 93, 123, 196.
 —, —, Immunitätsschwäche und 123.
 —, —, Viruspersistenz und 123.
 —, Nachweis des Erregers 196.
 Lipovaccine gegen Lyssa 414.
 L-Kulturen 5, 51.
 Lungenblindpassagen 197, 223.
 — bei Ektromelie 199, 231.
 — mit Influenzavirus 223.
 — mit pneumotropen Mäusevirusarten 227.
 —, verwendete Wirtstiere (Frettchen, Kaninchen, Meerschweinchen) 230.
 Lymphe, humanisierte 353, 367.
 Lymphogranuloma inguinale 129, 298.
 —, Ausscheider 129, 132, 135.
 —, —, Dauer des Zustandes 136.
 —, Chemotherapie 298.
 —, —, kombinierte 310.
 —, —, Sulfanilamide 299.
 —, —, —, Anwendung am Menschen 309.
 —, —, —, —, Erfolge 310.
 —, —, —, —, Rezidive 310.
 —, —, —, —, Verhalten der FREI-Reaktion 311.
 —, —, —, experimentelle komparative Auswertung 305.
 —, —, —, Konzentration im Blute 311.
 —, —, —, Stoßtherapie 311.
 —, Eintrittspforten des Erregers 133.
 —, FREISCHES Antigen 129.
 —, —, Nachweis im Blutserum 130.
 —, —, — in Fäces 130.
 —, —, — in Lymphdrüsen 130.
 —, —, — im Vaginal- und Mastdarmsekret 130.
 —, —, Spezifität 129.
 —, Erreger 308.

- Lymphogranuloma, Immunität 134.
 —, — gegen Superinfektionen 134.
 —, Infektion, diaplazentare 130.
 —, —, generalisierte 130.
 —, —, latente 132, 135.
 —, —, okulte 133, 136.
 —, Kontagiosität 132.
 —, Krankheitstypen 134.
 —, Lokalisation, extragenitale 133.
 —, —, rektale 133.
 —, Reaktionsform der Gewebe 134.
 —, Synonyma 129.
 —, Virusnachweis, experimenteller 131.
 —, — im Cervix uteri 132.
 —, — im Mastdarm 130.
 —, — in der Urethra 132.
 —, — in der Vagina 131.
 —, Virusnachweis, mikroskopisch 131.
 —, — bei Prostituierten 130, 135.
 —, Viruspersistenz 133, 311.
 —, —, Verweilorgane 133, 311.
 —, Viruszüchtung, Chorionallantois 302.
 —, —, Dottersack 302, 306.
 Lymphogranulomatosis, Chemotherapie 330.
 Lyssa (siehe auch Lyssaimmunität, L.-Impfstoff, L.-Schutzimpfung und L.-Virus) 119, 169, 205, 261.
 —, Chemotherapie 328, 330f.
 —, beim Hunde 119, 169.
 —, —, Eclipse 119.
 —, —, Inkubation 119.
 —, —, —, Umsetzung in die Krankheit 120, 121.
 —, —, —, Virus im Speichel 119, 121, 170.
 —, —, —, Virus im Zentralnervensystem 120, 121.
 —, —, Heilungen 169.
 —, —, recurrierende Form 169.
 —, —, —, Infektiosität im Intervall 170.
 —, —, —, Verhalten des Virus im Zentralnervensystem 170.
 —, —, refraktäres Verhalten 172.
 —, —, Schutzimpfungen 172.
 —, —, —, Virusträger nach Schutzimpfung 172.
 —, —, bei der Katze 174.
 —, —, beim Menschen, Inkubation 120, 261.
 —, —, latente Infektionen 120, 171, 262.
 —, —, Provokation der Erkrankung 121.
 —, —, beim Rinde 173.
 —, —, beim Schwein 173.
 —, —, bei Vampiren, siehe Trinidadkrankheit.
 Lyssaimmunität, Mechanismus 443.
 Lyssaimpfstoff (siehe auch Virus fixe) 403.
 —, Abschwächung und Inaktivierung 409.
 —, —, durch Äther 422.
 —, —, durch Chloroform 425.
 —, —, durch Dialyse 415.
 —, —, durch Erhitzen 413.
 —, —, durch Formol 421.
 —, —, durch Glycerin 414.
 —, —, durch Immuns Serum 415, 417.
 —, —, durch Lanolin 414.
 —, —, durch Olivenöl 414.
 —, —, durch Phenol 417.
 —, —, durch Photodynamie 415.
 —, —, durch Trocknung 410.
 —, —, durch Ultraschall 415.
 —, —, durch ultraviolettes Licht 415.
 —, —, durch Verdünnung 410.
 —, Auswertung, quantitative 438.
 —, Autovaccinen 406.
 —, Gewinnung 406, 409, 415.
 —, —, nach ALIVISATOŠ 424, 451.
 —, —, nach BABES-PUSCARIU 413, 428, 447.
 —, —, nach BOTEZ 428, 450.
 —, —, nach FERMI 416, 418, 447.
 —, —, nach FERRAN 429, 448.
 —, —, nach HARRIS 429, 448.
 —, —, nach HEMPT 424, 429, 451.
 —, —, nach HÖGYES-PHILLIPS 412, 446.
 —, —, nach KELSER 425.
 —, —, nach MULFORD 420.
 —, —, nach PASTEUR 410, 426, 445, 449.
 —, —, nach PEREIRA DA SILVA 421, 424.
 —, —, nach PHILLIPS 448.
 —, —, nach PROESCHER 429, 448.
 —, —, nach PUNTONI 419, 447.
 —, —, nach REMLINGER 414, 429, 449.
 —, —, nach SEMPLE 419, 447.
 —, —, nach THEODORASCO 428, 450.
 —, Konservierung 407.
 —, Polyvalenz 406.
 —, Wirksamkeit beim Menschen 434.
 —, —, im Tierversuch 437, 438, 445.
 Lyssaschutzimpfung beim Menschen 401.
 —, einzeitige 432.
 —, Impfschäden 409, 433, 454.
 —, Intensivierung 427, 430, 448.
 —, Schnellimmunisierung 428, 431.
 —, Statistik 433, 434, 452.
 —, Verfahren, Übersicht 445.
 Lyssavirus, Ausscheidung 121.
 —, —, in der Inkubation 121, 170.
 —, —, nach abgelaufener Erkrankung 169, 171.
 —, —, Mechanismus 122.
 —, —, Hitzeresistenz 5.

- Lyssavirus, Inaktivierung im Zentralnervensystem** 121.
 —, Latenz im Zentralnervensystem 120, 171, 262.
 —, Varianten 176, 177, 404, 405.
 —, Vermehrung im Zentralnervensystem 121.
 —, —, Unterbrechung bei *Lyssa recurrens* 174.
 —, Wanderung in peripheren Nerven 120, 261, 401, 410.
 —, —, Geschwindigkeit 120, 262.
- Makromoleküle** 10.
 —, Infektionseinheiten und 10, 20, 46, 52.
 —, Partialstrukturen 11.
 —, Periodizität des Feinbaues 11.
 —, Vermehrungsfähigkeit 52.
- Marmorlungenkrankheit der Maus** 250.
- Masern** 114, 322.
 —, Behandlung mit Sulfanilamiden 322.
 —, —, prophylaktische 322f.
 —, —, therapeutische 322.
 —, —, Wirkung auf Komplikationen 322.
 —, —, Wirkung auf das Virus 322.
 —, Inkubation 114.
 —, Riesenzellenreaktion 116.
 —, Serumprophylaxe 115.
 —, Virusausscheidung 115.
 —, —, Beginn 114, 117.
 —, —, Ende 116.
 —, —, Mechanismus 116, 119.
 —, —, —, Funktion der Virämie 117.
 —, —, Nachweis 116.
 —, —, Ort 116, 119.
 —, Virusgehalt des Blutes 117.
 —, —, Inkubationsperiode 118.
 —, —, Eruptionsperiode 117.
 —, Virusgehalt der Leukocyten 118.
- Maul- und Klauenseuche, Chemotherapie** 329, 331.
 —, Virus 19.
 —, —, Anpassung an Mäuse 201, 221.
 —, —, Isolierung 9.
 —, —, Sedimentierungskonstante 19.
 —, —, Teilchengröße 19.
- Mäusestest nach WEBSTER** 438.
- Mäusevirus (LAIGRET und DURAND)** 204, 259.
- Mesenchymotrope Keime, filtrierbare** 258.
- Metaboliten der Bakterien** 285.
 —, —, essentielle 285.
 —, —, —, Hemmstoffe und 285.
 —, —, —, als Wuchsstoffe 285, 287.
- Moleküle, Begriff** 10.
 — als infektiöse Einheiten 8, 10, 20, 40, 46, 52.
 —, lebende 10, 26, 52, 69, 72.
- Mononucleosis infectiosa, Chemotherapie** 329.
 —, Serotherapie 329.
- Mosaikkrankheiten der Pflanzen** 479.
 —, Abgrenzung gegen andere Viruskrankheiten 483.
 —, allgemeine Charakteristik 485.
 —, generalisierte (System-) Infektionen 478, 482, 484.
 —, lokalisierte Infektionen 476, 486.
 —, Symptome an Blättern 480, 487ff.
 —, —, —, atypische 483.
 —, —, —, Aufhellung der Adern 481.
 —, —, —, Gürtelmuster 480.
 —, —, —, multiple kleinste Flecke 482.
 —, — an Blüten 483, 484.
 —, — an Früchten 483, 489.
 —, — an Stengeln 487, 492.
 —, Wirtspflanzen 479, 480.
- Multiple Virusinfektionen der Pflanzen** 503.
 — mit verwandten Virusarten 503.
 —, —, wechselseitiger Antagonismus 504.
 —, —, — der Typen des Gurkenmosaiks 504.
 —, —, — der Typen des Tabakmosaiks 504, 506.
 —, —, —, Mechanismus 505.
 —, —, —, Schutzwirkung 505.
 —, —, —, —, Bedingungen 505, 506f.
 —, —, —, —, Verwendung 510.
 — mit nicht verwandten Virusarten 510.
 — —, pathologische Effekte 510.
 — —, Ringfleckkrankheit + Tabakmosaik 510.
 — —, Ringfleckkrankheit + Gurkenmosaik 512.
 — —, Tabak- + Gurkenmosaik 512.
 — —, —, Verhältnis der Virusarten im Inoculum 512.
 — —, Streifenkrankheit der Tomaten (double virus streak disease) 513.
- Multipuncture** 377.
- Mutationen** 34.
 — durch chemische Eingriffe 30.
 — —, Schwund der chemischen Änderung im Wirt 31, 34.
 — durch Erhitzen 34.
 — durch Passagen 489.
 — durch Röntgenstrahlen 34.
- Myosin** 44.
 —, Doppelbrechung 44.
 —, Fadenmoleküle 44.
 —, Röntgendiagramme 44.
 —, Thixotropie 44.
- Myxomatose des Kaninchens, Virus** 45.

- Myxomatose, infektiöse Einheiten** 46.
 —, Molekulargewicht 46.
 —, Verhalten gegen Sulfonamide 329.
- Negrigenese bei Virus fixe** 401, 402.
Neuroprobiasie, Lyssavirus 401, 410.
Neurovaccine 357, 358.
Non-spotting diseases (Chlorosen, Hexen-
besen, Rosetten: siehe auch unter
diesen Bezeichnungen) 494.
- Normalproteine, hochmolekulare** 9, 20.
 — aus Hühnerembryonen 9, 21.
 — aus Hühnertumoren 21.
 — aus Mäuseembryonen 21.
 — aus Pflanzengewebe 21.
 — aus tierischen Geweben 9, 21.
 —, Molekulargewicht 21.
 —, Umsetzung in Virusproteine 23, 27.
 —, Unterscheidung von Virusproteinen
 9, 21.
- Olou-Fato** 174, 177.
 —, Virus des 404, 405.
- Organismen, Begriff** 10.
 —, kernlose 52.
 —, Moleküle und 8, 10.
- Ornithosis** 145, 150.
 —, Verhältnis zur Psittacosis 145.
 —, Provokation, unspezifische 150.
 —, — durch Avitaminose 150.
- Pappataciefieber, Virusträger** 96.
 —, abortive Fälle 96.
 —, latente Infektionen 97.
 —, —, epidemiologische Bedeutung 97.
 —, Virusabschwächung im Insekt 97.
- Parotitis epidemica, Chemotherapie**
 328.
- Persistenz von Virus im Wirte** 123, 126,
 133, 152, 161, 311.
 —, bevorzugte Organe 126, 133, 311.
- Pflanzenkrankheiten, siehe Viruskrank-**
heiten der Pflanzen.
- Phagen-Vorläufer (phage-precursor)** 22,
 54.
 —, Aktivierung 22, 54.
 —, Inaktivierung durch Hitze 37.
- Phagocytose** 294.
 —, Rolle bei der Sulfonamidwirkung
 294.
 —, Zellparasitismus und 295.
- Phlebotomenfieber, siehe Pappataci-**
fieber.
- Phylogene der Virusarten** 70.
 —, Abstammung von freilebenden Virus-
 formen 70, 72.
 —, Entstehung durch parasitische Rück-
 bildung 71.
- Phytopathogene Virusarten** 473.
 —, Ausbreitung in der Pflanze 477, 478.
 —, —, Geschwindigkeit 478.
 —, Eintrittspforten 476.
 —, Primärläsionen 478.
 —, Sekundärläsionen 478.
 —, Übertragung durch Insekten 494.
 —, — durch Nadelstiche 476.
 —, — durch Pfropfung 494.
- Pleuropneumonie-ähnliche Mikroben** 101,
 201, 220, 242, 258.
 —, latente Infektion 101.
 —, — als Folge der Lokalisation 101.
 —, Pathogenität 101.
- Pleuropneumonie der Rinder** 5, 51.
 —, Chemotherapie 332.
- Pneumotrope Virusarten** 227, 230, 306.
 —, Frettchen 230.
 —, Kaninchen 230.
 —, Mäuse 227, 250.
 —, Meerschweinchen 230.
- Pocken, siehe Variola.**
- Pockenimpfung, siehe Vaccination.**
- Pockenimpfstoff, Ausgangsstämme** 352,
 366.
 —, Auswertung 372.
 —, Degeneration der Virusstämme 353.
 —, Dermovaccine (siehe auch daselbst)
 355.
 —, Eihautvaccine (siehe auch daselbst)
 358, 371.
 —, Entkeimung 355, 370.
 —, Gehirnlapine 357.
 —, Gewinnungstechnik 369.
 —, Hodenlapine 357.
 —, humanisierte Lymphe 353, 367.
 —, Konservierung 375.
 —, Kontrolle, bakteriologische 370.
 —, Kulturvaccine 358, 371.
 —, Neurovaccine 357, 358.
 —, Reinigung 356, 371.
 —, Retrovaccine 367.
 —, Selektion der Impfpusteln 367.
 —, Stabilisierung der Virusstämme, 354,
 366.
 —, Trockenimpfstoff 375.
 —, Variola-Vaccinevirus 352.
- Poliomyelitis (siehe auch P.-Virus)** 104,
 153.
 —, abortive Fälle 105, 106.
 —, Antikörper 110.
 —, — bei normalen Tieren 110.
 —, —, Entstehung durch Antigenkontakt
 110.
 —, —, — durch serologische Reifung 112.
 —, —, —, unspezifische 110, 111.
 —, —, Erzeugung durch abgetötetes
 Virus 110.

- Poliomyelitis, Antikörper, Nachweis 112.
 —, Ausscheider, rekonvaleszente 153.
 —, Ausscheidung des Virus, Mundsekret 105, 154.
 —, —, Nasensekret 105, 154.
 —, —, Nasopharyngealsekret 105.
 —, —, Stuhl 105, 106, 109, 154.
 —, —, —, Alter der Kranken 159.
 —, —, —, Dauer 161.
 —, —, —, Konzentration 160.
 —, —, Tonsillen 105.
 —, Autarcesis 113.
 —, Beziehungen zur Encephalomyelitis der Mäuse 104.
 —, Chemotherapie 326, 332.
 —, Epidemiologie 113, 156, 158.
 —, gastrointestinale Theorie 156.
 —, Immunität 111.
 —, —, humorale 111.
 —, —, Schienenimmunität 112.
 —, latente Durchseuchung 109.
 —, —, epidemiologische Beweise 109.
 —, —, serologische Beweise 109.
 —, latente Infektionen 105.
 —, Resistenz, physiologische 113.
 —, Träger, gesunde (Kontaktfälle) 105, 113.
 Poliomyelitisvirus 104, 153, 195, 205, 207, 214, 245.
 —, Anpassung an Ratten und Mäuse 214, 245, 247.
 —, — an- Meerschweinchen (Stamm „SK“) 214, 219.
 —, exogene Vermehrung 158.
 —, heterologe Passagen 216.
 —, Hirnblindpassagen 214.
 —, Lokalisationen in Leichen 154.
 —, —, Bulbus olfactorius 155.
 —, —, Colon descendens 155, 157.
 —, —, Ileum 155, 157.
 —, —, Pharynx und Tonsillen 155, 157.
 —, —, Zentralnervensystem 155.
 —, Morphologie 43, 104.
 —, Nachweis 107.
 —, — im Abwasser 158.
 —, — im Mundspeichel 105, 154.
 —, — im Nasensekret 105, 154.
 —, — im Nasopharyngealsekret 105, 109, 159.
 —, — im Stuhl 105, 106, 108, 109.
 —, —, —, Spezialmethoden 108.
 —, — im Urin 107.
 —, Pathogenitätssteigerung, unspezifische 245, 246.
 —, Übertragung, experimentelle, auf Affen 107.
 —, —, enterale 156.
 —, —, intracerebrale 107.
 Poliomyelitisvirus, Übertragung, intranasale 107.
 —, —, intraneurale 155.
 —, —, intraperitoneale 107.
 —, —, Verhalten verschiedener Affenspezies 156, 157.
 —, —, natürliche, auf Menschen 113, 156.
 —, —, nasal 156.
 —, —, per os 113, 156.
 Polyederkrankheiten der Raupen 9, 27, 45.
 —, Polyeder 45.
 —, Viruselemente 45.
 Position effect 66, 67.
 Pressure vaccination 377.
 Primovaccination, Zeitpunkt der 383.
 Proteine (siehe auch Normalproteine) 10.
 —, Denaturierung durch Hitze 37.
 —, Moleküle 11.
 —, —, Aufbau 11.
 —, —, Formen 11.
 —, —, Fragmentierung 11.
 —, Molekulargewichte 11.
 —, — als Multiple einer Grundzahl 11.
 —, Sedimentierungsgeschwindigkeit 11.
 —, Serumglobuline 10.
 —, Synthese, intracellulare 56.
 Provokation, unspezifische, manifester Virusinfektionen 195.
 —, Bedeutung 204.
 — durch Blindpassagen 197, 208.
 — durch harmlose Substanzen 201, 236.
 —, —, Äquivalenz dieser Substanzen 203.
 —, —, Fehlerquellen 202.
 — durch infektiöse Agenzien 203, 231, 242, 252, 254.
 — durch Injektion von Blut 202, 249.
 — — von Bouillon 201, 239.
 — — von Glycerin 202.
 — — von Serum 201, 240, 250.
 — — von Stärke 201, 202, 240.
 — durch Radiumbehandlung 240.
 — durch Impfung in hochempfindliche Gewebe 203, 255.
 —, — bei der Encephalomyelitis der Mäuse 256.
 —, — bei Kanarienvogelpocken 256.
 —, — beim Speicheldrüsenvirus 255.
 — durch Verimpfung auf hochempfindliche Wirte 204, 259.
 Pseudorabies (AUJESZKYSCHÈ Krankheit) 207.
 —, Chemotherapie 329, 332.
 Psittacosis (siehe auch Ps.-Virus und Ornithosis) 136.
 —, Chemotherapie 307, 328.

- Psittacosis des Menschen 136.
 —, —, Ausscheider 136.
 —, —, —, gesunde Träger 136, 137.
 —, —, —, Rekonvaleszenten 137, 138.
 —, —, Immunität, erworbene 136, 138.
 —, —, Infektionen, latente 136.
 —, —, —, Kontagiosität 137.
 —, —, Persistenz des Virus 138, 139.
 —, —, — im Blute 137, 139.
 —, —, — im Respirationstrakt 139.
 —, —, Reinfektionen 138.
 —, —, Virämie 142.
 —, —, Virusbefunde im Sputum 141.
 —, —, —, Ursachen der negativen Resultate 141.
 —, Mäuse als Virusausscheider 144.
 —, —, Immunität 143.
 —, —, Kontaktinfektionen 144.
 —, —, Latenz experimenteller Infektionen 143.
 —, —, —, Milztumor als Indikator 143.
 —, —, Persistenz des Virus 143.
 —, —, —, cellularer Mechanismus 143.
 —, —, —, Verweilorgane 143.
 —, Vogelarten, empfängliche 145.
 —, Ornithosis und 145, 150.
 — bei Wellensittichen 146.
 — —, Virusausscheidung 146.
 — —, — durch Nasenschleim 146.
 — —, — durch die Nieren 146.
 — —, — durch den Kloakeninhalt 146.
 — —, Inkubation 149.
 — — in Käfiggemeinschaften 148.
 — — —, Entseuchung 148.
 — —, latente Infektionen 149.
 — —, —, Milztumor 146.
 — —, Virusnachweis 146.
 — —, Virusträger, geschlossene 148.
 — —, Übertragungsarten 147.
 — —, — von Sittich zu Sittich 147.
 — —, — von Sittich zu Mensch 147.
 Psittacosevirus 49, 136, 235.
 —, Antikörper 138.
 —, Blindpassagen, intraperitoneale 137, 235.
 —, Dimensionen 5, 49.
 —, empfängliche Wirtsarten 136, 143, 145.
 —, Entwicklungszyklus 50.
 —, mikrobieller Charakter der Elemente 49.
 —, Nachweis 136, 139.
 —, — im Blute 136, 142.
 —, — im Harn 142.
 —, — in Mundspülflüssigkeit 142.
 —, — im Sputum 139, 141.
 —, — im Stuhl 142.
 —, —, Kriterien der Befunde 141.
 Psittacosisvirus, Nachweis, Methoden 139.
 —, Pleomorphismus 49.
 —, Resistenz gegen Austrocknen 147.
 —, Teilungsformen 49.
 —, Übertragung, Mensch zu Mensch 137.
 —, —, Maus zu Mensch 144.
 —, —, Vogel zu Mensch 147.
 —, —, Sittich zu Sittich 147.
 —, — auf Vögel durch infiziertes Futter 147.
 Rage de laboratoire 409, 433.
 Retrovaccine 354, 367.
 Retrovaccination, Ergebnisse 358, 387.
 —, Klassifikation der Befunde 384.
 Rhinovaccination 382.
 Ribonucleotid 13, 26, 31, 47.
 Ringfleckenkrankheiten der Pflanzen 492.
 —, allgemeine Charakteristik 492.
 —, Kartoffelvirus X als Agens 493.
 —, —, Bronzefleckenkrankheit 493.
 —, —, Ringmosaik 493.
 —, Tabakpflanze 493.
 —, —, Krankheitsverlauf 493.
 —, —, Latenz, chronische 493.
 —, —, Viruswirkung auf Spinat 494.
 —, Typen der Blattläsionen 493.
 Roller-tube-cultures 365, 372.
 Rolling disease 204, 220, 241.
 —, Hirnpassagen 221, 243.
 Rosettenkrankheiten 474, 494.
 —, Erdnuß (peanut) 494.
 —, Pfirsich 494, 499.
 Rotlaufseuche der Pferde 167.
 —, Dauerausscheider 168.
 —, empfängliche Tierspezies 167.
 —, Immunität, infektiionsgebundene 168.
 —, Kontagiosität 168.
 —, — in der Inkubation 169.
 —, Übertragungsarten 168.
 —, Virus im Blute 167.
 —, — —, Persistenz 167.
 —, — im Speichel 167.
 —, — im Sperma 167.
 —, — —, Persistenz 167.
 Schweineinfluenza 152, 177.
 —, Ätiologie, komplexe 177.
 —, Auftreten im Winter 178.
 —, Epizootologie 177.
 —, Haemophilus influenzae suis 177.
 —, —, Persistenz im Schwein 178.
 —, Lungenwürmer als Zwischenwirte 178.
 —, Regenwürmer als Zwischenwirte 178.
 —, Virus, maskierte Form 178.
 —, —, Aktivierung, experimentelle 178.
 —, —, —, unspezifische 179.

- Schweinelähmung, infektiöse 332.
 —, —, Chemotherapie 332.
 Sierovaccino nach FERMI 416, 430.
 Simultanimpfung bei Pocken 382.
 — bei Lyssa 417.
 Speicheldrüsenvirus 102, 196, 203, 211, 255.
 —, Antikörper 103.
 —, Hirnpathogenität 103, 255.
 —, Immunität, erworbene 102.
 —, Kerneinschlüsse 102.
 —, Kontagiosität 103.
 —, Latenz 102.
 Spermatozoën, Nucleoproteine 45.
 —, —, parakristalline Struktur 45.
 Spreading factor 246.
 Statistik der Lyssaschutzimpfung 433, 434, 452.
 — der Pockenschutzimpfung 385, 387.
 Staupe der Hunde 320.
 —, Chemotherapie (Sulfonamide) 320.
 —, —, Wirkung auf Mischinfektionen 320.
 —, —, — auf das Virus 320.
 Straßenvirus der Lyssa, antigene Qualität 405.
 —, atypische Stämme 405.
 —, Fixierung 403, 404.
 —, Inkubationsperiode 404.
 —, Pluralität, immunologische 405.
 Sublimat, Wirkung auf Staphylokokken 283.
 —, —, Antagonismus der SH-Gruppe 283.
 Strahlen, ionisierende 6, 20, 38.
 —, —, Bestimmung der Teilchengröße durch 20.
 —, —, Inaktivierung durch 6, 20, 38.
 Sulfanilamide, Dynamik 272ff.
 —, antiinfektiöse Wirkung und Phagocytose 294.
 —, Ausscheidung 303.
 —, bakteriostatische Wirkung 280.
 —, —, Bakterienspezies und 288ff.
 —, —, Bakterienstämme und 293.
 —, —, Definition 280.
 —, —, Inhibitoren 282f.
 —, —, Mechanismus 284f.
 —, —, Prüfungsmethoden 281.
 —, —, Stoffwechsel und (siehe auch Metaboliten) 283f.
 —, biologische Beziehungen zu Bakterien 282.
 —, chemische Struktur 273.
 —, —, Wirkung und 278, 288f.
 —, Erprobung, in vitro 280.
 —, —, tierexperimentell 296.
 —, —, klinisch 298.
 Sulfanilamide, intralumbale Injektion 329.
 —, Konzentration im Blute 293, 303, 311.
 —, — im Zentralnervensystem 303.
 —, Paraminobenzoësäure, Antagonismus 284f.
 —, —, fehlender Antagonismus 291f.
 —, Spezifitätsmangel 288.
 —, tabellarische Übersicht 275f.
 —, Toxizität 279, 310.
 —, vergleichende Bewertung, experimentelle 281, 302.
 —, Wirkungen auf Bakterienformen 280.
 —, — auf höhere Pflanzen 288.
 —, — auf intracelluläre Bakterien 293f.
 —, — auf Rickettsien 308.
 —, — auf Virusarten im allgemeinen 271.
 Sulfanilamidderivate 272f.
 —, Albucid 275, 290, 304, 315.
 —, Amonal 278, 291.
 —, Cibazol (Eleudron) 275, 287, 304, 315.
 —, Dagenan (Eubasin, Haptocil, M + B 693) 276, 290, 304, 315.
 —, Diphenylsulfone 277, 290.
 —, Diseptale 276, 304.
 —, Disulon 276, 304.
 —, G 111 304.
 —, Globucid 275.
 —, Iloin 304.
 —, Irgafen 275.
 —, Irgamid 275, 319.
 —, Lucosil 276.
 —, Lutazol (G 33) 290, 305.
 —, Marfanil 278, 291.
 —, Neo-Uliron 276, 304.
 —, p-Nitrobenzoësäureester 278.
 —, N₁-substituierte 275.
 —, N₁-heterocyclisch substituierte 276.
 —, N₄-substituierte 276.
 —, Promin 277, 304.
 —, Prontosil rubrum 276, 304, 318, 320.
 —, —, Spaltung im Organismus 273.
 —, — solubile (Neoprontosil) 277, 304, 313.
 —, Rodilon 277, 304.
 —, Rubiazol 277, 304.
 —, Septazin 277, 304, 312.
 —, Soluseptazin 277, 304, 320.
 —, Sulfadiazin 276, 289, 290, 304, 306.
 —, Sulfaguanidin 276, 289, 304, 306.
 —, Sulfanilamid (Prontalbin) 275, 289, 304, 312, 318, 319, 320.
 —, — als Grundkörper 274.
 —, Sulfapyridin 276, 289, 290, 304, 306, 315.
 —, Sulfamethylthiazol 275, 304.
 —, Sulfathiazol 275, 289, 290, 304, 306.
 —, Tibatin 277.
 —, p-Toluolsulfonamid 278, 291.

- Sulfanilamidderivate, Toxizität 279, 310.
 —, Uliron 276, 304, 306.
 —, Ultraseptyl 275.
- Tabakmosaikvirus 9, 12, 14, 15, 17, 20, 26, 27, 70, 480, 489.
 —, Aggregate der Teilchen 12.
 —, Aktivierung durch Röntgenstrahlen 33.
 —, Aminosäuren der Proteinkomponente 27.
 —, chemische Struktur 13, 26.
 —, Elemente, stäbchenförmige 13.
 —, —, Assoziat 14.
 —, —, Fragmentierung durch Ultraschall 15.
 —, —, — durch Änderung des p_H 13.
 —, —, spontane Reaggregation 16, 32.
 —, Inaktivierung durch Formaldehyd 28.
 —, — durch Harnstoff 27.
 —, — durch Invertseifen 29.
 —, — durch ionisierende Strahlen 6, 20, 38.
 —, — durch Keten 30.
 —, — durch Nucleotidase 31.
 —, — durch Phenylisocyanat 30.
 —, — durch thermische Einflüsse 35.
 —, — durch Ultraschallwellen 15.
 —, Kristallisation 42.
 —, Markierung durch Radiophosphor 24.
 —, Molekulargewicht 12.
 —, Morphologie, elektronenoptisch 14.
 —, Mutation durch Röntgenbestrahlung 34.
 —, — durch Passagen 489.
 —, Nucleinsäuregehalt 13, 26, 31.
 —, pathologische Auswirkungen 480, 487f.
 —, Proteinkomponente 27.
 —, Sedimentierungskonstanten 12, 13, 18.
 —, Strömungsanisotropie 13.
 —, Trypsinresistenz 23.
 —, Untereinheiten, chemische, der Virusmoleküle 12, 32.
 —, —, Molekulargewicht 13.
 —, Variabilität der Stäbchenlängen 17.
 —, —, biologische Deutung 17.
 —, Vermehrung als morphologisches Problem 17.
 —, Verschiedenheiten der Stämme 18, 26, 35.
 —, —, chemische 26, 27.
 —, —, morphologische 17.
- Tactoide 45.
- THEILERSche Krankheit, siehe Encephalomyelitis der Mäuse.
- Thixotropie 44.
- Thixotropie, Myosin 44.
 —, Tabakmosaikvirus 44.
 Thymonucleinsäure 65.
 Tierpockenvirus 352.
 Toxine bei Rickettsien 60, 90.
 — aus virusinfizierten Pflanzen 60, 90.
 Trachom 312.
 —, Ätiologie 312.
 —, Chemotherapie 312.
 —, —, Sulfonamide 312.
 —, —, —, Behandlungsdauer 313.
 —, —, —, Dauerheilungen 316.
 —, —, —, Dosierung 313, 315.
 —, —, —, Erfolge 315, 316.
 —, —, —, externe und interne Anwendung 314.
 —, —, —, Rezidive 314, 315, 316.
 —, —, —, Spezifität der Wirkung 313, 314, 316.
 —, —, —, Stoßtherapie 315.
- Trinidadkrankheit 174.
 —, südbrasilianische Wutepizootien und 177.
 —, Virus 175, 177, 405.
 —, Desmodusarten als natürliche Wirte 174.
 —, — als Virusausscheider 177.
 —, —, experimentelle Infektionen mit Lyssavirus 175.
 —, —, natürliche Ansteckung 174.
 —, —, Verseuchungszustand 175.
 —, klinisches Verhalten 176.
 —, Übertragung auf Rinder und Menschen 174.
 —, —, Folge der Ernährung der Vampire 177.
- Trockenimpfstoffe zur Lyssaschutzimpfung 408.
 — zur Vaccination 375.
- Trypsinogen 54.
 —, Aktivierung durch Trypsin 54.
 —, —, Modell der Virusvermehrung 54.
- Tumorvirus 21, 22, 24.
 —, endogene Entstehung 22.
- Ultraschallwellen, Wirkung 15.
 —, — auf Bakterien 16.
 —, — auf Influenzavirus 16.
 —, — auf Lyssavirus 415.
 —, — auf Poliomyelitisvirus 16.
 —, — auf Tabakmosaikvirus 15.
 —, —, —, Fragmentierung der Stäbchen 15.
 —, —, —, elektronenoptisch untersucht 15.
 —, —, —, Reaggregation nach Fragmentierung 16.
 —, —, —, Inaktivierung 15.

- Ultraschallwellen, Wirkung auf Vaccinevirus 15.
- Vaccination, siehe auch Pockenimpfstoff.
- , cutane und epidermale 376.
 - , Impfinserktionen, Anzahl 377.
 - , Impfschutz 384.
 - , intracutane 380.
 - , intranasale 382.
 - , Kombination mit anderen Impfungen 383.
 - , Multipuncture 377.
 - , Pressure vaccination 377.
 - , Primovaccination, Zeitpunkt 383.
 - , Revaccination 384, 387.
 - , Simultanimpfung 382.
 - , subcutane 379.
 - , Statistik 385, 387.
- Vaccine, rein animale 353, 355, 357.
- Vaccinevirus, siehe auch Pockenimpfstoff.
- , Degeneration 353.
 - , humanisiertes 353, 354.
 - , Infektionsspektrum 353.
 - , Neutralisationstest 385.
 - , Stabilisierung 354, 367.
- Vaccinevirus, Elementarkörperchen 6, 20, 48.
- , Enzymgehalt 6.
 - , Inaktivierung 6, 15, 20, 38, 49.
 - , Kupfergehalt 6.
 - , Lipoidgehalt 6.
 - , Membranen 48.
 - , Morphologie 6, 48.
 - , Organismen oder Riesenmoleküle 48.
 - , Osmose 48.
 - , Resistenz gegen Trocknung 48.
 - , Struktur 48.
 - , Verhalten in der Ultrazentrifuge 19.
 - , Wassergehalt 48.
- Variola 207, 323.
- , Sulfamidtherapie 323.
 - , —, Erfolge 324f.
 - , —, Spezifität 323.
 - , —, Wirkungsmechanismus 323.
- Variola-Vaccinevirus 352.
- Varicellen 114.
- , Inkubation 114, 116.
 - , — nach cutaner Inokulation 117.
 - , — nach Impfung der Respirations-schleimhaut 117.
 - , —, natürliche 114, 117.
 - , Virus 208.
- Verdrängungshypothese 284, 307.
- , Einwände 286, 291.
- Virus attenué der Lyssa 404, 405.
- Virus D.-K. 405.
- Virus III 195, 205, 208.
- Virus III, latente Infektion des Kaninchens 211.
- Virus fixe der Lyssa (siehe auch Lyssa-impfstoff) 401.
- , antigene Qualität 402.
 - , Haftfähigkeit, periphere 401, 402, 403.
 - , Immunisierungsmechanismus 443.
 - , Infektiosität 401, 412.
 - , Inkubationsperiode 401, 402.
 - , Negri-genese 401, 402.
 - , Neuroprobiasie 401, 410.
 - , Pathogenität für Kaninchen 402.
 - , Reversibilität 402.
 - , Veränderlichkeit 401.
 - Kobayashi 405.
 - Koritschoner 405.
 - Oulou-Fato 405.
 - renforcé der Lyssa 404, 405.
 - Sassari 402.
- Virus „S“ 213.
- Virusarten, siehe auch Elementarkörperchen.
- , belebte Natur 1, 2, 19, 42, 47, 52, 68, 70.
 - , Organismen und 8, 26, 47, 50, 52, 68.
 - , Dimensionen 5, 19, 46.
 - , —, obere Grenze 5, 48, 51.
 - , —, untere Grenze 5, 51.
 - , dimensionale Skala 46.
 - , —, biologische Deutung 50.
 - , Entstehung durch Entdifferenzierung 51.
 - , Gastwirtbeziehungen 68.
 - , Isolierung 9.
 - , —, phytopathogener 9.
 - , —, tierpathogener 9.
 - , molekulardisperse (siehe auch Makromoleküle) 8, 10.
 - , Nucleoproteincharakter 26.
 - , Parasitismus 3, 4.
 - , Pathogenitätssteigerung, unspezifische 245, 248, 250.
 - , Resistenz gegen Trocknung 4, 48.
 - , saprophytische 51, 71.
 - , Stoffwechsel 24, 27, 47.
 - , Systeme 7, 52.
 - , Teilungsformen 50.
 - , Vermehrung, siehe Virusvermehrung.
 - , Vermehrungsfähigkeit, Latenz 4.
 - , Verschiedenheiten 6, 26.
 - , —, chemische 6, 27.
 - , —, enzymatische 6.
 - , —, morphologische 6.
 - , —, serologische 27.
 - , —, tinktorielle 6.
 - , Zellkerne und 26.
 - als Verunreinigungen 205.
 - , — von Rekonvaleszenten sera 206.

- Virusarten, als Verunreinigungen von Schutz- und Heilsera 206.
 —, — von Transplantaten 206.
 —, — von Virusimpfstoffen 205, 259.
 Virusbegriff 4.
 —, allgemeine Kriterien 5.
 —, biologische Inhomogenität 6.
 —, methodologische Einheitlichkeit 7.
 Virusentstehung, endogene 21, 70, 72.
 —, Phagen 22.
 —, Tabakmosaikvirus 22.
 —, Solanumvirus VII, 24.
 —, Vaccinevirus 24.
 Virusinfekte, manifeste, unspezifische Beseitigung 206.
 Viruskrankheiten 7, 89.
 —, der Pflanzen, siehe daselbst.
 — — (siehe auch phytopathogene Virusarten) 473.
 —, ätiologische Diagnostik 479, 510.
 —, allgemeine Pathologie 473.
 —, Benennung 474.
 —, Blattrollkrankheiten, siehe daselbst.
 —, Classification 473.
 —, Einschlußkörperchen 479.
 —, Gallenbildung 479.
 —, Heilung 503, 514.
 —, —, chemotherapeutische 503.
 —, —, operative 503.
 —, —, thermische 500, 502, 503.
 —, —, Verlust der Immunität durch 502, 514.
 —, Hexenbesen, siehe daselbst.
 —, Immunität 493, 504.
 —, infektiöse Chlorosen, siehe daselbst.
 — ohne Fleckenbildung auf Blättern, siehe non spotting diseases.
 —, Kräuselkrankheiten, siehe daselbst.
 —, latente (maskierte) 474, 488, 514.
 —, Letalität 474, 514.
 —, mikroskopische Befunde 478.
 —, Mosaikkrankheiten, siehe daselbst.
 —, multiple Infektionen, siehe daselbst.
 —, nekrotisierende Effekte 475, 487, 489f.
 —, pathologische Wirkungen, makroskopische 475f.
 —, Ringfleckenkrankheiten, siehe daselbst.
 —, Rosettenkrankheiten, siehe daselbst.
 —, symptomatologische Identifizierung 473, 483.
 —, verwandtschaftliche Beziehungen 475.
 —, —, Kriterien 475, 504, 510.
 Viruskrankheiten, verwandtschaftliche Beziehungen, serologische Feststellung 510.
 —, Wachstumsstörungen 474, 496.
 —, wirtschaftliche Bedeutung 474.
 Virusproteine 8.
 —, chemische Beziehungen zu Zellkernen 26.
 —, Entstehung aus Normalproteinen 23, 25, 60, 62.
 —, Isolierung 9.
 —, —, chemische 9.
 —, —, Ultrazentrifuge 9, 19.
 —, —, phytopathogener Arten 9.
 —, —, tierpathogener Arten 9.
 —, makromolekularer Charakter 10.
 —, Nucleinsäuregehalt 26.
 —, Proteinkomponente 27.
 Virusvermehrung 27, 53.
 —, Abhängigkeit von Zellen 4, 57.
 —, Aktivierung von Vorstufen 54, 56.
 —, autokatalytische 54, 56, 61, 68.
 —, chemische Grundlage 27.
 —, —, Aminogruppen 28, 30.
 —, —, Hydroxylgruppen 30.
 —, —, Nucleinsäuren 31.
 — in der Chorionallantois 58.
 — durch Denaturierung der Wirtspoteine 59.
 —, endogene 70, 72.
 — durch enzymatische Proteinsynthese 56.
 — als Resonanzphänomen 61.
 — durch Umformung von Wirtspoteinen 23, 25, 60, 62.
 Viruszüchtung 58.
 — auf der Chorionallantois 58, 302.
 — im Dottersack 302.
 —, Universalmethoden 57f.
 Wuchsstoffe (siehe auch Metaboliten) 285.
 —, Abgrenzung gegen essentielle Metaboliten 285, 287.
 X-Virus der Kartoffel 473, 493.
 —, Identifizierung 473.
 —, Isolierung 9.
 —, Kombination mit Tabakmosaikvirus bei Tomaten (double-virus streak) 513.
 —, Ringfleckenstämme 493.
 —, Variabilität der pathologischen Auswirkung 473.
 Yellows, siehe Chlorosen, infektiöse.