

Handbuch der pathogenen Mikroorganismen

begründet von

W. Kolle und **A. v. Wassermann**

Dritte, erweiterte Auflage

Mit Einschluß der Immunitätslehre und Epidemiologie
sowie der mikrobiologischen Diagnostik und Technik
von Fachgelehrten neu bearbeitet und herausgegeben von

W. Kolle

Frankfurt a. M.

R. Kraus

Wien

P. Uhlenhuth

Freiburg i. Br.

Lieferung 6

Band II, S. 1–316

Mit 21 Figuren im Text.

Inhalt:

Aktive Immunisierung und Herstellung von Antigenen. Von Prof.
Dr. M. Ficker, Berlin-Dahlem

Erzeugung der Antikörper. Von Dr. R. Bieling, Hoechst a. M.

Konzentration und Reindarstellung der Antikörper. Von Dr.
St. Bächer, Wien

Die Wertbemessung der Schutz- und Heilsera. Von Prof. Dr. R. Otto,
Berlin, und Prof. Dr. H. Hetsch, Frankfurt a. M.

Gustav Fischer und **Urban & Schwarzenberg**

Jena

1927

Berlin und Wien

I.

Aktive Immunisierung und Herstellung von Antigenen.

Von

Prof. Dr. M. Ficker,

Berlin-Dahlem.

Eine aktive Immunität auf künstlichem Wege herbeizuführen ist mit den verschiedensten Maßnahmen möglich, deren prinzipiell wichtigste schon in den ersten Anfängen der experimentellen Immunitätsforschung geübt worden sind. Schon *Pasteur* impfte mit lebenden, abgeschwächten Krankheitserregern, *Salmon* u. *Th. Smith*, *Chamberland* u. *Roux* bedienten sich bereits mit Erfolg der abgetöteten Bakterienzellen und der keimfreien Kulturfiltrate.

Ein methodischer Ausbau dieser Verfahren erfolgte indessen erst, als die Reinkultivierung von Krankheitserregern zum Gemeingut wurde, als damit die exakte Abmessung der zu Impfzwecken dienenden Bakterien oder ihrer Produkte ermöglicht war und als fernerhin durch die Entdeckung der Antikörper Kriterien für den Immunisierungseffekt zur Verfügung standen.

Mit Hilfe dieser uns von *R. Koch*, *v. Behring*, *Ehrlich* u. a. in die Hand gegebenen Mittel ist die Methodik der aktiven Immunisierung in kurzem Zeitraum in unübersehbar mannigfachen Variationen zur Anwendung gekommen, und noch sind die Forscher emsig an der Arbeit, neue zu suchen und die alten zu erweitern und zu verbessern.

Die Fähigkeit des Organismus, die künstliche Zufuhr der verschiedenartigsten körperfremden Substanzen mit der Bildung spezifisch bindender Schutz- und Reaktionsstoffe zu beantworten, ist eine vielseitigere, als man je geahnt hat: so ist die Methodik der aktiven Immunisierung heute über ihr ursprüngliches Ziel, den Schutz des Individuums herbeizuführen, weit hinausgewachsen und ermöglicht das Vordringen in die mannigfachsten biologischen Probleme.

Konnten in früheren Darstellungen alle diese Methoden, wie sie für die Schutzimpfung, für die Herstellung der Heil- und Schutzsera, für die Erzeugung diagnostisch wichtiger Antikörper sowie für biochemische Zwecke geübt worden, einheitlich zusammengefaßt werden, so empfiehlt es sich heute, sie nach ihren Zielen gesondert zu behandeln. Im vorliegenden Beitrage sollen in erster Linie die Methoden der aktiven Immunisierung zum Zweck des Schutzes gegenüber Infektion besprochen werden. Sie lassen sich auf einige wenige, anfangs

genannte Prinzipien zurückführen. Warum nun diese zahllosen Modifikationen und das andauernde Suchen nach weiteren? — Es kann in der Tat nur von ganz vereinzelt Methoden der aktiven Immunisierung heute behauptet werden, daß sie nichts zu wünschen übrig lassen. Wir haben zwar gelernt, geradere und sicherere Wege zu gehen, aber noch immer muß man damit rechnen, daß schon geringe Abweichungen von einem sonst erprobten Verfahren den Erfolg in Frage stellen und daß ein anderes Mal das Festhalten an einem Schema zu Enttäuschungen führen kann.

Die Gründe für diese Unsicherheiten ergeben sich vor allem daraus, daß die spezifisch wirksamen Stoffe des Impfmateri als und der entstehenden Reaktionsprodukte uns chemisch unbekannt sind, daß das Antigen und der zu schützende Organismus, auch wenn wir peinlichst diejenigen Versuchsbedingungen innehalten, deren Gestaltung an uns liegt, nicht notwendig die gleichen sind, und daß als Folge der gegenseitigen Beeinflussung dieser Unbekannten das eine und andere Mal verschiedene Effekte sich ergeben können.

Selbst wenn es uns geglückt sein sollte, Antigene vergleichbarer Beschaffenheit im geeigneten Moment zur Anwendung zu bringen, so ist doch der nicht minder wichtige Faktor, der zu impfende Organismus, als eine in ihrer Kompliziertheit nicht immer konstante Größe hinzunehmen. Gerade dadurch, daß der verschiedenen Individualität nicht genügend Rechnung getragen worden ist, sind nicht so selten Methoden angepriesen worden, die alles andere als Paradigmata darstellen: der Wert von Immunisierungsmethoden läßt sich eben nur an großem Material bemessen. Und ohne Maß kein Wert: es ist deshalb hier auch darauf hinzuweisen, daß in bezug auf die Kontrolle des Impferfolges eine weitgehende Willkür herrscht. Es ist gewiß nicht leicht, die Grenze, an welcher die unspezifische Resistenz aufhört und die spezifische Immunität beginnt, zu finden: aber sie muß gezogen werden, wenn ein Verfahren beansprucht, eine Methode der Immunisierung genannt zu werden. Auch der Maßstab der Antikörperprüfung *in vitro* kann heute noch durchaus nicht als ein in jedem Falle zuverlässiger und zutreffender bezeichnet werden. Hier bleibt noch viel zu tun, wenn die Methodik der aktiven Immunisierung aus der Unsicherheit herauskommen soll.

Rechnet man zu alledem hinzu, daß manche der angegebenen, schwer kontrollierbaren Methoden noch dazu unzureichend beschrieben sind, so kann es nicht wundernehmen, daß es heute unmöglich ist, eine kritische Sichtung der ganzen Materie vorzunehmen, es kann daher auch diese Darstellung zunächst nur einen Überblick über die wichtigeren, überhaupt angewandten Methoden bringen, wobei besonders erprobte hervorgehoben werden sollen.

A. Aktive Immunisierung.

I. Immunisierung mit lebenden vollvirulenten Krankheitserregern.

Die Methode der Immunisierung mit lebenden vollvirulenten Krankheitserregern hat den Vorteil, daß sie sich eines unveränderten Antigens bedient, bei dessen Zusammentreffen mit dem Organismus eine dem natürlichen Immunisierungsvorgang entsprechende Reaktion

erfolgen kann. Das Bereich der Anwendung dieser Methode ist aber heute kein sehr großes.

Die relativ größte Sicherheit bietet die Methode dann, wenn ein dosierbares Antigen vorliegt, wenn dessen Virulenz bekannt ist und während des ganzen Immunisierungsverfahrens auf konstanter oder wenigstens bekannter Höhe gehalten werden kann. Aber auch dann muß man damit rechnen, daß besonders empfängliche Organismen einer Impfinfektion anheimfallen.

In der Regel eignen sich Kulturen auf künstlichen Nährböden am besten als Antigene für diese Methode.

Kennt man die Dosis minima letalis des Virus, so wird eine solche untertödliche Dosis zur Erzeugung der Grundimmunität am geeignetsten sein, die noch Krankheitserscheinungen hervorruft. Wie weit die kleinste krankmachende Dosis von der kleinsten tödlichen entfernt ist, ersieht man meistens aus dem Virulenzbestimmungsversuch. Wegen der Verschiedenheit der Empfänglichkeit auch von Versuchstieren gleicher Art und gleichen Gewichts wird man zur Erzeugung der Grundimmunität nicht zu nahe an die tödliche Dosis herangehen.

Die 2. Impfung wird vorgenommen, wenn alle Krankheitserscheinungen verschwunden sind und die Tiere an Gewicht wieder zunehmen, in der Regel ist das nach etwa 8 Tagen der Fall. Man steigert da die Antigenmenge auf das Doppelte, wartet wieder und steigert abermals (s. S. 97).

Erhebliche Unsicherheit tritt dann ein, wenn wegen der Kostspieligkeit des Tiermaterials Virulenzbestimmungen nicht vorgenommen werden können, dann wird man zwar empirisch doch zu einer Dosierung des Impfstoffes gelangen; Verluste sind aber unvermeidlich, zumal wenn unberechenbare Virulenzschwankungen auftreten.

Sind ferner die Erreger nicht züchtbar oder wegen Virulenzschwankungen nicht gut konservierbar, so vermindern sich ebenfalls die Sicherheitschancen der Impfung: es kann ungenügende Immunität oder aber gefahrbringende Infektion die Folge sein. Empirisch ist dann zu ermitteln, welche Tierart einen Impfstoff von gleichmäßiger Beschaffenheit liefert, dabei sind das Alter der Tiere, typischer Verlauf der Erkrankung, Tag der Impfstoffentnahme im Verlaufe oder nach dem Verlaufe der Krankheit zu berücksichtigen. Wie das Beispiel der Rinderpest lehrt, sind dann trotzdem brauchbare Impfergebnisse zu erzielen. Macht sich eine Auswertung doch nötig und liegt es in der Natur des Virus, daß sie längere Zeit beansprucht (bei Schweinepest 3 bis 4 Wochen), so gehört schon ein gewisser Mut dazu, ein solches Virus zur Immunisierung vor Abschluß der Prüfung zu verwenden. — Um Mittelwerte zu bekommen, mischt man dann das Virus von möglichst viel Tieren, das ergibt dann eine gewisse Gleichmäßigkeit. Trotzdem sind Impfinfektionen wegen Mangels einer Schnellmethode zur Virulenzbestimmung unvermeidlich (*Hatyra* u. *Köves*).

Ein weiterer Nachteil der Impfung mit vollvirulenten Krankheitserregern besteht darin, daß virulente Krankheitserreger bei dem Akt der Impfung, vor allem aber durch die Tiere selbst, namentlich wenn sie erkranken, propagiert werden können, so daß eine Gefahr für die Umgebung besteht. Diese Gefahr kann unter Umständen sehr lange andauern, wenn der Organismus dadurch zum Parasiten-träger wird.

Beispiele: 1. Verbreitung der Pocken durch Inoculation. 2. Bei der Schutzimpfung gegen Hämoglobinurie der Rinder werden die vorbehandelten Rinder parasitenhaltig und können parasitenhaltiges Blut an Zecken liefern, in deren Organismus der Parasit zu höherer Virulenz gelangen kann. Diese Gefahr läßt sich einigermaßen einschränken, wenn die Schutzimpfungen in einer den Zecken ungünstigen Jahreszeit erfolgen, aber gänzlich beseitigt wird die Gefahr damit nicht.

Übrigens ist die Methode der Impfung mit virulentem Material in manchen Fällen unschuldigerweise in Mißkredit gekommen, es ist erwiesen, daß Tiere, die nach der Impfung eingingen, schon vor der Impfung infiziert waren, und im Stadium der Inkubation sich befanden (*Kolle u. Turner* bei Rinderpest).

Von besonderer Wichtigkeit bei dieser Methode ist der Ort der Applikation, ja, sie wird oft überhaupt erst anwendbar, wenn man den natürlichen Infektionsweg vermeidet. Es ist eine Impfstelle auszuwählen, an welcher die Wachstumsbedingungen für den eingebrachten Infektionserreger ungünstiger sind: die Beschaffenheit bestimmter Gewebe oder Gewebsstellen ermöglicht die Verzögerung der Resorption, damit wird dem geimpften Organismus Zeit gelassen, sich zu schützen und eventuell den Impfherd dauernd oder wenigstens eine Zeitlang abzugrenzen. Beispiele für solche Auswahl von Impfstellen, die dem Virus ungünstigere Vermehrungschancen als bei der natürlichen Infektion, z. B. von den Schleimhäuten aus, bieten, sind die Variolation (*cutan*), Choleraschutzimpfung (*subcutan*), Paratyphus B (*intracutan*), Schutzimpfung der Rinder gegen Lungenseuche, Schwanzspitze; hier hindert das straffgespannte Bindegewebe (vielleicht auch die herabgesetzte Temperatur) die volle Entfaltung der infektiösen Fähigkeit des Erregers. — Vgl. hierzu Art der Antigenverabreichung S. 78.

So beschränkt das Anwendungsgebiet der ausschließlichen Schutzimpfung mit vollvirulentem Infektionsmaterial auch ist, so ist sie doch am Platze, wenn der zu immunisierende Organismus bereits einen gewissen Grad von Schutz besitzt, sei es infolge vorausgehender Behandlung mit weniger gefährlichem Antigen, sei es durch Serum.

Beispiele: Rotlauf, Schweinepest, Lyssa, Maul- und Klauenseuche.

Beispiele der Schutzimpfung mit virulenten Erregern.

a) Bakterien.

1. Zum ersten Male mit lebenden virulenten Bakterienkulturen Grundimmunität erzeugt zu haben, ist das Verdienst *Ferrans*, der Meerschweinchen subcutan mit Cholera bouillonkulturen behandelte und sie damit gegen tödliche Mengen der virulenten Kultur schützte. Planmäßig konnten diese Versuche aber erst fortgeführt werden, als von *R. Pfeiffer* u. *A. Wassermann* die Wirkung fallender Mengen vollvirulenter Cholera kulturen auf das Meerschweinchen exakt beobachtet worden war.

Am Menschen hat *Ferran* (1884) ebenfalls durch subcutane Verabreichung lebender Cholera kulturen Immunität hervorzurufen versucht, er verabreichte 8 Tropfen einer mit Galle (nach *van Ermengem*) versetzten Cholera bouillonkultur in die Gegend des Triceps, nach 6—8 Tagen 0.5 ccm, nach dem gleichen Intervall nochmals 0.5 ccm. *Ferran* stellte fest, daß die Cholera vibrionen in der Subcutis zugrunde gingen und daß nur leichte Krankheitserscheinungen sich einstellten (lokale Entzündung, Fieber).

Einen größeren Wert haben die Versuche *Haffkines*, mit lebenden Cholera vibrionen beim Menschen aktive Immunität hervorgerufen, erlangt, sie richten sich nach dem unten zu behandelnden Schema der *Pasteurschen* Schutzimpfungen, das Vaccin I der *Haffkineschen* Choleraschutzimpfung ist ein abgeschwächtes. Modifikation des *Haffkineschen* Verfahrens von *Powel* und *Brown*: sie ließen Vaccin I ganz fort und impften allein mit dem für Meerschweinchen hochvirulenten Vaccin II.

2. Tuberkulose. Eine aktive Immunisierung mit virulenten Tuberkelbacillen ist in einigen Fällen mit Erfolg bei tuberkulösen Tieren vorgenommen worden.

Diese Beobachtungen gehen auf *R. Koch* zurück. Er schildert schon 1891, wie sich tuberkulöse Meerschweinchen gegenüber einer Reinfektion anders verhalten als gesunde. Impft man gesunde Meerschweinchen mit virulenten Tuberkelbacillen (Reinkultur), so entsteht nach 10—14 Tagen ein derbes Knötchen, das bald aufbricht und bis zum Tode des Tieres eine ulcerierende Stelle bildet. Impft man aber Meerschweinchen, die nach Impfung seit 4—6 Wochen tuberkulös sind, so bildet sich kein Knötchen, sondern schon am nächsten oder 2. Tage ein flaches Infiltrat, das dunklere Färbung annimmt und nekrotisiert, nach erfolgter Abstoßung heilt das flache Geschwür prompt ab. Wie *P. Römer* zeigte, ist der Effekt der Reinfektion ganz von der Dosierung abhängig: werden tuberkulöse Versuchstiere mit großen Dosen Tuberkelbacillen behandelt, so gehen sie zugrunde; ist die Dosis der Reinfektion niedrig, so läßt sich Immunität nachweisen. Übersichtliche Zusammenstellung s. *Römer*. Die Immunität war bei subcutaner, cutaner, intracutaner Reinjektion der Meerschweinchen wahrnehmbar. Am Rind ist das gleiche von *v. Behring* u. *Römer* nachgewiesen, beim Schaf von *Römer* — hier ist auch bei intravenöser Nachinfektion die Immunität zu erkennen —, bei Affen von *Kraus* u. *Gross* u. s. w.

Zur Demonstration dieser Immunisierung können nach *Römer* Meerschweinchen verwendet werden, die seit 3—4 Monaten chronisch tuberkulös sind. Erhielten diese Tiere subcutan z. B. $\frac{1}{10\,000}$ mg Schweinetuberkelbacillen (eine Dosis, die gesunde Meerschweinchen schwer tuberkulös erkranken ließ), so ertrugen sie diese Dosis ohne irgendwelche Folgeerscheinungen. Eingehenderes über dies *Kochsche* Phänomen s. *Löwenstein* Bd. V.

Lebende Tuberkelbacillen benutzten auch *Webb* und *Williams* zur Immunisierung von *Macacus rhesus* und 2 Rindern: sie begannen mit 1 Tb. und steigerten ganz allmählich auf 150 Tb.; im Laufe von 3 Monaten 13 Impfungen.

3. Lebende Diphtheriebacillen enthält die „Diphtherielymphe Diphcutan“ (der Ausdruck Lymphe ist nicht gut gewählt), die *W. Böhme* zur aktiven Diphtherieimmunisierung empfiehlt. Methode: wie bei Pockenimpfung am Oberarm, Hautimpfung. Vorversuche am Meerschwein. Die Angabe von *Marie*, daß es sich hierbei um abgeschwächte Keime handle, ist irrig. Die bisher beobachtete Unschädlichkeit derartiger Impfung ist ein Beispiel für die Wichtigkeit des Applikationsmodus.

4. Emphyton (Rotlaufimpfung, incutan, Antigen vollvirulente Bacillen) s. S. 83.

5. Schutzimpfung gegen Lungenseuche nach *Willems*.

Impfstoff: Saft aus frisch hepatisierten Stellen der Lunge eines im ersten Stadium erkrankten Rindes. Impfung subcutan auf der Rückseite des Schwanzes, 8 cm von der Spitze entfernt. Modification von *Martin*: Verwendung eines dünnen, mit Lymphe getränkten Haarseils. Andere Modificationen s. *Hutyra-Marek* Bd. I, S. 419. — Seit 1899 Verwendung von Reinkulturen (*Nocard* u. *Roux*).

6. Schutzimpfung *Bangs* gegen das seuchenhafte Verwerfen der Rinder.

Lediglich von wissenschaftlichem Interesse ist die Möglichkeit der Immunisierung durch Verabreichung kleinster Quantitäten vollvirulenten Materials bei Milzbrand (Rinder [*Sobernheim*]), ferner bei Rauschbrand (Muskelsaft von Rindern, subcutan an Schweifspitze), sowie Rauschbrandimmunisierung intravenös 3—5 Tropfen Geschwulstsafte (cave lockeres Bindegewebe) oder intratracheal (*Arloing*).

b) Protozoenkrankheiten.

1. Bei Küstenfieber (*Rhodesia redwater*) erreicht man aktive Immunität nach *R. Koch* entweder durch 3—4malige Injektion von parasitenhaltigem Blut (*Piroplasma parvum*) in 14—21tägigen Zwischenräumen in steigenden Dosen (bis 2000 ccm) oder einfacher durch 6—13 Injektionen von je 10 ccm Blut in 14tägigen Zwischenräumen. Das Blut wird durchseuchten („gesalzenen“) Tieren entnommen. Eine einmalige Injektion erzeugt keine Immunität.

Diese Methode ist verdrängt durch die *Theilersche* Impfung mit Milz- und Lymphdrüsenbrei kranker Tiere, s. Bd. VIII.

2. Bei Texasfieber (Hämoglobinurie der Rinder) verwendet man das sog. „recovered blood“ in Dosen von 5—10 ccm subcutan. Zur Impfung eignen sich nur junge Tiere (bis zu 12 Monaten), es entsteht eine leichte Piroplasmieninfektion, die Immunität hinterläßt. Verluste sind dabei unvermeidlich, da die Zahl der verimpften Piroplasmien, ihre Virulenz und die Disposition des Impflings unbekannt sind. Auf jeden Fall aber sind die Erfolge dieser künstlichen Immunisierung immer noch günstiger, als wenn man die ungeimpften Tiere der natürlichen Infektion (durch Zecken) aussetzt. Immunisierung mit zerriebenen Zecken s. *Hutyra-Marek*, Bd. I, S. 820.

c) Krankheiten mit unbekanntem Erregern.

1. Die älteste Methode der aktiven Immunisierung mit vollvirulentem Material ist die Variolation. Ferner die Ovation. Vgl. hierzu Bd. VIII und IX.

2. Rinderpestimmunisierung. Nach *R. Koch* werden etwa 10 ccm Galle von Tieren, welche an Rinderpest verendet sind, gesunden Tieren subcutan eingespritzt. Der Eintritt der Immunität erfolgt am 5. Tage, in voller Stärke ist er vom 10. Tage nachweisbar. Der Impfstoff eignet sich am besten, wenn er Tieren entnommen wird, die am 5. bis 6. Tage der Erkrankung eingingen oder getötet wurden; s. ferner *Kolle* u. *Turner*. Daß dieser Gallenimpfstoff die vollvirulenten Erreger der Rinderpest enthält, zeigte *Kolle*, der die Galle zentrifugierte, den Bodensatz wusch und subcutan Rindern injizierte; sie erkrankten an Rinderpest. Warum die Injektion der Rinderpestgalle nicht zur Infektion, sondern zur Immunität führt, ist noch nicht klargelegt. *Kolle* meint, daß in der Galle Stoffe zu suchen sind, die den Rinderpesterreger hindern, eine Allgemeininfektion zu veranlassen, es komme nur zu einer lokalen Rinderpestinfektion. Die Rinderpestgalle bewahrt, steril aufgefangen, im Dunkeln und Eisschrank ihre Wirkung bis zu 10 Tagen, bei Zimmertemperatur nur 3—5 Tage, sie kann auch noch als Impfstoff dienen, wenn sie mit virulentem Blut vermischt wird. Da die Immunität nach der *Kochschen* Methode eine genügend starke und langandauernde ist, so erübrigt sich eine weitere Impfung, wie sie von *Kohlstock*, *Eggebrecht* vorgeschlagen wurde, die die mit Galle geimpften Tiere später noch mit virulentem Blut behandelten. *Kolle* zeigte, daß damit eine Steigerung der durch Rinderpestgalle herbeigeführten Immunität nicht eintritt.

3. Ein Beispiel für die aktive Immunisierung durch Verabreichung kleinster, allmählich ansteigender Dosen bei nicht züchtbarem Virus

ist die von *Högyes* geübte Schutzimpfung gegen *Lyssa*: er beginnt die Immunisierung mit hochgradig verdünntem Virus (Dilutionsmethode), s. Bd. VIII. Bei *Lyssa* ist es bekannt, daß vollvirulentes Material am kräftigsten immunisiert.

4. Schutzimpfung gegen Geflügelpocken (*Manteufel*, v. *Heelsberger* und *de Blicek*, Antidiphtherin).

5. Hierher gehört auch die Immunisierung von Mauleseln gegen die afrikanische Pferdesterbe. *Rickmann*, *Leipziger*, s. Aufl. 2, Bd. II.

Stößt man so im Anfang auf große Schwierigkeiten, die Immunisierung allein mit virulentem Antigen durchzuführen, so ist doch diese energische Behandlung von größtem Vorteil im Anschluß an andere Methoden, welche schon einen gewissen Grad von Immunität herbeigeführt hatten. Ja, in vielen Fällen ist dann die Verabreichung des virulenten Materials überhaupt erst geeignet, den vollwertigen Schutz gegen die natürliche Infektion herbeizuführen.

II. Aktive Immunisierung mit abgeschwächten Krankheitserregern.

Die Methoden der Impfung mit abgeschwächten Krankheitserregern folgen der alten Erfahrungstatsache, daß auch leichte Erkrankungsformen gewisser Infektionen einen Schutz hinterlassen, der hinter der nach schwersten Erkrankungen erworbenen Immunität nicht zurückzustehen braucht.

Durch *Jenner* und *Pasteur* ist gerade mit diesem Prinzip der Impfung mittels abgeschwächter Krankheitserreger ein fester und bleibender Grundstein der Immunitätslehre gelegt worden.

Seitdem ist das Prinzip außerordentlich häufig zur Anwendung gekommen: es mußte ja schon deshalb mehr befriedigen, als die Impfschäden, die die Verwendung von vollvirulentem Antigen zur Folge hatte, hierbei eingeschränkt wurden; aber freilich, auch nur eingeschränkt, nicht beseitigt, denn alle Mängel der Einverleibung virulenten Materials müssen eben notwendig auch der Einführung des abgeschwächten, aber doch lebenden Antigens, wenn auch in vermindertem Maße, anhaften. Das gilt nicht für die Schutzpockenimpfung, an deren Erfolge noch immer keines der nachgebildeten Verfahren heranzureichen vermag. Diese haben in der Praxis vielmehr deshalb mit Mißerfolgen zu rechnen, weil bei einzelnen Antigenarten die Abschwächung nicht immer in zuverlässig gleicher Weise erfolgt, oder weil vielleicht auch bei der Aufbewahrung ein Rückschlag zu gesteigerter Virulenz erfolgen kann. So erklärt man die Impfverluste (bei der *Pasteurschen* Milzbrandschutzimpfung 1 Prom. Auch Abortusbacillen können wieder virulent werden [*Schroeder* u. *Cotton*]). Es können natürlich auch unter den Impfungen besonders disponierte Individuen sich finden, die trotz der Abschwächung des Antigens erkranken. Ferner kommt zu dem Impfschaden noch die Propagation der Erreger, die nun auch im virulenteren Zustand ausgeschieden werden können, hinzu. Erfolgt andererseits bei der Antigenherstellung oder Aufbewahrung eine zu starke Abschwächung, so ist der Impfschutz nicht ausreichend, die geimpften Organismen sind dann einer nachfolgenden Impfung mit stärkerem Virus oder dem Ansturm der natürlichen Infektion nicht gewachsen. Bei allen Abschwächungs-

methoden verändern wir nicht nur die Art des Antigens, sondern auch die *Quantität*. Auf letzterem Moment beruht oft gewiß allein der mildere Ausfall des *Ictus immunisatorius*.

a) Abschwächung durch hohe Temperaturen.

Der Schöpfer dieser Methode ist *Pasteur*. Zwar hat *Toussaint* schon im Jahre 1880 defibriniertes und erhitztes Milzbrandblut auf Schafe zum Zweck der Immunisierung verimpft — er erwärmte das Blut 10 Minuten auf 55° und injizierte davon 3—6 ccm —, aber er tat dies nicht in der Absicht, durch das Erwärmen die Virulenz abzuschwächen und die Erreger des Milzbrandes dabei noch am Leben zu erhalten, sondern er wollte durch diese Temperatur das Milzbrandblut von Bakterien befreien. Erst *Pasteur* hat dann die Frage planmäßig in Angriff genommen, wie das Milzbrandvirus in geeigneter Weise seiner starken Pathogenität entkleidet werden könne, ohne daß seine Lebensfähigkeit Einbuße erleidet. Wir müssen bei dieser Methode der Abschwächung durch hohe Temperaturen unterscheiden, ob durch einen einmaligen Eingriff die Herabminderung der Pathogenität herbeigeführt werden soll, oder ob man die Eigentümlichkeit des ganzen Stammes durch außergewöhnliche Temperaturen dauernd beeinflussen will. Das letztere tat *Pasteur*: er züchtete die Milzbrandbacillen bei einer supraoptimalen konstanten Temperatur und konnte nun systematisch die Kurve des Virulenzverlustes verfolgen. Dieser vollzieht sich hierbei allmählich, und gerade deshalb bietet diese Methode der schonenden Beeinflussung durch die erhöhte Temperatur Vorteile.

Welche Temperaturgrade man wählen muß, um die Virulenz zu schwächen, läßt sich nicht einheitlich beantworten; nicht nur die einzelnen Arten, sondern auch die einzelnen Stämme verhalten sich verschieden. Zum mindesten muß man die optimalen und maximalen Züchtungstemperaturen kennen; inwieweit diese der Schwankung unterliegen, s. *Gotschlich*, Bd. I. Will man die Abschwächung nicht durch Züchtung bei außergewöhnlichen Temperaturen, sondern durch einmaliges Erwärmen erreichen, so ist zu berücksichtigen, daß die nötige Erwärmungsdauer sich zu richten hat nach der Dichte der Aufschwemmung, nach dem jeweiligen Suspensionsmedium: es ist etwas anderes, ob ich Bakterien in Wasser, Kochsalz, Bouillon oder in sonst einer Nährlösung suspendiere (*Ficker*).

Für die Analyse des Immunisierungsvorganges ist nicht außer acht zu lassen, daß wir bei dieser Art der Antigengewinnung keineswegs nur lebende Bakterienzellen in den Organismus einführen. Es ist anzunehmen — das bedarf bei den einzelnen Arten noch der systematischen Untersuchung —, daß in den bei supraoptimalen Temperaturen gehaltenen Kulturen es leichter zu einer Spontanauflösung oder Extraction vieler ohnehin nicht normal entwickelter Zellen kommt. Je näher wir ferner bei der Erwärmung der Abtötungstemperatur kommen, um so größer wird die Zahl der schon vor diesem höchsten Temperaturpunkt durch die Wärme vernichteten Bakterien sein, denn die Abtötungstemperatur ist kein Punkt, sondern eine Strecke, labilere Formen gehen eher zugrunde, damit ist aber auch ein Übertritt plasmatischer Stoffe in die Suspensionsflüssigkeit gegeben, was gewiß für

den Verlauf der Immunisierung, namentlich der Grundimmunisierung, nicht gleichgültig ist. Es ist noch fraglich, ob die Abschwächung der Virulenz, die man nach Durchgang durch verschiedene Temperaturen beobachtet, nicht oder wenigstens nicht auch durch die damit notwendige Angewöhnung an eine andere Wachstumstemperatur bedingt ist; so haben Kaninchen, Kälber, Schweine eine um etwa 1,5° C höhere Körperwärme als der Mensch.

Beispiele:

1. *Pasteurs* Schutzimpfung gegen Milzbrand.

Impfstoff: *Pasteur*, *Chamberland* u. *Roux* zeigten, wie durch Züchtung von Milzbrandbacillen bei Temperaturen zwischen 42 und 43° deren Virulenz so weit vermindert wird, daß sie nun zu Immunisierungszwecken verwendet werden können. Zunächst nahm man die Züchtung in neutraler Hühnerbouillon vor, man erreicht aber das gleiche auf Rinder- oder Pferdebouillon, auch auf Agar. Proportional der Zeitdauer der Züchtung bei dieser Temperatur sinkt das pathogene Vermögen. Das geht namentlich aus den Untersuchungen von *Koch*, *Gaffky*, *Löffler* hervor.

Pasteur benutzte 2 Impfstoffe: premier Vaccin, von schwächster Virulenz, die Kulturen sind lange Zeit, 24 Tage, bei 42,5° gehalten, und deuxième Vaccin von stärkerer Virulenz, die Kultur ist nur 12 Tage bei 42,5° gehalten. Vaccin I tötet nur noch weiße Mäuse, nicht mehr mit Bestimmtheit Meerschweinchen, Vaccin II tötet Mäuse und Meerschweinchen, nicht aber sicher Kaninchen.

Für die Präparierung des Impfstoffes ist zu berücksichtigen, daß nicht jeder Milzbrandstamm für die Vaccinherstellung verwendet werden kann. Am besten eignet sich die Temperatur von 42,5°, da bei 43° manche Stämme gar nicht, andere nur sehr dürrig wachsen. Von Vorteil ist, daß bei diesem Abschwächungsmodus das pathogene Vermögen des Stammes sich fast konstant erhält, auch bei Fortimpfung auf den günstigsten Nährböden unter optimalen sonstigen Bedingungen. Die Konstanz ist um so ausgesprochener, je länger die erhöhte Züchtungstemperatur auf die Kulturen eingewirkt hatte. Natürlich sind trotzdem Nachprüfungen mit den jungen (16—18 Stunden alten) bei 37° gezüchteten Kulturen angebracht. Nach *Sobernheim* nimmt man zur Virulenzprüfung am besten Kaninchen von 1200—1500 g, Meerschweinchen von 3—400 g, sowie weiße Mäuse, und zwar je 3 Tiere mit fallenden Kulturmengen, und zwar $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$ und $\frac{1}{1000}$ Öse, subcutan (Bauchhaut). Herstellung der Suspension s. *Sobernheim*. Bei dieser Prüfung ist mit der verschiedenen individuellen Empfänglichkeit der Versuchstiere zu rechnen. Die abgeschwächten Vaccins sind am besten bei gleichmäßiger Zimmertemperatur zu halten und auf Nährböden gleicher Beschaffenheit fortzuzüchten. *Sobernheim* empfiehlt auch die Aufbewahrung in zugeschmolzenen Glasröhren oder die Konservierung in Sporenform.

Die Laboratorien, welche die *Pasteurschen* Impfstoffe liefern, halten sich die abgeschwächten Stammkulturen vorrätig, um dann bei Bestellungen durch frische Überimpfung die abzugebenden Vaccins von Fall zu Fall herzustellen. Es wird, wie ich *Sobernheim* entnehme, von den Stammkulturen Bouillon geimpft, die 2 Tage bei ca. 38° verbleibt. Damit der zweite Impfstoff in gut wirksamem Zustande zur Verwendung kommt, wird er von den Laboratorien erst 12 Tage später als der erste abgegeben. Haltbarkeit gering.

Die Impfung wird so ausgeführt, daß die Impflinge zunächst Vaccin I erhalten, und zwar Rinder 0.25 ccm, Schafe 0.125 subcutan. Nach einer Pause von 12 Tagen wird die gleiche Menge Vaccin II verabreicht. Die Impfungen geschehen subcutan. Etwa 14 Tage nach der zweiten Impfung vertragen die Tiere virulenten Milzbrand, und zwar sowohl wenn das Virus subcutan als auch per os in Sporenform verabreicht wird.

Der Schwerpunkt der *Pasteurschen* Methode liegt bei Kultur II, auf deren Virulenzstand das größte Gewicht zu legen ist, hiervon hängt der Erfolg ab: bei Verminderung der Virulenz ist die Immunität eine ungenügende, bei Steigerung treten Impfschäden auf, in den schlimmsten Fällen tödliche Infektion.

Ist Vaccin II kaninchenvirulent, so ist es als gefährlich anzusehen. Hingegen ist eine Virulenzsteigerung im Organismus nicht beobachtet; die lege artis abgeschwächten Vaccins bewahren auch im Körper der Impflinge diese Virulenz (R. Koch, Ascoli, Kraus u. Beltram).

Die Immunität ist 10—12 Tage nach der zweiten Impfung voll ausgebildet, ihre Dauer wird auf 1 Jahr geschätzt.

Weiteres über die Pasteursche Methode s. *Sobernheim*, Bd. III.

Modifikationen: 1. *Dawson u. Mohler*: einmalige Impfung mit Bouillonkulturen, die 16 Tage lang bei 42—43° gehalten waren. 2. *Cienkowsky* benutzt stark sporulierende Milzbrandstämme. Verfahren ähnlich dem Pasteurschen. Vorteil: längere Haltbarkeit (Sporovaccin). 3. *Ströszner* empfiehlt in Distrikten mit besonders virulentem Milzbrand mit Vaccin II in 14tägigen Intervallen noch 2 Impfungen (0,5, 1,0) folgen zu lassen (Serienimpfungen).

2. Impfungen gegen Rauschbrand.

Methode von *Arloing, Gornevin u. Thomas*, „Lyoner Verfahren“. Das Prinzip dieser Methode folgt durchaus dem der Pasteurschen Milzbrandimpfung: die Erhitzung bezweckt die in dem Rauschbrandmaterial befindlichen Sporen abzuschwächen, die höhere Temperatur schwächt in stärkerem Maße ab als die niedere.

Impfstoff. Ausgepreßter Saft von rauschbrandigem Fleisch wird bei 32—40° auf flachen Tellern getrocknet, abgeschabt, mit Wasser angefeuchtet und in 2 Hälften geteilt; die eine Hälfte (Vaccin I) wird im Trockenofen oder Ölbad 6 Stunden auf 100—104°, die andere (Vaccin II) auf 85—90° 6—7 Stunden lang erhitzt. Danach werden die durch diese langdauernde Erhitzung trocken gewordenen Vaccins in einer Mühle (Kaffeemühle) fein zerkleinert bis zur Pulverform und kommen in Papierkapseln zum Versand. Am Gebrauchsort werden die Pulver in sterilem Mörser mit sterilem Wasser angerührt, durch ein Stückchen Leinwand filtriert. Das Filtrat von Vaccin I wird subcutan am Schweif in der Dosis von 1—2 cg (Trockenpulver) injiziert, 10—14 Tage später an einer tieferen Stelle Vaccin II.

Blutimpfstoff nach *Leclainche-Vallée* s. Aufl. 2, Bd. II, S. 14.

Eine vielfach angewendete Abänderung des Lyoner Verfahrens besteht darin, die Schweifimpfung nur einmal vorzunehmen, und zwar mit einem dem Vaccin II ähnlichen Präparat. Man verwendet als Ausgangsmaterial meist nicht Muskelsaft, sondern nach dem Vorschlag von *Kitt* und dem Vorgange von *Arloing* Rauschbrandfleisch. Ein solches Antigen ist der Berner Impfstoff.

Kitt zermahlt das getrocknete Rauschbrandfleisch zu Pulver und setzt dies in flachen Glasschalen dem strömenden Wasserdampf bei 97° 5—6 Stunden lang aus. (Tödliche Dosis für Schafe 2—6 dcg, kleinere Dosen immunisieren.) Ähnlich ist der Impfstoff *Nørgaards* (Rauschbrandfleischpulver, 6 Stunden bei 93—94° gehalten, einmalige Impfung hier und bei *Kitt* subcutan an der Schulter).

Ernst (Oberschleißheim) erhitzt das Trockenpulver nur 1½ Stunden lang auf 97° (Dampftopf) und nach erneuter Abtrocknung nochmals 1 Stunde. Abgabe in Pulver- oder Tablettenform. 0,6 g Pulver reicht für 10 Rinder. Impfung subcutan an der Schulter (Cave intramuskulär).

Man ist dann darauf ausgegangen, an Stelle des Fleisches Rauschbrand-Reinkulturen als Antigen zu verwenden und ihre Virulenz durch Erwärmen abzuschwächen.

Leclainche u. Vallée züchten in *Martinscher* Bouillon (in der die Virulenz kräftig und konstant bleiben soll) und erwärmen 2 Stunden auf 70°. diese Kultur tötet nur noch große Meerschweinchen über 300 g, jüngere nicht. Erwärmen auf 75—80° die gleiche Zeitdauer schwächt die Kultur soweit ab, daß sie auch große Meerschweinchen bei Verwendung der Dosis 1 cem nicht mehr tötet. Diese Meerschweinchen sind dann immun gegen tödliche Dosen der unabgeschwächten Kultur. Das Verfahren ist für Rinder geeignet (junge Rinder erhalten 2 cem Vaccin), die dann virulente Kulturen vertragen und damit eine weitgehende Immunität selbst gegen intramuskuläre Applikation frischen infektiösen Materials erlangen. Empfohlen wird zweimalige Impfung. Der Impfstoff wird in zugeschmolzenen Glasröhrchen fertig zum Gebrauch abgegeben und ist damit bequemer zu handhaben als die Impfpulver, deren Zubereitung für die Impfung zeitraubend ist.

Kitt nimmt 5—8 Tage alte auf *Martinscher* Bouillon gewachsene Kulturen, die fast nur Sporen enthalten, und hält diese in Glasröhrchen eingeschmolzen

2 Stunden im Wasserbad bei 70°. Diese Kultur bleibt lange gebrauchsfähig, er empfiehlt einmalige Impfung subcutan oder intramuskulär (2—3 cem).

Foths Emphysareolum, beschrieben bei *Foth*. Für den Impfstoff A empfiehlt *Foth* Baumwollfadenbündel zu imprägnieren, er enthält abgeschwächte sporenreiche Kultur (Fadenimpfung subcutan am Schweif). Type F ist nicht abgeschwächt, aber sehr sporenarm, Impfung an der Ohrmuschel (näheres Bd. IV [*Foth*]).

Ein völliges Analogon zu der *Pasteurschen* Milzbrandimmunisierung ist ein weiteres Verfahren von *Leclainche-Vallée*: Züchtung von Rauschbrandstämmen 15 Tage bei 43—44° in Leberpeptonbouillon. Schon einmalige subcutane Verabreichung schützt Meerschweinchen und Rinder.

3. Pest.

Pestkulturen konnten von *Kolle* u. *Otto* durch Züchten bei supraoptimalen Temperaturen so weit abgeschwächt werden, daß sie zu Vaccins geeignet waren (Ratten, Meerschweinchen, Mäuse). Die Höhe der Züchtungstemperatur und die Zeitdauer, die man anwenden muß, sind bei den einzelnen Stämmen verschieden. Geeignet waren die Temperaturen von 40—43° (vgl. hierzu S. 26).

Die Temperatur von 50° fand die deutsche Pestkommission nicht für geeignet, Pestbacillen für die aktive Immunisierung abzuschwächen: Virulenz und Lebensfähigkeit erloschen gleichzeitig (*Gaffky-Pfeiffer-Sticker-Dieudonné*, Bericht u. s. w.).

4. Pneumokokken.

Tani erhielt durch Züchtung bei 39° unter vielen abgeschwächten Stämmen einen, der sowohl lebend als auch nach Abtötung bei 100° gut antigen (Mäuseversuch) war.

5. Methode der Tollwutschutzimpfung nach *Babes-Puscariu*.

Prinzip. Virus fixe erfährt durch Erwärmen auf 56—58° eine Virulenzabschwächung, deren Grad von der Dauer der Erwärmung abhängt, das gleiche erzielt man durch 10 Minuten langes Erwärmen auf verschiedene Temperaturen.

Impfstoff. a) Virus fixe wird emulsiert und die Emulsion wird in Portionen geteilt, die 2—40 Minuten auf 58° erwärmt werden. Die Emulsion 40 Minuten tötet Kaninchen nicht mehr, die Emulsion 2 Minuten in 9 Tagen, dazwischen liegen die genau abfallenden Virulenzgrade. b) Emulsionen von Virus fixe werden 10 Minuten lang auf 35—60° erwärmt, die Emulsion 60° läßt die Tiere am Leben, die Emulsion 50° tötet die Tiere in 11—12 Tagen, die Emulsion 35° in 9 Tagen.

Es sei darauf hingewiesen, daß einige der genannten Schutzimpfungsmethoden (Milzbrand, Rauschbrand) an einem methodischen Fehler krankten: sie berücksichtigen das Quantitative nicht genügend. Zwar werden die Vaccinquanten abgemessen oder abgewogen, aber die Frage, wieviel wirksames Virus ist nun in diesem Vaccin, bleibt offen. Man kennt nicht nur nicht den Gehalt des Ausgangsmaterials an lebenden vegetativen und Dauerformen, sondern man bleibt auch im Ungewissen, wieviel von dem Impfmateriale das Erwärmen überdauert. Es dürften nicht nur die Differenzen des Virusgehaltes des Ausgangsmaterials ziemlich weitgehende sein, sondern auch der Effekt der Erwärmung wird bei den einzelnen Vaccinegewinnungen sich in verschiedenem Grade geltend machen müssen. Die frühere Anschauung, daß die einzelnen Insassen einer Kultur oder eines Infektionsherdes biologisch gleichwertig sind, besteht nicht zu Recht, so sind auch gegenüber der erhöhten Temperatur die einzelnen vegetativen Formen und die Sporen verschieden empfindlich: es muß somit das Erwärmen eine Reduktion der Keimzahl

bedingen, die verschieden ausfällt. Es folgt daraus, daß die Kenntnis der eigentlich wirksamen Impfdosis eine völlig unbefriedigende ist. Besteht nun die Abschwächung z. B. bei dem Rauschbrandvaccin in einer verminderten Aussaatmenge, die wir dem Impfling durch das Vaccin einverleiben? Oder ist die durch das Erwärmen gesetzte qualitative Schädigung des Keims das Wesentliche? Hier fehlen noch wissenschaftliche Versuche, die der Methode einen Halt geben könnten.

Jedenfalls ist es nötig, gerade bei dieser Gruppe von Methoden mehr und mehr den Schematismus abzustreifen: bei Rauschbrand ist es sicher, daß nur dann ein genügender Schutzwert durch Einfuhr von Bakterien erzielt wird, wenn es wirklich bei dem Impfling zu einer Entwicklung der Rauschbrandbacillen gekommen ist. Dies Virus einmal so intakt zu lassen, daß es gerade noch zu infizieren vermag, gleichzeitig aber mit Sicherheit auch so in Schranken zu halten, daß die Infektion nicht schwer oder tödlich wirkt, ist durch die bisherigen Verfahren, die sich der einmaligen Erwärmung bedienen, nicht erreicht. In dieser Hinsicht verdienen die Versuche, geeignete Stämme durch Züchtung bei submaximalen Temperaturen herauszufinden, größere Beachtung.

b) Abschwächung durch Trocknen.

Auch dies Prinzip stammt von *Pasteur*, es ist zur systematischen Anwendung bei seiner Methode der Tollwutimpfung gekommen. Es gelang ihm, das im Rückenmark infizierter Kaninchen befindliche Tollwutvirus durch fortgesetzte Trocknung progressiv abzuschwächen, so daß es nun zur Erzielung und Steigerung aktiver Immunität gegen Lyssa dienen kann.

Im übrigen hat das Prinzip bei der aktiven Immunisierung gegenüber anderen Infektionskrankheiten sehr wenig Verbreitung gefunden. Tatsache ist, daß, wie alle vitalen Funktionen, so auch die Pathogenität durch Trocknen Einbuße erleidet und schließlich verloren geht.

Es ist aber gar nicht so leicht, dies Mittel methodisch zur Virulenzabschwächung zu benutzen, die Schwierigkeiten sind erheblich größer als bei der Abschwächung durch Erwärmung. Es ist erwiesen, wie verschieden sich züchtbare Krankheitserreger unter verschiedenen Trocknungsbedingungen verhalten (*Ficker*). Trotzdem müßte diese Abschwächungsmethode noch weitere Anwendung ermöglichen, da sich Gesetzmäßigkeiten in der Absterbekurve sicher haben feststellen lassen. Die Tatsache, daß in manchen bisherigen Versuchen sich Unsicherheiten ergaben, ist sehr begreiflich, da es sich hierbei nicht um ein planmäßiges Vorgehen gehandelt hat. Wie man es aber doch in der Hand hat, eine gewünschte Virulenzskala durch Trocknen bei gleichmäßiger Versuchsgestaltung aufzustellen, zeigt eben das Beispiel des Tollwutvirus.

Es liegen freilich bei anderen Infektionserregern die Verhältnisse meist ganz anders, z. B. wenn man die vom festen Nährboden abgehobenen Keime trocknen läßt; hier würden die Punkte des Virulenzverlustes und des Absterbens zu nahe aneinander liegen. Man kann diese zwischen beiden liegende Strecke aber sicher verbreitern durch vorsichtiges Trocknen eventuell unter Variierung der Temperatur und vor allem durch Beigabe verschiedener Einhüllungsmedien: wer hätte früher an die Möglichkeit gedacht, die sonst so empfindlichen Pneumo-

kokken $\frac{1}{2}$ oder $\frac{3}{4}$ Jahre lang im trockenen Zustand virulent zu erhalten, wie das heute mit Leichtigkeit durch Einlegen von Organstücken der Pneumokokkentierte in den Exsiccator gelingt.

Es ist auch daran zu denken, ob man nicht durch systematische Fortzüchtungen virulenter Bakterien auf Nährböden, die verminderten Wassergehalt führen, allmählich die Virulenz auf eine konstante Stufe bringen kann, ein Verfahren, das theoretisch vor dem einmaligen Eingriff des Trocknens mancherlei voraus hätte.

Bei den heute üblichen Methoden des Trocknens ist auch noch in Betracht zu ziehen, ob es sich bei der Abschwächung in der Tat lediglich um eine qualitative Änderung des Virus infolge des Wasserverlustes handelt, oder ob nicht die durch das Trocknen herbeigeführte Verminderung der Zahl lebender Infektionserreger das Wesentliche ist. Das wird in vielen Fällen richtig sein. Das letztere ist für die *Pasteursche* Lyssamarktrocknung vor allem von *Högyes* festgestellt worden, nachdem schon *Pasteur* (wie *Heller* zitiert) an einem Beispiel gezeigt hatte, daß es sich bei der Abnahme der Infektiosität des Marks nicht um eine Virulenzabnahme der Erreger handelt.

Beispiele:

1. *Pasteurs* Tollwutimpfung.

Da diese ausführlich in Bd. VIII wiedergegeben ist, soll sie hier nur kursorisch behandelt werden. Prinzip: Straßenwutvirus (Gehirn von der Tollwut erlegenen Hunden) wird bei Passage von Kaninchen zu Kaninchen zu einer höchsten, nicht mehr zu steigenden konstanten Virulenz gebracht (*Virus fixe*), Rückenmark solcher mit *Virus fixe* geimpften und tollwütigen Tiere wird in seiner Virulenz in trockener Luft bei gleichbleibender Temperatur in verschiedenem Grade bei verschieden langer Aufbewahrung abgeschwächt. Durch systematische Behandlung von Menschen mit den verschieden lange getrockneten Marken in einem bestimmten Turnus tritt eine Immunität auch gegen Straßenvirus ein.

Impfstoff. Herstellung, s. *Kraus*, Bd. VIII. Ebenda Modificationen u. s. w. Vergleiche der Haltbarkeit von *Virus fixe* und Straßenvirus beim Trocknen sowie bei Aufbewahrung in Glycerin, s. *Remlinger*. Lyssin zur Immunisierung von Hunden gegen Wut: 24stündiges schnelles Trocknen eines frischen *Virus fixe* — Suspension (Gehirn und Mark) im *Faust-Heim* bis 30°, danach Zusatz von Kreide, Verreiben zu feinem Pulver. Weiteres s. *Miessner* u. *Baars*.

Auch der *Harrissche* Impfstoff ist Trockenimpfstoff (Vakuum). *R. d'Annoy* verreibt das Rohmaterial unter Zugabe von gefrorener CO_2 und trocknet bei niedrigen Temperaturen über Phosphorsäure.

2. Aktive Immunisierung von Affen gegen Poliomyelitis-Virus (*Landsteiner* u. *Levaditi*). Prinzip wie *Pasteurs* Tollwutimpfung. S. Aufl. 2, Bd. II, S. 17.

3. Hühnerpest.

R. Kraus und *O. Löwy* schwächten über Kal. caust. das Gehirn subcutan infizierter junger Gänse derart ab, daß es zur Schutzimpfung von Hühnern geeignet war.

4. Maul- und Klauenseuche.

Durch Trocknen avirulent gewordene Lymphe ist als Antigen unbrauchbar (*Abe*). Über *Löfflers* Trockenantigene s. S. 28.

Eine bedeutsame Rolle spielt das Trocknen zur Konservierung des Antigens, s. S. 100.

Mit Hilfe anderer physikalischer Mittel (Licht, Röntgenstrahlen, Radium, Elektrizität, hoher Druck u. s. w.) gelingt es zwar auch, Antigene zu erhalten, die abgeschwächtes, noch lebendes Virus enthalten. Doch ist ihre Brauchbarkeit für die Praxis nicht erwiesen.

Eine Kombination von Züchtung bei etwas erhöhter Temperatur und Abschwächung durch Druck von 8 Atmosphären ist von *Chauveau* zur Herstellung eines Milzbrandvaccins benutzt worden.

Hier darf auch *Courmonts* homogene Tuberkelbacillenkultur, die durch Schütteln eine weitgehende Veränderung ihrer biologischen Eigenschaften erfahren hat, angereicht werden. Ihre cutane Applikation kann zu einem spontan sich rückbildenden Prozeß führen. Trotzdem ist damit eine Widerstandsfähigkeit gegen cutane Reinfektion mit humanen Tuberkelbacillen nicht eingetreten (Beobachtungen von *Kraus* u. *Volk* an Makaken).

c) Abschwächung durch chemische Mittel.

Pasteur hat zur Gewinnung von Milzbrandvaccin schon den Zusatz schwacher Desinfizienzien zu Kulturen empfohlen, *Chamberland* u. *Roux* benutzten zur Abschwächung 1 Teil Carbonsäure auf 600 bis 800 Teile Bouillon oder doppelchromsaurer Kali (1 : 2000—5000), nach 1 Woche erwiesen sich dann die Milzbrandbacillen als avirulent gegenüber Schafen. Diese Methoden haben aber praktische Bedeutung nicht gewonnen. Seitdem sind Chemikalien noch mehrfach zur Abschwächung benutzt worden, in manchen Fällen haben aber wohl die beigegebenen chemischen Stoffe eine Sterilisierung herbeigeführt. Mitunter beruht die abschwächende Wirkung einer chemischen Substanz vielleicht lediglich auf einem Herunterdrücken der Resorbierbarkeit des Antigens. *Ferrán* setzt Quecksilbersalz zu frischem Virus fixe, es findet dann eine langsame Resorption des entstehenden Quecksilberalbuminats statt.

1. Alkohol.

Beispiele:

a) *Hetsch* konnte Pestbacillen durch Züchtung auf Alkoholbouillon soweit abschwächen, daß sie nun zu Immunisierungszwecken geeignet waren (s. *Kolle-Hetsch-Otto*).

Die Züchtung der Pestbacillen geschah in 50 ccm Bouillonkölbchen bei 30°. Von den Ausgangskulturen tötete $\frac{1}{100}$ Öse subcutan Meerschweinchen, Ratten, Mäuse in wenigen Tagen. Für die Abschwächung wird 0,5—5 Proz. Alkohol absol. zur Bouillon zugesetzt, und zwar verbleiben die Kulturen ca. 3 Wochen im Brutschrank, es wird zunächst die Züchtung in der Bouillon mit niedrigem Alkoholzusatz vorgenommen, danach Entnahme einer kleinen Portion zur Isolierung mittels Agarplatte, nach 48 Stunden Abimpfung von typischen Kolonien auf Agar, hiervon Impfung eines weiteren Bouillonkölbchens mit höherem Alkoholgehalt. 3 Wochen lange Züchtung bei 30°. Eventuell Wiederholung ein- oder zweimal unter Steigerung des Alkoholzusatzes. Es sind durchaus nicht alle Stämme durch dies Verfahren in gleicher Weise abzuschwächen, es gelang *Hetsch* aber doch bei einigen Stämmen die Virulenz soweit herabzudrücken, daß Meerschweinchen $\frac{1}{2}$ Agarkultur vertrugen. Die Abschwächung erstreckte sich mitunter nicht gleichmäßig auf alle Versuchstiere.

b) Durch die Kombination der Züchtung von Pestbacillen bei 41 bis 43° und Zusatz von 0,5—5 Proz. Alkohol zu der Bouillon konnte *Kolle* aus virulenten Kulturen in 2—3 Monaten fast avirulente herstellen, die selbst in der Menge von einer ganzen Agarkultur Meerschweinchen und Affen nicht infizierten, wohl aber einen Schutz gegen frischvirulente Pestbakterien herbeiführten (vgl. *Kolle* u. *Otto*, *Kolle-Hetsch-Otto*).

Die Ungefährlichkeit eines solchen Pestvaccins für Menschen ist von *Kolle* u. *Strong* dargetan: Anfangsdosis $\frac{1}{100}$ Öse, Steigerung allmählich bis zur ganzen Agarkultur. Injektion subcutan (Gegend des Deltamuskels). An Affen wurde nach subcutaner Impfung festgestellt, daß die so eingeführten lebenden Keime dieses

Vaccins nur 6—8 Stunden noch lebensfähig in dem geimpften Organismus anzutreffen waren, nach 24 Stunden blieben die mit den Entnahmeprobe geimpften Nährböden steril.

Kolle u. *Strong* betonen, daß nicht jeder abgeschwächte Stamm für solche Impfungen am Menschen sich eigne, sie halten aber Stämme, welche Meerschweinchen in der Dosis von zwei Agarkulturen nicht mehr töten, für hinreichend abgeschwächt zur Verwendung beim Menschen.

2. Glycerin.

Ein oft zur Abschwächung benutztes Mittel ist das Glycerin. Es verhält sich aber nicht nur in verschiedenen Prozentsätzen, sondern auch den verschiedenen Krankheitserregern gegenüber sehr verschieden. Auf die Erreger der Pocken ist seine abschwächende Wirkung in bestimmter Konzentration eine sehr langsame, aber schließlich beeinflußt es auch dieses Virus ungünstig. Sehr rasch schwächt es z. B. das Virus der Rinderpest ab, die Impfung mit Glycerinalgalle (*Edingtons method*), d. h. mit einer Mischung von Galle (4 Teile) der an Rinderpest verendeten Tiere mit Glycerin (1 Teil) hat wegen dieser weitgehenden Virusabschwächung nur unsichere Resultate ergeben.

Zur Abschwächung der Infektiosität des *Lyssa* virus verwendeten *Glycerin Rodet* u. *Galavielle* und *E. J. Martin*. Der letztere stellte fest, daß bei Aufbewahrung von Gehirn an *Lyssa* verendeter Kaninchen in Glycerin je nach Temperaturhöhe der Aufbewahrung und Zeit die Infektiosität verloren geht, ohne daß die Antigeneigenschaft verschwindet: bei 42° war dies nach einigen Stunden der Fall, s. auch *Remlinger, Kondo*; ferner Bd. VIII, *Kraus*.

Abschwächung von Tuberkelbacillen. Nach *Levy, Blumenthal* u. *Marxer* eignet sich eine 80proz. Glycerinlösung zur Abschwächung von Tuberkelbacillen, wenn man die Lösung unter Schütteln bei 37° einwirken läßt. Näheres s. Aufl. 2, Bd. II, S. 19.

Über die Abschwächung von Rötzbacillen durch Glycerin s. *Levy, Blumenthal, Marxer*. Näheres s. Aufl. 2, Bd. II, S. 19.

3. Harnstoff und Galaktose.

Abschwächung von Tuberkelbacillen durch Harnstoff s. *Levy, Blumenthal, Marxer*. Näheres s. Aufl. 2, Bd. II, S. 20.

4. Carbonsäure.

Carbonsäure wird man meist nur bei kurzdauernder Aufbewahrung zur Abschwächung benutzen dürfen, denn die Abschwächung kann leicht in Abtötung übergehen.

Lyssa. *Fermi* benutzt eine 5proz. Virusemulsion in 1proz. Carbollösung. *Babes* meint, daß das zur Abtötung nicht immer ausreicht. Carbolzusatz benutzen auch *O. Hamann* (neben Erhitzung auf 58—60°), sowie *Pantoni* (Autovaccine bei *Lyssa*), 1 Gewichtsteil Gehirn des tollwütigen Tieres mit 10 Volumen 1proz. Carbonsäure, 1 Tag 37°, dann 7 Tage Zimmertemperatur. Alle gebissenen Tiere erhalten alle 5 Tage 5 ccm; 5—6 Injektionen. — Wutschutzimpfung von *Umeno* u. *Doi*: Gehirn und Mark von mit Virus fixe infizierten Kaninchen werden mit 5 Teilen eines Gemisches von 60 Teilen Glycerin und 40 Teilen 1.25proz. Phenollösung verrieben. Filtration durch Tuch. Filtrat bleibt zur Abschwächung 2 Wochen bei 20° (oder 4 Wochen im Eisschrank). 2 Monate haltbar. (Mitgeteilt von *Hata*.) Ein von *Miessner* in gleicher Weise hergestellter Impfstoff schützt gut, man muß aber unter die Impfdosis von 1 g Virus (entsprechend 5 ccm Impfstoff) heruntergehen. Glycerin gehalt stört (Ekzeme u. s. w.). Vorteil: eine Impfung genügt. *Horowitz-Wlassora* verwirft die carbolisierten, antirabischen Vaccinen als unsicher.

Das Virus der *Poliomyelitis acuta* schwächte *R. Kraus* durch Zugabe von 0,5 Proz. Carbonsäure (Emulsion in Kochsalzlösung