ARBEITEN AUS DEM STAATSINSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM GEORG SPEYER-HAUSE ZU FRANKFURT A. M.

BEGRÜNDET VON PAUL EHRLICH, FORTGEFÜHRT VON WILHELM KOLLE

HERAUSGEGEBEN VON

DR. R. OTTO

DIREKTOR DES STAATSINST. FÜR EXP. THERAPIE UND DES GEORG SPEYER-HAUSES HONORARPROFESSOR AN DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT ZU FRANKFURT A. M.

Heft 33

- 1. Sandro Bürgi, Ueber die Wirkung einiger Pharmaka auf das Prävagusherz des Hühnerembryos. Mit 25 Abbildungen im Text. (S. 1—38.)
- 2. Otto Lentz und Walther Schäfer, Untersuchungen über Gonokokken. Mit 19 Abbildungen im Text und 1 Tafel. (S. 39-72.)
- 3. R. Otto und W. Schäfer, Weitere chemotherapeutische Versuche beim experimentellen Fleckfieber. (Versuche an weißen Mäusen mit murinem Virus.) (S. 73-79.)



JENA VERLAG VON GUSTAV FISCHER 1936 Alle Rechte vorbehalten Printed in Germany Aus dem Chemotherapeutischen Forschungsinstitut Georg Speyer-Haus in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto.)

Ueber die Wirkung einiger Pharmaka auf das Prävagusherz des Hühnerembryos.

Von

Sandro Bürgi, Bern.

Mit 25 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der direkten Wirkung einiger Pharmaka auf das Herzgewebe. Ursprünglich wollte ich die teils publizierten, teils unveröffentlichten Versuche von Hildegard Vollmar 1) an schlagenden Herzstückchen 2) aus Gewebekulturen von Hühnerembryonen ergänzen und ausbauen, um zu einem einheitlichen Bilde über die direkte Herzwirkung verschiedener Medikamente zu kommen.

Nun ist schon in der zitierten Arbeit erwähnt, daß der alleinige Zusatz von elektrolythaltigen Flüssigkeiten (Ringer-, physiologische Kochsalzlösung) eine Beschleunigung, bzw. ein Wiederaufleben der Schlagtätigkeit dieser Stückchen herbeiführen kann. Ich begann daher mit einer eingehenden Prüfung der Wirkung verschiedener Lösungsmittel auf die Schlagfolge dieser Herzkulturen.

Dabei fand ich in Bestätigung des angegebenen Befundes, daß Ringerlösung die Frequenz im allgemeinen erhöht, oft sogar in sehr großem Ausmaße, z. B. von 0 auf 176 Kontraktionen pro Minute. In anderen Fällen kann die Schlagfolge aber auch bis zum Stillstand vermindert werden. Dabei ist es möglich, daß eine erste Zugabe die Frequenz unbeeinflußt läßt und die Veränderungen erst bei einer zweiten auftreten.

Da ich infolgedessen mit dieser Flüssigkeit keine eindeutigen Resultate erwarten durfte, suchte ich nach andern, elektrolytfreien Lösungsmitteln. Ich fand aber, daß Plasma, Serum, Hühnereiweiß, Amnionflüssigkeit, Aqua font. und Aqua dest., Olivenöl und Paraffin. liq. die Frequenz dieser Herzstückehen ebenfalls beeinflussen können, ja daß Aehnliches unter Umständen bei bloßem Luftzutritt, bei Schütteln der Kultur oder Ver-

Kolle, W., und H. Vollmar, Festschr. für Emil Bürgi, S. 192 ff., Basel 1932.
 Ueber die automatischen Schlagzentren s. Katsunuma, Seizo und Rokuro Katsunuma, Proc. imp. Acad. Tokyo, Vol. 8, p. 271 f.

änderung ihrer Lage im hängenden Tropfen eintreten kann. Ich sah daher von dieser Methode ab.

CECILE MARKOWITZ 1) gibt zwar an, daß sie bei einer ähnlichen Arbeit im allgemeinen weder nach Luftzutritt zu den Kulturen noch nach Zugabe von Tyrodelösung Unregelmäßigkeiten der Schlagfolge beobachtet habe. Ich habe aber kein Vertrauen mehr in diese Art von Versuchen. Das Objekt ist meines Erachtens zu empfindlich gegenüber unberechenbaren

äußeren Einflüssen, und die Fehlergrenzen sind zu groß?).

Ich ging dann dazu über, die direkte Herzwirkung der Arzneien an 3- bis 4tägigen Hühnerembryonen zu prüfen. Zu Beginn dieser Arbeit im Jahre 1933 war man der Ansicht, daß das 3- bis 4tägige Herz noch vollkommen frei von Nerven ist. Man nahm an, daß der Vagus erst am 5. bis 6. Tage in dasselbe einwächst. In einer neueren Arbeit 3) wird allerdings dargetan, daß beim Hühnchen die ersten Vagusfasern nach 68 Stunden in den Aortenbogen einwachsen, nach 84 Stunden eine vago-sympathische Anastomose ausgebildet ist und nach 96 Stunden der Vorhof als innerviert gelten muß. Meine Versuche wurden in der überwiegenden Mehrzahl mit Embryonen des 3. Bruttages gemacht, d. h. mit ca. 60 bis 84 Stunden alten Keimscheiben. Diese dürfen auch nach der neuesten Anschauung als nervenfreies Objekt gelten. Das stimmt nicht mehr für die wenigen Experimente mit 4tägigen Keimscheiben, wobei ich aber bemerken muß, daß ich einen deutlichen Unterschied in der pharmakologischen Wirkung auf diese älteren Embryonen nie bemerkt habe. Insbesondere habe ich nie eine verstärkte Reaktionsfähigkeit der älteren Keimscheiben beobachten können, wie dies oft angegeben wird 4).

Jüngere Keimscheiben habe ich deshalb nicht verwendet, weil bei Eröffnung des Eis am 2. Tage das Herz oft noch kaum ausgebildet oder doch so klein ist, daß nur eine mikroskopische Betrachtung in Frage käme 5).

1) MARKOWITZ, CECILE, Amer. Journ. Phys., Vol. 97, p. 271ff., 1931. Vgl. auch Markowitz, Cecilie and Wallace M. Yater, ib. Vol. 100, p. 162ff., 1932,

3) SZEPSENWOL, J., et A. BRON, C. r. Soc. Biol. Paris, T. 118, p. 946 ff., 1935. Zu einer ähnlichen Ansicht auf Grund von pharmakologischen Untersuchungen kam schon Місню Fujii, Fol. pharm. jap. IV, Fasc. 3, Breviaria, p. 20 f., 1927.

5) Nach Platten, M. Bradley and Theodore C. Kramer, Amer. J. Anat. Vol. 53, p. 349 ff., 1933, beginnen die ersten Kontraktionen nach 29 bis 30 Stunden im Ventrikelteil.

Diese ist aber bei der weiter unten angegebenen Methode ungeeignet, weil zur Annäherung des Objektivs die schützende Glasplatte über der Keimscheibe entfernt werden muß, der ganze Effekt der feuchten Kammer damit wegfällt, und der Embryo auch wirklich einzutrocknen beginnt. Die notwendige, starke Beleuchtung läßt ihrerseits nach einiger Zeit einen Einfluß auf die Schlagfolge des embryonalen Herzens erkennen. Die in dieser Arbeit manchmal erwähnte Zuhilfenahme des Mikroskops wurde denn auch immer auf wenige Minuten, womöglich Sekunden, beschränkt.

Methode.

Ich bediente mich folgender Methode: Ein im Brutschrank angebrütetes Hühnerei wird am 3. Tage vorsichtig eröffnet, und der ganze Inhalt in ein passendes Glasschälchen gegossen. Das Schälchen wird in den untern Teil einer mit Wasser beschickten Petrischale gestellt, von einem Glaszvlinder umgeben und mit einer Glasplatte oder dem Deckel einer Petrischale zugedeckt. Die Keimscheibe stellt sich meistens sofort oder nach kurzer Zeit von selbst nach oben ein. Falls dies nicht eintritt, muß der ganze Inhalt in ein anderes Schälchen umgegossen werden 1).

Zu dieser Zeit hat die Keimscheibe einen mittleren Durchmesser von 19,5 × 18 mm, der aber großen Schwankungen unterworfen ist. Das Herz ist noch schlauchförmig, aber schon deutlich in Vorhof, Ventrikelabschnitt und Conus arteriosus differenziert. Der Vorhof und namentlich seine Pulsationen lassen sich allerdings nur bei sehr gut entwickelten Objekten mit bloßem Auge beobachten.

Falls die Entwicklung der Keimscheibe noch zu wenig fortgeschritten war, um eine sichere Beobachtung des Herzens zu erlauben, wurde das Ei für weitere 24 Stunden in den Brutschrank gestellt und am 4. Bebrütungstage verwendet.

Das auf diese Weise der Betrachtung zugänglich gemachte Präparat wird nun auf einen 39 ° C warmen Heiztisch gestellt, und man zählt die Frequenz der Herzkontraktionen alle 5 bis 10 Minuten, bis sich ein während etwa einer Viertelstunde anhaltender, regelmäßiger Rhythmus eingestellt hat (s. unten). Dann wird ein halber Kubikzentimeter 2) der im Brut-

²⁾ Eine ganz andere Frage betrifft die Möglichkeit, direkt zur Nährflüssigkeit Stoffe zuzusetzen, und deren Effekt auf das Wachstum und den durchschnittlichen Kontraktionsrhythmus der Herzstückchen festzustellen, obschon mir letzteres auch etwas problematisch erscheint, da die meisten Herzstückehen keinen anhaltend gleichmäßigen Rhythmus aufweisen. Vgl. Robinson, W. E., Arch. exper. Zellforschg., Bd. 17, H. 2, S. 216 ff., 1935.

⁴⁾ Fujii Michio, a. a. O. — Markowitz, Cecile, a. a. O. — Kirihara, Saburo, Fol. pharm. jap. XI, Fasc. 3, Breviaria, p. 22 f., 1931. — Otsuka Toru, Nagasaki Igakkai Zasshi, Vol. 10, p. 471 f. (dtsch. Zusammenfassung), 1932 u. a. m. — Damit soll die Frage nicht berührt werden, ob das Prävagusherz in mancher Hinsicht anders reagiert als das Postvagusherz.

¹⁾ Eine genaue, illustrierte Beschreibung der Methode sowie der Entwicklungsfähigkeit des schalenlosen Hühnereis findet sich bei Vollmar, Hildegard, Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikrosk. Anat., Bd. 23, H. 3, S. 566 ff. — Eine ähnliche Methode (verändert nach Kaufmann), jedoch ohne feuchte Kammer, wird angegeben bei Szepsenwol, J., C. r. Soc. Biol. Paris, T. 113, p. 1385 ff., 1933. Dort finden sich auch Angaben über die ersten Versuche, Eier außerhalb der Schale zu züchten. — Frühere Autoren machten in die Eischale ein Fenster, derh welches sie die Keimscheibe beobachten

²⁾ Die ersten Versuche wurden mit je 5 Tropfen der Lösung gemacht. Ich bin dann zu 0,5 ccm übergegangen, mit welchem Quantum die ganze Keimscheibe sicher bedeckt werden kann. Nach vielen Beobachtungen bin ich aber zur Ueberzeugung gekommen, daß die Menge von 0,3 ccm wohl günstiger wäre, da bei 0,5 ccm oft ein

schrank vorgewärmten Lösung des zu untersuchenden Arzneimittels vermittels einer eingeteilten Spritze direkt auf die Keimscheibe geträufelt und die Frequenz wieder gezählt. Die Pulszählung wurde mit einer Stoppuhr während 30" vorgenommen, und zwar — entsprechend den stärksten Veränderungen der Schlagzahl als Reaktion auf die Herzmittel — im allgemeinen nach folgendem Schema:

In den ersten 10 Minuten alle Minuten, von 10—20 Minuten alle 2 Minuten, von da an alle 5 (—10) Minuten.

Die Versuche wurden meistens nach 60 bis 80 Minuten abgebrochen, da sich oft schon nach 30 Minuten keine Wirkung mehr zeigte. Allerdings wurden hiervon häufig Ausnahmen gemacht, namentlich bei denjenigen Arzneien, deren Effekt (wie z. B. bei Strophanthin) erst später zutage tritt.

Als Ergänzung der Experimente wurde am folgenden Tage festgestellt, ob der im Brutschrank aufbewahrte Embryo noch lebte. Daß sich die unbehandelte Keimscheibe in diesen Schälchen im allgemeinen ganz normal weiterentwickelt — es gelang dies bis zum 16. Tage —, ergibt sich aus der oben erwähnten Arbeit von H. Vollmar. Manchmal stirbt der Embryo allerdings aus nicht ersichtlichen Gründen ab, genau so wie man beim Eröffnen eines bebrüteten Eies öfters auf eine bis zum 2. oder 3 Tage entwickelte, abgestorbene Keimscheibe stößt. Das sind aber Ausnahmen. — Dagegen zeigte sich, daß nach Zugabe gewisser Stoffe in bestimmten Konzentrationen die Keimscheibe fast regelmäßig am nächsten Tag abgestorben war, und dies sogar in manchen Fällen, die in den ersten Stunden keinerlei Wirkung der Arznei aufgewiesen hatten. In der großen Mehrzahl blieben die Embryonen aber am Leben, auch wenn die momentane Wirkung des Medikamentes so toxisch war, daß sich das Herz während langer Zeit nicht mehr kontrahiert hatte. Das oben erwähnte Absterben glaube ich daher auf eine ganz allmählich einsetzende Vergiftung beziehen zu dürfen, falls es sich bei mehreren, wo nicht allen Parallelversuchen einstellte.

Alle Experimente wurden gleichmäßig protokolliert. Die Wirkung der Arzneimittel auf die Frequenz des Prävagusherzens hielt ich überdies in graphischen Kurven fest, wobei die Abszisse den Zeitablauf, die Ordinate die Schlagzahl vor und nach Zugabe des Medikamentes zur Darstellung bringt (s. d. Illustrationen). Diese Kurven ergaben ein außerordentlich gleichmäßiges und für jedes Medikament spezifisches Bild seiner Wirkungsweise auf den Herzrhythmus. Nur wenige Stoffe, wie z. B. KCl, Azetylcholin und Nikotin, zeitigten, soweit sie geprüft wurden, in dieser Hinsicht keine übereinstimmenden Resultate.

beträchtlicher Teil der Flüssigkeit auf die undifferenzierten Eiteile zu liegen kommt. Um aber den Vergleichswert der dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche nicht zu beeinträchtigen, bin ich bei 0,5 ccm geblieben. Soweit sich sonstige Beobachtungen machen ließen, wurden sie ebenfalls protokolliert. Es betrifft dies insbesondere Veränderungen der Systole (schwache, kräftige, gespannte Kontraktionen), der Diastole (vermehrte oder gehemmte Erschlaffung des Herzens, Kontrakturstellung) und des — anatomisch noch nicht nachweisbaren, funktionell aber sicher vorhandenen — Reizleitungssystems. Hier konnte ich häufig Ueberleitungsstörungen und -verzögerungen (manchmal in der Art der Wenckebach schen Perioden), partiellen oder kompletten a.-v. Block, häufiger einen solchen zwischen dem eigentlichen Ventrikelanteil und dem Conus arteriosus feststellen. Diese Beobachtungen hängen aber in großem Maße von der Beschaffenheit der Keimscheibe ab. So ist es z. B. nur bei der geringeren Zahl derselben möglich, die Kontraktionen des Vorhofes einwandfrei zu sehen und zu zählen. Eine stärkere diastolische Erschlaffung fällt weniger auf als eine Kräftigung der Systole usf. — Weitere Feststellungen der Arzneimittelwirkung betrafen die Gefäße (Stase, Blutaustritte u. ä.).

Auch in dieser Hinsicht riefen einige Medikamente typische Wirkungen hervor, so z. B. die Digitaliskörper recht charakteristische Störungen des Reizleitungssystems.

Ich habe die Methode an über 350 Präparaten geprüft. Dabei handelte es sich in erster Linie um die Frage, ob das Herz der Keimscheibe überhaupt zur Untersuchung von Arzneimittelwirkungen geeignet ist, d. h. ob bei verschiedenen Stoffen spezifische Veränderungen auftreten, vornehmlich was die Frequenz betrifft. Dies glaube ich einwandfrei nachgewiesen zu haben.

Dagegen möchte ich nicht behaupten, die gesamte Wirkungsweise irgendeiner Arznei auf das Herz des Hühnerembryos erforscht zu haben. Die vorliegende Arbeit soll nur die Brauchbarkeit der Methode an sich darlegen. Noch weniger bin ich näher auf die Frage eingegangen, ob sich das schalenlose Hühnerei als Testobjekt für die Standardisierung gewisser Medikamente eignen würde¹). Ich erwähne dies, weil mir die Möglichkeit dazu als gegeben erscheint; doch muß der Nachweis dafür ferneren Arbeiten auf diesem Gebiet überlassen werden. Als Kriterien kämen dabei in Betracht die Zeit des reversibeln oder irreversibeln Stillstandes des Herzens, oder z. B. das Absterben der im Brutschrank aufbewahrten Keimscheibe innerhalb von 24 Stunden nach Verabreichung der Lösung. Jedenfalls zeigten "toxische" Gaben irgendeiner Arznei meistens eine verblüffende Uebereinstimmung in Zeit und Art ihrer Wirkungsweise²). Auf synergistische und antagonistische Wirkungen bin ich, mit einer kleinen Ausnahme (s. Kalium und Kalzium), überhaupt nicht eingegangen.

Einwendungen gegen die ganze Methode ergeben sich vor allem aus der Art der Zugabe der Medikamente. Man kann dem Organismus nicht einfach eine bestimmte

¹⁾ Hall, Edith M., kündigt in Amer. J. Phys., Vol. 101, p. 48 f., 1932, eine Standardisierungsmethode für Digitalis am Hühnerherzen an ("a chick heart method of biological assay"); doch habe ich seither nichts mehr davon gelesen.

²⁾ Allerdings würde sich die Möglichkeit, die Keimscheibe als Testobjekt zu verwenden, auf lösliche Präparate, oder zumindest auf Suspensionen beschränken. Ich habe wohl Versuche mit ganz fein zerriebener pulv. fol. digit. gemacht und dabei qualitative Digitaliswirkungen gesehen (Vergrößerung der Diastole, der Systole bis zur Kontraktur, RLS-Störungen, frustrane Vorhofskontraktionen usf.) und damit verbundenen Frequenzabfall; doch hatte ich bei der Beobachtung deutlich die Empfindung, daß man hierbei die Art und namentlich die Zeit der Resorption nicht beherrscht.

schlagen hatte. Schwankungen von etwa 4 Kontraktionen pro Minute wurden als unerheblich betrachtet.

Bei der Beobachtung während Stunden zeigte sich, daß viele Herzen eine ganz allmähliche Zu- oder Abnahme der Frequenz aufweisen. Dies spielt aber für die Prüfung der Arzneimittelwirkung, die im allgemeinen auf 60 Minuten beschränkt wurde, keine ausschlaggebende Rolle; denn ein so langsamer und kontinuierlicher Anstieg oder Abfall ist als Wirkungslosigkeit des zu untersuchenden Stoffes anzusehen, was sich ohne weiteres aus den Kontrollversuchen ergibt. Ein deutlicher Effekt wird aber auch innerhalb dieser Grundtendenz eines allmählichen Frequenzanstiegs oder -abfalls zum Ausdruck kommen.

Fig. 1 veranschaulicht das Gesagte an 12 Kurven.

Nachdem die Regelmäßigkeit der Frequenz des unbehandelten Embryonalherzens sichergestellt war, ging ich zur Prüfung der zur Verdünnung der Arzneien notwendigen Lösungsmittel über. Im allgemeinen wurde dazu sterile Ringerlösung verwendet. Nur für Adrenalin und Azetylcholin gebrauchte ich physiologische Kochsalzlösung, bei letzterem in starker Konzentration auch Aqua destillata.

Die Prüfung der Lösungsmittel geschah prinzipiell in der gleichen Weise, wie es oben für die Versuche mit Arzneimitteln beschrieben worden ist.

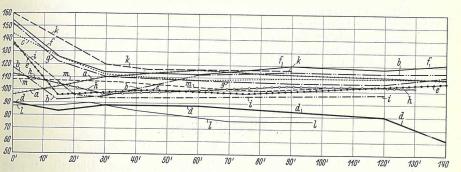


Fig. 1. Kontrollen. Unbehandelte Keimscheiben.

Das Ergebnis war, daß Ringer- und physiologische Kochsalzlösung keinen Einfluß auf die Frequenz des embryonalen Hühnerherzens haben. Nur in seltenen Fällen stellte sich eine um ein geringes höhere oder tiefere, immer aber sehr gleichmäßige Schlagfolge ein. Man könnte sogar eher von einem regularisierenden Effekt sprechen; denn, erfolgte die Zugabe, bevor sich das Herz beruhigt hatte, so trat sogleich ein ganz regelmäßiger Rhythmus ein (vgl. Fig. 2, Kurve 1 und 4).

Ein Phänomen lernte ich hier allerdings kennen, das ausnahmslos auch bei allen Experimenten mit Arzneimitteln auftrat. Im Moment, wo man die Flüssigkeit auf die Keimscheibe träufelt, sinkt die Frequenz schockartig ab. Bei indifferenten, schwach wirksamen oder gar pulsbeschleunigenden Lösungen erholt sich das Herz wieder, manchmal innerhalb 20—30 Sekunden, meistens nach 1—3 Minuten. Der Abfall kann sogar in der ersten Minute überkompensiert werden, so daß er auf der Kurve nicht in Erscheinung tritt — (namentlich wenn man nicht nur 30 Sekunden lang, sondern volle 60 durchzählt) —; doch das sind Ausnahmen. Jedenfalls habe ich eine Verlangsamung der ersten Herzschläge immer konstatieren können. Sie hängt nicht etwa vom Luftzutritt und der allfälligen, geringen Abkühlung durch das Abnehmen der Glasplatte ab. Dadurch allein konnte ich nie einen Frequenzabfall bewirken, man müßte denn die Keimscheibe während mehrerer Minuten abdecken.

Dosis einverleiben, man träufelt sie über die Keimscheibe, und ist auf Diffusion und Osmose angewiesen¹). Man kann auch nicht mit Bestimmtheit sagen, daß das ganze Quantum der Arznei über der Keimscheibe liegt und nicht ein beträchtlicher Teil nur die undifferenzierten Teile des Eis (Eigelb und Eiweiß) behelligt. Allerdings scheint die Konzentration, in der ein Medikament gegeben wird, eine viel entscheidendere Rolle zu spielen als die Quantität desselben. Ich erhielt z. B. mit Digalen, von dem ich in den ersten Versuchen nur je 5 Tropfen verabreichte, fast identische Kurven mit denjenigen, die ich später nach Zugabe von ½ ccm feststellen konnte (vgl. Fig. 4 und 6). Im Gegensatz dazu zeitigten 10 Tropfen Digalen 1: 40 lange nicht den gleichen Effekt wie 5 Tropfen 1: 20.

Ein weiterer Nachteil mag darin liegen, daß der ganze Organismus, und nicht ein isoliertes Herz, unter dem medikamentösen Einfluß steht. Zur Prüfung der direkten Wirkung auf das Gewebe wären Herzgewebekulturen sicher geeigneter, aber sie sind meines Erachtens dazu eben nicht verwendbar (s. Einleitung).

Schließlich mag der Methode ein gewisses Odium der Subjektivität anhaften, weil man keine sogenannt objektiven Kurven herstellen kann (man müßte dazu schon sehr raffiniert mikromanipulieren und würde die Keimscheibe dabei wohl erheblich schädigen).

Die Vorteile der Methode ergeben sich aber aus sehr ähnlichen Ueberlegungen:

Einmal ist sie außerordentlich einfach und übersichtlich.

Ferner halte ich gerade den Umstand, daß man ein im intakten Kreislauf schlagendes Herz beobachten kann, ohne den Brustraum gewaltsam eröffnen zu müssen, für einen Vorzug.

Drittens ist der mechanische Eingriff für die Zugabe der Arzneien äußerst gering. Und letztlich hat man zum Studium der direkten Arzneiwirkung auf das Herz einen Organismus vor sich, der nervenfrei ist, ohne daß man vorerst Vagotomien usf. vornehmen muß.

Vorversuche.

Es mußte zunächst einmal festgestellt werden, ob die Frequenz des unbehandelten Embryonalherzens im Glasschälchen gleichmäßig bleibt. Dabei zeigte sich, daß sie nach Eröffnung der Eischale und bei der Herausnahme des Glasschälchens aus dem Brutschrank und Aufstellen auf dem Heiztisch zunächst eine starke Verlangsamung erleidet. Diese ist sicher der unvermeidlichen Abkühlung von oben und von der Seite her zuzuschreiben; denn wenn man das Schälchen in den Brutschrank zurückstellt, steigt die Frequenz sofort wieder an. Oft folgt dem Absturz ein kleiner Wiederanstieg, und nach 20 bis 30 Minuten stellt sich fast immer eine gleichmäßige Schlagfolge auf einem niedrigeren Tempo ein.

Nur wenige Keimscheiben konnten zu den Versuchen überhaupt nicht gebraucht werden, weil kein Ausgleich der Frequenz eintrat. Die angegebene Zeit von 20 bis 30 Minuten stellt natürlich einen Durchschnittswert dar. In vielen Fällen mußte man länger, manchmal eine Stunde lang, abwarten. Die Zugabe der Medikamente erfolgte erst, wenn sich das Herz beruhigt und während 10 bis 20 Minuten gleichmäßig ge-

¹⁾ Mme A. Guelin-Schedrina (C. r. Soc. Biol. Paris ,T. 113, p. 717 ff., 1933. Ann. de Physiol., T. 10, p. 453 ff., 1934. Arch. exper. Zellforschg, Bd. 15, p. 382 ff., 1934) hat allerdings an ihren zahlreichen Experimenten mit Thyroxin am Hühnerembryo gezeigt, daß man mit genügender Geschicklichkeit am 2- Bebrütungstag des Hühnerembryos intrakardiale, am 3. sogar intravenöse Injektionen machen kann; da aber bei meinen Experimenten das bloße, blande Beträufeln der Keimscheibe jedesmal mit einem Schock beantwortet wurde (s. unten), glaube ich nicht, daß ich mit einer mechanisch eingreifenderen Methode zu einwandfreieren Resultaten gekommen wäre, selbst wenn sie mir eine quantitative Resorption der Arzneien garantiert hätte.

Eine Bestätigung für die Unempfindlichkeit des embryonalen Herzens gegenüber Ringer- und Kochsalzlösung fand ich überdies jedesmal dann, wenn ein Medikament in stark verdünnter, offenbar unwirksamer, Lösung zugegeben wurde.

Fig. 2 bringt einige Versuche mit Ringerlösung zur Darstellung.

Aqua destillata zeigt entweder keine Aenderung, oder eine geringfügige, eventuell sogar eine außergewöhnlich starke Zunahme der Frequenz 1). Oft stirbt die Keimscheibe innerhalb 24 Stunden ab. Dieses Lösungsmittel ist daher nicht zu empfehlen.



Fig. 2. Kontrollen, Zugabe von 0,5 ccm Ringerlösung.

Oleum olivarum (0,3 ccm) hatte in 2 Experimenten keinen Einfluß auf die Schlagfolge. Ich habe diese Versuche aber nicht weiterverfolgt.

Insgesamt scheint das Objekt gegen indifferente, isotonische Lösungen und kleine mechanische Insulte wie kurzen Luftzutritt, nicht zu intensive Beleuchtung usw. ganz unempfindlich zu sein, und selbst gegenüber Veränderungen des osmotischen Gleichsgewichts in einigen Fällen nicht zu reagieren. Um so sicherer dürfen die Wirkungen der differenten Stoffe, von denen nun die Rede sein soll, als spezifisch angesehen werden.

I. Digitaliskörper.

Versuche wurden gemacht mit Infusum folior. digit. titr., Digalen (Ampullen), Digifolin (Ampullen), Digitalysatum Bürger, Digitalis-Dispert liquidum (Krause-Medico), Digipuratum liquidum, Pandigal liq. und Strophanthin-Boehringer (Ampullen).

Digalen und Digifolin.

1. Konzentrierte Lösung.

Gibt man 0.5 ccm reines Digalen (= 0.05 g fol. dig. titr.), dann setzt nach Ueberwindung des Initialschocks (s. oben) eine kurzdauernde, starke Frequenzsteigerung ein; der Herzschlauch geht in Kontrakturstellung über, der Puls wird unregelmäßig, es treten Dissoziationsphänomene auf (Reizerzeugung von verschiedenen Stellen aus, Störungen der Erregungsleitung), und nach wenigen Minuten steht das Herz in Systole still. Eine eigentliche Herzperistaltik habe ich hier nicht beobachtet. Manchmal folgen auf den Stillstand noch einige Zuckungen in unregelmäßigen Abständen, wobei sich nur ganz kleine Teile des Ventrikels oder des Conus arteriosus fruchtlos

kontrahieren. Blut wird dabei nicht mehr befördert. Ob der Vorhof noch länger schlägt, konnte ich nicht feststellen. Eine Andeutung der sogenannten therapeutischen Digitaliswirkung (ausgiebige Diastole, kräftige Systole, Pulsverlangsamung) ist nicht zu sehen.

Genau gleich wirkt reines Digifolin oder 0,5 ccm Infus. fol. digit. 10:150, während eine halbe Ampulle Strophanthin erst bedeutend später eine ähnliche Wirkung zeigt (s. unten).

Nach 24 Stunden sind die so behandelten Keimscheiben abgestorben. Fig. 3 gibt in 4 Kurven je zwei Versuche mit reinem Digalen und Digifolin wieder.

2. Mittlere Verdünnungen.

Digalen 1:10 (5 Tropfen) zeigt zuerst eine ganz ähnliche Wirkung auf die Frequenz wie konzentrierte Gaben (vgl. Fig. 4). Bei Versuch 6

kommt es jedoch nur zu einem starken Abfall ohne Stillstand. Die übrigen Herzen erholten sich alle nach 40 bis 120 Minuten (Nr. 11 erst später), und nach 24 Stunden sahen alle Keimscheiben normal aus.

Bei Versuch 7 wurden nach 17 und nach 25 Minuten je 10 Tropfen Ringerlösung zugegeben, was aber den Verlauf der Frequenzkurve nicht im geringsten zu verändern vermochte. Offenbar ist die Bindung der Glykoside zu dieser Zeit schon irreversibel.

Versuch 165 wurde mit 0,5 ccm gemacht. Auffällig ist dabei, daß die viel größere Menge sehr ähnlich wirkte wie ein kleineres Quantum gleicher Konzentration.

Digifolin 1:10, 0,5 ccm (7 Versuche, vgl. Fig. 5). Mit Ausnahme von Versuch 56, der gar keinen Effekt zeigte, findet auch hier nach anfäng-

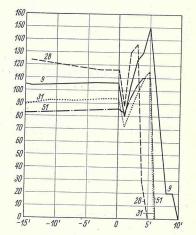


Fig. 3. Digalen und Digifolin konzentriert.

9 (Digalen, 5 Tropfen) -- 28 (Digalen, 0,5 ccm) · · · · · 31 (Digifolin, 0,5 ccm) -- - 51 (Digifolin, 0,5 ccm)

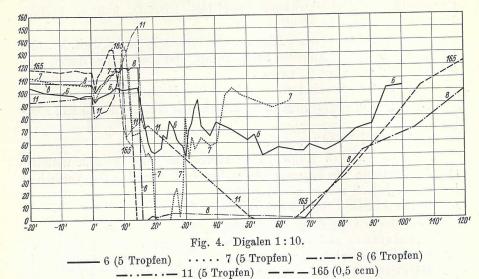
licher Steigerung ein starker Abfall statt, von dem sich das Herz aber erholt. Es kommt weniger häufig bis zum Stillstand als bei Digalen, wie denn überhaupt Digifolin in gleichen Konzentrationen auf das Prävagusherz weniger toxisch zu wirken scheint. Auch hier waren alle Keimscheiben nach 24 Stunden am Leben und zeigten kräftige, regelmäßige Kontraktionen.

Wo ein Frequenzsturz erfolgt, geht er immer mit deutlichem partiellen oder totalen Block zwischen Ventrikel und Conus arteriosus einher 1). Oft

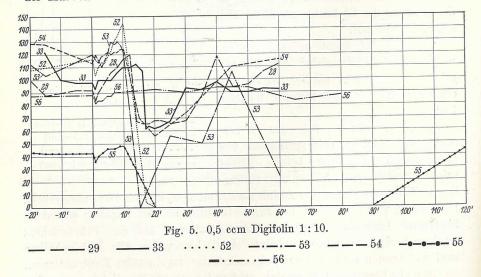
¹⁾ P. D. F. Murray (Proc. Roy. Soc. London B 116, p. 434 ff., 1935) konstatierte an isolierten Herzen von Hühnerembryonen, daß hypotonische Lösungen dieselben zu vorübergehendem Flimmern bringen, während hypertonische Lösungen keine Wirkung zeigten.

¹⁾ Totaler Vorhofkammerblock nach Digitalisgaben an Prä- und Postvagusherzen des Hühnerembryos wurde elektrokardiographisch nachgewiesen von Lagen, John B., and Sampson, John J., Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., Vol. 29, p. 735f., 1932.

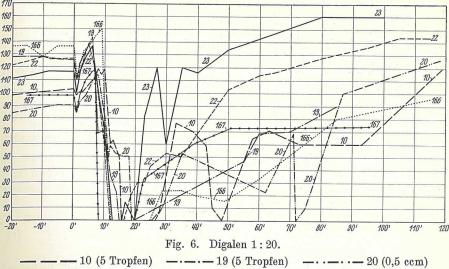
kann man gut beobachten, wie vom führenden Zentrum aus, liege es im Ventrikel oder im Konus, nur jede 2., 3. (usf.) Kontraktion übergeleitet



wird, das ganze Herz somit in einem viel langsameren Tempo schlägt als der reizerzeugende Teil allein (vgl. Fig. 4, wo die punktierten Abschnitte der Kurven 11 und 165 dieses Phänomen andeuten sollen).



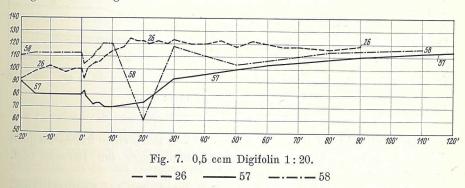
Jedenfalls habe ich nie eine Pulsverlangsamung nach Digitalisgaben gesehen, die nicht mit ausgeprägten Störungen in der Erregungsleitung und meistens auch starken Unregelmäßigkeiten in der Schlagfolge einhergeht. Eine therapeutische Herabsetzung der Frequenz ist bei dem Prävagusherzen nicht zu beobachten, was nicht verwunderlich wäre, wenn man dieselbe einzig auf den Einfluß des Vagus beziehen würde. Im Gegenteil,



--22 (0.5 ccm) ---167 (0.5 ccm) ----167 (0.5 ccm)

solange das embryonale Herz annähernd normal schlägt, bewirken Digitaliskörper eher eine Pulsbeschleunigung 1).

Diese Tatsache ist um so auffälliger, als man sehen wird, daß typisch parasympathisch erregende Substanzen genau so wirken, als wäre der Vagus schon ausgebildet.



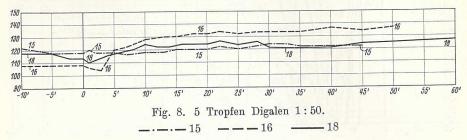
Digalen 1:20, 0,5 ccm. Die Versuche ergeben ein sehr ähnliches Bild wie diejenigen mit 5 Tropfen 1:10 (vgl. Fig. 6). Es stellte sich jedesmal ein hier allerdings kurz dauernder Stillstand ein mit deutlicher Erholung.

¹⁾ Die gleiche Beobachtung wurde an ausgeschnittenen Hühnerherzen vom zweiten Embryonaltage an gemacht. Vgl. Fujii, Michio, Fol. pharm. jap. IV, Fasc. 3, p. 20, 1927 (Strophanthin, Digitalin und Helleborin) und KIRIHARA SABURO, Fol. pharm. jap. XI, Fasc. 3, p. 22 f., 1931 (Digitalein).

Wirkung einiger Pharmaka auf das Prävagusherz des Hühnerembryos. 13

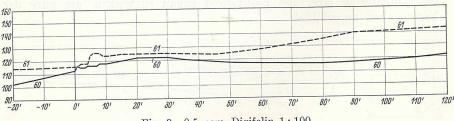
Auch hier folgte auf den Initialschock eine vorübergehende Frequenzzunahme mit annähernd normalen Kontraktionen. 2 Versuche mit nur 5 Tropfen sind in ihrem Verlauf fast identisch mit den andern 5 Experimenten.

Digifolin 1:20 zeigt in 3 Versuchen eine viel weniger toxische Wirkung (vgl. Fig. 7). Es kommt zu keinem auch nur vorübergehenden Stillstand. Versuch 26 zeigt eine anhaltende Frequenzzunahme, 57 nach anfänglicher Verlangsamung ebenso. Bei 58 trat kurz dauernder Sturz auf, der wieder mit starken Störungen des RLS einherging.



3. Stärkere Verdünnungen.

Von 1:50 an (5 Tropfen) hat Digalen fast keinen Einfluß mehr auf die Schlagfolge. Bei drei Versuchen blieb das Tempo einmal gleich, zweimal zeigte sich ein kleiner Anstieg. Verzögerungen der Erregungsleitung waren teilweise noch zu beobachten, dagegen trat keine Unregelmäßigkeit mehr auf, und ebensowenig war eine Kontrakturstellung zu sehen.



Digifolin 1:100 (0,5 ccm) zeigte in 2 Versuchen einen unbedeutenden Frequenzanstieg, sonst aber keinerlei Veränderungen des Herzens (vgl. Fig. 8 und 9).

Stärkere Verdünnungen (Digalen von 1:100 bis 1:10000, Digifolin von 1:1000 bis 1:100000) erzeugten keine Wirkung mehr. Die Kurven verliefen wie Ringerkontrollen.

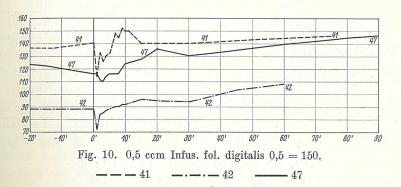
Infusum folior. digitalis titr.

Es wurden 12 Versuche gemacht in Konzentrationen von 10:150 bis zu 0,01:150, je 0,5 ccm. Das Infus wurde im allgemeinen ganz frisch verwendet.

10:150 wirkte, wie schon erwähnt, sehr ähnlich wie reines Digalen oder Digifolin; d. h. nach Ueberwindung des Initialschocks traten ein rascher Anstieg, dann Abfall und Stillstand, einmal nach 7, einmal nach 15 Minuten ein. Dabei waren Ueberleitungsstörungen, Unregelmäßigkeiten und Kontraktur zu beobachten.

In der Konzentration 1:150 zeigte das Infus in 3 Versuchen eine ähnliche Wirkung, nur trat der Stillstand später ein. Auch hier waren Blockphänomene, Unregelmäßigkeiten und Kontrakturstellung des Herzens zu sehen. Nach 24 Stunden waren alle Keimscheiben tot.

Bei 0,5:150 sah man noch Verzögerung der Ueberleitung, dagegen keinen eigentlichen Block, keine Irregularität und keine Kontraktur. Ein Frequenzsturz trat bei den drei gemachten Versuchen nicht auf, es zeigte sich hier im Gegenteil wieder eine leichte, allmählich eintretende Vermehrung der Schlagfolge (vgl. Fig. 10).



Einige Versuche in Konzentrationen von 0,25 bis 0,01:150 ergaben keine deutliche Digitaliswirkung und wurden daher nicht wiederholt.

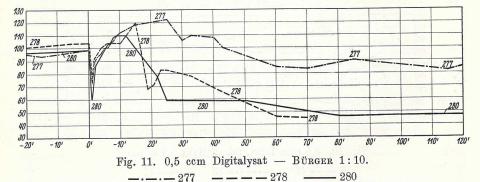
Uebrige Digitalispräparate.

Bei den weiteren (29) Versuchen kam es mir, wie schon beim Infus, nicht darauf an, die Wirkungsweise eines einzelnen Präparates durchzustudieren, sondern vielmehr an Hand verschiedener Digitaliszubereitungen zu prüfen, ob die mit Digalen und Digifolin erhaltenen Resultate im Prinzip bestätigt würden, eventuell auch Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, ob sich die Methode zur Vergleichung der Konzentrationen, bzw. als Test, ebenfalls eignen könnte. Ferner legte ich dabei besonderen Wert auf die Feststellung der qualitativen Wirkungen auf das Herz (Veränderungen der Systole, der Diastole, Wirkungen auf das RLS); denn auch bei diesem Objekt entwickelt sich der Sinn für die Beobachtung erst allmählich, und ich bin davon überzeugt, daß mir bei meinen ersten Versuchen mit Digalen vieles entgangen ist.

1. Digitalysat Bürger, 9 Versuche, Verdünnungen 1:5 bis 1:1000.

Was die Frequenz betrifft, ergaben sich hier die gleichen Beobachtungen wie bei anderen Digitalispräparaten: Bei starker Konzentration (1:5 und 1:10) Initialschock, Anstieg und Abfall, letzterer mit starken Irregularitäten und RLS-Störungen verbunden (vgl. Fig. 11). Ab 1:20 Tendenz zu leichter Vermehrung der Schlagfolge, und ab 1:100 kein deutlicher Einfluß mehr.

Dagegen waren hier recht häufig therapeutische Digitaliswirkungen zu sehen. Bei allen Versuchen nahm ich eine deutliche Kräftigung der Systole wahr, die bei starken Gaben in schnellende Kontraktionen überging. Bei 5 Experimenten war auch eine Vergrößerung der diastolischen Erschlaffung zu beobachten, wobei zu betonen ist, daß dieselbe sehr ausgeprägt sein muß, um bei diesem Keimscheibenherzehen aufzufallen. Die Veränderungen der Systole sind viel leichter festzustellen. RLS-Störungen



gingen dem Frequenzsturz parallel. Eine Kontrakturstellung wurde nur einmal gesehen.

2. Digitalis-Dispert liq., 9 Versuche, Verdünnungen 1:5 bis 1:500. Die Wirkungen auf die Frequenz waren auch hier die gleichen. Vielleicht könnte man von einer etwas größeren Toxizität sprechen.

Bei einem Versuch mit 0,5 ccm 1:5 war einmal eine recht typische "Herzperistaltik" zu sehen. Der ganze Herzschlauch war in mäßiger Kontrakturstellung, wobei in ganz unregelmäßiger Weise an den verschiedensten Stellen partielle Diastolen auftraten mit nachfolgenden Kontraktionen, durch die aber kein Blut befördert werden konnte, da die übrigen Teile in Kontraktur verblieben. Bei dem gleichen, gut zu beobachtenden Objekt konnte ich auch einen sichern, vorübergehenden, partiellen Block zwischen Vorhof und Ventrikel feststellen. Nach der anfänglichen Frequenzzunahme setzte der Ventrikel einige Male aus, während der Vorhof noch wenige Minuten lang gleichmäßig weiterschlug. Dabei kam es vorerst nicht zu einer Reizerzeugung im Ventrikel, es wurde nur jeder 3. bis 4. Schlag nicht übergeleitet. Erst nachdem der Vorhof auch aussetzte, ging der Kontraktionstypus allmählich in die oben geschilderte Herzperistaltik über.

3. Digipurat, 7 Versuche, rein und Verdünnungen 1:5 bis 1:20.

Die Wirkung auf die Frequenz glich hier eher derjenigen des Strophanthins (s. unten), d. h. wenn eine solche überhaupt zu konstatieren war, war sie qualitativ wie bei andern Digitaliskörpern, trat aber immer verhältnismäßig spät auf. Ein Versuch mit dem reinen Präparat zeigte erst nach 42 Minuten einen Absturz (mit Irregularität und RLS.-Störungen verbunden), der nach zirka 2 Stunden in Stillstand überging. Eine Pulsbeschleunigung ging demselben nicht voran. Das Herz erholte sich nicht mehr. In 3 Versuchen 1:5 zeigte sich kein Einfluß auf die Schlagfolge. Bei 2 Versuchen 1:10 trat einmal nach 2 Stunden ein typischer Digitalisfrequenzabfall mit Dissoziationsphänomenen und Unregelmäßigkeiten und nach vorangehender Pulsbeschleunigung auf, während das andere Experiment keine Wirkung zeigte.

Eine Kräftigung der Systole war fast überall zu sehen, eine Verbesserung der Diastole wurde nicht beobachtet. Unregelmäßigkeiten und Ueberleitungsstörungen waren häufig.

4. Pandigal, 5 Versuche, Verdünnungen 1:5 und 1:10.

Die Wirkung auf die Frequenz war ungleichmäßig, bei der geringen Zahl der Versuche wohl auch nicht zu beurteilen.

Bei zwei Versuchen 1:5 trat eine Art von "Herzperistaltik" auf, das eine Mal nur angedeutet, das andere Mal ganz ausgebildet. Beide Keimscheiben waren nach 24 Stunden abgestorben. Beide Versuche zeigten anfänglich eine starke diastolische Erschlaffung des Herzens bei recht unvollkommener systolischer Entleerung. Allmählich besserte sich dieselbe, der Herzschlauch ging aber fast gleichzeitig immer mehr in Kontrakturstellung über, und dann folgten die von verschiedenen Stellen her kommenden, ganz unregelmäßigen Kontraktionen, wovon sich das eine Herz allerdings bald erholte. Bei beiden Versuchen schrumpfte die gesamte Keimscheibe zusammen, ein Phänomen, das wir namentlich bei der Atropinwirkung antreffen werden, wo man geradezu von einem plötzlichen Zusammenschnurren sprechen kann, das aber nach Zugabe von verschiedenen Medikamenten in starker, giftiger Konzentration zu beobachten war.

Ueberleitungsstörungen und Kontrakturstellung sah ich auch noch bei der Verdünnung 1:10.

Einen prinzipiellen Unterschied in der Wirkungsweise gegenüber den Präparaten aus Digitalis purpurea konnte ich bei diesen wenigen Versuchen nicht wahrnehmen.

Strophanthin.

Es wurden über 30 Versuche mit Strophanthin-Boehringer gemacht (Ampullen zu 0,0005 g). Gratus-Strophanthin (Ouabain) habe ich nicht geprüft.

Ganz allgemein fiel mir auf, daß die Strophanthinwirkungen bei diesen Keimscheiben (vielleicht wegen der Resorptionsverhältnisse?), im Gegensatz zu den Beobachtungen an Mensch und Tieren, regelmäßig erst spät einsetzen, dann aber lange anhalten, und daß andererseits schon mäßige

Verdünnungen überhaupt keinen Effekt mehr zeigen.

Reiner Inhalt der Amupllen (0,25 mg in 0,5 ccm) hat eine ähnliche Wirkung wie reines Digalen oder Digifolin. Nach einem manchmal schon innerhalb der ersten Minute überkompensierten Initialsturz stellt sich meistens ein Frequenzanstieg ein, dann folgt Pulsverlansamung mit Blockphänomenen usw., seltener auch mit Kontrakturstellung, und schließlich Stillstand. Wenn dieser aber bei Digalen und Digifolin innerhalb von 5 bis 10 Minuten erfolgt, so tritt er hier erst nach 15 bis 30 Minuten auf (vgl. Fig. 12 und dazu Fig. 3). Die Keimscheiben sind nach 24 Stunden tot.

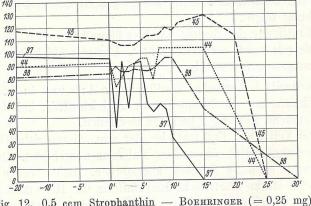
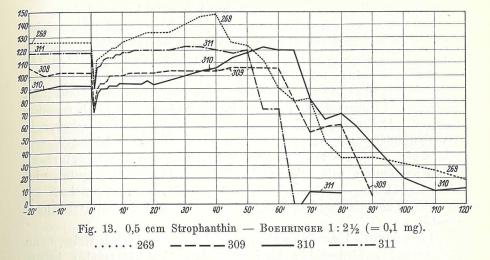


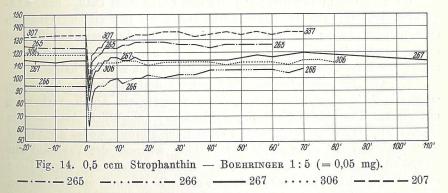
Fig. 12. 0,5 ccm Strophanthin — Boehringer (= 0,25 mg).

Die Wirkung von 0,1 mg ist ähnlich, aber über einen viel größeren Zeitraum verteilt. Der Absturz erfolgt nicht vor 40 bis 60 Minuten, und definitiver Stillstand tritt erst viel später ein (vgl. Fig. 13). Auch hier kommt es wieder zu RSL-Störungen. So sah ich z. B. bei Versuch 269 eine Zeitlang einen Block zwischen Ventrikel und Conus arteriosus, ersterer schlug im Tempo von 80, letzterer im Tempo von 40 Schlägen pro Minute. Gleichzeitig war aber auch die Ueberleitung vom Vorhof zum Ventrikel gesperrt. Der Vorhof kontrahierte sich in einem viel rascheren, wegen der schwierigen Beobachtung leider nicht zählbaren Rhythmus. Die auftretenden Unregelmäßigkeiten lagen eher in gestörter Reizbildung als in behinderter Erregungsleitung. Auffallend häufig kam es zu Perioden von je zwei gleichmäßigen Systolen, denen eine kurze Pause folgte. Aber auch längeres Aussetzen (10 bis 20 Sekunden) war durchaus nicht selten. Was die Blockphänomene betrifft, so erschienen sie sehr ähnlich wie bei Digitaliswirkung. Im allgemeinen (ich spreche von der leicht zu sehenden Barriere zwischen Ventrikel und Conus) begann der Conus zuerst bei einigen Kontraktionen auszusetzen, dann folgte eine kürzer oder länger dauernde Periode regelmäßiger Dissoziation (z. B. Ventrikel 80, Conus 40 Kontraktionen), die sich allmählich verstärkte, oft sehr gleichmäßig 3:1, dann 4:1 usf. bis etwa 12:1. Danach erschienen manchmal die bei Digitalis



beschriebenen Andeutungen von Herzperistaltik, oder es erfolgten ausgiebige, aber ganz unregelmäßig auftretende Kontraktionen.

Eine Kontraktur des Herzschlauchs habe ich nach Zugabe von 0,1 mg Strophanthin nicht gesehen. Dagegen waren einige Male therapeutische



Digitaliswirkungen, namentlich eine Vergrößerung der Diastole zu beobachten.

Alle (7) mit 0.1 mg behandelten Keimscheiben waren nach 24 Stun-

Mit 0,05 mg erzielte ich keine merkliche Wirkung auf die Schlagfolge (vgl. Fig. 14). Auch im übrigen schlugen die Herzen in unveränderter Weise weiter. Von 6 Versuchen zeigte nur ein Herz vorübergehende Irregularität

Arb. a. d. Staatsinst. f. exp. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. XXXIIII.

und eine kleine Ueberleitungsstörung. Dagegen war die Hälfte der Keimscheiben nach 24 Stunden abgestorben.

14 Versuche mit Gaben von 0,025 bis zu 0,000 000 5 mg ergaben weder was die Frequenz noch was das sonstige Verhalten des Herzens betrifft irgendeine deutliche Wirkung. Alle Keimscheiben blieben am Leben.

Bemerkenswert war bei allen Versuchen mit Strophanthin, mit welcher Gleichmäßigkeit, auch in zeitlicher Hinsicht, alle Embryonalherzen auf die Zugabe des Medikamentes reagierten (man vergleiche die Kurven 12 bis 14).

Zusammenfassend ist über die Wirkung der Digitaliskörper auf das Prävagusherz zu sagen: Die Schlagfolge zeigt eine Tendenz zur Steigerung. Erfolgt ein Frequenzabfall, so ist er immer begleitet von Zeichen anderweitiger Schädigungen. Bei größeren Gaben sind Unregelmäßigkeiten in der Reizbildung und namentlich Störungen der Erregungsleitung in verschiedenen Formen sehr häufig zu beobachten. Von "therapeutischen" Digitaliswirkungen habe ich manchmal eine Kräftigung der Systole und eine Vergrößerung der Diastole wahrnehmen können. Dagegen habe ich nie eine Pulsverlangsamung bei annähernd normaler Kontraktionsform gesehen.

Die geprüften Präparate wirken prinzipiell in der gleichen Weise, wenn sich auch Verschiedenheiten hinsichtlich ihrer Toxizität ergeben haben. Auffallend war das späte Einsetzen und lange Anhalten der Strophanthinwirkungen im Gegensatz zu denjenigen der Digitalispräparate.

Kalzium und Kalium.

Die Experimente wurden mit je 0,5 ccm isotonischer CaCl₂-, bzw. KCl-Lösung gemacht. Die Resultate waren schon bei den ersten Versuchen sehr ungleich, namentlich was die Wirkung auf die Frequenz betrifft, auf die es mir bei dieser Arbeit in erster Linie ankam. Ich habe mich daher auf 11 Versuche beschränkt, die mir kein klares Bild ergeben haben.

Von vier Experimenten mit CaCl₂ zeigten drei eine leichte Frequenzzunahme, dreimal erfolgte nach ½ bis 2 Stunden ein Abfall, verbunden mit starker Unregelmäßigkeit der Schlagfolge, namentlich Aussetzen in Diastole (!), einmal auch mit einer Ueberleitungsstörung, wobei der Vorhof im Tempo von 124 gleichmäßig weiterschlug, während der Ventrikel nur 70 bis 80 Kontraktionen aufwies. Eine bestimmte Zeit lang wurde jeder dritte Schlag nicht übergeleitet, dann wurde die Störung unregelmäßiger. Jedenfalls handelte es sich nicht um einen Kammereigenrhythmus. — Eine Kräftigung der Systole sah ich nur einmal, gleichzeitig aber auch eine Vermehrung der diastolischen Erschlaffung. Ein Versuch zeigte, abgesehen von einer deutlichen Pulsbeschleunigung, gar keinen Einfluß auf den Herzschlauch. Diese Keimscheibe blieb auch am Leben, während die andern nach 24 Stunden tot waren.

KCl ergab im ersten Experiment eine Frequenzsteigerung, in drei weiteren Versuchen erfolgte, nach anfänglich scheinbarer Wirkungslosigkeit, ein Abfall, der jedesmal mit Unregelmäßigkeiten verbunden war (Aussetzen in diastolischer Haltung, genau gleich wie bei Kalzium). Einen weiteren Effekt sah ich nicht (s. aber den folgenden Abschnitt). Die Keimscheiben blieben alle am Leben.

Bei drei weiteren Versuchen, die mit Zugabe von KCl begonnen wurden, habe ich ausnahmsweise die antagonistische Wirkung der beiden Kationen geprüft.

Es waren drei Keimscheiben, bei denen ein starker Einfluß des KCl sofort und gleichmäßig zu sehen war. Bevor sie sich vom Initialschock ganz erholt hatten, trat ein neuer Frequenzsturz ein, das Herz begann, in stark diastolischer Haltung auszusetzen, die Reizerzeugung wurde ganz unregelmäßig, die einzelnen Kontraktionen blieben aber recht kräftig. Nach 20 Minuten gab ich jedesmal 0,5 ccm CaCl₂-Lösung zu. Daraufhin

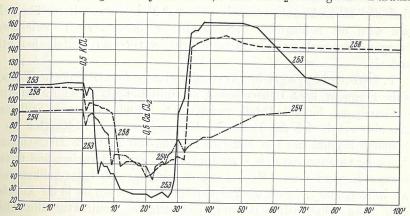


Fig. 15. Antagonismus von KCl und CaCl, in isotonischer Lösung. **——** 253 **——** 254 **—— —** 258

blieb die Unregelmäßigkeit zunächst bestehen, es zeigte sich aber recht bald eine deutliche Kräftigung der Systole. Die Frequenz stieg, einmal allmählich, zweimal ganz plötzlich, wieder an, bei den letzteren Versuchen sogar stark über das anfängliche Maß hinaus (vgl. Fig. 15). In diesen beiden Fällen traten nach etwa 21/2 Stunden neuerdings Irregularität und Verlangsamung der Schlagfolge auf, und nach 24 Stunden waren die Keimscheiben tot, während die dritte, die sich langsam erholt hatte, am Leben blieb.

Zusammenfassend ist zu sagen: Kalium hatte im allgemeinen einen verlangsamenden, Kalzium einen eher beschleunigenden Einfluß auf die Frequenz des Prävagusherzens. Beide Wirkungen traten weder regel- noch gleichmäßig auf. Beide Ionen erzeugten manchmal einen Pulsabfall, der mit starker Irregularität verbunden war, wobei namentlich das Aussetzen in stark diastolischer Haltung auffiel. Eine Kräftigung der Systole durch Kalzium war selten, eine Herzkontraktur oder ein systolischer Stillstand

waren nie zu sehen. Einmal konnte ich nach Kalziumgabe eine deutliche Störung des RLS wahrnehmen. CaCl2 wirkte im allgemeinen giftiger als KCl1).

Drei kombinierte Versuche zeigten einen deutlichen Antagonismus in der Wirkungsweise der beiden Kationen.

Koffein.

Der Einfluß dieses Stoffes auf das Prävagusherz wurde an über 40 Keimscheiben geprüft. Verwendet wurde Coffeinum natriosalycilicum in Ampullen zu 0,25 und 0,1 g (die Angabe der Verdünnungen bezieht sich auf 0,125 g in 0,5 ccm).

Bei Zugabe des Medikamentes in konzentrierter Form (0,125 g) kann zunächst eine ganz kurz dauernde Pulsbeschleunigung auftreten, wobei der Herzschlauch sofort in extreme Kontrakturstellung übergeht. Dann wird die Schlagfolge unregelmäßig, es kommt zu Ueberleitungsstörungen, und nach wenigen Minuten tritt irreversibler, systolischer Stillstand ein.

1:10 (0,0125 g) ergab in 9 Versuchen eine im Anfang ähnliche Wirkung auf die Frequenz, nach Ueberwindung des Initialschocks eine kurz dauernde Beschleunigung, hierauf Abfall, meistens (in 8 Fällen) bis zum Stillstand. Dann aber erholt sich das Herz. Nach einer Pause von 10 Minuten bis zu 2 Stunden beginnt der fest kontrahierte und fast blutleere Herzschlauch, sich wieder zusammenzuziehen, anfänglich mit ganz schwachen und unvollständigen Kontraktionen. Mikroskopisch sieht man dabei eine vollkommene Stase in Herz und Gefäßen, die Pulswelle geht aber schon bis in die Arterien. Sobald etwas Blut befördert wird, löst sich die Kontraktur allmählich, die Systole wird ausgiebiger, und nach einer gewissen Zeit schlägt das Herz wieder normal.

Nach 24 Stunden waren 5 der 9 Keimscheiben abgestorben.

1:20 zeitigte in 3 Versuchen ebenfalls noch einen Abfall der Frequenz, einmal bis zum Stillstand. Die Erholung trat aber rascher ein; und dann zeigte sich überall die beim Prävagusherzen dominierende Wirkung des Koffeins, nämlich eine Pulsbeschleunigung zu erzeugen. — Die Keimscheiben blieben am Leben.

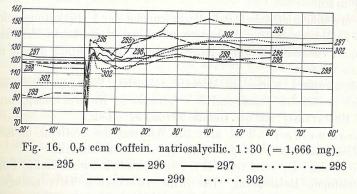
Aehnlich waren 8 Versuche mit 0,0025 g (1:50). Hier hielten sich die beiden Wirkungen, einerseits durch Kräftigung der Systole und gleichzeitige Verminderung der diastolischen Erschlaffung das Herz in einen Kontrakturzustand zu bringen, der bis zum Frequenzsturz und Stillstand führen kann, und andererseits durch direkte Förderung der Reizbildung eine dauernde Pulsbeschleunigung zu erzeugen, ungefähr die Waage. Ein Abfall erfolgte fünfmal, dreimal trat von vornherein ein bleibender Anstieg auf, immer aber war die Schlagfolge nach 20 bis 50 Minuten deutlich vermehrt.

Alle Keimscheiben sahen nach 24 Stunden normal aus.

In der Konzentration 1:75 trat regelmäßig ein anhaltender Frequenzanstieg auf (vgl. Fig. 16).

Ebenso wirkte 1:100 (1,25 mg) in 7 Versuchen, wenn auch die Pulsbeschleunigung oft nur noch angedeutet war, und als solche nur in Verbindung mit der deutlicheren Wirkung bei den Kontrollversuchen gewertet werden durfte.

Schwächere Gaben (0,125 mg und noch weniger) erzeugten keinen Effekt mehr. Die graphischen Kurven dieser Versuche verlaufen wie diejenigen der Ringerkontrollen.



Was die nicht die Frequenz betreffenden Wirkungen des Koffeins anbelangt, so ist vor allem die Tendenz zu erwähnen, das Herz in mehr minder starke Kontrakturstellung zu bringen. Dieselbe wurde mit einer Ausnahme bei allen Versuchen, die noch einen Einfluß auf die Reizerzeugung aufwiesen, beobachtet, also mit Gaben von 0,125 bis zu 0,00125 g. Dabei ist die Verminderung der diastolischen Erschlaffung, die bis zu einer vollkommenen Blutleere des Ventrikels gehen kann, augenfälliger als die immerhin auch häufig zu beobachtende Kräftigung der Systole, die sich bis zu einem Schnellen des Pulses steigern kann. Wenn aber die Kontraktur schon ziemlich fortgeschritten ist, wird die Systole schwächer, und es kommt zu sehr unvollkommenen Entleerungen. Nach Erholung von der Kontraktur wurde die Diastole bei mittleren Gaben wieder normal oder sogar auffallend vergrößert (oft nach 1:50, immer nach 1:75). Bei schwächeren Konzentrationen war dieser Einfluß nicht mehr zu beobachten.

Als Einwirkung auf die Erregungsleitung sah ich, vorzüglich bei mittleren Gaben, sehr oft eine Art von Verlängerung der Ueberleitungszeit. Trotz einer gewissen Subjektivität dieser Beobachtungen, kann man sich

¹⁾ P. D. F. MURRAY (Proc. Roy. Soc. London, B 115, p. 380 ff., 1934 und B 116, p. 434 ff., 1935) beobachtete bei starken Kaliumkonzentrationen Irregularität, diastolischen Stillstand von Vorhof und Ventrikel, während der Konus in einer Art von Eigenrhythmus noch weiterschlug. Größere Gaben bewirkten Flimmern. Kalzium erzeugte ebenfalls Flimmern, dann Frequenzabfall mit Blockphänomen, manchmal systolischen Stillstand.

bei wiederholtem Auftreten des Phänomens auf sie verlassen. Es handelt sich dabei nicht um den schwer zu sehenden Ablauf der Kontraktionswellen zwischen Vorhof und Ventrikel, sondern um diejenigen zwischen Ventrikel und Conus arteriosus. Normalerweise sieht man deutlich, wie sich der Ventrikel zusammenzuziehen beginnt und die Kontraktionswelle in gleitendem Rhythmus auf den Abschnitt des Konus übergeht. Wenn man einen Herzschlauch nach Zugabe von Koffein dauernd weiterbeobachtet, so fällt es einem meistens auf, wie der Ablauf der Kontraktion allmählich gehemmt wird, und zwar nicht im Sinne einer allgemeinen Verlangsamung. Im Gegenteil, die Systole des Ventrikels erfolgt energischer, dann tritt aber eine kleine Pause auf, nach der sich der Konus, ebenfalls sehr rasch, zusammenzieht.

Neben Verlangsamung sah ich auch Unregelmäßigkeit der Ueberleitungszeit, d. h. einen dauernden Wechsel im Ablauf der Kontraktionswelle, dagegen nie sonstige Störungen des RLS (Blockphänomene, heterotope Reizbildung usw.).

Zu erwähnen ist dabei, daß die Störungen der Ueberleitung sehr lange anhielten und regelmäßig noch vorhanden waren, nachdem sich das Herz im übrigen vollkommen erholt hatte, normale Kontraktionen und normale Frequenz aufwies.

Mikroskopisch waren im Moment toxischer Wirkung, abgesehen von der oben erwähnten Stase und den fruchtlosen Kontraktionen, an vielen Stellen Extravasate um die Gefäße herum zu sehen.

Zusammenfassend ist über die Wirkung des Koffeins in nichttoxischen Dosen auf das Prävagusherz folgendes zu erwähnen:

Die Schlagfolge wird vermehrt, wahrscheinlich durch direkte Förderung der nomotopen Reizbildung. Die beim erwachsenen Tiere nachgewiesene Verlangsamung als Folge einer zentralen Vaguserregung tritt nie in Erscheinung, was bei diesem Objekt auch nicht zu erwarten ist.

Die Systole wird verstärkt, die diastolische Erschlaffung gehemmt. Bei toxischen Dosen geht diese Wirkung bis zu extremer Kontrakturstellung und Stillstand des Herzens in maximaler Systole weiter. Die Diastole wird in der Folge, bei noch anhaltender Pulsbeschleunigung, eher vergrößert.

Die Wirkungen auf die Erregungsleitung bestehen in einer deutlichen Hemmung der Ueberleitung, die aber nie bis zum Block und zu heterotoper Reizbildung geführt hat 1)2).

Cardiazol.

Kampfer habe ich wegen der Frage des Lösungsmittels nicht geprüft (s. Einleitung). Möglicherweise wären zwar Versuche mit Oleum camphoratum durchführbar.

2 Probeexperimente mit Aqua camphorata, bzw. 0,15 Proz. Kampfer in Ringerlösung, hatten keinen merklichen Effekt, wohl wegen der sehr geringen Dosis. Die Frequenz blieb ganz unbeeinflußt. Einmal wurde die Systole etwas energischer, einmal die Diastole um ein Geringes verbessert. Ich möchte aber aus diesen angedeuteten Wirkungen keine Schlüsse ziehen.

Als Kampferersatz verwendete ich Cardiazol liquidum, das wie gewöhnlich mit Ringerlösung verdünnt wurde.

7 Versuche in der Konzentration 1:100 (0,005 g) ergaben sehr einheitliche Resultate. Die Frequenz sank jedesmal zuerst ab - bzw. der Initialschock wurde nicht überwunden -, um sich dann, manchmal rasch, manchmal erst nach geraumer Zeit, zu erholen und regelmäßig ein wenig über das Tempo des Vorversuches anzusteigen. Ganz parallel dazu trat eine Schwächung der Systole und der Diastole auf, wobei das Herz in Kontrakturstellung überging. Oft kam es auch zu Unregelmäßigkeiten. Gleichzeitig mit der Erholung der Schlagfolge wurden die Kontraktionen wieder normaler, und allmählich erschienen Systole und Diastole sogar ausnehmend kräftig. Störungen der Erregungsleitung waren andeutungsweise vorhanden, konnten aber nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Alle Keimscheiben waren nach 24 Stunden am Leben.

1:1000 zeigte in 2 Versuchen eine leichte, bleibende Pulsvermehrung. Jedesmal war auch hier eine vorübergehende Kontrakturstellung zu sehen, und auch die Ueberleitungszeit schien sich zu verändern, in welcher Weise, war gerade wegen der Kontraktur nicht festzustellen.

1:100000 zeigte in 3 Versuchen nach 15 bis 30 Minuten (einmal nach anfänglichem Abfall) einen leichten Frequenzanstieg. Kontraktur des Herzens war zweimal angedeutet. Sonstige Veränderungen wurden nicht mehr beobachtet.

Insgesamt scheint Cardiazol die nomotope Reizbildung des Prävagusherzens zu fördern 1), die Herzmuskelarbeit aber infolge der Neigung, eine Kontraktur hervorzurufen, eher herabzusetzen.

Koffein das Hissche Bündel teilweise oder ganz zerstören kann. Meine Beobachtungen ausgeprägter Ueberleitungsstörungen sprechen dem nicht entgegen, wenn ich auch nie einen Block konstatieren konnte.

¹⁾ FLOYD J. BRINLEY (Amer. J. Physiol., Vol. 100, p. 357 ff., 1932) hat an gefensterten Eiern die Wirkung des Koffeins auf das Prä- und Postvagusherz des Hühnerembryos studiert und dabei teilweise andere Resultate erhalten. Eine Pulsbeschleunigung sah er nur bei sehr kleinen Gaben (0,15 mg). Nach einigen Minuten sei Irregularität der Ventrikelkontraktionen bei gleichbleibendem Vorhofrhythmus aufgetreten. Letzteres sei bei größeren Dosen von vornherein zu beobachten gewesen, wo es zu regelmäßiger Dissoziazion 1:1 bis 1:5, manchmal zu Kammereigenrhythmus und schließlich zu diastolischem Herzstillstand gekommen sei. Eine echte Verlangsamung der Vorhoffrequenz sah er aber nur beim Postvagusherzen. Er schließt daraus, daß

²⁾ MICHIO FUJII (Fol. pharm. jap. IV, Fasc. III, p. 26, 1927) gibt dagegen an, daß Koffein an isolierten Herzen von Hühnerembryonen eine starke Frequenzzunahme bewirkt, die bei den 2- und 3tägigen allerdings nicht bis zur Starre (Kontraktur) ge-

¹⁾ Nach Kirihara Saburo (Fol. pharm. jap. XI, Fasc. 3, p. 22 f., 1931) reagieren isolierte, embryonale Hühnerherzen vom 2. Tage an mit Erregung auf Coramin und

Adrenalin.

Es wurden 22 Versuche gemacht, zum Teil mit "Solutio adrenalini hydrochlorici" 1:1000 in 0,9proz. NaCl (Saccharinfabrik), zum Teil mit "Solutio suprarenini hydrochlorici synthetici" 1:1000 in NaCl physiol. (Ampullen, I.G. Farben). Ein Unterschied in der Wirksamkeit der beiden Präparate war nicht festzustellen, weshalb sie gemeinsam besprochen werden. Zu weiteren Verdünnungen wurde ausschließlich physiologische Kochsalzlösung verwendet.

Konzentriert (1:1000) wirkt Adrenalin vergiftend auf das Prävagusherz. Es kommt zu maximaler Kontrakturstellung, der Herzschlauch wird blutleer, die Frequenz sinkt meistens ab, wobei die Reizerzeugung unregelmäßig wird, und oft tritt Stillstand ein. Das Herz kann sich zwar

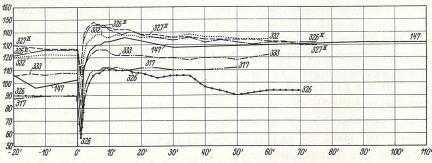


Fig. 17. 0,5 ccm Suprarenin 1:10000.

vorübergehend erholen, die Frequenz dabei über das Maß des Vorversuches ansteigen, aber nach 24 Stunden sind die Keimscheiben gewöhnlich abgestorben. Nur ein Versuch ergab das Bild, das wir bei den stärkeren Verdünnungen antreffen werden.

1:10 000 ergab in 7 Versuchen jedesmal eine rasch einsetzende Pulsbeschleunigung, die manchmal über zwei Stunden lang anhielt, in anderen Fällen ganz langsam wieder zum anfänglichen Niveau herabsank (vgl. Fig. 17). Eine mehr minder ausgeprägte Kontrakturstellung des Herzens wurde immer festgestellt. Dagegen traten keine Unregelmäßigkeiten der Schlagfolge auf. Einmal sah ich eine deutliche Verstärkung der Systole.

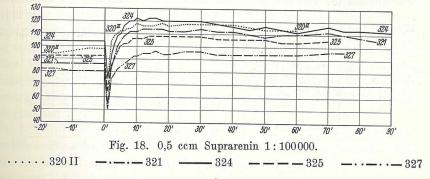
1:100000 wirkte ganz ähnlich auf die Frequenz, nur erfolgte der Anstieg etwas weniger rasch. Bei beiden Verdünnungen ergab sich eine mittlere Pulsbeschleunigung von etwa 20 Proz. (vgl. Fig. 18). Die Kontraktur war überall vorhanden, wenn auch weniger stark ausgeprägt. Dagegen sah ich häufiger eine Kräftigung der Systole.

Alle mit 1:10000 und 1:100000 behandelten Keimscheiben blieben am Leben.

1:1000000 und 1:5000000 zeigten noch eine deutliche Frequenzzunahme, 1:100000000 und 1:100000 000 eine andeutungsweise vorhandene. Sonstige Veränderungen am Herzen wurden bei diesen Verdünnungen nicht mehr beobachtet.

Zusammenfassend ist vor allem darauf hinzuweisen, daß infolge der regelmäßig auftretenden Herzkontraktur viele Veränderungen der Beobachtung entgehen können, so namentlich die relativ selten gesehene Kräftigung der Systole. Die Förderung der nomotopen Reizbildung war durchweg festzustellen, soweit die toxischen Wirkungen nicht überhandnahmen. Dagegen habe ich nie eine heterotope Reizbildung gesehen.

Da es sich bei meinen Versuchen um ein Prävagus-, vor allem aber auch um ein Präsympathikusherz handelt, erhebt sich wieder die Frage nach dem Angriffspunkt des Adrenalins. Bei der überall beobachteten



Frequenzzunahme kann es sich nicht um eine Erregung der Endapparate der "Förderungs"-Nerven, bzw. ihrer myoneuralen Zwischensubstanz handeln, man nehme denn an, daß dieselbe im embryonalen Organ schon vor dem Einwachsen der Nerven reaktionsfähig vorhanden wäre.

Fujii 1) hat an isolierten Hühnerherzen bis zum 3. Embryonaltage keine Adrenalinwirkung beobachten können. Erst viertägige reagierten mit Beschleunigung. Markowitz²) hat an Gewebekulturen und an isolierten Herzen bis etwa zum 4. Tage nur sehr inkonstante Wirkungen gesehen. Trotzdem nimmt sie an, daß der Angriffspunkt des Adrenalins unabhängig vom Erscheinen der Herzganglien sei. Katsunuma³), Otsuka⁴) und

1) Fujii Michio, Fol. pharm. jap. IV, Fasc. 3, p. 20, 1927.

2) Markowitz, Cecile, Amer. J. Phys., Vol. 97, p. 271 ff., 1931. Den Kulturen wurde 0,1 Adrenalin 1:1000 in 2,0 Tyrodelösung zugesetzt. Als positiv wurden nur die Resultate mit einer Steigerung von mindestens 25 Proz. bewertet.

3) KATSUNUMA, SEIZO und ROKURO KATSUNUMA, Proc. Imp. Acad. Tokyo, Vol. 8, Nr. 6, p. 271 f., 1932. Versuche an Herzgewebekulturen und isolierten Schlagzentren. Die Methode ist weiter nicht angegeben.

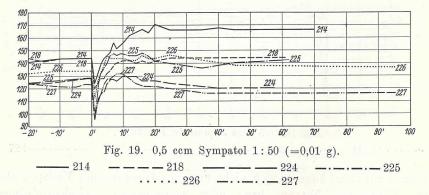
4) Otsuka Toru, Nagasaki Igakkai Zassi, Vol. 10, p. 471 f. (deutsche Zusammenfassung), 1932. Versuche am isolierten Hühnerherzen.

Hsu¹) haben nach verschiedenen Methoden eine erregende Wirkung auf das nervenfreie Herz konstatieren können. Ich möchte mich der letzten Ansicht anschließen, halte es aber für möglich, wo nicht wahrscheinlich, daß die Adrenalinwirkung nach Einwachsen der Nerven viel stärker zutage tritt.

Sympatol.

Als zwischen den eigentlichen sympathomimetischen oder myotropen und sympathiko- oder neurotropen Arzneien stehendes Mittel habe ich Sympatol gewählt, das teils in Form des Ampulleninhaltes (zu 0,06 g), teils in Form der 10proz. Lösung verwendet wurde.

0,03 g hatten keinen wesentlichen Einfluß auf die Frequenz, einmal erfolgte ein Anstieg, zweimal verlief die Kurve annähernd normal. Doch mag hier das Lösungsmittel der Ampullen mitgespielt haben. Dagegen war jedesmal eine ausgesprochene Kontraktur des Herzens zu beobachten, welche sowohl die Diastole als auch die Systole hemmte. Bei annähernd



gleichbleibender Frequenz wurden die Kontraktionen immer geringfügiger, so daß Schlag- und Minutenvolumen sicher stark abnehmen mußten. Nach 24 Stunden waren die Keimscheiben tot.

Ganz ähnliche Resultate ergab die Verdünnung 1:30.

6 Versuche mit 0,01 g (Verdünnung 1:50) waren in der Wirkung auf die Schlagfolge recht uneinheitlich (vgl. Fig. 19). Bald wurde sie vermehrt, bald vermindert, bald blieb sie annähernd gleichmäßig. Nur in einem Versuch war die Pulsbeschleunigung ähnlich derjenigen nach Adrenalingaben. Dagegen konnten häufig eine Kräftigung der Systole und eine deutliche Hemmung der Diastole beobachtet werden. Nach 24 Stunden waren nur noch zwei Keimscheiben am Leben.

Mit 0,005 g erzielte ich im ersten Versuch keinen deutlichen Effekt, und da schon 0,01 g trotz sicherlich toxischer Wirkung keine einheitlichen Resultate gezeitigt hatten, habe ich die Prüfung dieses Mittels nicht weitergeführt.

Ephedrin.

Die Versuche wurden mit Ephedrinum hydrochloricum gemacht, in Konzentrationen von 1:10 bis zu 1:5000.

Nach Zugabe von 0,05 g steht das Herz innerhalb weniger Minuten still, wobei die ganze Keimscheibe zusammenschrumpft.

Von 1:50 an tritt die häufig beobachtete Wirkung ein, daß die diastolische Erschlaffung wesentlich vermehrt, die Systole vorübergehend kräftiger, dann aber geschwächt wird, und die Frequenz absinkt. Die Gefäße sind maximal gefüllt und treten stark hervor. Nach 24 Stunden sind die Embryonen tot. Genau gleich wirkt 1:100.

1:500 (0,001 g) ergab ähnliche Resultate. Namentlich war die Vergrößerung der Diastole sehr auffallend, die Hemmung der Systole dagegen weniger ausgeprägt. Der Einfluß auf die Frequenz schien uncharakteristisch zu sein, bald erfolgte ein leichtes Absinken, bald ein leichtes Zunehmen, alles aber in sehr beschränktem Ausmaße und sozusagen innerhalb der Fehlergrenzen. Ein geringes Schrumpfen der Keimscheibe war auch hier noch zu konstatieren. Die Embryonen erholten sich alle und waren nach 24 Stunden am Leben.

1:1000 erzeugte nur eine geringe Wirkung. Einer von drei Versuchen zeigte noch die allgemeine, starke Blutfüllung von Herz und Gefäßen. Der Einfluß auf die Schlagfolge war wiederum wechselnd, bald folgte einem geringen Abfall ein kleiner Anstieg, bald umgekehrt.

Je ein Versuch mit 1:2000 und 1:5000 verliefen fast restlos negativ. Bei 1:2000 wurde die Systole vorübergehend verstärkt. Die Diastole, die Frequenz, die Gefäße, die Keimscheibe in toto blieben vollkommen unbeeinflußt.

Insgesamt scheint Ephedrin am nervenfreien Organ nur die bekannten Herzschädigungen mit diastolischer Einstellung hervorzurufen, welche daher als direkte Einwirkungen auf das Gewebe angesehen werden dürften, während die sympathikotropen Einflüsse (Frequenzsteigerung, Vasokonstriktion) mangels eines Sympathikus eben wegfallen.

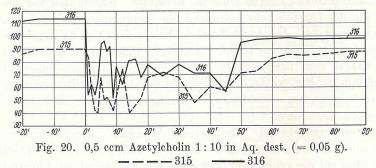
Azetylcholin.

Verwendet wurde Azetylcholin-Roche in Ampullen zu 0,1 g. Die Lösungen wurden immer frisch hergestellt, teils mit physiologischer Kochsalzlösung, teils mit Aqua destillata, was bei den Versuchen mit stärkeren Konzentrationen des Stoffes keinen Einfluß zu haben schien; denn die Resultate waren die gleichen wie bei Verwendung von NaCl. Bei stärkeren

¹⁾ Hsu, Fong-Yen, Chin. Journ. Physiol., Vol. 7, p. 243 ff., 1933. Die Versuche wurden am gefensterten Ei und an isolierten Herzen gemacht. Die Wirkung trat schon am 53 Stunden alten Herzen auf.

Verdünnungen kam aber der Einfluß der Aqua destillata zum Ausdruck, weshalb diese Experimente nicht berücksichtigt werden.

2 Versuche mit 0,05 g in 0,5 ccm Aqua dest. ergaben ein äußerst gleichartiges und, wie man sehen wird, vielfach für die Wirkung des Azetylcholins recht typisches Resultat: Die Frequenz stürzt ab, bzw. das Herz erholt sich nicht vom Initialschock. Es folgt eine Periode sehr ausgeprägter Irregularität, wobei sich die Pulszahl oft von Minute zu Minute stark verändert. Allmählich wird sie gleichmäßiger, und nach 60 bis 70 Minuten schlägt das Herz wieder ganz ruhig und regelmäßig, wenn auch auf einem etwas tieferen Niveau als im Vorversuch (vgl. Fig. 20). Die erwähnte Unregelmäßigkeit beruht auf einem dauernden Wechsel von sekundenlangem Stillstand des Herzens in maximaler Diastole und Perioden an und für sich recht rascher Frequenz in deutlicher Kontrakturstellung. Das Aussetzen wird immer seltener, die Irregularität nimmt daher ab, und das Herz kehrt zu normaler Schlagfolge zurück, wobei es noch lange in Kontrakturstellung



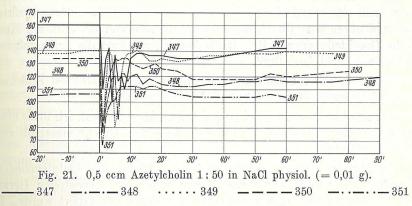
verharrt. — Beide Keimscheiben hatten sich nach 24 Stunden vollkommen erholt.

Bei 2 Versuchen 1: 20 (0,025 g) war die Wirkung einmal gleich wie bei 1:10, wenn auch die Periode der Unregelmäßigkeiten nicht so lange anhielt. Das andere Experiment zeigt eine anhaltende Steigerung der Schlagzahl, was auf den Einfluß der Aqua destillata zurückgeführt werden könnte. Typisch war auch hier in beiden Fällen die lange anhaltende Kontraktur. Diese löste sich nur ganz allmählich, d. h. der Herzschlauch blieb an und für sich ziemlich kontrahiert und blutleer, seine Längsmuskulatur schien aber stark zu erschlaffen, so daß seine normale S-förmige Gestalt in diejenige eines sehr schmalen, aber vollkommen gestreckten Schlauches überging. Diese Veränderung habe ich oft und nur bei Azetylcholin beobachten können. — Beide Keimscheiben erholten sich wieder.

Ein Versuch 1:30 in NaCl physiol. zeigte genau das gleiche Bild wie die beiden Experimente mit 1:10. Nur waren die Wirkungen weniger ausgeprägt und von kürzerer Dauer.

Die Verdünnung 1:50, zweimal in Aqua destillata, fünfmal in physiologischer Kochsalzlösung, bewirkte überall eine starke Kontraktur. Die fünf letzteren Experimente zeigten alle ein Absinken der Frequenz, bzw. eine mühsame Erholung vom Initialschock. Nach zirka 10 Minuten wurde die Schlagzahl aber regelmäßig, bald höher, bald tiefer als diejenige des Vorversuches, so daß man demnach nicht sagen könnte, ob Azetylcholin insgesamt eine Vermehrung oder eine Verminderung der Pulszahl bewirkt. Diesen Widerspruch ergaben fast alle späteren Versuche. — Unregelmäßigkeiten infolge von Aussetzen in maximaler Diastole traten mehrmals auf. Ebenso war die oben erwähnte Erschlaffung der Längsmuskulatur öfters zu beobachten (vgl. Fig. 21).

6 Versuche 1:100 (0,005 g) in NaCl physiol. ergaben wieder die diesem Mittel eigentümlichen, widersprechenden Resultate. Die Frequenz wurde ganz ungleichmäßig beeinflußt. Das Herz zeigte meist zu Anfang eine verstärkte Diastole, die dann manchmal in Kontraktur überging. manchmal aber auch während der ganzen Dauer des Versuches mehr minder bestehen blieb. Unregelmäßigkeiten traten nicht auf. Die Erschlaffung der



Längsmuskulatur wurde noch beobachtet. Ferner war manchmal zu konstatieren, daß trotz einer guten Erschlaffung des Ventrikels die Blutfüllung recht mäßig blieb.

Ein Versuch 1:1000 in NaCl physiol. brachte den Herzschlauch noch in Kontrakturstellung. Die Frequenz stieg vorübergehend ein wenig an, blieb dann aber auf dem Niveau des Vorversuches. Sonstige Veränderungen waren nicht zu sehen.

Bei allen Experimenten fiel mir die offenbar sehr geringe Toxizität des Azetylcholins für das embryonale Herz auf. Mit Ausnahme des letzterwähnten (1:1000), wo es sich wahrscheinlich um einen Spontantod handelte, blieben alle Keimscheiben am Leben, und dabei begann ich meine Versuche mit 0,05 g.

Im übrigen scheint das Mittel in sich selbst antagonistisch zu wirken, wie denn auch am erwachsenen Tiere neben seiner Vaguswirkung periphere Erregungen an sympathischen, vasokonstriktorischen Nervenganglien nachgewiesen worden sind. Interessant ist, wie an diesem nervenfreien Objekt oft innerhalb einer Minute ein steter Wechsel von vagusartigen (maximale Erschlaffung und Verlangsamung) und sympathikusähnlichen (Kontraktur und erhöhte Frequenz) Wirkungen stattfindet.

Diese Gegensätzlichkeit der Wirkungen des Azetylcholins auf das nervenfreie Herz tritt auch in Erscheinung, wenn man die Ergebnisse anderer Arbeiten miteinander vergleicht, obschon die einzelnen Autoren jeweilen sehr bestimmte Resultate formuliert haben 1).

Wie bei Adrenalin, so sah Fujii auch beim Azetylcholin vor dem vierten Embryonaltag keine Wirkung auf die Frequenz. Cecile Markowitz erhielt bei jüngeren Herzen (oder Kulturen von solchen) recht inkonstante Resultate ²), nimmt aber dennoch einen negativ chronotropen Effekt als direkte Wirkung auf das Gewebe an. Otsuka und Hsu sagen, das Herz reagiere vom Beginn seiner spontanen Tätigkeit an in qualitativ gleicher Weise wie das ausgewachsene Herz. Burnier sah bei 48stündigen Hühnerembryonen eine stundenlange Verlangsamung nach kleinen Gaben von A., Kruta dagegen eine Rhythmuszunahme, die sich erst bei größeren Dosen in ihr Gegenteil verwandelte. Nach Armstrong wird die Schlagfolge im allgemeinen nicht beeinflußt.

Letzterer Autor beobachtete manchmal einen systolischen Stillstand, während Burnier einen solchen in Diastole erwähnt.

Ich möchte allen drei Meinungen beipflichten, nur sah ich eben öfters antagonistische Wirkungen bei ein und demselben Objekt innerhalb einer Minute auftreten.

Im übrigen wird die negativ inotrope Wirkung des Azetylcholins oft angeführt, die von Burnier und Kruta schon am nervenfreien Herzen, von Armstrong erst nach Einwachsen des Vagus konstatiert wurde. Ich habe diesen Effekt nie mit Sicherheit feststellen können.

Ferner erwähnt Armstrong einen kontrakturähnlichen Zustand, den er als direkte Wirkung des Azetylcholins auf die Herzmuskulatur ansieht. Ich kann dieser Ansicht auf Grund meiner Beobachtungen zustimmen, obschon ich auch hier ein stetiges Abwechseln mit maximaler Erschlaffung gesehen habe; aber die Neigung des Herzens, in Kontrakturstellung überzugehen, war durchwegs vorherrschend. Auch Burnier hat konstatiert, wie

das Herz oft blutleer wurde, während die Gefäße erweitert waren und um das Herz herum Hämorrhagien auftraten 1).

Als eigenartigen Effekt des Azetylcholins möchte ich noch die erwähnte Streckung des Herzschlauchs, bzw. die Erschlaffung seiner Längsmuskulatur bei sonst eher kontrakturähnlichem Zustand, bezeichnen. In der Literatur finde ich keine diesbezüglichen Angaben.

Die Reizerzeugung erfährt oft Unregelmäßigkeiten, was auch von den oben erwähnten Autoren häufig angegeben wird. Dagegen scheint die Erregungsleitung wenig beeinflußt zu werden. Ich beobachtete nur bei 2 Versuchen (1:50 in NaCl) eine Störung der Ueberleitungszeit.

Nikotin.

Einige Versuche mit diesem Gifte zeigten mir, daß auch das vagusfreie Herz typische Nikotinwirkungen aufweist²).

In starken Konzentrationen (1:10 und 1:100) stirbt die Keimscheibe sofort ab. Das Herz steht dabei in maximaler Systole still.

Bei 1:1000 kam es ebenfalls zu extremer Kontrakturstellung und Absinken der Frequenz. Manchmal erholte sich das Herz vorübergehend; doch waren nach 24 Stunden alle Embryonen tot.

Von 1:2000 bis 1:10000 war die Kontraktur nicht mehr sehr ausgeprägt, bei den stärkeren Verdünnungen ging sie sogar allmählich in eine ausgespochene Vergrößerung der Diastole über. Die Schlagfolge zeigte noch eine geringe Verminderung, von der sich die Herzen aber rasch erholten. Ferner konnte ich einmal eine deutliche Ueberleitungsstörung (Verzögerung und Unregelmäßigkeit) beobachten. Nach 24 Stunden war die Hälfte der Keimscheiben noch am Leben, und zwar gerade die mit den stärkeren Konzentrationen behandelte.

2 Versuche mit 1:100000 ergaben eine leichte Pulsbeschleunigung. Sonstige Veränderungen waren nicht festzustellen. Die Embryonen erholten sich vollkommen.

Parasympathisch wirkende Mittel.

Da ich mit einem vagusfreien Objekt experimentierte, schien es mir von Interesse zu sein, die Wirkung einiger Vagusmittel auf dieses Herz zu prüfen. Vom Azetylcholin könnte man sagen, daß die Resorptionsverhältnisse unbekannt sind, die Möglichkeit einer Spaltung nicht von der

¹⁾ MICHIO FUJII, a. a. O. — CECILE MARKOWITZ, a. a. O. — TORU OTSUKA, a. a. O. — FONG-YEN HSU, a. a. O. — BURNIER, J., C. r. Soc. Biol. Paris, T. 118, p. 1032f. 1935. Versuche an 48stündigen Embryonen, die in einem Glasschälchen beobachtet wurden (Methode nicht angegeben). — KRUTA, VLADISLAV, C. r. Soc. Biol. Paris, T. 119, p. 608 ff., 1935. Versuche an isolierten, mit Meerwasser durchströmten Ventrikeln von Sepia officinalis. — ARMSTRONG, Ph. B., J. of Physiol., Vol. 84, p. 20 ff., 1935. Mikroinjektionen an Herzen von Fundulus heteroclitus und Fundulus maialis.

²⁾ Die Resultate wurden als positiv bewertet, wenn ein Stillstand von 30 Sekunden eintrat, und sich das Herz dann wieder zu normaler Schlagfolge erholte.

¹⁾ Was diese Hämorrhagien, die ich hier zwar nie, dafür aber bei Koffein und namentlich bei Atropin beobachtet habe, bedeuten, ist mir nicht ganz klar. Jedenfalls scheint die Keimscheibe sehr leicht auf Giftwirkungen mit Blutaustritten zu antworten. Es ist daher eine Frage, ob man dieses Objekt ohne weiteres zum Nachweis von Hämorrhagien benützen darf. Vgl. WITEBSKY, E., PEEK, S., and NETER, W., Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., Vol. 32, p. 722 ff., 1935.

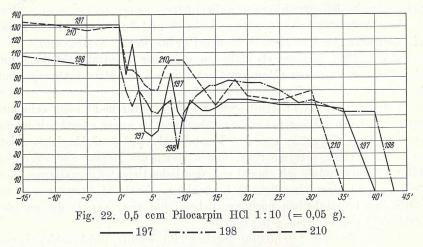
²⁾ Місню Fujii (a. a. O.) gibt an, daß Nikotin auf das embryonale Herz hemmend, vom 5. Tage an aber erregend wirke.

Hand zu weisen ist, und die Resultate daher mit Skepsis aufgenommen werden müssen. Da Muskarin aus äußeren Gründen nicht zu beschaffen war, wählte ich Pilokarpin, Physostigmin und als vagushemmendes Mittel Atropin, um die direkte Herzwirkung solcher Stoffe zu studieren.

Pilokarpin.

Verwendet wurde das salzsaure Salz, das jeweilen frisch in Ringer gelöst wurde.

Drei Versuche mit 0.5 ccm 1:10 (0,05 g) ergaben folgendes Resultat (vgl. Fig. 22): Nach dem Initialschock sieht man, wie gewöhnlich, einen sofort einsetzenden Wiederanstieg. Bevor sich das Herz aber ganz erholt hat, setzt ein neuer Frequenzsturz ein, und nun folgt eine Periode starker Unregelmäßigkeiten (vgl. dazu die Azetylcholinkurven auf Fig. 20). Die-



selben gleichen sich allmählich aus, das Herz schlägt wieder regelmäßig, wenn auch auf einem tieferen Niveau; dann aber erfolgt ein neuer Sturz und nach 35 bis 45 Minuten tritt Stillstand ein. Die Keimscheibe ist tot. Am Herzen ist dabei zu beobachten, wie die diastolische Erschlaffung deutlich gehemmt wird, während die Systole zu Beginn eher eine Kräftigung erfährt. Dann treten Irregularitäten auf, es kommt zu einer ziemlich starken Kontraktur, und nun wird auch die Systole schwächer. Die Reizbildung erfolgt wieder regelmäßiger, die Kontraktionen werden aber immer geringer, und schließlich steht das Herz systolisch still. Im Gegensatz zur Wirkung des Azetylcholins ist während der Periode des Aussetzens keine vermehrte oder auch nur normale Erschlaffung zu beobachten.

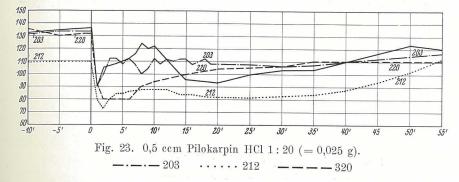
Die Verdünnung 1:20 bewirkte in vier Versuchen noch zweimal eine kurze Periode gestörter Reizbildung. Eine mäßige Kontrakturstellung, bei gehemmter Diastole und verstärkter Systole, war immer vorhanden. Ebenso erfolgte jedesmal eine Pulsverlangsamung. Von all diesen Veränderungen

erholte sich das Herz aber nach 15-25 Minuten. Auch die Pulszahl stieg wieder an, wenn auch nicht bis auf das Niveau des Vorversuches (vgl. Fig. 23). Trotzdem waren alle Embryonen nach 24 Stunden abgestorben.

1:50 zeigte in zwei Experimenten eine Verlangsamung der Schlagfolge. Sonstige Wirkungen waren nicht zu konstatieren. Eine Keimscheibe war nach 24 Stunden tot.

Drei Versuche mit 1:100 zeigten kaum merkbare Veränderungen. Zweimal erfolgte noch ein geringer Frequenzabfall, der sich aber fast innerhalb der Fehlergrenzen hielt. Die Keimscheiben blieben alle am Leben.

Zusammenfassend ist zu betonen, daß Pilokarpin trotz dem Fehlen des Vagus eine deutliche Herzverlangsamung hervorruft. In stärkeren Gaben wird dieselbe häufig von Störungen der Reizbildung und immer von Kontrakturstellung begleitet, wobei aber die Systole anfangs merklich verstärkt wird.



Physostigmin.

Die Versuche wurden mit Physostigminum sulfuricum gemacht, das jedesmal frisch in Ringer gelöst wurde.

Wegen der größeren Toxizität dieses Medikamentes begann ich die Experimente mit der Verdünnung 1:100 (7 Versuche). Dabei stürzte die Frequenz stark ab, oft bis zum vorübergehenden Stillstand, meistens ohne Andeutung einer Erholung vom Initialschock. Ein einziges Mal erfolgte von vornherein eine Steigerung, während alle übrigen Beobachtungen auch bei diesem Versuch zu machen waren. Nach einer oft eintretenden Periode unregelmäßiger Reizbildung (vgl. Azetylcholin und Pilokarpin) wurde die Schlagfolge gleichmäßig, hielt sich aber meistens tief unter dem Tempo des Vorversuches. Am Herzen war dabei zu sehen, daß die Diastole, obschon im Anfang manchmal gehemmt, jedesmal (im Gegensatz zur Pilokarpinwirkung) deutlich, oft sogar extrem vergrößert wurde, während die systolische Entleerung ebenso regelmäßig unvollständig wurde. Die Ausschläge waren insgesamt gering wie bei Pilokarpin, während aber dort der Akzent auf der systolischen Seite war, lag er hier auf der diastolischen. In zwei Fällen kam es allerdings im späteren Verlauf des Versuchs zu einer Um-

kehrung des Effektes, d. h. zu einer Kontrakturstellung. Im allgemeinen besserte sich die Systole nach einiger Zeit, ohne daß sich die Diastole dabei vermindert hätte. Neben den schon erwähnten Störungen der Reizbildung traten auch solche der Erregungsleitung auf. Dreimal sah ich einen atrioventrikulären Block, wobei es einmal genau so aussah, als würde der Reiz im Ventrikel gebildet und von da rückläufig zum Vorhof geleitet. Bei der Kleinheit des Objektes ist diese Beobachtung aber schwer zu verifizieren. Ueberleitungsstörungen konnten oft wahrgenommen werden. Zweimal sah ich auch deutliche Extrasystolen des Vorhofs. — 6 Keimscheiben waren nach 24 Stunden tot.

Ein Versuch 1:500 ergab ein ähnliches Bild. Es kam sogar zum vorübergehenden Stillstand. Nach 8 Minuten schlug das Herz aber wieder regelmäßig im Tempo des Vorversuches.

Drei Experimente 1:1000 zeigten keine Veränderungen des Herzens selbst, die ganze Aktion schien im Gegenteil eher gekräftigt zu sein. Nur

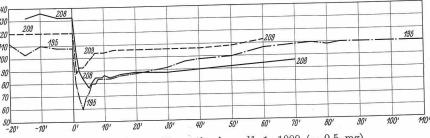


Fig. 24. 0,5 ccm Physostigmin. sulf. 1:1000 (= 0,5 mg).

die Schlagfolge erfuhr eine deutliche Verlangsamung (vgl. Fig. 24). — Die Keimscheiben blieben alle am Leben.

Insgesamt sah ich bei Physostigmin mit einer Ausnahme überall eine deutliche Herzverlangsamung i). Die Erregbarkeitssteigerung des Herzmuskels selbst als direkte Wirkung dieser Arznei konnte ich nicht beobachten, trotzdem der Vagus hier noch nicht ausgebildet ist. Im allgemeinen trat das Nichtvorhandensein des autonomen Nervensystems beim Prävagusherzen überhaupt nur bei denjenigen Arzneiwirkungen in Erscheinung, die einen (direkt oder indirekt) zentralen Angriffspunkt haben (vgl. z. B. Digitalis und Koffein, dagegen allerdings das problematische Atropin).

Im übrigen bewirkte Physostigmin, im Gegensatz zu Pilokarpin, eine Kräftigung der Diastole und eine Schwächung der Systole. Sehr häufig waren Störungen der Reizbildung und auch der Erregungsleitung.

Atropin.

Für die ersten Versuche verwendete ich die gebräuchliche 1proz. Lösung, später löste ich reines Atropinum sulfuricum in Ringer auf, ohne einen Unterschied in den Resultaten konstatieren zu können.

Nach Zugabe von 0,5 ccm 1:100 sank die Schlagzahl sofort ab, oft gleich bis zum Stillstand. Dabei war das Herz ganz zu Beginn maximal erschlafft, um aber recht bald in extreme Kontrakturstellung überzugehen. Der Vorhof hörte auf, sich zu kontrahieren, der Conus arteriosus folgte ihm. während der Ventrikel allein noch weiterschlug. Auch bei den meist nachfolgenden, vorübergehenden Erholungen vom Stillstand war es nur die ganz blutleere Kammer, die sich kontrahierte. Die offenbar heterotope Reizbildung war sehr unregelmäßig.

Gleichzeitig mit dem Abfall der Frequenz waren zwei weitere Phänomene zu beobachten. Einmal ein regelrechtes Zusammenschnurren der Keimscheibe (z. B. von 23×19 mm auf 17×13 mm innerhalb weniger Minuten), das auch nach schwächeren Gaben fast immer konstatiert werden konnte. Ferner traten regelmäßig, oft mit bloßem Auge sichtbare Blutungen um Herz und Gefäße herum auf. Mikroskopisch konnte ich folgendes wahrnehmen (drei Beobachtungen, 5—15 Minuten nach Zugabe der Arznei): Verschiedene Abschnitte der vollkommen blutleeren Kammer kontrahierten sich, ohne auch nur eine Spur von Blut zu befördern. Um Herz und Gefäße herum lagen große Extravasate. In den prall gefüllten Arterien und Venen herrschte vollständige Stase.

Die Dauer bis zum definitiven Stillstand war verschieden lang (13 bis 70 Minuten); aber alle Keimscheiben sind abgestorben.

1:500 ergab in zwei Experimenten sehr ähnliche Resultate: Abfall der Frequenz, nach anfänglich starker Erschlaffung ausgeprägte Kontraktur, Unregelmäßigkeiten der Reizbildung, Aussetzen namentlich des Vorhofs, Blutaustritte und Schrumpfen der Keimscheibe. Beide Herzen erholten sich aber innerhalb einer Stunde ziemlich gut und blieben am Leben.

Von 1:750 an verschwanden die sicher toxischen Wirkungen fast vollständig. In 5 Versuchen sah ich keine Unregelmäßigkeit mehr, kein Aussetzen des Vorhofes, Kontraktur war nur noch angedeutet (3mal), und nur 1mal trat eine ganz kleine Blutung auf. Dagegen war häufig eine starke diastolische Erschlaffung zu sehen, und 2mal wurde die Systole geradezu gehemmt. In 4 Fällen sank die Frequenz merklich ab, wobei gleichzeitig die Keimscheiben schrumpften (vgl. Fig. 25). Bei einem Versuch erfolgte in den beiden letzten Hinsichten eine Umkehrung des Effektes. Die Keimscheiben blieben alle am Leben.

1:1000 zeigte in 3 Experimenten eine kurz dauernde Vergrößerung der Diastole. Die Frequenz fiel leicht ab, erholte sich aber nach etwa einer halben Stunde. Jedesmal trat noch eine Schrumpfung der Keimscheibe auf. Sonstige Veränderungen waren nicht mehr zu sehen.

¹⁾ Michio Fujii (a. a. O.) beobachtete bei Physostigmin eine hemmende, vom 5. Embryonaltage an und bei kleinen Dosen aber eine erregende Wirkung auf die isolierten Herzen, während kleine Mengen von Pilokarpin von Anfang an erregend gewirkt haben sollen. Letzteres habe ich nie gesehen. - Ph. B. Armstrong (a. a. O.) erwähnt das Fehlen einer negativ inotropen Pilokarpinwirkung, solange das Fundulusherz noch nervenfrei war.

Insgesamt fällt bei der Atropinwirkung auf das vagusfreie Herz vor allem die deutliche Pulsverlangsamung auf. Ob sie als direkte Herzwirkung aufgefaßt werden darf, oder indirekt durch das Zusammenschrumpfen der Keimscheibe bedingt ist, vermag ich nicht zu entscheiden. Jedenfalls laufen beide Phänomene parallel. Kruta 1) erzielte bei seinen Experimenten an Ventrikeln der Sepia officinalis mit kleinen Atropindosen keine Wirkung, mit mittleren eine erregende und mit größeren eine Pulsverlangsamung bis zum Stillstand. Er weist im übrigen auf die Gleichartigkeit in der Wirkung mit derjenigen des Azetylcholins hin. Fujii 2)

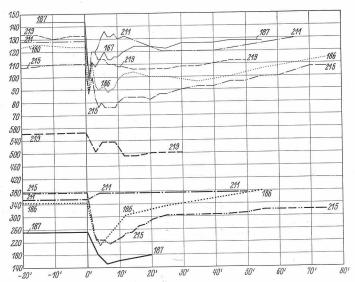


Fig. 25. 0,5 ccm Atropin. sulf. 1:750.

oben = Frequenzkurve.

unten = Flächeninhalt der Keimscheiben.

 $\dots 186 \quad ---- 187 \quad ---- 211 \quad ---- 215 \quad ---- 219$

konnte vor dem 6. Embryonaltage nur einen hemmenden Einfluß des Atropins feststellen, was ich durchaus bestätigen möchte.

Die häufigen Blutaustritte kommen möglicherweise durch die maximale Erweiterung der Gefäße zustande 3). Dabei ist aber zu erwähnen, daß Atropin in den gleichen Konzentrationen den Herzschlauch selbst in Kontrakturstellung bringt.

Störungen der Reizbildung und Erregungsleitung waren nur bei größeren Gaben zu sehen. Eine starke Erschlaffung des Herzens sofort nach Zugabe des Medikamentes trat immer auf. Die Systole wurde dagegen öfters geschwächt 1).

Zusammenfassung.

Die Wirkung verschiedener Pharmaka wurde zunächst an der Reaktion von Gewebekulturen des embryonalen Hühnerherzens geprüft, und da sich diese Methode als unzureichend erwies, am 3 bis 4 Tage alten Prävagusherzen. Die Keimscheiben wurden in toto in ein Glasschälchen gebracht, und durch Einschließen in eine feuchte Kammer vor dem Eintrocknen geschützt. Untersucht wurden die Frequenz des Herzschlages, aber auch die Wirkung auf Systole, Diastole und RLS. Die Medikamente wurden aufgetropft.

Die Vorversuche zeigten, daß die so vorbereiteten und auf einen Heiztisch gestellten Keimscheiben nach einiger Zeit eine regelmäßige Schlagfolge aufweisen, und daß indifferente, isotonische Lösungen dieselbe, abgesehen von einer Schockwirkung im Momente der Zugabe, nicht beeinflussen.

Die Arzneiwirkungen wurden, soweit sie die Frequenz betreffen, in graphischen Kurven festgehalten.

Digitaliskörper (Digalen, Digifolin, Digitalysat, Digitalis-Dispert, Digipurat, Pandigal, Infus. fol. digitalis sowie Strophanthin) vermehrten die Frequenz. Eine Pulsverlangsamung trat nur bei anderweitigen Störungen ein, so bei Unregelmäßigkeiten der Reizbildung und Schädigung der Erregungsleitung (heterotope Reizbildung, Blockphänomene usw.). Kräftigung der Systole und Vergrößerung der Diastole waren manchmal zu beobachten. Strophanthin zeigte eine auffallend stark retardierte Wirkung.

Kalzium und Kalium hatten keine einheitliche Wirkung auf die Schlagfolge. Irregularitäten wurden durch beide Ionen ausgelöst. Bei abwechselnder Applikation von Ca und K zeigte sich dagegen ein deutlicher Antagonismus; wenn K die Frequenz verlangsamte, wurde sie durch Ca wieder gehoben.

Koffein rief eine Pulsbeschleunigung, Verstärkung der Systole und Hemmung der Diastole hervor. Im weiteren traten mäßige, aber lange anhaltende Ueberleitungsstörungen auf.

Cardiazol erregte die Reizbildung, führte aber zu Kontrakturstellung

Adrenalin förderte ebenfalls die nomotope Reizbildung und rief leicht Kontraktur hervor. Manchmal konnte eine Kräftigung der Systole festgestellt werden.

Sympatol hatte oft eine Kräftigung der Systole und eine gleichzeitige Hemmung der Diastole zur Folge. Die Wirkung auf die Frequenz war inkonstant

¹⁾ Kruta, Vladislav, C. r. Soc. Biol. Paris, T. 119, p. 608 ff., 1935.

²⁾ Fujii, Michio, Fol. pharm. jap. IV, Fasc. 3 (Breviaria p. 20), 1927.

³⁾ Vgl. die ganz ähnlichen Beobachtungen (blutleeres Herz, erweiterte Gefäße, Hämorrhagien), die Burnier bei Azetylcholin gemacht hat.

¹⁾ Kruta erwähnt die negativ inotrope Wirkung des Atropins.

Ephedrin erzeugte Herzschädigungen mit Tendenz zu diastolischer Einstellung, Schwächung der Systole und Unregelmäßigkeiten der Reizbildung.

Azetylcholin zeigte bei ein und demselben Herzen oft antagonistische Wirkungen, Kontraktur und maximale Erschlaffung, Anstieg und Abfall der Frequenz. Dagegen blieb eine Beeinflussung des RLS aus.

Nikotin bewirkte Pulsverlangsamung und Kontraktur.

Pilokarpin: Frequenzherabsetzung, Schwächung der Diastole und Kräftigung der Systole.

Physostigmin: Frequenzverlangsamung, Kräftigung der Diastole

und Schwächung der Systole.

Atropin rief merkwürdigerweise regelmäßig eine Pulsverlangsamung bei gleichzeitigem Schrumpfen der Keimscheibe hervor und führte sehr häufig zu Hämorrhagien.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Frl. Dr. H. Vollmar für ihre vielen wertvollen Ratschläge und Anregungen, die sie mir während der Ausführung der Experimente auf der Abteilung für Zellforschung des Instituts zuteil werden ließ, und Frl. Badt für ihre bereitwillige Hilfe bei den Versuchen auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Aus dem Chemotherapeutischen Forschungsinstitut Georg Speyer-Haus in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto).

Untersuchungen über Gonokokken.

Von

Professor Dr. Otto Lentz und Dr. Walther Schäfer Geh. Obermed.-Rat Oberassistent.

Mit 19 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

Einem Uebereinkommen zwischen Herrn Professor Wirz-München und Herrn Geheimrat Kolle entsprang die Anregung, an einer größeren Reihe von Gonokokkenstämmen den Versuch zu machen, Gonokokken an ein geeignetes Versuchstier anzupassen, um durch die Erzeugung einer Gonokokkenerkrankung bei Tieren die tierexperimentelle Grundlage für chemotherapeutische Versuche zu schaffen. Professor Wirz übernahm es, durch ein Rundschreiben an alle dermatologischen Kliniken und hygienischen Institute der deutschen Universitäten eine größere Zahl verschiedener Gonokokkenstämme zu beschaffen. Geheimrat Kolle stellte für die Untersuchungen Arbeitsplätze und Mittel des Georg-Speyer-Hauses zur Verfügung und übertrug uns die Durchführung der Arbeiten. Leider hat er diese Arbeiten nicht mehr selbst mitbeobachten können, denn, als wir eben mit ihnen begannen, setzte ein allzu früher Tod seiner unermüdlichen Forschertätigkeit ein Ziel.

Wenn es uns auch nicht gelungen ist, durch unsere Gonokokkenstämme bei Tieren echte Infektionen auszulösen und wir darin das Schicksal aller früheren Untersucher teilen, so haben unsere Untersuchungen doch eine Reihe recht interessanter Ergebnisse gezeitigt, deren Mitteilung uns gerechtfertigt erscheint ¹).

Unsere Stämme.

Auf das oben erwähnte Rundschreiben gingen uns aus 5 dermatologischen Kliniken und 3 hygienischen Instituten Kulturen und Originalausstrichplatten zu. Aber nur ein Bruchteil der Kulturen enthielt noch lebensfähige Gonokokken und nur aus einem kleinen Teil der Originalausstriche konnten wir Gonokokken isolieren. Die außerordentliche Hinfälligkeit der Gonokokken auf künstlichen Nährböden, besonders den vielfach verwendeten Blutnährböden nach Casper-Bieling und Schubert, hatte sie die Versendung nicht überstehen lassen. Auch mußten wir einige gramnegative Diplokokken, die wir auf Originalplatten gefunden hatten, auf Grund weiterer Prüfung als Nichtgonokokken ausschalten. Immerhin standen uns dank

¹⁾ Bei Durchführung des technischen Teils dieser Untersuchungen hat die technische Assistentin des Instituts, Fräulein Erika Walther, in dankenswertester Weise mitgearbeitet.

Untersuchungen über Gonokokken.

dem Entgegenkommen von Herrn Prof. Schubert und Herrn Oberarzt Neumann von der Universitätshautklinik Frankfurt a. M. im ganzen 40 verschiedene Gonokokkenstämme für unsere Untersuchungen zur Verfügung. Es waren dies

- $3\,$ Stämme aus dem Hygienischen Institut in München, Stämme Go1—Go3,
- 1 Stamm aus dem Hygienischen Institut in Frankfurt a. M., Stamm Go 4,
- 2 Stämme aus der Universitätshautklinik in Marburg, Stämme Go 30 u. 31,
- 1 Stamm aus der Universitätshautklinik in Hamburg, Stamm Go 36, und
- 33 Stämme aus der Universitätshautklinik in Frankfurt a. M., Stämme Go 6-9, 11, 13-20, 24, 27-29, 32-35 und 37-48.

Diese 40 Stämme erwiesen sich allen Prüfungen gegenüber als echte Gonokokken. Dagegen ließen die in obiger Aufzählung fehlenden Stämme Nr. 5, 10, 12, 20—23, 25 und 26, die wir anfänglich als gramnegative gonokokkenverdächtige Stämme mitführten, ebenso wie andere später von Originalplatten gewonnene oder bei unseren Tierversuchen gefundenen gramnegative Kokken, durch abweichendes morphologisches (Lanzettform, Lagerung in Traubenform oder Kettenbildung), färberisches (Annahme der Gramfärbung) und kulturelles Verhalten (Wachstum auf Agar ohne Asciteszusatz, Vergärung mehrerer Zuckerarten) Eigenschaften erkennen, die sie deutlich von echten Gonokokken unterscheiden ließen.

Morphologisches und färberisches Verhalten der Gonokokken.

Unsere 40 Gonokokkenstämme wiesen übereinstimmend runde Semmelformen auf mit einem deutlichen Spalt in der Mitte (s. Fig. 1 und 4)¹). Ihre Größe entsprach der der Meningokokken und übertraf deutlich die der Staphylo- und Streptokokken. Charakteristisch ist, daß die Gonokokken im Ausstrich niemals in dichten Verbänden, Trauben- oder Fadenform, sondern stets einzeln, höchstens zu zwei bis vier Exemplaren nebeneinandergelagert erscheinen. Es beruht dies darauf, daß sich der Gonokokkus in den Kulturen mit einer starken Schleimhülle umgibt, die die einzelnen Individuen voneinander trennt. Deutlich kann man bei zusammenliegenden Paaren von Gonokokken, die offenbar aus einer frischen Teilung hervorgegangen sind, erkennen, daß die Teilungsachsen stets aufeinander senkrecht stehen.

Die Größe der Gonokokken war nicht ganz konstant. So erschienen frisch gezüchtete Gonokokken ein wenig größer als dieselben Stämme nach längerer Fortzüchtung, und ebenso waren auf sehr feuchten Nährböden gewachsene ein wenig größer als solche, die auf trockeneren Nährböden gewachsen waren. Diese Abhängigkeit von osmotischen Verhältnissen zeigte sich auch sehr deutlich bei dem Vergleich gleichzeitig in verschiedenen Flüssigkeiten angelegter Kulturausstriche. Während Ausstriche in verdünntem Ascites (1:4 KL) die Gonokokken in ihrer charakteristischen Form erkennen ließen (s. Fig. 1), waren in Kochsalzlösung aufgeschwemmte Gonokokken oft klein und zeigten zackige oder eckige Ränder (s. Fig. 2). Die Gonokokken sahen aus wie geschrumpft. Im Gegensatz dazu zeigten Ausstriche in Aqua dest. ver-

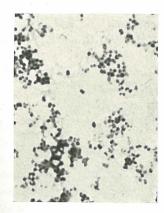


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 2. Fig. 2. Dieselbe Kultur in Kochsalzlösung Ascitesagar in verdünntem Ascites (1:4 KL) ausgestrichen.

ausgestrichen.

größerte und ebenfalls eckige Formen, letztere besonders an solchen Stellen, an denen der Ausstrich sehr dicht ist (s. Fig. 3). Diese Veränderung der Form in Kochsalzlösung und Aqua dest. läßt den Schluß zu, daß der Gonokokkus eine für Wasser sehr durchlässige Hülle besitzt. durch die bei Kochsalzlösung Flüssigkeit aus dem Gonokokkus in die langsam ein-

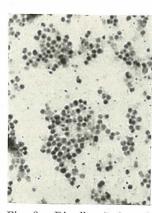


Fig. 3. Dieselbe Kultur in destilliertem Wasser ausgestrichen. Fig. 1—3. Vergr. $1000 \times$. Fuchsinfärbung nach Gramfärbung.

trocknende und daher höher konzentrierte Kochsalzlösung hinausdiffundiert, während bei Aqua dest. der osmotische Strom aus dem Aqua dest. in den eine höher konzentrierte Kochsalzlösung enthaltenden Gonokokkus hineingeht und sein Volumen entsprechend vergrößert. Die verdünnte Asciteslösung scheint dagegen wie eine isotonische Lösung zu wirken. Bei anderen

Bakterienarten, vor allen Dingen auch bei Diplokokken, die zu Verwechslungen mit dem Gonokokkus Anlaß geben könnten, haben wir derartige Formveränderungen nicht gefunden.

Charakteristisch war, worauf besonders Kutscher, J. Koch und Cohn schon hingewiesen haben, die große Neigung der Gonokokken zur Bildung von Involutionsformen, die oft schon in 24 Stunden alten Kulturen angedeutet (s. Fig. 4), nach 48 Stunden aber ganz ausgesprochen war (s. Fig. 5). Diese

¹⁾ Die der Arbeit beigefügten photographischen Wiedergaben verdanken wir der freundlichen Mitarbeit des Photographen des Instituts, Herrn Maas.

Untersuchungen über Gonokokken.

Involutionsformen stellten meist mehr oder weniger stark aufgeblähte, bisweilen aber auch leicht verzerrte, ovale Gebilde dar, die die Farbe in der Regel nur noch schwach annahmen. Keulen-, Stäbchen-, Peitschen- und Fadenformen, wie sie Cohn und Göring beschreiben, haben wir jedoch nicht gesehen. Die Bildung der Involutionsformen hat aber nichts mit einer Degeneration der Kultur zu tun; diese zeigt sich vielmehr durch das Auftreten von reichlichen Detritusmassen an.

Die Färbung der Gonokokken gelingt leicht mit allen basischen Anilinfarben. Eine ausschlaggebende Rolle spielt hier die Gramfärbung. Unsere Stämme erwiesen sich durchweg stets als gramnegativ, und zwar gleichgültig, welche der vielen gerade hierfür empfohlenen Modifikationen der

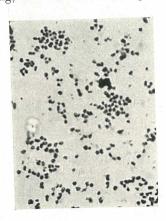




Fig. 4. 24stündige Kultur von Go16 auf Ascitesagar. Vergr. $1000 \times$. Fuchsinfärbung nach Gramfärbung.

Fig. 5. Dieselbe Kultur nach 48stündigem Wachstum. Involutionsformen.

Gramfärbung wir anwandten, wenn wir nur eine gute, nicht zu alte Karbolgentianaviolettlösung verwendeten. Niemals haben wir bei der Färbung reiner Gonokokkenkulturen eine Neigung zum vollständigen oder auch nur teilweisen Umschlag in Grampositivität gesehen, wie er von verschiedenen Autoren (Buschke, Langer, Cohn u. a.) beschrieben wird, und wie wir sie bei anderen anfänglich gramnegativen Diplokokken bisweilen feststellen konnten. Wohl haben auch wir in unseren Präparaten grampositive Kokken vereinzelt oder in Massen gesehen, die an einen Umschlag unserer Gonokokken denken ließen, stets aber erwiesen sich dann die betreffenden Kulturen als verunreinigt oder die verwendete Karbolgentianaviolettlösung als ungeeignet. Wir können daher mit Kutscher, A. Cohn, Ruys, Steinschneider und Neumann das streng gramnegative Verhalten der Gonokokken als eins der zuverlässigsten Merkmale der Gonokokken bezeichnen.

Gonokokkennährböden.

Anfänglich hatten wir Schwierigkeiten mit der Beschaffung guter Nährböden zu überwinden, vor allen Dingen mangelte es zunächst an brauchbarem

Ascites. Nachdem uns aber, besonders dank dem Entgegenkommen von Herrn Prof. Seyderhelm, (Heilig-Geist-Hospital Frankfurt) größere Mengen sehr guten Ascites', zur Verfügung gestellt wurden, konnten diese Schwierigkeiten behoben werden. Zur Züchtung der Gonokokken für unsere Versuche benutzten wir daher fast ausschließlich Ascitesagar, und zwar im Verhältnis von 2½ Teilen eines 2½ proz. Fleischwasseragars zu 1 Teil Aseites. Die Verwendung von 3proz. Agar bewährte sich infolge des rascheren Austrocknens und damit rascheren Absterbens der Gonokokken weniger.

Nicht jeder Ascites erwies sich als gleichgeeignet, ohne daß wir hierfür einen sicheren Grund angeben könnten. Der Eiweißgehalt allein kennzeichnet nicht den optimalen Ascites, denn wir fanden auch unter den eiweißreichen (12-20%) solche, die bezüglich ihrer Eignung als Gonokokkennährboden anderen mit geringerem Eiweißgehalt nachstanden. Ebensowenig ausschlaggebend ist der Alkaleszenzgrad, der bei unseren verschiedenen Proben in erheblichen Grenzen schwankte (рн 7,2—9,2). Angesichts der dennoch nun einmal bestehenden Unterschiede in der Verwendbarkeit empfehlen wir, jeden Ascites vor Ingebrauchnahme ähnlich wie auf Sterilität auf seine Eignung als Nährmedium mittels einer Probekultur zu untersuchen und danach den zu den Züchtungen größeren Umfanges bestgeeigneten auszuwählen. In Zahl und Größe der Gonokokkenkolonien auf der 24 Stunden bebrüteten Platte gibt sich die Tauglichkeit des Ascites zu erkennen: bei gutem Ascites haben die Kolonien dann schon fast ihre volle Durchschnittsgröße (2 mm) erreicht und nehmen bei weiterer 24stündiger Bebrütung nur noch unbeträchtlich an Ausdehnung zu, während gerade in diese Zeit das Hauptwachstum der Kolonien bei Verwendung geringwertigen Ascites', fällt. Im Tempo der Kolonieentwicklung und im Umfang, den die Kolonien zu erreichen imstande sind, charakterisiert sich die Brauchbarkeit eines Ascites als Zusatz für Gonokokkennährböden.

Solche Ascitesagarnährböden, auf denen die Gonokokken gar nicht gewachsen wären, haben wir unter 20 verschiedenen Ascites nicht angetroffen, aber nur bei einem Teil sahen wir die Gonokokken nach mehrtägiger (5—6 Tage) Bebrütung zu "Riesenkolonien" von 5 und 7 mm Durchmesser anwachsen. Bei anderen Ascitessorten erreichten nach gleicher Bebrütungsdauer die Kolonien nur eine Größe von 3 mm. Es ist also die Hervorbringung von Riesenkolonien ein zweites Moment, in dem sich die Eignung eines Ascites verrät.

Wir bewahren den steril gewonnenen Ascites ohne Chloroformzusatz in kleinen Kölbehen zu je 100 ccm auf, wobei wir fast nie Verunreinigungen auftreten sahen, vorausgesetzt, daß die Sterilitätsprobe sofort nach der Entnahme völlige Keimfreiheit ergab. Nicht sterilen Ascites haben wir durch halbstündiges Erwärmen auf 60° an 3 aufeinanderfolgenden Tagen keimfrei gemacht.

Der von uns verwendete Agar wurde aus gewöhnlichem Fleischwasser mit Zusatz von 1 Proz. Witte-Pepton hergestellt. Ersatz des Fleischwassers durch Plazentarabkochung (ROTHER, THEODORE) brachte keine Begünstigung des Wachstums, und in der Verwendung von Chapoteaut-Pepton anstelle von Witte-Pepton, was LEVINTHAL

empfiehlt, konnten wir auch keinen Vorteil sehen. Die Reaktion des Agars hatten wir auf ein pn von 7,4—7,6 eingestellt, und wir möchten auf die Innehaltung dieser leichten

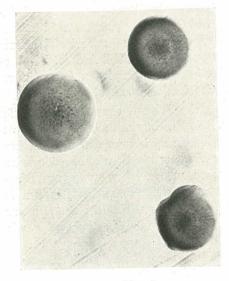


Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 6. 1 Tag alte Kolonien von Go 1 auf Ascitesagar. Vergr. 19 ×. Normale 24 Stunden alte Gonokokkenkolonien.

Fig. 7. 7 Tage alte Kolonien von Go 11 auf Ascitesagar. Vergr. 12 ×. Dunkle Verfärbung und Schollenbildung, die von der Mitte ausgeht.

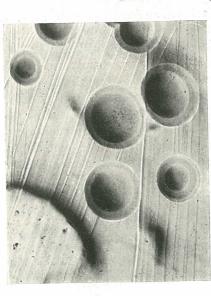




Fig. 8.

Fig. 9

Fig. 8. 4 Tage alte Kolonien von Go 4 auf Ascitesagar. Vergr. $19 \times$. Ringe in der Randzone. Fig. 9. 5 Tage alte Kolonien von Go 19 auf Ascitesagar. Vergr. $19 \times$. Leichte Wallbildung in der Mitte und am Rande.

Alkaleszenz einen gewissen Nachdruck legen, da wir hierbei unsere besten Wachstumsergebnisse zu verzeichnen hatten, die die Resultate bei der von Lorentz angegebenen Modifikation eines Milchsäureagars — gemessen an dem Entwicklungstempo und der Größe der Gonokokkenkolonien

— erheblich übertrafen.

Der Ersatz des Asciteszusatzes durch andere Eiweißkörper befriedigte uns wenig. Die Wachstumsintensität bleibt ganz erheblich hinter der auf dem Ascitesagar üblichen zurück, was sich bei dem Bestreben, größere Keimmengen zu erhalten, recht störend bemerkbar macht. Die Eiereiweißnährböden nach Lipschütz und Price und der Nähragar nach Kuczinski (Merckscher Trockenagar I) kommen erst dann dem Fleischwasser Ascitesagar gleich, wenn man auch ihnen etwas Ascites beigibt. Man kann also hier nicht mehr von Ascites-"Ersatznährböden" sprechen, selbst wenn nun mehr anstelle eines As-

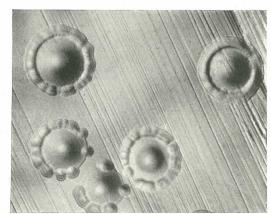


Fig. 10. 6 Tage alte Kolonien von Go 27 auf Aszitesagar. Vergr. $19 \times$. Deutliche Wall- und Knopfbildung am Rande.

citesanteiles von 1:2½ nur noch ein solcher von 1:5 nötig ist. Besseres Wachstum und größere Kolonien als bei diesen beiden Nährböden sahen wir, wenn der Ascites durch Blut — Kaninchenblut oder Pferdeblutwasser nach Casper-Bieling oder Schubert — ersetzt

wurde. Besonders gutes Wachstum erzielten wir, wenn wir zu 40 ccm auf 60° abgekühlten 2½ proz. Agars 10 ccm frischen, eben durch Herzpunktion steril entnommenen, nicht defibrinierten Kaninchenbluts zufügten und nach schnellem vorsichtigen Mischen sofort zu Platten ausgossen. Abgesehen davon, daß die Kolonien aufden Blutplatten durchweg etwas kleiner bleiben als bei guten Ascitesnährböden und es niemals zur Bildung von Riesenkolonien kommt, was ja wohl auf eine raschere Erschöpfung des Nährbodens hinweist, stört uns der Umstand der Nachbräunung und der Verlust an Durchsichtigkeit bei längerer Bebrütung. Dazu kommt, daß nach unserer Beobachtung die Gonokokken auf

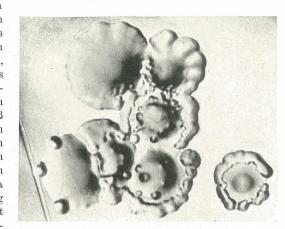


Fig. 11. 8 Tage alte Kolonien von Go 11 auf Aszitesagar. Vergr. 19 ×. Wallbildung am Rande und Knopfbildung am Rande und in der Mitte.

Blutagar rascher, spätestens am 3. Tag absterben, während man auf Ascitesplatten gewöhnlich noch bis zum 5. Tag und länger die Keime lebend erhalten findet.

Gute Wachstumsergebnisse erzielten wir auf dem von Levinthal angegebenen Kochblutagar. Er hat vor den anderen Blutnährböden den Vorzug, daß er hell und durchsichtig ist, doch ist auch er dem Ascitesagar nicht ebenbürtig. Wo aber die Beschaffung von Ascites

auf Schwierigkeiten stößt, wird man ihn an erster Stelle empfehlen können. Sonst sichert das bessere Wachstum der Gonokokken und die erheblich einfachere Herstellung des Ascitesagars bei der Benötigung größerer Nährbodenmengen diesem den Vorzug.

Fig. 12. 7 Tage alte Kolonien von Go 14 auf Ascitesagar. Vergr. 19 ×. Zentrale und periphere Knöpfchen.

Kultur der Gonokokken.

Die Gonokokkenkolonien auf Ascitesagar sind gewöhnlich rund, doch kommen auch gelappte und ausgebuchtete Kolonieformen vor (Fig. 6, 7, 18, 19). Ihr Rand ist meist glatt, bisweilen aber auch dicht gezähnt. Sie zeigen in der Mitte eine kleine leicht gelb gefärbte Kuppe und flachen sich nach dem Rande zu ab. Charakteristisch ist, daß auch dicht stehende Kolonien nicht ineinanderfließen, sondern

stets eine Grenzlinie zwischen 2 sich berührenden Kolonien erkennen lassen (Fig. 7, 9, 11, 16). Anfänglich sind sie hell, nur leicht getrübt, fast durchsichtig und erscheinen daher im Farbton des Agars. Nach mehrtägiger Bebrütung (6—8 Tage) verlieren die Kolonien allmählich ihre Durchsichtigkeit und nehmen eine ins Grau-weißliche übergehende Färbung an (Fig. 7). Be-

sonders an einzelstehenden Kolonien läßt sich dieser Uebergang, der im Zentrum der Kolonie einsetzt, während die Randzone noch klar ist, gut verfolgen: ein sichtbarer Ausdruck des Alters und Absterbens der Keime von der Koloniemitte heraus.

Wie wir oben schon erwähnten, wachsen auf manchen Ascitesnährböden die Gonokokken zu besonders großen "Riesenkolonien" von 5—7 mm Durchmesser im Verlauf einer 6—10-tägigen Bebrütung aus (Fig. 15). Dabei verändert sich das makroskopische Aussehen der Kolonie recht weitgehend. Infolge des zunehmenden Flächenwachstums verflacht sich die Kolonie, der Eindruck von kuppel-

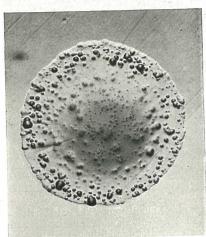


Fig. 13. 7 Tage alte Kolonien von Go 38 auf Ascitesagar. Vergr. 19 ×. Starke Knopfbildung in der ganzen Kolonie.

förmiger Erhabenheit der jungen Kolonien schwindet, mehr oder minder scharf abgesetzte Ringe, die sich zu wallartigen Verwerfungen steigern können, sprechen für ein schubweises Wachstum und lassen bei schwacher Vergrößerung (1:12—19) die mannigfaltigsten Bilder in Erscheinung treten (Fig. 8 u. 9). Mitunter bilden sich im Innern der Kolonie oder in der Peripher ezone, bisweilen auch an beiden Stellen zugleich, knopfartige runde Erhebungen (Fig. 10—13). Am Rande stehende Knöpfe fließen dabei ineinander oder breiten sich längs des Randes aus und bilden dann einen die Kolonie teilweise

oder ganz umgebenden Wall (Fig. 11, 16, 17, 18b und 19b). Beistarker Vergrößerung entpuppen sich diese Knöpfchen als Zusammenballungen von Keimen. Orte dichtesten Wachstums inmitten einer Umgebung eines diffusen Keimbelags (Fig. 14 und 17). Wir glauben in diesen Knöpfchen Regenerationszentren der alternden Kolonien sehen zu sollen, also Stellen frischer Vermehrung, während in den anderen Teilen der Kolonie die Keime schon abgestorben sind. Dafür spricht auch, daß in gefärbten Präparaten die Keime aus den Knöpfchen sich intensiv färben, während die Keime der anderen Partien nur noch ganz



Fig. 14. 15 Tage alte Kolonie von Go 19 auf Ascitesagar. Knöpfchen in Vergr. 500 \times .

schwach den Farbstoff annehmen, und daß von den Knöpfchen selbst 10tägiger Platten aus die Anlegung frischer Kulturen gelingt, während Kolonien ohne Knöpfchen nach 5 Tagen sich gewöhnlich nicht mehr fortzüchten lassen. Wir möchten hierbei betonen, daß die eben beschriebenen Beobachtungen nicht bei jedem Ascitesagar, aber auch nicht bei jedem Stamm gemacht werden konnten, daß Bilder, wie sie Fig. 10 zeigt, wo alle Erscheinungsformen an einer Kolonie sich abspielen: getrübtes Zentrum, Knöpfchen in allen Bezirken der Kolonie, geschichtete Ringbildung, ausgebuchteter Rand, schon zu den Seltenheiten zu zählen sind.

Da die Knöpfchen bei starker Vergrößerung eine etwas gröbere Körnelung zeigen als die übrigen Teile der Mutterkolonie (Fig. 11 und 17), haben wir untersucht, ob es sich hier vielleicht um Umbildungen im Sinne von Rauhformen handele. Wir legten deshalb gleichzeitig sowohl aus den Knöpfchen als auch aus den knöpfchenfreien Teilen der Mutterkolonie neue Kulturen an. Schon die mikroskopische Betrachtung der 24stündigen Platten zeigte bei starker Vergrößerung keinen Unterschied der Kolonien (Fig. 18 und 19)

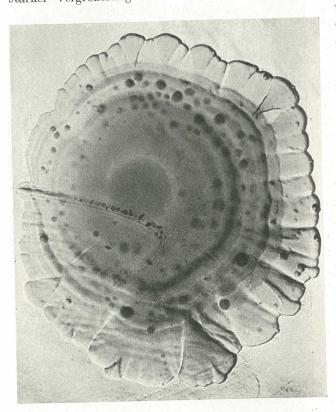


Fig. 15. 17 Tage alte Riesenkolonie von Go 46 auf Ascitesagar. Vergr. 19 ×. Ausgebuchteter Rand, Ringe, zentrale und periphere Knöpfchen.

und ebensowenig die $der 2 \times 24$ Stunden alten Platten (Fig. 18a und 19a). Und nach 3×24 stündiger Bebrütung zeigten die Kolonien in ganz gleicher Stärke Knopf- und Randbildung (Fig. 18b und 19b). Auch im mikroskopischen Ausstrich ließen die Gonokokken aus beiden Platten keinerlei Unterschiede erkennen. Es handelt sich hier also nicht um die Bildung von Rauhund Glattformen, wie sie Herrold beschreibt und wie sie auch CH. Ruys anzunehmen scheint, die ebenfalls die Knopfbildung beobachtet hat.

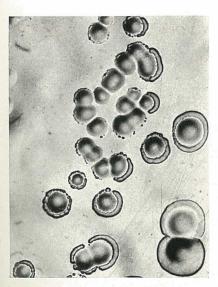
Gut gewachsene Gonokokkenkulturen auf Ascitesagar lassen deutlichen Spermageruch erkennen, während die Kulturen anderer gramnegativer Diplokokken sauer oder fäkulent riechen.

In Ascitesbouillon wächst der Gonokokkus unter leichter Trübung des Nährbodens und Bildung eines dicken, schleimigen, oft etwas krümeligen Bodensatzes. Bildung einer dichten Kahmhaut haben wir nicht beobachtet, nur bei einzelnen Stämmen ein dünnes krümeliges Häutchen gesehen, das bei der leisesten Erschütterung zerfiel und in Bröckeln zu Boden sank.

Wachstum auf gewöhnlichem Agar oder in gewöhnlicher Bouillon beobachteten wir bei keinem unserer Stämme, weder bei frischen noch bei lange fortgezüchteten Stämmen. Alle unsere Versuche einer Anpassung an gewöhnlichen Agar, die von vielen Untersuchern berichtet und von SEGAWA als schon nach wenigen Ueberimpfungen leicht erreichbar hingestellt wird, schlugen fehl.

Untersuchungen über Gonokokken.

Zur Differentialdiagnose der Gonokokken wird die Verwendung von Zuckerarten als Zusatz zum Nährboden empfohlen. Wir haben alle uns zur Verfügung stehenden und ad hoc beschafften Zucker- und Alkoholarten. 20 verschiedene Sorten, geprüft und regelmäßig nur eine Vergärung des Traubenzuckers durch unsere Stämme beobachtet. Nur bei Zusatz von



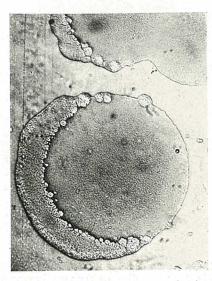


Fig. 17.

Fig. 16. 48stündige Kolonien von Go 14 auf Ascitesagar. Vergr. 12 x. Wall- und Knöpfchenbildung am Rande der Kolonien.
Fig. 17. Dieselbe Kultur, Vergr. 65 ×.
Die Fig. 16 und 17 gehören mit den Fig. 18—19b zu einem Versuch.

Hühnereiweiß zu den Nährböden gaben auch einige andere Zuckerarten, vor allem Maltose und Lävulose, schwache Reaktionen. Es beruht dies wohl auf dem natürlichen Gehalt des Hühnereiweißes an kleinen Mengen Traubenzucker. Man wird deshalb, wenn man paradoxe Reaktionen in zuckerhaltigen Nährböden erhält, prüfen müssen, ob der Nährboden nicht kleine Spuren von Traubenzucker enthält. Deutliche Ausschläge der Reaktion auf zuckerhaltigen Nährböden sind überhaupt nicht, schwache Reaktionen auch erst nach 3—4 Tagen zu erhalten, da anscheinend der Zuckerzusatz das Wachstum der Gonokokken auf diesen Nährböden stark hintanhält. Immerhin ist besonders mit Rücksicht darauf, daß der Meningokokkus außer dem Traubenzucker auch Maltose und bisweilen Lävulose vergärt, die Verwendung von

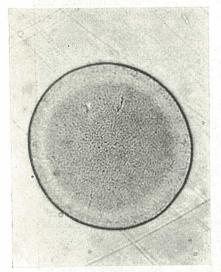
Arb. a. d. Staatsinst. f. exp. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. XXXIII.

Untersuchungen über Gonokokken.

Traubenzucker-, Lävulose- und Maltose-haltigen Nährböden zur Differentialdiagnose der Gonokokken zu empfehlen.

Wir haben bereits auf die große Hinfälligkeit der Gonokokken in den Kulturen hingewiesen, die wir, wie die meisten Untersucher vor uns, auch an unsern Stämmen ganz regelmäßig beobachteten. Sowohl bei Zimmertemperatur wie auch im 37°-Brutofen aufbewahrte Kulturen waren oft schon nach 5 Tagen abgestorben; dabei machte es keinen Unterschied, ob es sich um Platten- oder Röhrchenkulturen handelte, und ob letztere mit Wattestopfen verschlossen oder zugeschmolzen waren. Wir waren daher zunächst

gezwungen, um Verluste zu vermeiden, unsere Kulturen alle 3 Tage weiter-



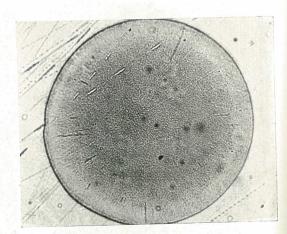
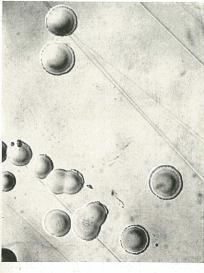


Fig. 19. Fig. 18. 24stündige Kultur aus der Mitte einer der Kolonien, die Fig. 16 zeigt. Vergr. $65\times$. Fig. 19. 24stündige Kultur vom Randwall derselben Kolonie wie Fig. 18. Vergr. $65\times$. Kein wesentlicher Unterschied der beiden Kolonien in Fig. 18 und 19.

zuimpfen. Erst als wir den Versuch machten, die bei 37° gut angewachsenen Kulturen in einem auf 30° eingestellten Brutofen aufzubewahren, hatten wir bessere Ergebnisse. Bei dieser Temperatur blieben die Gonokokken sowohl in Röhrchen- als auch in Plattenkulturen auf Ascitesagar ausnahmslos 14 Tage lang am Leben, oft noch erheblich länger bis zu 55 Tagen. Die Ueberimpfung unserer Stämme war seitdem nur alle 14 Tage notwendig, was eine erhebliche Ersparnis an Material, Arbeit und Zeit bedeutete.

Die Hinfälligkeit der Gonokokken außerhalb des menschlichen Körpers zeigt sich auch darin, daß oft ganz plötzlich, ohne erkennbaren Anlaß, die Kultur auf der Ascitesagarplatte nur noch als dünner schleimiger Belag sich bildet und eine Weiterzüchtung des Stammes nicht mehr möglich ist. Im mikroskopischen Bilde des Ausstrichs findet man dann nur feinkörnigen Detritus und vereinzelte Schatten von Diplokokken. Diese Degeneration tritt bisweilen schon bei frisch gezüchteten Stämmen nach wenigen Ueber-



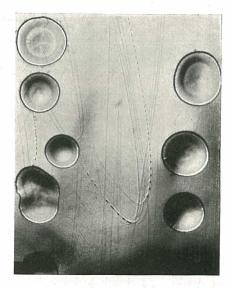
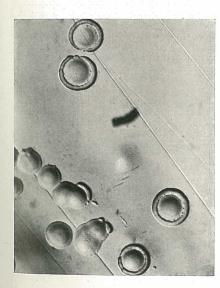


Fig. 18a.

Fig. 19a.

Fig. 18a. Dieselbe Plattenkultur wie in Fig. 18 nach 2 × 24stündiger Bebrütung. Vergr. 12 ×. Fig. 19a. Dieselbe Plattenkultur wie in Fig. 19 nach 2×24 stündiger Bebrütung. Vergr. $12 \times$. Eben beginnende Wall- und Knöpfchenbildung bei einigen Kolonien beider Platten.



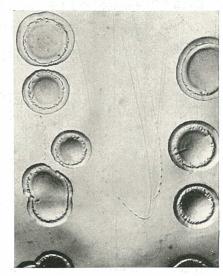


Fig. 18b.

Fig. 19b.

Fig. 18b. Dieselbe Stelle der Plattenkultur wie Fig. 18a nach 3×24stündiger Bebrütung. Fig. 19b. Dieselbe Stelle der Plattenkultur wie Fig. 19a nach 3 × 24stündiger Bebrütung. Deutliche Wall- und Knöpfchenbildung am Rande der Kolonien beider Platten in gleicher Stärke. Die Kolonien beider Platten bieten dasselbe Aussehen.

Agglutination der Stämme mit verschiedenen ++++= sofort nach dem Verreiben; ++++= bis 5 Minuten;

Stamm	Go 1-Se.	Go 4-Se.	Go 15-Se.	Go 19-Se.	Go 24-Se.	Go 28-Se.	Go 29-Se.
Go 1	++++	+++				•	
Go 2 Go 3	++++	++++		: : .	. :		•
Go 4	+++	++++		•	•	•	
Go 13 Go 14	++++ +++	+++	++++	++++	++	++	++++
Go 15 Go 16 Go 17	+++ +++ ++++	++ ++ ++++	++++ ++++	++++ ++++ ++++	++ ++ ++++	+++++++	++++ +++
Go 18 Go 19 Go 20 Go 24	+++ +++ ++++	++++++++++	++++	++++	++++	+++ +++ +++	+++
Go 27 Go 28 Go 29 Go 30 Go 32	+++ +++ ++++ +++	+++	++++ ++++ ++++	++++	+++++++	± +++ ++++ ++++	++++
Go 33 Go 34 Go 35	++++	++++	++++	++++	+++	++++++++++	++++
Go 36	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++
Go 37 Go 38	+++	++++	++++	++++			
Go 39 Go 40 Go 41 Go 43 Go 44 Go 46 Go 47 Men. 250 Men. Cairo 49 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1008 1010 1012 1021 1022 1024 1023 1025 1026	+++ ++++ ++++ ++++ ++++ ++++ 	# ++++ ++++ +++ ++		++++	- +++ - ++++ - ++ ++	+++ +++ +++ ++ ++	+++

belle 1.
Seren in der Verdünnung 1:100.
++= bis 20 Minuten bei Zimmertemperatur; += 2 Stunden bei 37°.

MenSe.	Norm. K-Se.	1001-Se.	1023-Se.	K-L.	Romorkungon
and the same of th		1001-96	1020-86.	IZ-IJ.	Bemerkungen
+ 1/ ₂₀₀ ±	+ 1/ ₂₀₀ ±	•	•	_	
$^{++}_{^{1/_{200}}\pm}$	++ 1/ ₂₀₀ ±	•	•	_	
++	+			-	
$^{1/_{200}}\pm$	¹/ ₂₀₀ — ±		٠.		
± ++	± ₁)	土土土1)	±±±¹)	±±¹)	Feine Flocken, leicht zu verteilen
$^{1/_{200}}\pm^{1})$		_		_	zu verteilen
— +++	_	_	+++	_	-
1/200 ±			1/200 —		
_	_	_	_	_	IT -
		· +++1)			1) E
+++1)	+++1)	++++)	+++1)	+++1)	¹) Feine Flocken, be 37° aufgelöst
		- ,	_	(
善	_	_	±	_	
	一 士¹)	±1)	$\stackrel{\pm}{\pm}_{1}$	一 ±¹)	1) Feine Flocken, leich
124					zu verteilen
±±±¹) ±±¹)	$\begin{array}{c c} \pm \pm \pm 1 \\ \pm \pm \pm 1 \end{array}$	$\begin{array}{c} \pm \pm \pm^{1} \\ \pm \pm \pm^{1} \\ + + +^{1} \end{array}$	±±±¹) ±±±¹)	$\pm \pm \pm \pm \frac{1}{1}$	1) dgl. 1) dgl.
+++1)	±±±¹) +++¹)	+++1)	+++1)	±±¹) +++¹)	1) Feine Flocken, be
.,++	_	±±¹)	±±¹)	土土1)	37º aufgelöst 1) Feine Flocken, leich
$^{1/_{200}}\pm\pm^{1})$ $\pm\pm^{1})$	±±¹)	±¹) ++	土土1)	±±¹)	zu verteilen 1) dgl.
++ 1/ ₂₀₀ ±	_	++ 1/ ₂₀₀ ±	-	ų -	,
	_	7200		-	.1
Ŧ	_	+	± +	_	. 3
± ± -		± - -	± ± - -		5
=	_		_	_	1 0 ct.x
	-	-			4
+++	_	_	_		
	_	++++		_	
1		++++	·	_	c ' t
	7	++++	*	_	
_					-
	_	++++		_	
	_	•			x get
					4
= 1	_	++++			
			++++		
	100000000000000000000000000000000000000			nicht	H and the second

Ta-Ergebnis der Austitrierung der Gonokokkenstämme mit Gonokokkenund ++++ = sofortige Agglutination; +++ = in 5 Minuten; ++ = in 20 Minuten

Stamm	Zur Agglu- tination ver- wendetes	_	Gonoko	kkenserum			Norm Kanino seru	hen-
	Gonokokk Serum	1/200	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/100	1/200
Go 1 Go 1 Go 4 Go 4 Go 14	Go 1 Go 4 Go 1 Go 4 Go 15	++ ++ ++ ++ ++	+ ± - + ++++	- - - +++	- - - +	- - - ±1)	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± - ±
Go 15 Go 16 Go 17 Go 18	Go 15 Go 15 Go 15 Go 15	++++ ++++ ++++	++++ ++ +++ ++++	+++ ++ ++	++ - ++ +	二 — ±1)		
Go 19 Go 24	Go 15 Go 15	++++ ++++	++++	++++	+++	士1)	十 士¹)	-
Go 27 Go 28	Go 15 Go 15	++++	+++	++++	_ ++	±2)	<u></u> 士1)	•
Go 29 Go 30 Go 32 Go 33	Go 15 Go 15	++++ ++++ ++++ ++++ ²)	++++ +++ ++++ ++++ ²)	+++ +++ +++ +++²)	±2) ++ ± +++2	士 ¹) 士 ²) 一 士 ¹)	-	
Go 34 Go 35		++++	+++	±± +++	+2)	士) = ±1)	
Go 36 Go 37 Go 38	7 Go 15	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++++ ++ ++	+++	土土土	<u>-</u> +	· ±1)
Go 3: Go 4: Go 4 Go 4 Go 4 Go 1 Go 2 Go 2	0 Go 15 1 Go 15 6 Go 15 7 Go 15 9 Go 19 4 Go 24 8 Go 28	++++ ++++ ++++ ++++ ++++	+++ ++++ +++ ++ ++ ++++ ++++	++ +++ ++ + + + ++ ++		 +:3 +:3 	=	

impfungen ein — so verloren wir unsern Stamm Go 31 schon nach 6 Ueberimpfungen —, gewöhnlich aber erst nach mehrmonatlicher Fortzüchtung.

belle 2. seren nebst Kontrollen in normalem Kaninchen-, Meningokokken- 1023-Serum. bei Zimmertemperatur; += nach 20 Stunden bei $37^\circ; \pm=$ schwache Agglutination.

Mening	gokok	kense	erum	10)23-S	erum		K-L.	Bemerkungen
1/100	1/200	1/500	1/1000	1/100	1/200	1/500	1/1000		1 1
+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± ± ±1)	一 : : : :		· : : :	- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			一 : : : ±1)	1) Feine Flocken, die sich durch
+ - +	一 · ±¹)			<u>.</u> _ +++	· · ±1)			- - +1)	Schütteln verteilen lassen 1) Feine Flocken, die sich durch
±1)	-	:		十 士¹)	-				Schütteln verteilen lassen 1) Feine Flocken, die sich durch Schütteln verteilen lassen
+ ±¹)	•		•	+ ±1)		-			Feine Flocken, die sich durch Schütteln verteilen lassen Stärker als die Flocken in der K-L., durch Schütteln nicht zu verteilen
±1) ++ - +2)	· 士¹) 士¹)		:	±1) ±1) - +2)	: : ±1)	:		± ¹) ± ¹) ± ¹)	1) und ²) dgl. 1) und ²) dgl. 1) Stärkere Krümelung, die im Brütofen bis auf ganz kleine Flocken zurückgeht
_ ±1)				_ ±1)		:			Agglutination auch nach Brüt- ofen kräftig Feine Flocken, die sich durch Schütteln verteilen lassen Durch Schütteln nicht zu ver-
+++	+ +	± ±1)	:	_ ± ++	- ±1)			- ±1)	teilende Agglutination 1) Feine, durch Schütteln nicht verteilbare Krümelung, die aber im Brütofen vollständig verschwand
++++++++	土 土	=							

Serologisches Verhalten der Gonokokken.

Serologisch verhielten sich unsere Stämme vollkommen identisch und gaben sowohl im Agglutinationsversuch als auch mit der Komplement-

ablenkung durchaus übereinstimmende Ergebnisse. Allerdings mußten wir hier erst verschiedene Schwierigkeiten überwinden.

Zunächst gelang es uns nicht, mit Hilfe von Ascites-Agarkulturen brauchbare Gonokokkenantisera zu erhalten, da die Kaninchen nach der dritten bis vierten Injektion regelmäßig an Anaphylaxie (gegen menschliches Eiweiß) eingingen. Erst als wir zur Kultur für die Kaninchenimmunisierung den oben beschriebenen Kaninchenblutagar verwendeten (10 ccm frisch entnommenen Blutes ohne Defibrinierung in 40 ccm auf 60° abgekühlten Agars schnell unter Vermeidung von Blasenbildung gemischt und sofort zu Platten ausgegossen), gelang es durch intravenöse Injektion steigender Kulturmengen [½ Oese bis 2 ganze Platten (ca. 10 Oesen) lebender Kultur], durch 5 bis 6 Injektionen 7 hochagglutinierende Sera vom Titer 1:1000 bis 1:5000 zu erzielen.

Diese Sera ergaben bei der orientierenden Agglutination in der Verdünnung 1:100 sowie bei der Austitrierung im Reagenzglas einwandfreie Ergebnisse derart, daß alle unsere Kulturen von unseren Seren in buntem Wechsel teils bis zur Titergrenze, teils schwächer agglutiniert wurden (siehe Tabelle 1 und 2).

Auch hier war eine Schwierigkeit zu überwinden, die durch die starke Schleimbildung der Gonokokken in der Kultur hervorgerufen wird. Gonokokkenkulturen lassen sich meist schwer in Kochsalzlösung verreiben; bei einiger Geduld gelingt jedoch fast stets eine gleichmäßige Verreibung. Einige Stämme bilden allerdings auch dann in der kalten Kochsalzlösung feine Krümelungen, die oft aber bei Einstellung der Aufschwemmungen in den 37°-Brütofen nach 24 Stunden verschwinden. Zur Anstellung der Agglutination — sowohl im Tropfen auf dem Objektträger wie auch im Reagenzglas — muß man daher Aufschwemmungen von 2 Oesen auf 1 ccm Kochsalzlösung berechnet verwenden und Teile von diesen mit gleichen Teilen der verschiedenen Serumverdünnungen mischen. Zu beachten ist dabei, daß die Serumverdünnung dadurch auf die Hälfte der Konzentration gebracht wird.

Mit Rücksicht auf die Schwierigkeit der Verreibung haben wir die Agglutination in kleinen schmalen Reagenzgläsern angesetzt und je 0,2 der Gonokokkenaufschwemmung und der Serumverdünnung miteinander gemischt. Die Agglutination wurde (die Tropfen auf dem Objektträger in feuchter Kammer) zunächst bei Zimmertemperatur während ½ Stunde beobachtet, wobei oft schon die Agglutination bis zur Titergrenze fertig ausgebildet war. Sodann kamen die Agglutinationsproben für 2 Stunden in den Brutofen und wurden dann abgelesen. Nur bei stärker krümelnden Stämmen blieben die Agglutinationsproben 24 Stunden im Brutofen, weil dann die nichtspezifische Krümelung sich oft noch löste, während echte Agglutination bestehen blieb.

Bei leichter Krümelung von Stämmen schon in der Kochsalzlösung konnte die Agglutination beim Vergleich der Röhrchen mit der Kochsalzaufschwemmung leicht erkannt werden. Nur einmal, bei Stamm Go 28, war die Krümelung so stark, daß ein Ablesen der Agglutination unmöglich wurde. Hier halfen wir uns dadurch, daß wir mit dem Stamm ein agglutinierendes Serum herstellten und nun dieses mit gut agglutinierenden Gonokokkenstämmen auswerteten. Nach längerer Fortzüchtung verlor sich übrigens diese Neigung zur Krümelung mehr und mehr, so daß auch diese Stämme später einwandfreie Agglutinationen ergaben (s. Stamm Go 28 in den Tabellen 1 und 2).

Stets müssen zu den Agglutinationsversuchen ausgiebig Kontrollsera hinzugezogen werden. Wir verwendeten hierzu ein normales Kaninchenserum,

gegen 3 unserer Gonokokkenstämme mittels der Komplementablenkung. Ausführung in $^{1}4$ Dosen = je 0,25.) an ungelöst, +++ = Blutkörperchen fast ungelöst, ++ = Blutkörperchen fast ungelöst, ++ = Schleier, - = Völlige Lösung.

							Serumverdünnungen	ünnungen					
Serum	Stamm	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/750	1/1500	1/3000	1/6000
Go 1	Go 1 Go 15	+- +- +- +-	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+1+1	11	11	11	11	11
1	Go 36		-+ -+	-+ -+ -+	-+ -+ -+	+++++	+++	++	1	1	1	I	1
Serum	kontrolle	- 1	1	.	. 1	1							
Go 4	Go 15		+++	++++	+++	++++++	+++		1	I	ı	1	
- 12 .	Go 38	+- +- +- +-	+- +- +- +-	++++	+ + + + + +	+++	1 +	1 [1 1		1 1		1
Serum	kontrolle		- - - -	 _ [- - -	- 1	-					3	
Go 15	Go 15		++	+:	+-	+-	+++++++	+-+-+-	+-+-+	++++	++++	+ + +	H
	Go 38	+- +- +-	+- +- +-	+- +- +-	+-	++ ++ ++ ++	_		 ++ ++	H+		1	I
Serum	Serumkontrolle	- - - - -	<u>+</u> 1	- 1	_	_ 1 -		_			·		
Go 19 (Go 15	++++++	++	+:	+-	+-		+++++	++++	+++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+	1 1
V	Go 38	++ ++ ++ ++	++ ++ ++	++++++	+++++++	++++++	++++	++++	++++	+++++	+++	1	1
Serum	kontrolle				1	. [
Go 24 Go 15 ++-	Go 15	1 -	+-	+:-+-	+-+-	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++	+++++	++1	+	1 1	11	11
	Go 46	++ ++ ++	-	- - -	- - -	- - - -	++++	_ -+ +	1	I	Í	1	Ĭ
Serum	kontrolle		1	1	1								
Go 28	Go 28 Go 15	4-	+-	+-	+-	+-+-+-	++ +- +-	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++	+ 1	J I	1* 1
	Go 38	++ ++ ++	++++++++	++ ++ ++	- - - - - - - -	++	- - -	-+ -+	- - +	-+	+	1	1
Serum	kontrolle	-0.3		1	1								
Go 29	Go 15	+++	++	++	++	++	++	++		++++	++++		[-
14.0	Go 38	++++++	+-+-+-	+-+-+-	+-+-+-	+- +- +-	+- +- +-	++ +- +- +-	++	1 1	1 1		1-1
Committee	Go 46	++++	<u>†</u> 1	+1	+ 1	+ 1	F	-					
Derum	Serumkontrone	1											

ein Meningokokkenserum und zwei Sera, die mit Diplokokken hergestellt wurden, von denen der eine Stamm uns als Gonokokkus zugeschickt war, sich bei näherer Prüfung aber als Nicht-Gonokokkus erwies, der andere Stamm von uns bei unseren Tierversuchen als häufige Verunreinigung gefunden wurde. Alle Stämme, die wir auf Grund ihres sonstigen Verhaltens als Gonokokkenstämme ansprechen konnten, ergaben mit unseren hochwertigen Seren deutliche Agglutination, wenn auch manchmal nur bis zur Serumverdünnung 1:1000 bei einem Titer von 1:5000, mit den Kontrollseren jedoch nie eine deutliche Agglutination in einer höheren Serumverdünnung als 1:200, trotzdem auch diese Sera Titer von 1:1000 bis 1:5000 gegen ihren eigenen Stamm hatten.

Tabelle 4.
Prüfung unserer Gonokokkensera gegen Kompligon mittels
der Komplementablenkung (nach Pieper).
Ausführung und Zeichenerklärung s. Tabelle 3.

Q			Serumve	rdünnung	en (je 0,2	5)			Serum-	Serum dünnum (je 0	ngen
Serum	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Kontra	$\frac{1}{5}$	1/40 1/80
Go 1 Go 4 Go 15 Go 19 Go 24 Go 28 Go 29	++++ ++++ ++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++ ++++	+++ +++ ++++ ++++ ++++	++ +++ ++++ - ++ +++	± + ++ +++ + + ++ ± +	- ++ +++ - -	 - ++ - -		±±= +±= + =	
Kontrolle 1001*)	+	_	- 2	-			-	_		+ - -	

*) 1001 ist kein Gonokokkus, sondern ein gramnegativer Staphylokokkus.

Auch mit der Komplementablenkung erhielten wir durchaus eindeutige Ergebnisse bei der Auswertung unserer sämtlichen Sera sowohl gegen 3 unserer Stämme (s. Tabelle 3 a. S. 57)¹) wie auch gegen Kompligon (s. Tabelle 4). Auch hier waren die Ergebnisse bei den Stämmen nicht einheitlich, gingen aber auch nicht mit der Agglutination parallel, insofern der gut agglutinable Stamm Go 38 eine geringere Komplementablenkung gab als der schwer agglutinable Stamm Go 46. Auch bei den Seren ging die Komplementablenkung nicht ihrer Agglutinationskraft parallel, wenn auch die schwächer agglutinierenden Sera Go 1, Go 4 und Go 24 im allgemeinen eine schwächere Komplementablenkung ergaben als die stärker agglutinierenden übrigen Sera.

Aber weder den Ergebnissen der Agglutination noch denen der Komplementablenkung konnten wir einen Anlaß zu einer Gruppeneinteilung der Gonokokken entnehmen, zu der Jötten bei seinen Untersuchungen und Thomsen und Vollmond wenigstens mit der Komplementablenkung kamen. Vielmehr waren unsere Ergebnisse der Agglutination und Komplementablenkung so eindeutig, daß wir in diesen Untersuchungsmethoden, besonders der Agglutination, außerordentlich wertvolle Kriterien für die Identifizierung der Gonokokken erblicken. Eine solche Gruppeneinteilung aber nach dem Vorgang von Tulloch, Hermannies sowie Torrey und Buckall durch Anstellung des in seiner Wirkung unzuverlässigen (M. Wassermann) Castellanischen Absättigungsversuchs künstlich herbeizuführen, sahen wir keinen Anlaß.

Identifizierung der Gonokokken.

Für die Identifizierung der Gonokokken haben wir uns auf Grund des bisher geschilderten morphologischen, kulturellen und serologischen Verhaltens unserer Gonokokkenstämme folgende Gesichtspunkte zur Regel gemacht:

1. Gramnegative Diplokokken in Semmelform, die im Deckglasausstrich nicht in zusammenhängenden Verbänden (Trauben oder Fäden), sondern einzeln oder zu zwei bis vier Pärchen nebeneinanderliegend erscheinen, wobei die Teilungsachsen stets senkrecht aufeinander stehen.

2. Auch in lange fortgezüchteten Kulturen nur gramnegative Diplokokken, keine Uebergänge oder Umwandlungen zu grampositiven.

3. Neigung zur Bildung von Involutionsformen, die oft schon in 24 Stunden alten Kulturen beginnt, nach 48 Stunden meist ganz ausgesprochen ist.

4. Bildung bizarrer, zackiger und eckiger, geschrumpfter bzw. geblähter Formen bei Herstellung von Ausstrichen in Kochsalzlösung oder Aqua destillata. Keine verzerrten Formen in mit 1:4 verdünntem Ascites hergestellten Präparaten.

5. Charakteristisches Wachstum auf Ascitesagar: Nach 24 Stunden 1—2 mm große Kolonien, die, besonders deutlich bei Lupenbetrachtung, tautropfenartig, leicht getrübt und leicht gelblich gefärbt erscheinen und bisweilen bereits in der Mitte eine kleine gelbe Kuppe zeigen. Nach 48 Stunden bis 4 mm große gelbbräunliche, durchscheinende Kolonien, die in der Mitte eine dichte gelbe Kuppe zeigen. Kein Zusammenfließen benachbarter Kolonien, sondern deutlicher Grenzstrich zwischen ihnen.

6. Spermageruch der Kultur.

7. Kein Wachstum auf gewöhnlichem Agar; auch nach längerer Fortzüchtung keine Anpassung an gewöhnlichen Agar.

8. Von Zuckern und Alkoholen wird nur Traubenzucker deutlich vergoren. (Wenn Lävulose oder Maltose ebenfalls vergoren werden, prüfen, ob das Nährmedium — z. B. bei Zusatz von Hühnereiweiß — etwa Traubenzucker enthält).

9. Deutliche bis starke Schleimbildung in den Kulturen, die eine gleichmäßige Verreibung in Kochsalzlösung erschwert.

¹⁾ Die Auswertung unserer Sera im Komplementablenkungsversuch hat in dankenswerter Weise die technische Assistentin der Serumabteilung des Instituts für experimentelle Therapie, Fräulein Rödiger, ausgeführt.

Untersuchungen über Gonokokken.

10. Gute Agglutination noch in starken Verdünnungen spezifischer Gonokokkensera. Ausbleiben einer Agglutination in stärkeren Verdünnungen der in ausgiebiger Zahl heranzuziehenden Kontrollsera und in Kochsalzlösung. — Bei schlecht verreibbaren Stämmen Herstellung von agglutinierendem Serum mit ihnen und Austitrierung des Serums mit gut agglutinierenden Gonokokkenstämmen.

Tierversuche.

Soweit sich die Literatur überblicken läßt, findet sich nirgends die Beschreibung einer der menschlichen Gonokokkenerkrankung analogen Tierinfektion. Denn als solche können wohl die geringfügigen und schnell abheilenden lokalen Entzündungserscheinungen an den Genitalien, den Konjunktiven oder dem Peritoneum kaum gelten, die nach Einbringung und oft recht robuster Einreibung (Stockmeyer und Schmitz) von mehr oder weniger großen Gonokokkenmengen auftreten. Daß der tierische Organismus auf die giftige Leibessubstanz von Bakterien mit einer Entzündung reagiert, ist unseres Erachtens nicht weiter erstaunlich und berechtigt nicht, darin schon die Parallele zur menschlichen Erkrankung zu sehen. Das eigentlich Entscheidende und Unterscheidende bleibt dabei die ganz anders geartete Entzündungsreaktion des tierischen gegenüber derjenigen des menschlichen Organismus. Nie kommt es infolge des sofortigen Einsatzes der tierischen Abwehrkräfte zu einer Vermehrung der eingeführten Kokken und damit zur Steigerung der Inokulationsentzündung bis zum Bild einer durch immer neuen Keimnachschub gekennzeichneten Infektion. Nach wenigen Tagen ist die tierische Abwehr der Eindringlinge Herr und die Gonokokken sind verschwunden. An diesem grundlegenden Tatbestand ändern auch gar nichts die Angaben besonders von russischen und japanischen Autoren über einen längeren Nachweis der Gonokokken auf tierischen Schleimhäuten, die durch gleichzeitig gegebene andere Substanzen (Galle) zur Entzündung gebracht wurden.

Solange man solche Tierexperimente nicht wenigstens zur Aufklärung der spezifischen gonorrhoischen Immunitätsverhältnisse heranziehen kann, wird ihr Wert immer zweifelhaft bleiben.

Da direkte Impfversuche also allerorts auf Fehlschläge stießen, versuchten wir in Etappen uns dem Ziel zu nähern und richteten unsere Bemühungen darauf, die Virulenz der Gonokokkenstämme so zu erhöhen, daß sie schließlich der tierischen Abwehr trotzen könnten. Aehnlich der Virulenzsteigerung von Pestbazillen oder Pneumokokken durch Tierpassagen wäre ein gleiches Verhalten der Gonokokken von vornherein nicht von der Hand zu weisen, wenn auch weniger wahrscheinlich, da es sich bei den Pestbazillen (oder auch den Pneumokokken) nur um die Erhöhung einer an sich vorhandenen Virulenz handelt, also nur um die graduelle Steigerung einer von Natur vorhandenen Eigenschaft des Keims, wogegen es bei den Gonokokken durch die Tierpassagen wahrscheinlich erst zur Erzielung einer ganz neuen Leistung, der Pathogenität gegenüber dem Tierorganismus, kommen müßte.

Eine zweite Möglichkeit der Anpassung der Gonokokkenstämme im Verlauf der Tierpassage war auch noch auf dem Wege vorstellbar: daß durch die Weiterzüchtung der bei der jeweiligen Tierpassage den tierischen Abwehrkräften nicht zum Opfer gefallenen Keime schließlich ein "tierfester" Gonokokkenstamm resultiere. An sich würde auch die Gewinnung einer durch solche Auslese gezüchteten Variante einen ersten Schritt auf dem Wege zum tierpathogenen Stamm darstellen.

Als Versuchstiere benutzten wir weiße Mäuse und weiße Ratten im Alter von etwa 6 Wochen. Unsere 40 Stämme wurden den Tierpassagen unterworfen und dabei ihr Verhalten im Tier sowie das kulturelle und serologische Verhalten der Passagestämme von Etappe zu Etappe studiert.

Die sicher tödliche Dosis bei intraperitonealer Injektion betrug sowohl für Ratten wie für Mäuse 4 Oesen einer gut gewachsenen 24stündigen Ascitesagarkultur unserer Stämme, wie dies auch Jötten bei seinen Stämmen beobachtet hatte. Nach Injektion kleinerer Dosen wurden die Tiere krank, überstanden aber zum Teil die Erkrankung, zum Teil gingen sie nach kürzerem oder längerem Kranksein, das sich durch Freßunlust, träge Bewegungen, verklebte Augen, bei den Mäusen auch durch gesträubte Nackenhaare und Steifigkeit aller Extremitäten zu erkennen gab, zugrunde. Als prämortale Zeichen beobachteten wir auch kurz dauernde tetanische Zuckungen, die meist einseitig auftraten, und eine positive Eiweißreaktion im Harn, die wir durch Auffangen des Harns in einer Kapillare und Nachfließenlassen von 20proz. Salpetersäure feststellten. Die untere Grenze, bei der die Tiere noch krank wurden, lag bei den Mäusen bei ½ 0ese Kultur. Unterhalb dieser Dosen vertrugen die Tiere die intraperitoneale Injektion ohne irgendwelche Krankheitszeichen.

Bei der intravenösen Injektion der Gonokokken, die wir nur bei Mäusen anwendeten, mußten wir mit der Kulturmenge ganz beträchtlich heruntergehen, da hier bei 0,3—0,4 Oesen schon die tödliche Dosis erreicht war. Das Krankheitsbild kam rascher zum Ausbruch, der Tod trat bisweilen schon 1 Stunde p. i. ein. Aus dem strömenden Blut ließen sich die Gonokokken schon wenige Minuten nach der Injektion nicht mehr herauszüchten.

Unterschiedslos verhielten sich alle von uns untersuchten 40 Gonokokkenstämme in annähernd gleicher Weise. Wohl beobachteten wir geringe Schwankungen bezüglich der Dosis tolerata nach der Injektion verschiedener Stämme, aber in gleicher Weise auch nach der Injektion verschiedener Kulturen des gleichen Stammes. Diese Unterschiede waren aber zu gering und zu wechselnd, als daß auf sie eine Unterscheidung unserer Stämme in hoch- und gering-aktive Stämme hätte begründet werden können.

Im allgemeinen war die Schwere der Erkrankung unserer Versuchstiere von der Größe der Impfdosis abhängig. Dies charakterisiert alle Erscheinungen als reine Intoxikationen und grenzt sie dadurch scharf von den Erscheinungen einer echten Infektion ab. Der Giftgehalt des Impfstoffes war ausschlaggebend für das Schicksal des Tieres, nicht der Gehalt an lebenden Gonokokken: Erhitzung auf 60° tötete die Gonokokken ab, ohne ihre Wirkung in dem oben gezeichneten Sinne auf das Tier im geringsten zu verändern. Darum verbietet sich die Bezeichnung: "Gonokokkensepsis" auch für die Fälle, bei denen nach einer massiven Einverleibung von Gonokokken vereinzelte Gonokokken im Blut und in den Organen der geimpften

Untersuchungen über Gonokokken.

Tiere anzutreffen waren, zumal auch in diesen Fällen die Keime schon nach 24 Stunden nicht mehr nachweisbar waren.

Bei der Untersuchung der eingegangenen Tiere fanden sich keine makroskopischen oder mikroskopischen Organveränderungen, die man als eine gonokokkenspezifische Wirkung aufzufassen gehabt hätte. Auch konnten wir in mikroskopischen Schnitten der Organe Gonokokken nicht mit Sicherheit nachweisen. Dagegen ließen sich bei nicht später als 1—2 Tage nach der Impfung eingegangenen Tieren zuweilen aus den Organen Leber, Milz, Niere und Herz die Keime noch herauszüchten. Bei ungefähr 10 Proz. der Sektionen gelang dieser Nachweis der in den Kapillarmaschen der Organe festgehaltenen Gonokokken; wo er mißglückte, muß man annehmen, daß die Gonokokken bereits an Ort und Stelle zugrunde gegangen waren. Bei Tieren, die später als 3 Tage nach der Impfung eingingen, fanden sich bei den über 1000 Sektionen nicht ein einziges Mal noch Gonokokken, ein Umstand, der angesichts der Hinfälligkeit der Keime weiter nicht überrascht, aber beweisend dafür spricht, daß eine Vermehrung der Gonokokken nicht stattfand.

Um innerhalb der krankmachenden Dosen zu bleiben, dabei die Tiere aber noch einige Tage beobachten zu können, wurde Mäusen eine Menge von 1/4—1/2 Oese einer 24stündigen Kultur aufgeschwemmt in 1 ccm Ascites oder physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert, bei Ratten steigerten wir die Menge auf 1 Oese unter Beibehaltung der übrigen Versuchsbedingungen. Die Entnahme von Bauchexsudat erfolgte nach 5, 24 und 48 Stunden p. i. mittels fein ausgezogener Glaskapillaren. Es wurde sofort kulturell verarbeitet und mikroskopisch untersucht. Für die nächste Passage gingen wir dann immer von der Kultur des am längsten in der Bauchhöhle gewesenen Exsudates aus, also von der des 24stündigen Exsudats, wenn aus dem 48stündigen Gonokokken nicht mehr herausgezüchtet werden konnten, und von der des 5stündigen, wenn die nächste (24stündige) Entnahme schon ein negatives Ergebnis hatte. In der Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung oder Ascites als Aufschwemmungsmittel ergibt sich insofern ein Unterschied, als die Resorption des letzteren etwas langsamer abläuft und dadurch die Wahrscheinlichkeit, genügende Exsudatmengen bei der Entnahme zu erhalten, größer ist. Auch hofften wir anfangs durch die gleichzeitige Injektion von Ascites eine Vermehrung der Gonokokken begünstigen zu können.

Um die Berührung mit künstlichen Nährböden und eine dadurch vielleicht bedingte Abschwächung der Virulenz der Gonokokken zwischen ihrem jeweiligen Aufenthalt im Tiere zu verhindern, injizierten wir zeitweilig das gewonnenene Exsudat unmittelbar, nur durch Ascites mengenmäßig auf 1 ccm aufgefüllt, in das Peritoneum der nächsten Maus. Diesen Versuchen setzte aber die Verringerung des mit jeder Passage stark absinkenden Keimgehaltes schnell ein Ziel. Außerdem kam es bei dieser Versuchsanordnung leicht zu Verunreinigungen des Exsudats durch Bazillen und Kokken, die sich auf dem Haarkleide der Mäuse und Ratten finden, unter denen besonders ein gramnegativer Diplokokkus zu unangenehmen Verwechselungen Anlaß geben kann. Mit einem dieser Stämme, 1001, haben wir deshalb auch ein agglutinierendes Serum hergestellt, das uns als Kontrollserum bei unsern Untersuchungen gute Dienste geleistet hat. Da Abreiben der geschorenen Bauchhaut der Ver-

suchstiere mit 70proz. Alkohol zur Vermeidung dieser Verunreinigungen nicht genügte, erprobten wir verschiedene Desinfektionsverfahren und fanden schließlich in den 15proz. alkoholischen Lösungen von Bergamott- und Zitronenöl brauchbare Desinfizientien.

Auf insgesamt über 1000 Ratten und Mäuse verimpften wir die aus Tieren fortlaufend gewonnenen Passagestämme und verglichen sie in gewissen Abständen mit den Ausgangsstämmen. Wir prüften sie in ihrem kulturbiologischen Verhalten, Agarwachstum, Gärfähigkeit, Färbung, Agglutination und Toxizität und ermittelten jeweils den äußersten Termin ihrer Nachweisbarkeit im Peritoneum. Dabei konnten wir Unterschiede zwischen den Passage- und Ausgangsstämmen nicht feststellen.

Hinsichtlich der Verweildauer unserer Stämme im Peritoneum glauben wir unter den verschiedenen Stämmen gewisse Unterschiede feststellen zu dürfen, insofern als 2 extreme Gruppen sich deutlich gegenüber den übrigen herausheben: eine Gruppe, die nach wenigen Stunden schon sich dem kulturellen und mikroskopischen Nachweis entzog und demnach den Abwehrkräften des tierischen Organismus erlegen sein mußte, und eine andere Gruppe, die sich mit einer recht zuverlässigen Regelmäßigkeit 24, zuweilen sogar 48 Stunden lang im Peritoneum nachwiesen ließ. Beide Gruppen machten zusammen ungefähr ein Fünftel aller unserer Stämme aus. Der Nachweis der übrigen Stämme gelang demgegenüber nur in einem Zeitraum zwischen 5 und 24 Stunden nach der Injektion. Ueber durchschnittlich 20 Passagen verfolgten wir unsere Stämme. Nachstehende Protokolle über die mit 3 von unseren Stämmen ausgeführten Passagen greifen wir heraus, um an ihnen den Verlauf der Passagen zu demonstrieren (s. Tabelle 5—7).

Tabelle 5. Stamm Go 16.

Maus (M) bzw. Ratte (R) Nr.	Lebensfähigkeit der Gonokokken im Peritoneum 5 Std. 24 Std. 48 Std.	Impf- dosis	Reaktion des Versuchstieres	Kultureller Gonokokken- nachweis aus den Organen
M 373 471 474 525 613 656 672 678 704 713 729 R 3		$\begin{array}{c} 1/_{4} \ \text{Öse} \\ 1/_{4} \ \ , \\ 1/_{4} \ \ , \\ 1/_{4} \ \ , \\ 1/_{2} \ \ , \\ 1/_{4} \ \ , \\ 1/_{5} \ \ $	krank, erholt, † nach 30 Tagen † nach 3 Tagen krank, erholt, † nach 36 Tagen krank, erholt, † nach 30 Tagen † nach 2 Tagen † nach 1 Tag † nach 1 Tag † nach 3 Tagen krank, erholt, † nach mehr als 30 Tagen dgl. † nach 7 Tagen	

*) +++= Platte übersät mit Gon.-Kol., ++= zahlreiche Kol., +=1-10 Kol., -= keine Gon.-Kol.

Außer der unterschiedlichen Dauer der Lebensfähigkeit der Gonokokkenstämme im Tierkörper bringen die Tabellen ein weiteres zum Ausdruck: eine Anpassung an das Tier während der Passage stellte sich nicht ein, die

Tabelle 6. Stamm Go 17.

Maus (M) bzw. Ratte (R) Nr.	der Gon	itoneur	en im m	Impf- dosis	Reaktion des Versuchstieres	Gone	ltureller okokken- weis aus Organen
M 374 , 489 , 491 , 515 , 527 , 568 , 688 , 630 , 638 , 644 , 660 , 665 , 676 , 730 R 13	+++ +++ +++ +++ ++ +++ +++ +++ +++	111+111111111111	V	1/4 Öse 1/4 ,, 1 ,,	krank, erholt, † nach 30 Tagen dgl. † nach 2 Tagen dgl. dgl. krank, erholt, † nach 30 Tagen dgl. dgl. dgl. dgl. dgl. dgl. † nach 2 Tagen dgl. † nach 1 Tag. krank, erholt, † nach 30 Tagen dgl. dgl. † nach 1 Tag.		

Tabelle 7. Stamm Go 38.

Ratte (R)	der G	ensfähig onokokl eritonev	cen im	Impf- dosis	Reaktion des Versuchstieres	Kultureller Gonokokken- nachweis aus den Organen
	5 Std.	24 Std.	48 Std.	, _		uen organen
R 104 ,, 116 ,, 140	+	++++		1 Öse 1 ,, 1 ,,	krank, erholt, † nach > 30 Tagen krank, erholt, † nach 24 Tagen † nach 1 Tage	in Herz und Leber Go++
,, 153 ,, 181 ,, 247 ,, 251 ,, 269		- ++ ++ ++		1 ,, 1 ,, 1 ,, 1 ,,	krank, erholt, † nach > 30 Tagen dgl. dgl. dgl. † nach 1 Tage	im Peritoneum u. Leber Go+
,, 279 ,, 297 ,, 304	-	++++++	+	1 ,, 1 ,,	krank, erholt, † nach 28 Tagen krank, erholt, † nach 20 Tagen † nach 1 Tage	in der Leber Go+
,, 331 ,, 338 ,, 339		+++++		1 ,, 1 ,, 1 ,,	krank, erholt, † nach > 30 Tagen dgl. dgl.	= =

für den einzelnen Stamm von vornherein gültige Verfallszeit blieb die gleiche, er gewann nicht an Resistenz und damit an Aussicht, jemals zur eigenen Vermehrung zu kommen und dadurch tierpathogen zu werden. Es erwies sich also die Absicht, mittels Tierpassagen den Gonokkokus tierfest und -pathogen zu machen, als auf diese Weise nicht erreichtbar. Die Prüfung der sonstigen Gonokokkencharakteristika führte zu demselben Resultat:

es glich der Stamm nach 20 und 30 Tierpassagen auch bezüglich seiner Toxizität — der Dosis tolerata u. letalis — völlig dem Ausgangsstamm. Keiner der von uns untersuchten Stämme machte davon eine Ausnahme.

Auch die Verimpfung dicker Gonokokkenaufschwemmungen in die Hoden von Mäusen, die Einträufelung in die Konjunktiva und in die Nase in leichter Aethernarkose führte nicht zum Haften der Gonokokken. Die geimpften Hoden zeigten zwar nach 24 Stunden eine starke Schwellung, aber weder kulturell noch mikroskopisch konnten in dem Hoden, der dem nach 24 Stunden getöteten Tiere entnommen wurde, Gonokokken nachgewiesen werden, Lediglich eine starke zellige Infiltration im mikroskopischen Schnitt zeugte von der heftigen Reaktion des Hodengewebes auf das eingespritzte Gonokokkentoxin. Die geimpften Konjunktiven erwiesen sich nach 24 Stunden leicht entzündet, und kleine Eiterflöckehen zeigten sich in den Augenwinkeln, nach 48 Stunden waren die Augen wieder normal. In den Eiterflöckehen konnten weder mikroskopisch noch kulturell Gonokokken nachgewiesen werden. Von den 10 nasal geimpften Mäusen zeigte nur 1 nach 5 Tagen Krankheitserscheinungen, Freßunlust und gesträubtes Fell, schließlich Atemnot. Als sie am 8. Tage einging, fand sich eine rote Hepatisation der ganzen Lunge. Mikroskopisch und kulturell fanden sich in dem typisch pneumonisch infiltrierten Lungengewebe bipolare Stäbchen der Septikämie-Erregergruppe. Die anderen Mäuse überstanden die nasale Impfung mit Gonokokken ohne jegliche Folge.

Alle diese Ergebnisse sprechen für eine erhebliche Ueberlegenheit der tierischen Abwehr gegenüber den Gonokokken. Man könnte sich vorstellen, daß die Gonokokken von ihr so schlagartig überfallen werden, daß ihnen zur Umstellung und Gegenwehr, zur Tieranpassung mit einem Wort, keine Zeit bleibt.

Hieraus ergab sich für uns die Richtung, nach der hin wir unsere Tierversuche zu korrigieren hatten. Es galt, dieses Uebermaß der tierischen Abwehrleistung durch gewisse Maßnahmen herabzumindern und weitgehend zu unterbinden, um dadurch den Gonokokken vielleicht bessere Gelegenheit zur Anpassung an den Tierkörper zu schaffen.

Als der hauptsächlichste Träger der antibakteriellen Abwehr gilt das retikuloendotheliale System. Es lag also nahe, den Versuch zu machen, auf dem Umweg über die Ausschaltung des RES. das erstrebte Ziel doch noch zu erreichen. Mehrere Möglichkeiten eröffneten sich hierzu: 1. die operative Entfernung von an Zellen des RES. reichen Organen (z. B. der Milz). 2. Die Blockierung des RES. durch die Substanzen, die in ihm zur Speicherung gelangen (z. B. kolloidales Kupfer nach v. Jancsó). 3. Bestrahlung mit Röntgenstrahlen, mit deren Hilfe ZINSSER und CA-STANEDA Sowie Macchiavello und Dresser eine starke Anreicherung von Rikettsien im Rattenorganismus erzielten. Die Entmilzung ist ein Eingriff, der an leicht narkotisierten Tieren vorgenommen meist anstandslos vertragen wird. Die Impfung mit Gonokokken erfolgte 24 Stunden nach der Entmilzung. Bei der Blockierung mit kolloidalem Kupfer gaben wir intravenös 0,0015 ccm pro g Maus der von der chemischen Fabrik Heyden hergestellten handelsüblichen Lösung; 2 Stunden später ließen wir die Gonokokkenimpfung folgen. Wir kombinierten auch beide

Arb. a. d. Staatsinst. f. exp. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. XXXIII.

Methoden, indem wir entmilzten Tieren nach 2 Stunden kolloidales Kupfer injizierten und sie 2 Stunden später mit Gonokokken impften. Daraufhin sahen wir bei jeder einzelnen und besonders deutlich bei Vereinigung beider Maßnahmen eine Verlängerung der Nachweisbarkeit der Gonokokken im Peritoneum; sie stieg durchschnittlich um 24, in manchen Fällen sogar um 48 Stunden an. Trotz dieses nun verlängerten Tieraufenthaltes erfuhren die Gonokokkenstämme selbst keine Umprägung. Wurden sie nunmehr wieder auf normale Tiere gebracht, so gingen sie hier in derselben Zeit zugrunde wie der Ausgangsstamm. Der bei den entmilzten und mit kolloidalem Kupfer behandelten Tieren erhobene Befund mußte demnach ausschließlich auf Rechnung der Schädigung der tierischen Abwehrkräfte durch den erfolgten Eingriff gesetzt werden. Eine Resistenzsteigerung der Gonokokken hatte nicht stattgefunden.

Wir beschritten daher nun den 3., in seinen Auswirkungen auf das Tier gut abstufbaren Weg: die Vorbehandlung mit Röntgenstrahlen.

Die Bestrahlungen wurden ausgeführt in dem Institut für physikalische Grundlagen der Medizin in Frankfurt a. M., wobei uns Herr Prof. Dr. Ra-JEWSKI und Herr Dr. Dorneich in dankenswerter Weise unterstützten. Wir unterwarfen nur junge Ratten im Alter von 6—8 Wochen (keine Mäuse) der Bestrahlung. In Vorversuchen hatten wir in der Dosis von 900 r eine Strahlenmenge ermittelt, deren schädigende Wirkung auf das Tier in den meisten Fällen in ungefähr 8-10 Tagen zum Tode führte. Das erschien uns als geeignetes Intervall, um innerhalb seiner die Gonokokkenimpfung an einem strahlengeschädigten Tier vorzunehmen. Wir impften an dem der Bestrahlung folgenden Tag die Gonokokken intraperitoneal in gleicher Art und in derselben Menge wie bei den jeweils zur Kontrolle mitgeimpften normalen Tieren und brachten die aus dem entnommenen Bauchexsudat gewonnenen Passagestämme wieder in frisch bestrahlte Ratten. So ließen wir 10 Gonokokkenstämme durch zirka 150 bestrahlte Ratten passieren und verglichen die Gonokokkenverweildauer im Peritoneum mit der entsprechenden Normalkontrolle. Von den bestrahlten Ratten behielten ungefähr 15 die Gonokokken 24 Stunden länger als die unbestrahlten Kontrolltiere. Wurden nun solche durch längeres Verweilvermögen im Peritoneum ausgezeichnten Stämme aber auf Normaltiere geimpft, dann zeigten sie wieder ihr altes Verhalten. Eine neue Fähigkeit, sich gegen die tierischen Abwehrkräfte zu behaupten, hatten die Passagestämme nicht erworben. Auch ihre übrigen Eigenschaften waren konstant geblieben. Auch verschiedene Modifikationen des Bestrahlungsmodus, wie Verzettelung der Gesamtstrahlendosis auf mehrere kleinere Rationen, Bestrahlung des vorher schon infizierten Tieres, kurze Nachbestrahlung des vorher mit der Volldosis bestrahlten und dann infizierten Tieres, änderten an diesem Tatbestand nichts. Alle diese Mißerfolge zwangen uns zu dem Schluß, daß die Erzielung von Varianten, insbesondere die Gewinnung tierpathogener Gonokokkenstämme durch die von uns in großem Rahmen durchgeführten Tierpassagen an Mäusen und Ratten bei

der von uns befolgten Methodik aus den von uns untersuchten Gonokokkenstämmen nicht möglich war. Wir müssen das völlig negative Ergebnis dieser Untersuchungen, den Mangel jeglicher Tierpathogenität, als ein weiteres charakteristisches Merkmal der Gonokokken buchen.

Untersuchungen über Gonokokken.

Histologische Untersuchung des Peritonealexsudats.

Regelmäßig haben wir bei unsern Tierversuchen neben der Anlegung von Kulturen zum Nachweis der Gonokokken auch mikroskopische Präparate des Peritonealexsudats der intraperitoneal geimpften Mäuse und Ratten angefertigt. Anfangs färbten wir sie mit Giemsa-Lösung oder nach May-GRÜNWALD, erhielten hier aber trotz Differenzierung mit Tanninlösung oder Alkohol meist stark überfärbte Präparate, in denen die Gonokokken oft nicht sicher zu erkennen waren. Besonders die dicken dunkelblau gefärbten Granula der Mastzellen, die häufig, wenn diese Zellen geplatzt sind, frei im Gesichtsfeld liegen, geben zu Verwechselungen mit Gonokokken Anlaß. Erst als wir unsere Präparate mit der Unna-Pappenheimschen Pyronin-Methylgrünlösung färbten, erhielten wir Ergebnisse, die uns voll befriedigten. Die so gefärbten Präparate sind niemals überfärbt. Die Gonokokken nehmen die rote Pyroninfarbe auf und sind dadurch leicht und sicher zu erkennen. Die Granula der Mastzellen sind dagegen leuchtend kupferrot gefärbt und geben dadurch nie Anlaß zur Verwechselung mit Gonokokken (s. d. Tafel Fig. 3). Daß die Granula der Leukozyten nicht gefärbt sind, mag vielleicht manchem als Nachteil dieser Färbung erscheinen, der Wert auf den Nachweis eosinophiler Leukozyten legt, fällt aber tatsächlich nicht ins Gewicht, da, wie wir uns an Giemsa-Präparaten überzeugten, eosinophile Leukozyten nur in sehr geringer Zahl nach der Peritonealinfektion mit Gonokokken auftreten und bei der Phagozytose der injizierten Keime keine Rolle spielen. Dafür ist aber das feine Maschenwerk der Histiozyten (Makrophagen, endotheloide Zellen nach Maslakowa) zart rosa gefärbt und läßt diese Zellen leicht von den neutrophilen Leukozyten unterscheiden, was bei Anwendung von Methylenblaufärbungen nicht der Fall ist. Auch das Protoplasma der Epithelien zeigt ein zart rosa gefärbtes Maschenwerk. Dagegen erscheint der schmale Protoplasmasaum der Lymphozyten dunkelrot. Die Kerne der Leukozyten und Histiozyten sind hellblau gefärbt, ebenso die der Mastzellen, sofern sie zwischen den oft ganz dicht gedrängten kupferroten Granula überhaupt erkennbar sind. Die Kerne der Lymphozyten und Epithelzellen sind dunkelblau gefärbt. Auch für die Schnittfärbung eignet sich diese Färbung, und besonders bei der Darstellung der Organveränderungen bei den bestrahlten Tieren erwies sie sich als ein guter und einfacher Ersatz für die umständliche Gallego-Färbung.

Entnimmt man gesunden Mäusen und Ratten mit einer Kapillare ein wenig Peritonealexsudat, so findet man in ihm in der Hauptsache Histiozyten, die nur wenig größer sind als Leukozyten, mit engem feinem Maschenwerk, daneben hin und wieder eine Mastzelle und ganz vereinzelt einen neutrophilen Leukozyten.

Injiziert man nun Mäusen und Ratten eine Gonokokkenaufschwemmung ins Peritoneum und entnimmt nach 5 Stunden wieder Exsudat, so findet man jetzt im Ausstrich das Gesichtsfeld in der Regel übersät mit Gonokokken, die zum größten Teil noch frei liegen (s. d. Tafel Fig. 1). Zwischen ihnen sieht man einige Leukozyten, von denen ein Teil mehr oder weniger prall mit Gonokokken angefüllt ist, wodurch ihr Volumen bereits deutlich vergrößert erscheint, vorwiegend aber zahlreiche Histiozyten von normaler Größe, in denen aber keine Gonokokken enthalten sind. Auch einige Lymphozyten und Mastzellen sind in der Regel vorhanden.

Nach 24 Stunden hat sich das histologische Bild in ganz charakteristischer Weise geändert (s. d. Tafel Fig. 2 u. 3). Die Zahl der Gonokokken hat sich ganz außerordentlich verringert, ja bei manchen unserer Stämme gelang es überhaupt nicht mehr, nach 24 Stunden Gonokokken mikroskopisch nachzuweisen. In der Mehrzahl der Fälle waren sie aber noch zu erkennen. Dann aber lagen sie nur noch ganz vereinzelt frei im Gesichtsfeld, ihre Hauptmasse war in jetzt stark vergrößerten Leukozyten eingeschlossen und füllte diese zum Teil prall aus. Dabei erschienen die Gonokokken oft wie gequollen und zu Kügelchen verschiedener Größe umgewandelt, so daß man den Eindruck gewann, daß es sich hier um einen Auflösungs- oder Verdauungsprozeß handelte. Andere Leukozyten, die keine Gonokokken enthielten, zeigten normale Größe.

Ganz charakteristische Veränderungen zeigten die Histiozyten. Die meisten waren mehr oder weniger stark vergrößert, oft geradezu aufgebläht. Dadurch erschien ihr Maschenwerk auseinandergezogen, weitmaschig, und häufig umschloß es deutliche Vakuolen. Nur selten fanden wir in ihnen vereinzelte Gonokokken, die dann gewöhnlich in solchen Vakuolen lagen. Die Histiozyten scheinen sich demnach an der Phagozytose der Gonokokken nicht wesentlich zu beteiligen, während diese ganz ausgesprochen Aufgabe der Leukozyten ist. Doch scheint ihre starke Vergrößerung die Folge eines chemotaktischen Reizes zu sein. Hierfür spricht, daß ähnliche Veränderungen an den Histiozyten auch nach der Injektion anderer Substanzen, Staphylokokken, Kieselgur, aber auch sterilen Ascites und steriler Bouillon eintreten. Doch fehlt bei den letzteren die hochgradige Aufblähung, die wir bei bakterieller Infektion des Peritoneums sahen. Die Veränderung der Histiozyten dürfte daher wohl durch den Reiz bedingt sein, den das Toxin der Gonokokken hervorruft, so daß wir mit allem Vorbehalt vielleicht den Schluß ziehen dürfen, daß bei der bakteriellen Infektion des Peritoneums die Aufgabe der Histiozyten mehr auf dem Gebiete der Unschädlichmachung giftiger Stoffe liegt, während die Leukozyten in erster Linie den direkten Kampf gegen die belebten Infektionserreger aufnehmen. Leukozyten und Histiozyten sind bei den infizierten Mäusen gewöhnlich in gleicher Zahl vorhanden, bei den Ratten überstieg häufig die Zahl der ersteren die der Histiozyten um das 2-3fache.

Die Zahl der Mastzellen ist in der Regel auch etwas vermehrt, so daß man fast in jedem Gesichtsfeld 1—2 dieser Zellen findet. Wir haben aber

niemals in ihnen Gonokokken gesehen. Die Behauptung von Lusztig, daß die Mastzellen (Rundzellen) an der Phagozytose in erster Linie beteiligt seien, dürfte auf einer irrtümlichen Deutung seiner mit Giemsalösung gefärbten Präparate beruhen.

Große und kleine Lymphozyten sind in sehr wechselnden Mengen vorhanden. An der Phagozytose der Gonokokken sind sie anscheinend gar nicht beteiligt. Bisweilen findet man auch einige Epithelien, in oder auf denen hin und wieder ein Gonokokkenpärchen zu sehen ist.

Nach 48 Stunden ist das mikroskopische Bild des Peritonealexsudates noch fast das gleiche wie nach 24 Stunden. Nur sind Gonokokken jetzt gar nicht mehr zu sehen, und es ist meist auch schon ein Rückgang der Zahl der Leukozyten bemerkbar, der dann nach weiteren 24 Stunden sehr deutlich wird. Sie haben dann ihre Aufgabe, die eingebrachten Feinde zu vernichten, erfüllt und verlassen nunmehr den Schauplatz ihrer Tätigkeit.

Diese ständige mikroskopische Kontrolle des Ablaufs der peritonealen Gonokokkeninfektion hat uns fast noch mehr als der kulturelle Nachweis der Gonokokken die Überlegenheit der Abwehrkräfte des tierischen Organismus über die Gonokokken ad oculos demonstriert. Der Unterschied zwischen dem mikroskopischen Bilde alsbald nach der intraperitonealen Gonokokkenimpfung und nach 24 Stunden ist so in die Augen springend, daß wir seinen Nachweis als Punkt 12 unseren Richtlinien für die Identifizierung der Gonokokken anfügen möchten.

Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Wir haben bereits dargelegt, daß wir in den Ergebnissen unserer Tierversuche nur die Auswirkung der mit den großen Keimmengen (1 Öse enthielt zwischen 3—4 Milliarden Gonokokken!) einverleibten Giftdosen erblicken. Der Auffassung einer positiven Infektion (Wertheim) können wir uns nicht anschließen.

Über die Veränderung des Gehaltes der Gonokokken an Gonotoxin durch Tierpassagen gehen die Meinungen recht auseinander. Während Nikolaysen sich von keiner Änderung überzeugen konnte, treten Brückner und Christeanu lebhaft für eine Steigerung ein, und Buschke und Langer glauben, im Verlauf ihrer Passagen eine gewisse Verminderung nachgewiesen zu haben. Wir haben während unserer Versuche keine eindeutig feststellbare Veränderung des Toxingehaltes gesehen. Bei einigen Stämmen haben wir vor und während der Tierpassagen die Dosis letalis für Ratten bestimmt und fanden, daß sie bis auf geringe Schwankungen unverändert geblieben ist. Aehnliches konstatierten wir auch für die Stämme, die wir auf künstlichen Nährböden zum Teil über 1½ Jahre züchteten: weder sichtbare Abnahme noch Zuwachs der Giftproduktion. Obwohl Giftgehalt und Virulenz von Bakterien nicht ohne weiteres in Parallele zu setzen sind, ist die Feststellung der Konstanz des Giftgehaltes der Gonokokken in Anbetracht der Unmöglichkeit einer Auswertung ihrer Virulenz doch wertvoll. Die Stabili-

tät, oder besser gesagt, das völlige Fehlen der Virulenz ist von den verschiedensten Forschern (Buschke und Langer, Nikolaysen sowie Finger, Ghon und Schlagenhaufer) hervorgehoben worden, die sich ebenfalls vergeblich um eine Virulenzsteigerung durch Tierpassagen bemühten.

Eine Aufteilung der Gonokokkenstämme in giftige und weniger giftige nahm Jötten vor auf Grund der Feststellung der Dosis letalis seiner Stämme und bezeichnet solche als gering-toxisch, die in der von ihm herangezogenen kritischen Menge von 3 Oesen bei intraperitonealer Verimpfung nicht den Tod von Mäusen herbeiführten, während er bei hochtoxischen nicht nur baldigen Mäusetod, sondern auch einen im allgemeinen schweren Verlauf der menschlichen Erkrankung gesehen haben will. Die Ergebnisse unserer eigenen Versuche erlauben uns nicht, eine Scheidung der von uns untersuchten Gonokokkenstämme in toxische und weniger toxische oder gar in virulente und avirulente zu treffen. Die Dosis letalis ist ein recht schwankender Wertbegriff, die Rechnung nach Oesenmenge ist weitgehend ungenau. Es ist wenig wahrscheinlich, daß 3 Oesen jedesmal gleich 3 Oesen sind. Wir versuchten annäherungsweise die Keimzahl einer Oese Gonokokken festzulegen und fanden bei makroskopisch identisch gefüllten Oesen Schwankungen zwischen 3 und 4 Milliarden Keimen. Es können also 3 Oesen ebensowohl 9 wie 12 Milliarden Gonokokken enthalten. Weiter zu berücksichtigen ist die bei demselben Keim von heute auf morgen schwankende Größe der Dosis letalis, zu deren Erklärung man die doch nicht immer gleiche Güte und Feuchtigkeit des Nährbodens und andere Faktoren heranzuziehen hat. Lägen die Größenordnungen etwas weiter auseinander, würde der Abstand in der Dosis letalis wenigstens das 3- oder 5fache betragen, dann ließe sich auf solche Unterschiede der Aufbau einer Klassifizierung versuchen; unter den obwaltenden Verhältnissen halten wir einen solchen Versuch praktisch aber eher für irreführend als geeignet, echte biologische Wertigkeiten aufzudecken. Zu ähnlicher Stellungnahme gelangte auch SCHMIDT-LABAUME. MARG. STERN konnte bei der Prüfung der Toxizität ihrer Stämme keine Beziehung zu der Schwere des klinischen Verlaufes sehen und betont besonders die Unregelmäßigkeit und das außerordentlich individuelle Verhalten der Versuchstiere, das eine mathematische Festlegung der Dosis letalis und damit der Toxizität fast unmöglich mache.

Eine andere Beobachtung Jöttens dagegen können wir mit unseren Versuchsergebnissen ergänzen. Er fand im Neufeldschen Tropinversuch "Stämme höherer und geringerer Widerstandskraft gegenüber der Phagozytose". Zu ähnlicher Differenzierung gelangt Schmidt-Labaume mittels der Virulenzzahlbestimmung nach Bürger. Ob es aber angängig ist, daraufhin den einen Stamm als virulenten und den anderen als avirulenten Gonokokkenstamm abzustempeln, möchten wir dahingestellt sein lassen. Wir begnügen uns mit der Feststellung der Tatsache, daß bei manchen unserer Stämme trotz der alsbald nach der intraperitonealen Injektion der Gonokokken einsetzenden Phagozytose nach 24 Stunden das Bauchexsudat in einer hohen

Regelmäßigkeit noch mikroskopisch und kulturell nachweisbare Gonokokken enthielt, während bei anderen Stämmen ein solcher Nachweis schon nach 5 Stunden ebenso regelmäßig nicht mehr gelang. Wir können hierin wohl einen gleichwertigen Ausdruck für eine verschiedene Angreifbarkeit der Gonokokken durch die Leukozyten und damit für ihre Resistenz gegen die tierische Abwehr erblicken. Ob in diesen Beobachtungen von Jötten und uns sich aber Eigenschaften der Gonokokken erkennen lassen, die auch in dem Ablauf der menschlichen Erkrankung zum Ausdruck kommen, ist eine bis jetzt noch offene Frage, auf die erst weitere Untersuchungen eine Antwort geben können.

Literaturverzeichnis.

Bieling, Methoden zur Differenzierung der Streptokokken und Pneumokokken. Zbl. Bakter. I Orig., Bd. 86, S. 257, 1921. — Bruck, C., Ueber spezifische Immunkörper gegen Gonokokken. Dtsch. med. Wschr., 1906, Nr. 34. — Bruckner, J., et Cristeanu, C., Septicémie expérimentale par le gonocoque. C. r. Soc. Biol., 1906, p. 942. — Dies., Sur les précipitines du gonocoque et du méningocoque. Ebenda, p. 1070. — Bumm, E., Beitrag zur Kenntnis der Gonorrhöe der weiblichen Genitalien. Arch. f. Gynäk., Bd. 23, S. 327, 1884. — Ders., Menschliches Blutserum als Nährboden für pathogene Mikroorganismen. Dtsch. med. Wschr., 1885, Nr. 53. — Buschke, A., u. Gumpert, M., Können Gonokokken grampositiv sein? Med. Wschr., 1927, S. 671. — Buschke u. Langer, Lehrbuch der Gonorrhöe. Berlin, Julius Springer, 1926. — Casper, W., Gonokokkenzüchtung auf Blutwasser-Agarkultur, Klin, Wschr., 1929, S. 1576, — Cohn, A., Gibt es grampositive Gonokokken? Med. Wschr., 1927, S. 672. — Ders., Zur Biologie des Gonokokkus. Arch. f. Dermat., Bd. 165, S. 790, 1932. — FINGER, GHON U. SCHLAGENHAUFER, Beiträge zur Biologie des Gonokokkus, und zur pathologischen Anatomie des gonorrhoischen Prozesses. Arch. f. Dermat., Bd. 28, 1894. — Dies., Ein weiterer Beitrag zur Biologie usw. wie vorher. Ebenda, Bd. 33. — GÖHRING, G., Beiträge zur Morphologie und Biologie der Gonokokken. Arch. f. Hyg., Bd. 108, S. 307—327, 1932. — Gohn u. Schlagenhaufer, Beitrag zur Züchtung des Gonokokkus Neisser. Wien. klin. Wschr., 1893, Nr. 34, S. 619. — HERMANIES, J., Gonococcus types I. Journ. inf. Dis., Vol. 28, Nr. 2, p. 133, 1921. — HERROLD, RUSSEL D., Laboratory methods for diagnosis of gonorrhoe in the male. Ref. Zbl. Hautkrankh., Bd. 40, S. 131. v. Jancsó, N., Pharmakologische Beeinflussung des Retikuloendothels. Klin. Wschr., 1931, Nr. 12, S. 537. — JÖTTEN, W., Beziehungen verschiedener Gonokokkenarten zur Schwere der Infektion. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 92, S. 9, 1921. — Koch, J., u. Cohn, A., Gonokokkeninfektionen in Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. pathog. Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. IV, S. 585, 1927. — KUTSCHER, K., Praktische Ergebnisse aus dem Gebiete der Infektionskrankheiten. Die mikroskopisch-bakteriologische Diagnose der gonorrhoischen Infektion. Berl. klin. Wschr., 1909, Nr. 46, S. 2059. — Lipschütz, B., Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden. Zbl. f. Bakter. I Orig., Bd. 36, S. 743, 1904. — LEVINTHAL, Influenzastudien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 86, S. 1, 1918. — LORENZ, FR. H., Ein neuer Gonokokkennährboden. Münch. med. Wschr., 1922, S. 1695. — Lusztig, A., Die Herstellung eines Gonokokkenserums. Zbl. Bakter., I Orig., Bd. 128, S. 88, 1933. — Macchiavello, A., u. Dresser, R., A modified method of obtaining large amounts of rickettsia Prowazeki by Roentgen irradiation of rats. Journ. exper. Med., Vol. 62, 1935, Nr. 3. — MEYER, G., Zur Diagnostik der Gonorrhöe. Die Hauptursache für das Gleichbleiben der Gonorrhöeziffer. Zeitschr. f. ärztl. Fortbildg., 1935, Nr. 8, S. 226. — Neumann, H., Gonokokkenzüchtung. Dermat. Wschr., Bd. 101, Nr. 29, S. 883, 1935. — Ders., Kultur der Gonokokken. Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 173, S. 393, 1936. — Ders., Berichtigung zu obiger Arbeit. Ebenda, Bd. 173, S. 624, 1936. — NICOLAYSEN, L., Zur Pathogenität und Giftigkeit des Gonokokkus. 72 Otto Lentz und Walther Schäfer, Untersuchungen über Gonokokken.

Zbl. Bakter. I Orig., Bd. 22, Nr. 12/13, S. 305, 1897. — Price, J. N., Orpwood, A simple and efficient egg-albumen-medium for the cultivation of the gonococcus. Journ. of Path. a. Bacter., Vol. 40, p. 345, 1935. — ROTHER, W., Züchtung der Gonokokken aus Portio und Urethra. Ref. Zbl. Hautkrankh., Bd. 19, S. 170. — Ruys, Сн., Variabilität der Gonokokken und Diagnosestellung der Vulvovaginitis gonorrhoica infantum. Zbl. Bakter., I. Orig. Bd. 127, S. 280, 1933. — SCHMIDT-LA BAUME, Zur Differenzierung virulenter und avirulenter Gonokokkenstämme. Zbl. Hautkrankh., Bd. 14, S. 393. — Schubert, M., Ueber Gonokokkennährböden. Dermat. Wschr., Bd. 94, I, S. 386, 1932. — Segawa, N., Ueber die immunisatorische Einteilung der Gonokokken. Zbl. Bakter., I Orig., Bd. 124, S. 264, 1932. — Stein-SCHNEIDER, Ueber die Differenzierung der Gonokokken durch das Züchtungsverfahren und das Färbungsverfahren. Wien. med. Wschr., 1897, Nr. 13 u. 14. — Stern, Marg., Versuche über Mäusetoxizität der Gonokokkenkulturen aus verschiedenen Gonorrhöefällen. Arch. f. Dermat., Bd. 166, S. 113, 1932. — STOCKMEYER, W., u. SCHMITZ, J., Versuche zur Uebertragung der Gonorrhöe auf Kälber. Zeitschr. f. Immun.forschg., Bd. 84, H. 5/6, 1935. — Taslakowa, Th., Zur Morphologie und Physiologie der Zellen in den serösen Körperflüssigkeiten. Virchows Arch., Bd. 269, H. 3, S. 520, 1928. — Theodore, I. H., Human placenta as an enriching medium for the gonococcus. Ref. Zbl. Hautkrankh., Bd. 25, S. 752. — THOMSON, O., et VOLLMOND, E., Essai d'un groupement des gonocoques par types. C. r. Soc. Biol., T. 48, No. 6, p. 326, 1921. — TORREY, J. C., a. BUCKELL, G. T., A serological study of the gonococcus group. Journ. of Immunol., Vol. 7, Nr. 4, p. 305, 1922. — Tulloch, W. J., Serological examination of one hundred stains of the gonococcus. Journ. of Path. a. Bact., Vol. 25, Nr. 3, p. 346, 1922. — Wassermann, M., Ueber das Verhalten der verschiedenen Typen der Dysenteriebazillen in serologischer Hinsicht. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 71 H. 2, S. 241, 1912. — Wertheim, Reinzüchtung der Gonokokken durch Plattenkultur. Dtsch. med. Wschr., 1891, S. 1351. — Ders., Ueber das Verhalten des Gonokokkus auf künstlichen Nährböden. Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 51, S. 139, 1900. — Wolffenstein, W., u. Pieger, E., Spezifische Gonorrhöebehandlung mit löslichen Gonotoxinen. Klin. Wschr., 1931, S. 354. — ZINSSER a. CASTANEDA, A method of obtaining large amounts of Rickettsia Prowazeki by X-ray radiation of rats. Proc. Soc. exp. biol. a. med., Vol. 29, p. 240, 1931/32.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Peritonealexsudat der Ratte 16. 5 Stunden nach Injektion von 1 Oese des Stammes Go 14 (nach 1 Rattenpassage) aufgeschwemmt in 1 ccm Ascites. Färbung nach Unna-Pappenheim. Vergr. 1720×. (Nach einer farbigen Photographie.) a Gonokokkenhaufen. b Leukozyten, vollgepfropft mit Gonokokken.

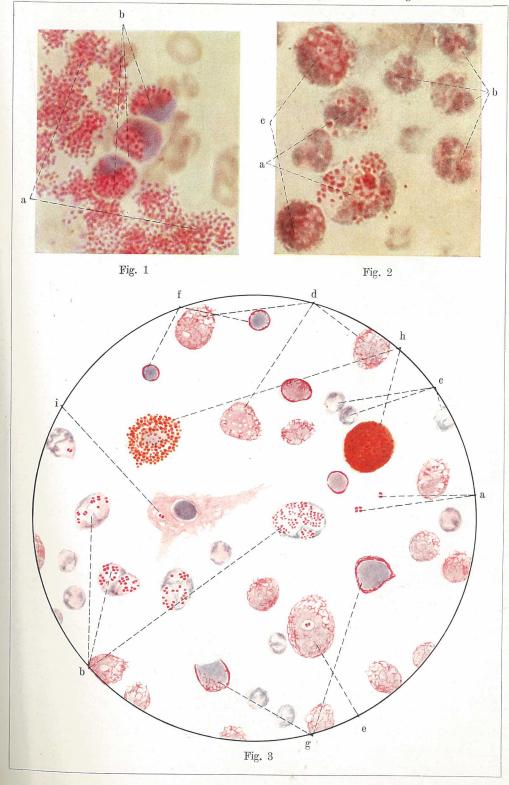
Fig. 2. Peritonealexsudat derselben Ratte wie bei Fig. 1. 24 Stunden nach der Injektion.
Färbung und Vergr. wie Fig. 1. (Nach einer farbigen Photographie.)
a Vergrößerte Leukozyten mit Gonokokken im Innern. b Normale Leukozyten, ohne
Gonokokken, c Vergrößerte Histiozyten.

Fig. 3. Peritonealexsudat der Maus 654. 24 Stunden nach Injektion von ¹/₄ Oese des Stammes Go 24 (nach 1 Mäusepassage) aufgeschwemmt in 1 ccm Ascites, Färbung nach Unna-Pappen-Heim. Vergr. 1000×. Uebersichtsbild, farbige Zeichnung.

a Freie Gonokokken. b Vergrößerte Leukozyten mit Gonokokken im Innern. c Normale Leukozyten ohne Gonokokken. d Vergrößerte Histiozyten mit Vakuolen. e Großer Hystiozyt mit Gonokokkenpärchen in einer Vakuole. f kleine, g große Lymphozyten. h Mastzellen. i Epithelzelle mit einem Gonokokkenpärchen im Innern.

Arbeiten a. d. Staatsinst. f. exper. Therapie u. d. Georg-Speyer-Haus z. Frankfurt a. M. Heft 33

Lentz u. Schäfer, Untersuchungen über Gonokokken.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Weitere chemotherapeutische Versuche beim experimentellen Fleckfieber. (Versuche an weißen Mäusen mit murinem Virus.)

Von

R. Otto und W. Schäfer.

Alle bisher beim Fleckfieber angestellten chemotherapeutischen Versuche sind negativ verlaufen. So hatte u. a. auch der eine von uns (R. Otto) 1920 bei seinen Versuchen mit P. Papamarku beim experimentellen Fleckfieber des Meerschweinchens weder im Schutzversuch, d. h. wenn das Chemikal vor der Infektion, noch im Heilversuch, wenn es nach Beginn des Fiebers appliziert wurde, eine sichere Wirkung erzielen können. Geprüft wurden u. a. Optochin, Trypaflavin, Argoflavin und Chin. hydrochlor. Es zeigte sich lediglich, daß bei den Tierversuchen einzelne Chemikalien zwar in vitro das Fleckfiebervirus in der Gehirnemulsion noch in starken Verdünnungen abtöteten, daß aber mit diesen Präparaten in vivo weder ein schützender noch ein therapeutischer Effekt erzielt werden konnte. Später von R. Orto angestellte Versuche mit verschiedenen Gold- und Silberpräparaten verliefen ebenfalls ergebnislos. Vereinzelt schien die gleichzeitige Anwendung von Serum- und Chemotherapie einen gewissen Einfluß auf die experimentelle Fleckfieberinfektion zu haben. Negative Resultate ergaben schließlich noch Versuche mit verschiedenen Salvarsanen, mit Bayer 205, Rivanol und Tellurit.

Alle diese Versuche sind an Meerschweinchen ausgeführt worden. Als Virus diente ein Stamm des europäischen Fleckfiebers.

Das Meerschweinchen macht auf die Infektion mit diesem Virus ein mehrtägiges Fieber durch, das je nach der Infektionsart (ip. intra- oder subkutan) und auch der Infektionsdosis nach 5—9 Tagen einsetzt. Nach intrakutaner Injektion dauert die Inkubation am längsten. Die Erkrankung ist häufig von Gewichts- und Kräfteabnahme begleitet, und man findet bei den an Fleckfieber erkrankten oder eingegangenen Meerschweinchen entzündliche Infiltrationsherde in den Organen, besonders auch im Gehirn. Einzelne Meerschweinchen reagieren auf die Infektion nicht mit Fiebertemperaturen. Aus diesem Grunde darf das Ausbleiben des Fiebers nicht immer als therapeutischer Erfolg angesehen werden, vielmehr muß hierzu die Prüfung auf Immunität oder die Verimpfung von Organteilen erfolgen.

Der Umstand, daß das Meerschweinchen auf die Infektion in der Regel nur mit einer Erkrankung antwortet, deren Fieberablauf unsicher ist, schränkt seinen Wert als Indikator für solche Versuche ein, die darauf abzielen, den

Verlauf der Erkrankung zu beeinflussen, sie abzukürzen oder gar das Angehen der Infektion zu verhindern. Dazu kommt, daß am natürlichen Ablauf der Infektion beim Meerschweinchen meist die Genesung und nicht der Exitus steht. Damit soll nicht von einer direkten Untauglichkeit des Meerschweinchens für solche chemotherapeutischen Versuche gesprochen werden; aber die Sachlage wäre eindeutiger, wenn mit der Infektion das Schicksal des Tieres besiegelt wäre. Das letale Ende oder sein Ausbleiben stellten dann das einfachste Kriterium bezüglich des Effektes einer therapeutischen Maßnahme dar und enthöbe der Mißlichkeit, den Mangel an Beweisen durch zahlenmäßig entsprechend umfangreichere Versuchsserien zu kompensieren.

Außer Meerschweinchen kommen für Versuche mit dem europäischen Virus auch noch Affen in Frage, doch sind Versuche mit derartigen Tieren naturgemäß sehr teuer. Weiterhin erfordert die Gesunderhaltung der Tiere infolge der klimatischen Verhältnisse in den mitteleuropäischen Ländern in unseren Gegenden eine umständliche Pflege.

Bei dieser Sachlage war es geboten, sich nach einem anderen Testversuch umzusehen. Als solcher kam die Infektion mit dem dem europäischen Läusevirus sehr nahestehenden zuerst in Amerika festgestellten murinen Virus in Frage (Neill, Mooser, Maxcy, Pinkerton, Dyer, Zinsser u. a.). Dieses Virus macht bei Meerschweinchen klinisch außer dem Fieber leicht nachweisbare Hodenschwellungen. Außerdem gelingt es, in der Tunica vaginalis bei der mikroskopischen Untersuchung Rickettsien nachzuweisen (in den Mooserschen Körperchen). Im übrigen kommen aber auch mit diesem Virus latente oder stumme Infektionen vor, abgesehen davon, daß auch hier nur vereinzelt Tiere eingehen. Dagegen ist das Virus (im Gegensatz zum europäischen Virus) für Ratten und Mäuse sehr pathogen und auch auf die weißen Laboratoriumsmäuse übertragbar.

Die Beobachtung, daß das amerikanische Virus bei Ratten eine fieberhafte Erkrankung hervorruft, wurde zuerst von Maxcy und H. Mooser gemacht. Ratte und Maus gehören hinsichtlich der Fleckfieberinfektion mit dem klassischen Virus zu den Tieren der Gruppe vom Typ der "infection inapparente" (NICOLLE). Mit der Rolle der Maus als natürlicher Zwischenträger im Zyklus der menschlichen Erkrankung wurde allerdings in Australien gerechnet (vgl. R. Отто, Weichardts Ergebnisse). Immerhin wurde ihr als Versuchstier nur geringe Beachtung geschenkt. Nach der Auffindung des murinen Typs des Fleckfiebers änderte sich die Sachlage. So berichteten Laigret und Jadin 1932 über 16 Passagen hindurch fortgeführte Uebertragungen des murinen mexikanischen Virus bei der weißen Maus. Die Infektion verlief symptomlos, das Material zur Weiterübertragung (Gehirn) wurde den Tieren am 9.—10. Tag nach der Inokulation entnommen und intraperitoneal verimpft. Eine Verlängerung des regelmäßigen Uebertragungsintervalls auf 14 Tage war möglich, selbst nach 40 Tagen waren Tiere noch infektiös (Gehirn). Im Gegensatz dazu erhielt sich ein afrikanisches Virus (europäisches Virus, Virus der Alten Welt) nur kurze Zeit in der Maus. Die Passagen rissen hier in der dritten Serie ab. Savoor, Sadishivaro und

Velasco bestätigten bald darauf diese Versuche, insbesondere den Charakter der Mäuseempfindlichkeit als positiv gegenüber dem mexikanischen und negativ gegenüber dem europäischen Virusstamm.

Während diese Forscher darin übereinstimmen, daß die Maus während ihrer Infektion keinerlei Reaktion aufweist und die Impfung glatt überlebt, berichteten u. a. Balteanu und Constantinesco von einem aus Rattengehirn isolierten Virus, das sich als pathogen außer für Meerschweinchen und Ratten auch für Mäuse zeigte; es führte nach 3-4tägiger Inkubation zu Fieber und rief eine Mortalität von 50 Proz. hervor 1).

Kligler, Aschner und Levine verimpften einen Virusstamm aus Ratten auf Mäuse und züchteten ihn in 31 Passagen weiter. Es kam dabei jedoch nur zu "stummen Infektionen", die Mäuse reagierten nach 3-4tägiger Inkubationszeit mit einer mehrere Tage anhaltenden Leukozytose, und das Virus behielt seine volle Pathogenität für Meerschweinchen.

Eigene Versuche haben wir mit einem mexikanischen Stamm von F. Mooser angestellt, den R. Otto 1933 von H. Plotz (Paris) erhielt. Er wurde anfangs im Institut Robert Koch in Berlin, dann im Georg-Speyer-Haus in Frankfurt a. M. durch Meerschweinchen und durch die weiße Maus fortgeführt. Als Impfmaterial diente das Gehirn der mit Chloroform getöteten Tiere, das in einem Gefäß mit Glasperlen mit 5 ccm Kochsalzlösung zu einer Emulsion zerschüttelt wurde. 0,25 ccm von dieser Emulsion, was ¹/₂₀ der Gehirnmasse entspricht, werden den zu infizierenden Mäusen intraperitoneal verimpft. Dabei sind wir uns bewußt, mit sehr massiven Quantitäten zu operieren, nachdem wir in verschiedenen Versuchsreihen als einen noch wirksamen Infektionstiter ¹/₂₅₀₀ der Hirnsubstanz ermitteln konnten (vgl. Tabelle 1). Bei den chemotherapeutischen Versuchen ist das auch berücksichtigt worden, und zwar wurde dabei die Infektion meist mit 1/40—1/80 Gehirn gesetzt. Eine gleichzeitige Kontrollreihe mit fallenden Dosen erwies sich als praktisch, da zuweilen eine Infektion mit relativ größeren Dosen innerhalb der gleichen Versuchsreihe nicht zu Erkrankungen führte.

Tabelle 1. Prüfung der Infektiosität einer Gehirnemulsion (je 2 Mäuse ip.)

T	Dosis	1:1	160	1:	320	1:	640	1:1	280	1:2	560	1:5	5120
	Marylochus.	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
t	WITH THE PARTY OF	194	+	+1	+	0	+	0	+	+	+	0	0

Regelmäßig sahen wir bei unserem Virus bei den Mäusen eine außerordentlich schwer verlaufende Krankheit mit einer Inkubationszeit von 2—4 Tagen.

¹⁾ Auf das Verhalten des Virus des Rocky Mountain Spotted Fever, des "Scrub"-Typhus usw. hinsichtlich seiner Tierpathogenität soll hier nicht näher eingegangen werden.

Das Fell wird struppig und die Freßlust läßt nach. Wenige Tage nach der Infektion sitzen die Tiere schwerkrank mit gekrümmtem Rücken und verklebten Augen bewegungslos in ihren Gläsern. Dieser Zustand hält sich über mehrere Tage und endet entweder letal am 5.—8. Tage oder führt zu einer langsam einsetzenden Genesung. Nur 12 Proz. der Tiere bleiben frei von sichtbaren Krankheitszeichen. Daß diese letzteren Tiere eine "Infection inapparente" durchmachen, läßt sich annehmen. Auch auf eine zweite Infektion hin erkranken sie nicht, ähnlich wie die Tiere, die durch die Erkrankung bei der 1. Infektion eine Immunität erworben haben. Die Mortalität der erkrankten Tiere betrug 66 Proz., während 22 Proz., also rund ¹/₄, die Erkrankung übersteht. Bei Einberechnung der Versuche, bei denen wir zur Fortführung der Passagen die schwerkranken Tiere töteten, die kurz vor dem Exitus standen und kaum eine Wahrscheinlichkeit boten, die Erkrankung noch zu überwinden, kommen wir zu ähnlichen Zahlen. Indem wir — ohne einen Fehler zu begehen — ihren Hauptanteil denen, die spontan eingingen, zuschlagen, finden wir auch hier eine Mortalität von 65 Proz. (Tabelle 2).

Tabelle 2.

Verhalten der weißen Maus auf ip. Infektion mit mex. Fleckfiebervirus

(Gehirnemulsion.

Zahl der Mäuse	Ueberhaupt nicht erkrankt	Erkrankt und wieder gesund geworden	Erkrankt und zur Weiterverim- pfung getötet	Eingegangen
1000 {	124	180	450	246
	12 %	18 %	45 %	25 %

Der Höhepunkt der Erkrankung liegt zwischen dem 5. und 7. Tag. Hier entscheidet sich das Schicksal der Tiere, ob sie die Infektion überstehen oder an ihr zugrunde gehen. Die Schwere des klinischen Bildes bestimmte den Tag, wo die Passagetiere getötet wurden. Es errechnet sich im Verlauf von 50 Passagen ein durchschnittliches Intervall von 6½ Tagen für die Verweildauer des verimpften Virus in der Maus. Auf Grund dieses typischen Verlaufs der Erkrankung und der bemerkenswert hohen Sterblichkeitsquote ist also die weiße Maus gegenüber der Fleckfieberinfektion mit dem uns zur Verfügung stehenden mexikanischen Virus ein als brauchbar zu bezeichnendes Testtier.

Dafür, daß das Virus durch die Mäusepassagen an Wirksamkeit einbüßte, oder sie gar verlor, wie das von Varela und Parade schon nach einem Monat bei Uebertragungen eines mexikanischen Stammes auf graue Mäuse beobachtet wurde, ergab sich bei uns während 4 Jahre kein Anhalt. Von Zeit zu Zeit angelegte Meerschweinchenkontrollen zeigten die Virulenz des Stammes in unverminderter Intensität im typisch verlaufenden Meerschweinchenfleckfieber mit allen dazu gehörigen Erscheinungen einwandfrei an. Bemerkenswert bleibt, daß in den Gehirnen, die ein so zuverlässiges Ausgangsmaterial für die Uebertragung abgeben, nur seltener die charakteristi-

schen Infiltrationsherde gefunden werden konnten, wohl aber in den inneren Organen, z. B. in der Leber und der Niere.

Wir haben also in der weißen Maus ein Tier gefunden, das auf die Infektion mit unserem mexikanischen Flecktyphusstamm mit einer schweren und in der Mehrzahl der Fälle letal endenden Erkrankung antwortet, und das somit für Versuche, chemotherapeutische Mittel auf ihren Wirkungsgrad hin zu prüfen, geeignet war. Da zudem die Maus kein teures Versuchsobjekt repräsentiert, erlaubt sie größere Versuchsserien, die durch Vergleich mit dem oben angegebenen Verteilungsschema mit genügender Sicherheit erkennen lassen, ob die geprüften Chemikalien einen Einfluß auf die Infektion ausüben, wobei allerdings zu berücksichtigen bleibt, daß Tiere, die mit kleinen Dosen infiziert sind, zuweilen der Infektion erliegen, während Tiere, die mit größeren Dosen infiziert waren, durchkamen. Aus diesem Grunde haben wir, wie gesagt, in den späteren Versuchen jedesmal eine Versuchsserie mit fallenden Infektionsdosen angesetzt.

Bei unseren Versuchen wurden verschiedene Chemikalien, deren Heranziehung zur experimentellen Fleckfiebertherapie sich aus diesem oder jenem Grunde empfahl, geprüft. In der Methodik dieser Untersuchungen gingen wir wieder so vor, daß nach der Auswertung der Giftigkeit (Tabelle 3) eine

Tabelle 3. Auswertung der Giftigkeit.

Präparat	Maus	Gewicht in g		absolute Menge in g	Befund
$\begin{array}{c} \text{Cerisulfat} \\ \text{C}(\text{SO}_4)_2 \ 10 \text{proz.} \\ \text{L\"{o}sung} \end{array} \left\{ \begin{array}{c} \\ \end{array} \right.$	1 2 3 4	15 14 14 17	0,75 0,7 0,7 0,85	0,00125 0,001 0,0008 0,0008	† sofort schwer benommen, erholt sich o. B., lebt o. B., lebt
Viktoria Blau 4R (Mühlpfordt) von Dr. Grübler Leipzig	1 2 3 4 5	14 17 14 14 17	0,7 0,85 0,7 0,7 0,8	0,06 0,05 0,04 0,02 0,016	† sofort † nach 3 Minuten † nach 2 Stunden leichter Schock, erholt sich, lebt o. B., lebt
Chinosol 8-Oxychinolin	$\begin{bmatrix} 1\\2\\3\\4 \end{bmatrix}$	15 18 15 16	0,75 0,9 0,75 0,8	0,0012 0,0008 0,0004 0,0002	† sofort leicht krank, erholt sich, lebt o. B., lebt o. B., lebt

Verabreichung der Substanzen entweder vor oder gleichzeitig mit der Impfung oder beim Auftreten der Krankheitserscheinungen erfolgte (Beispiel Tabelle 4).

Die Versuche werden noch fortgesetzt, doch geben wir kurz die Liste der Präparate, die wir bis jetzt einer Prüfung unterzogen haben. Es sind dies:

Chinosol, Plasmochin, Solarson, Yatren, Viktoriablau, Methylenblau, Methylenblausilber (= Argochrom), Atophenyl, Prontosil, verschiedene Goldsalze, Cäsiumsulfat, Rubidiumsulfat, Eukupin, undezilensaures Natrium, Formicin, Cerisulfat, Strontium jodatum, Strontium salicylicum, elektrokolloidales Kupfer, Zephirol, Kaliumpermanganat, Azo-Arsinsäure, Benzol-Azo-Resorzinsäure, Knoblauchsaft.

Tabelle 4. Prüfung im Mäuseversuch gegen ip. Infektion.

Präparat	Anzahl der Versuchstiere	Infiziert mit 0,25 Gehirn 1:10=1/40 Gehirn		
Cerisulfat	of other first	†	krank	ohne Er- scheinungen
2×je 0,0008 g i.v. a) kurz vor der Infektion	10	10	ny ss inl	nag at <mark>an</mark> ingan
b) 2 Tage nach der Infektion Kontrollen (ohne Cerisulfat)	10	6	1	3
Präparat	Anzahl der Versuchstiere	Infiziert mit 0,25 ccm Gehirn 1:20=1/80 Gehirn		
Viktoria-Blau 4R (Mühlpfort)	en tracilla	†	krank	ohne Er- scheinungen
3×je 0,016 g a) kurz vor der Infektion b) am 2. Tag nach der Infektion	10	7	2	1
c) am 4. Tag nach der Infektion Kontrollen (ohne Viktoria-Blau 4R)	10	8	1	1
Präparat	Anzahl der Versuchstiere	Infiziert mit 0,25 ccm Gehirn 1:20=1/80 Gehirn		
Chinosol	In the land	†	krank	ohne Er- scheinungen
3×je 0,0008 g a) kurz vor der Infektion	10	6	1	3
b) am 3. Tag nach der Infektion c) am 6. Tag nach der Infektion	man of the			
I. Kontrollen (ohne Chinosol) II. Kontrollen (nur Chinosol, nichtinfiziert)	10 3	$\begin{vmatrix} 6 \\ 0 \end{vmatrix}$	4 0	0 3

Bei keinem dieser Stoffe konnten wir einen sicheren schützenden oder therapeutischen Einfluß gegen die Infektion der Maus mit mexikanischem Virus feststellen. Sie vermochten nichts an dem von uns charakterisierten Verlauf der Fleckfieberinfektion der weißen Maus zu ändern.

Bei der Ausführung der Versuche hat uns die technische Assistentin Frau Wyss in dankenswerter Weise auf das Beste unterstützt.

Zusammenfassung.

Es wird über chemotherapeutische Versuche beim experimentellen Fleckfieber (Virus Type murine) berichtet. Von zahlreichen geprüften Substanzen erwies sich keine als wirksam.

Der Testversuch wurde an weißen Mäusen ausgeführt. Die Gründe für die Auswahl dieser Tiere werden auseinandergesetzt.

Literaturverzeichnis.

OTTO, R., u. PAPAMARKU, Dtsch. med. Wschr., 1920, S. 594.

Отто, R., u, Munter, H., Handb. d. path. Mikroorg. Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. VIII,

Отто, R., Weichardts Ergebnisse der Hygiene usw., Bd. XV, 1934.

LAIGRET u. JADIN, Arch. Inst. Past. Tunis, Bd. 20, 1932.

SAVOOR, SADASHIVRAO U. VELASCO, Ref. Zentralbl. f. Bakt. I Ref., Bd. 116, S. 475.

VARELA U. PARADE, Ref. Zentralbl. f. Bakt. I Ref., Bd. 113. S. 366.

Roux, Ref. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 117, S. 461 u. Annal. Pasteur, T. 54, p. 341.

Mooser, Journ. amer. med. Assoc., Vol. 97, p. 231, 1931.

Maxcy, Public Health, p. 1935, 1929.

Balteanu, I., et Constantinesco, N., Presse méd., 1936, 1174.

KLIGLER, I. J., ASCHNER, M., a. LEVINE, SONIA, Brit. Journ. exper. Path., Vol. 17, p. 53, 1936.

Breinl, Handb. d. path. Mikroorg. Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. VIII, S. 1268.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 6629