

# Bericht

über die

Thätigkeit der von dem Herrn Minister der geistlichen,  
Unterrichts- und Medizinal-Angelegenheiten eingesetzten Kommission

zur

## Prüfung der Impfstofffrage.

Berichterstatter: **Dr. P. Frosch.**

*Mit 2 Textfiguren.*



**Berlin.**

Verlag von Julius Springer,

1896.

R 28727

1874

Verlag des Verfassers

## Einleitung.

---

Die im Jahre 1884 zur Berathung der Impffrage tagende Sachverständigen-Kommission war für die allgemeine Einführung der Thierlymphe eingetreten in der Erkenntniss<sup>1)</sup>, dass dadurch bestimmte Gefahren für den Impfling, insbesondere die Uebertragung der Lues, ausgeschlossen wurden. Mit diesem Kommissionsbeschlusse wurde eine durchgreifende Umgestaltung in dem öffentlichen Impfgeschäft eingeleitet. An Stelle der jedem Arzte wohlbekannten Menschenlymphe trat der für die meisten Aerzte noch unbekannt animaler Impfstoff, über welchen zu dieser Zeit keineswegs schon ausreichende Erfahrungen bezüglich der Wirksamkeit, Haltbarkeit und aller sonstigen in Betracht kommenden Verhältnisse vorlagen. Die gewohnte Technik mittelst Stich oder einfacher Schnitte musste mit einer umständlicheren Schnittführung vertauscht werden, die erst allmählich mit der Erzeugung sicher wirkender Thierlymphe vereinfacht werden konnte.

Aufgabe der staatlichen Fürsorge war es, die Erfahrungen der Impfärzte zu sammeln und zu verwerthen, ausserdem aber ein sicheres Verfahren zur Gewinnung eines zuverlässig wirkenden thierischen Impfstoffes auszubilden und die allgemeine Einführung desselben durch Errichtung einer ausreichenden Zahl von Anstalten zu ermöglichen. Dies ist in den einzelnen Bundesstaaten zielbewusst durchgeführt und in Preussen im Jahre 1894 zum Abschluss gebracht. Das vorgesteckte Ziel, eine wirksame Thierlymphe in ausreichender Menge mittelst sicherer Methode zu erzeugen, ist mit vollem Erfolge erreicht. Die Wirksamkeit der thierischen Lymphe steht derjenigen von Menschenlymphe kaum nach. Der leichte Bezug des thierischen Impfstoffes hat das Impfgeschäft von vielen Unbequemlichkeiten entkleidet, die demselben früher anhafteten, und seine Verwendung ist den Aerzten in Anbetracht dieser Vorzüge und der ihnen selbst

---

<sup>1)</sup> Protokolle der Impf-Kommission, Anlage 2: Denkschrift über die Nothwendigkeit der allgemeinen Einführung der Impfung mit Thierlymphe.

zufallenden geringeren Verantwortlichkeit für die Güte des Impfstoffes lieb geworden. Während nach dieser Richtung die Einführung der Thierlymphe somit allen billigen Erwartungen entsprochen hat, machten sich andererseits auch nicht unwesentliche Mängel derselben geltend. Vor allem waren es die starken Reiz- und Entzündungserscheinungen, die nach der Anwendung der animalen Lymphe mehr als früher zur Beobachtung kamen und in den letzten Jahren vielfach zu Klagen seitens der Impfähzte und auch zu Angriffen seitens der Impfgegner Anlass gegeben haben. Auch das Aussehen der Thierlymphe sticht unvortheilhaft von dem der humanisirten Lymphe ab und macht eine Beurtheilung der Güte durch den äusseren Anblick unmöglich.

Die nahe liegende Vermuthung, dass der Lymphe beigemengte Bestandtheile der Haut und des Pustelgewebes die Ursache der beklagten Begleiterscheinungen seien, führte von selbst zu der Aufgabe, den Impfstoff thunlichst rein darzustellen und indirekt damit auch das Endziel aller Bestrebungen zu fördern, nämlich die Festlegung des wirksamen Prinzips in der Lymphe, indem der Kreis der für die wissenschaftliche Forschung in Betracht kommenden Stoffe, sich in dem Maasse einengt, als es gelingt, das jetzige Impfmateriale von überflüssigen Beimengungen zu befreien.

Derartige Versuche sind seit Jahren von einzelnen Dirigenten der preussischen Anstalten ausgeführt. Aber erst seitdem es in der Anstalt zu Köln gelungen war, in Verfolg der im Frühjahr 1895 von der Centralinstanz angeordneten Versuche einen klaren und doch vollwirksamen Impfstoff auf dem einfachen Wege der Sedimentirung zu erzeugen, erhielten dieselben eine bestimmte Gestaltung. Nach diesem Erfolg verheissenden Vorversuchen erachtete der Herr Medizinal-Minister für angezeigt, eine besondere Kommission mit der Angelegenheit zu betrauen.

Der die Kommission einsetzende Erlass, durch welchen die Aufgaben derselben bestimmt werden, lautet: „Obwohl die Impfung mit animaler Lymphe durch die Errichtung einer ausreichenden Zahl von staatlichen Instituten zur Erzeugung thierischen Impfstoffes nunmehr in Preussen überall sicher gestellt ist, und bei den öffentlichen Impfungen ausschliesslich thierischer Impfstoff zur Verwendung gelangt, so kann ich doch die Aufgaben der staatlichen Fürsorge auf diesem Gebiete hiermit nicht für abgeschlossen ansehen, erachte es vielmehr im öffentlichen Gesundheitsinteresse für wichtig, dass die Arbeiten über den animalen Impfstoff unter Mitwirkung der

Institute in umfassender und zielbewusster Weise auf's Neue aufgenommen werden. Hierbei ist es für mich von besonderem Interesse, dass diese Arbeiten zunächst auf die Erzielung eines praktisch verwertbaren Impfstoffes gerichtet werden, dessen Aussehen dem Impf- arzt mehr als bei der zur Zeit in den Instituten erzeugten und ab- gegebenen Lymphe ein Urtheil über die Reinheit und Güte gestattet. Von hoher praktischer Wichtigkeit erachte ich ferner, experimentell festzustellen, ob und in welehem Maasse mit der Uebertragung von Krankheitsstoffen, insbesondere der Wundrose (Erysipelas) bei der Vaceine gerechnet werden muss. Schliesslich würden sich die Arbeiten auch auf die Erforschung der Impfwirkung und des Wesens der Impf- immunität zu erstrecken haben. Auch würden fortdauernd alle wichtigen Vorgänge in diesem Gebiet und die einschlägige Literatur im Auge behalten werden müssen.“

Die Kommission wurde zusammengesetzt aus:

Geh. Med.-Rath Dr. Schmidtman, Vorsitzender.

Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Koch, Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten.

Prof. Dr. R. Pfeiffer, } Mitglieder des Instituts für Infektions-  
Dr. Frosch, } krankheiten.

Sanitätsrath Dr. Freyer, Stettin, } Dirigenten der Institute  
Sanitätsrath Dr. Schulz, Berlin, } zur Gewinnung  
Sanitätsrath Dr. Vanselow, Köln, } thierischen Impfstoffes.

Die bisherigen Ergebnisse der Arbeiten dieser Kommission sind in den folgenden Kapiteln niedergelegt.

1. Zahl und Art der Bakterien in der Lymphe. S. 4—11.
2. Methoden zur Verbesserung der Lymphbeschaffenheit, insbesondere zur Verminderung und Beseitigung des Bakterien- gehaltes der Lymphe. S. 12—28.
3. Der Bakteriengehalt der Kälber- und Menschenpoeke, ihre ursprüngliche Sterilität. S. 28—30.
4. Praktische Prüfung der verschiedenen bakterienfreien-armen Lymphsorten. Die Bedeutungslosigkeit der Lymphbakterien für die Reaktionserseheinungen. S. 31—37.
5. Versuche zur Erzeugung reizloser Lymphstämme. S. 37—39.
6. Einfluss der Individualität des Impflings. S. 39—40.
7. Einfluss der Konzentration des Impfstoffes. S. 40—47.
8. Einfluss der Schnitttechnik auf die Reaktionserseheinungen. S. 48—53.

## I. Zahl und Art der Bakterien in der Lymphe.

---

Wiederholt schon ist die Thierlymphe Gegenstand der bakteriologischen Untersuchung bezüglich der Zahl und Arten ihrer Bakterien gewesen, hauptsächlich in der Absicht, den Vaccineerreger zu finden. Sehr eingehend hat sich damit bereits in den Jahren 1888 bis 1891 der Direktor der Berliner Anstalt S.-R. Dr. Schulz befasst, der sehr bemerkenswerthe Resultate in dieser Beziehung erreichte<sup>1)</sup>. Schulz fand, dass die frische Lymphe immer unzählige Keime enthält, deren Zahl jedoch mit zunehmendem Alter sich verringert, und dass diese Verringerung durch das zugesetzte Glycerin bewirkt wird, indem die Abnahme zeitlich direkt dem Glyceringehalt der Lymphe entsprach. Seine Befunde haben seitdem wiederholt Bestätigung gefunden<sup>2 u. 3)</sup>.

Was die Arten dieser Bakterien anlangt, so wird übereinstimmend angegeben, dass die übergrosse Mehrzahl derselben zu den weit verbreiteten saprophytischen Keimen gehört, wie z. B. Hefe, Sarcine, Schimmelpilze, verschiedenartige Kokken und Stäbchen, die auch anderweitig gefunden werden. Als pathogene Bakterien sind erwähnt gelbe, weisse und graue Staphylokokken, *Bacillus pyocyaneus*<sup>4)</sup> und, allerdings nur vereinzelt, Streptokokken<sup>2, 4 u. 5)</sup>, auch solche, die sich

---

<sup>1)</sup> Veröffentlicht 1892 in dem Berichte des Kaiserlichen Gesundheitsamtes über die Thätigkeit der im deutschen Reich errichteten Anstalten zur Gewinnung von Thierlymphe.

<sup>2)</sup> Copeman, The Bacteriology of Vaccine Lymph, with special reference to an improved Method for its storage and preservation. British med. Journ. 1893, II, 989.

<sup>3)</sup> Straus, Chambon et Ménard, Recherches expérimental sur la vaccine chez le veau. (Société de Biologie. Séance d. 20. dec. 1890.)

<sup>4)</sup> Crookshank, On the bacteriology of vaccine lymph. Tr. VII. International Cong. Hyg. London 1892, Bd. II, 1891.

<sup>5)</sup> Landmann, Bakteriologische Untersuchungen über den animalen Impfstoff (Vortrag gehalten auf der 67. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Lübeck). Hyg. Rundschau 1895, V, Nr. 21. — Die von L. an seine Befunde geknüpften Folgerungen werden an anderer Stelle noch erörtert. Hier sei nur bemerkt,

nicht züchten liessen<sup>1)</sup>. — Es lag nahe, diesen Bakterien der Lymphe, besonders den Eitererregern, die vermehrten Reizerscheinungen nach der Impfung beizumessen. Thatsächlich ist dies auch bis in die jüngste Zeit von verschiedenen Autoren geschehen, ohne dass jedoch von irgend einer Seite der strikte Beweis für diese Auffassung erbracht ist. So handelte es sich immer nur um Vermuthungen, gegen die, abgesehen von anderen Erwägungen, von vornherein die Thatsache geltend gemacht werden konnte, dass die Zahl der mit erhöhten Reizerscheinungen behafteten Personen immer nur einen sehr kleinen Bruchtheil aller mit derselben Lymphe Geimpften ausmachte. Gleichwohl hielt die Kommission es für geboten, den Bakteriengehalt der von den preussischen Anstalten abgegebenen Lymphe einer erneuten Prüfung zu unterwerfen, insbesondere auf den etwaigen Gehalt an virulenten pathogenen Keimen, deren Anwesenheit in der Lymphe und ursächlichen Zusammenhang mit den Reizerscheinungen von Dr. Landmann in einem Vortrag in Lübeck behauptet war<sup>2)</sup>. Es wurden daher die acht preussischen Anstalten zur Gewinnung thierischen Impfstoffes angewiesen, je zwei Proben der vorräthigen Lymphe, im Abstand von acht Tagen, an das Institut für Infektionskrankheiten einzusenden, in welchem dieselben unmittelbar nach ihrem Eintreffen zur Untersuchung gelangten.

Diese gestaltete sich so, dass je  $\frac{1}{100}$  oder  $\frac{1}{50}$  ccm der zu untersuchenden Lymphe mit Agar und Gelatine zu Zählplatten ausgegossen wurde. Zur Entnahme dienten sehr lange, schmale, vorher sterilisirte Pipetten, die 1 ccm enthielten und mit leicht abzumessender  $\frac{1}{100}$  Theilung versehen waren. Ausserdem aber wurden zur Bestimmung der einzelnen Arten von derselben Lymphe verschiedene, vorher gegossene und erstarrte Agarplatten oberflächlich beschickt, weil erfahrungsgemäss die in der Tiefe liegenden Kolonien vieler pathogener Arten, so der Streptokokken, nicht charakteristisch genug sind und daher bei nur geringer Anzahl leicht übersehen werden konnten.

Als Nährboden kam die gewöhnliche Gelatine und für die Kultur bei Brüttemperatur ausschliesslich frisch bereiteter Glycerintraubenzucker-Agar zur Verwendung; letzterer um den etwa vorhandenen

---

dass sein Prioritätsanspruch auf den Nachweis von Streptokokken in der thierischen Lymphe unbegründet ist.

<sup>1)</sup> Freyer, Ueber die bakteriologischen Beziehungen des Pockenstoffs. Wissenschaftlicher Vortrag, Stettin, Aerzteverein, 3. November 1894, S. 6.

Woitow, Ueber das wirksame Prinzip der Vaccine. Inaug.-Diss. Petersburg 1890.

<sup>2)</sup> Landmann, l. c.

Streptokokken oder anderen pathogenen Keimen die besten Nährbedingungen zu bieten. Für die Aufbewahrung der Gelatineplatten diente ein auf  $+ 22^{\circ}$  C. regulirter Wärmeschrank besonderer Konstruktion. Beide Arten Platten wurden zwei Tage im Brütschrank belassen. War nach dieser Zeit kein Wachstum bemerkbar, so verblieben sie daselbst noch weitere 5 bis 8 Tage.

Um für die Zählung eine gleichmässige Schicht zu gewinnen, befanden sich die Zählplatten während des Erstarrens auf einem horizontal eingestellten Nivellirstativ. Die Zählung erfolgte je nach dem Keimgehalt auf dreierlei Weise. Bis zu 200 Keimen auf der Platte wurde direkt ausgezählt. Ein unter jede Kolonie auf den Boden der Glasschale gesetzter Tintenpunkt schützte dabei vor doppelter Zählung oder Auslassung einer Kolonie. War das Wachstum reichlicher, so kam die übliche Zählmethode mittelst Lupe und graduirter Glasplatte in Anwendung. Die stärksten Grade des Wachstums, die selbst mit der Lupe eine genauere Abschätzung unausführbar machten, wurden im mikroskopischen Gesichtsfeld gezählt, dessen Rauminhalt mit Hilfe des Mikrometers genau bestimmt war<sup>1)</sup>.

Die so gewonnenen Zahlen sind in folgenden Tabellen 1, 2 und 3 enthalten.

Tabelle 1.

No.	Impf-Anstalt	Alter	Glycerin- gehalt %	Keimzahl pro ccm		Bemerkungen
				Agar	Gelatine	
1	Köln	5 Tage	60	720 000	110 000	
2	"	3 "	75	650 000	80 000	
3	Berlin	7 "	40	100 000	2 700	
4	"	7 "	40	200 000	100 000	
5	Stettin	1 Jahr	50	250	30	
6	"	79 Tage	50	510	650	
7	Oppeln	6 "	25	68 000	1 750	
8	"	44 "	25	80 000	18 500	
9	Halle	20 "	66	1 030	1 200	cf. Anmerkung.
10	"	29 "	66	550	600	
11	Kassel	26 "	60	46 000	2 600	
12	"	3 "	60	180 000	140 000	
13	Hannover	37 "	66	5 600	200	
14	"	44 "	66	1 880	1 200	
15	Königsberg	80 "	66	50	40	
16	"	95 "	66	105	60	

<sup>1)</sup> Um hierbei Bruchtheile eines Millimeters zu vermeiden, wurde die Tubuslänge des Mikroskops entsprechend verändert.

Anmerkung zu Tab. 1.

Hier wie auch bei einigen anderen Proben war der hohe Keimgehalt der Gelatineplatten durch Kolonien des gewöhnlichen Schimmelpilzes verursacht, der bekanntlich bei Bruttemperatur nicht gedeiht und deshalb auf den Agarplatten anfänglich nicht bemerkt werden konnte.

Als Ergänzung zu vorstehender Tabelle mögen noch einige tabellarische Angaben Platz finden, die sich vorwiegend auf ganz frische Lymphe beziehen und bei denen allein mit Agarplatten die Keimzahl festgestellt wurde.

No.	Impf-Anstalt	Alter	Glyceringehalt	Keimzahl pro ccm
17	Köln	1 Tag	66 %	600 000
18	"	1 "	66 "	1 300 000
19	"	3 Tage	66 "	750 000

Tabelle 2.

Keimgehalt pro ccm nach dem verschiedenen Alter der Proben, aus Tabelle 1 zusammengestellt.

Alter	No. der Tabelle 1	Keimzahl auf Agar	Glyceringehalt %	Bemerkungen
3 Tage . . . . .	2	650 000	75	Man beachte den geringen Glyceringehalt.
	12	180 000	60	
5 " . . . . .	1	720 000	60	
6 " . . . . .	7	68 000	25	
7 " . . . . .	3	100 000	40	
	4	200 000	40	
20 " . . . . .	9	1 030	66	
26 " . . . . .	11	46 000	60	
29 " . . . . .	10	550	66	
37 " . . . . .	13	5 600	66	
44 " . . . . .	8	80 000	<b>25</b>	
	14	1 880	66	
79 " . . . . .	6	510	50	
80 " . . . . .	15	50	66	
95 " . . . . .	16	105	66	
1 Jahr . . . . .	5	250	50	

Als Gesamtergebnis ergibt sich in Uebereinstimmung mit Schulz, dass je frischer die Lymphe, um so grösser ihr Keimgehalt ist, dass ferner bei der Abnahme der Keimzahl mit dem Alter der Glyceringehalt eine entscheidende Rolle spielt (vergl. Tabelle 3); sowie für die Technik dieser Keimzählung, dass die Agarplatte der Gelatineplatte weit überlegen ist, obwohl letztere wiederum gerade diejenigen Arten zum Gedeihen bringt, die bei Brüttemperatur nicht fortkommen, darunter die Schimmelpilze.

Tabelle 3.  
Einfluss des Alters und Glyceringehaltes auf die Keimzahl bei  
Aufbewahrung im Eisschrank.

No.	Anstalt	Alter	Keimzahl im ccm	Mischungs- verhältniss	Bemerkungen
2	Köln	5 Tage	720 000	L. W. G.)* 1 : 1½ : 4½	*) L. = Pustelmasse, W. = Wasser, G. = Glycerin.
		65 "	2 400	1 : 1½ : 4½	
7	Halle	20 "	1 030	1 : 1½ : 2	
		28 "	550	1 : 1½ : 2	
		80 "	78	1 : 1½ : 2	
10	Königsberg	80 "	50	1 : ?*) : 4	*) Fehlte die betreffende Angabe.
		140 "	8	1 : ? : 4	
15	Oppeln	43 "	80 000	1 : 2,4 : 1,2	
		103 "	1 600	1 : 2,4 : 1,2	
17	Kassel	3 "	180 000	1 : 1 : 3	
		63 "	120	1 : 1 : 3	
47	Berlin	wenige Stunden	unendlich	11 : 37 : 0*)	*) Vor dem Centrifugiren, ohne Glycerinzusatz.
		23 Tage	3 900	11 : 37 : 5	
41	"	5 Stunden	unendlich	9 : 30 : 0	
		47 Tage	80	1 : 3 : 5	
18	"	5 Stunden	unendlich	1 : 1½ : 2	
		7 Tage	200 000	1 : 1½ : 2	
12	Hannover	37 "	5 600	1 : 1⅓ : 2⅔	
		44 "	1 880	1 : 1⅓ : 2⅔	
23	Berlin	5 Stunden	1 600 000	8 · 18 : 0!	} Vermehrung des Keim- gehalts bei fehlendem Glycerin.
		60 Tage	unendlich	8 : 18 : 0!	
29	Stettin	2 "	220 000	1 : 3 : 0!	
		57 "	800 000	1 : 3 : 0!	

Ungleich wichtiger als diese Feststellungen waren die Beobachtungen über die Art der Keime. Hier zeigte sich, dass die überwiegende Mehrzahl der Kolonien aus saprophytischen Bakterien bestand; darunter Schimmelpilze, weisse und rosa Hefe, weisse und gelbe Sarcine, eine nicht pathogene, thermophile Hefe, Wurzel- und Heubacillen, verschiedene Proteusarten, verflüssigende und nicht verflüssigende Fluorescenzarten und schliesslich eine unendliche Menge der verschiedensten Stäbchen und Kokken. Unter letzteren befanden sich auch gelbe, weisse und graue Staphylokokken, die bei Brüttemperatur gewachsen waren. Von diesen auf der Agarplatte entstandenen scheinbaren Eitererregern verflüssigten indessen, auf Gelatine übertragen, viele dieselbe nicht<sup>1)</sup>, entbehrten somit eines

<sup>1)</sup> Diese Thatsache ermöglichte es, alle vorhandenen Staphylokokken auf ihre Pathogenität zu prüfen; nur die Gelatine verflüssigenden Arten wurden in Bouillon

wichtigen Merkmals der **pyogenen** Staphylokokken. Von den die Gelatine verflüssigenden Staphylokokken waren die meisten, selbst in grossen Mengen — 2--4 ccm frischer Bouillonkultur — Kaninchen und Mäusen intraperitoneal beigebracht, absolut unschädlich. Für **Thiere** pathogene Staphylokokken sind im ganzen nur in fünf von achtzehn Proben und zwar in jeder Probe nur vereinzelt aufgefunden.

Die erwähnten fünf Arten sind:

1. Staphylokokkus albus aus Probe No. 4, Berlin.

Tödlich für Kaninchen und weisse Mäuse bei subkutaner Einverleibung von  $\frac{1}{10}$  ccm. Bewirkt an der Impfstelle eine mässige Infiltration und Eiterung, daneben eitrige Peritonitis bei Kaninchen. Kulturell reichlich an diesen Stellen, spärlich im Blut nachzuweisen.

2. Staphylokokkus aureus aus Probe No. 18, Königsberg.

In Mengen von 2 ccm frischer Bouillonkultur subkutan Kaninchen beigebracht, bewirkt derselbe langsam verlaufende Eiterung, später Nekrose an der Impfstelle, ohne das Thier zu tödten.

3. Staphylokokkus albus (weissgrau, nicht rein weiss) aus Probe No. 14, Cassel.

Tödlich für Kaninchen nach subkutaner Impfung von 2 ccm frischer Bouillonkultur in 14 Tagen unter Bildung eines mässigen Abcesses.

4. Staphylokokkus albus aus Probe No. 13, Cassel.

Wirkung wie No. 3, doch schneller und ohne Abcessbildung.

5. Staphylokokkus albus aus Probe No. 15, Hannover.

Erzeugt bei subkutaner Impfung mit 2 ccm frischer Bouillonkultur einen wallnussgrossen Abcess, der spontan verheilt, ohne das Kaninchen zu tödten.

Aber auch hierbei handelte es sich, wie die Zusammenstellung ergibt, bei vier Arten nur um eine sehr geringe Virulenz. Nur eine Art, No. 1, besass für Kaninchen und weisse Mäuse eine starke Wirkung; aber gerade diese Lymphe war bereits vor und während dieser Untersuchungen auf eine grosse Anzahl von Kindern verimpft

---

gezüchtet und zu Thierversuchen benutzt. Diese zeitraubenden Versuche wurden unter dankenswerther Betheiligung der Herren Dr. Buchholz und Dr. Vagedes im Institut für Infektionskrankheiten ausgeführt.

worden, ohne irgend welche andere Erscheinung zu machen, wie jede andere Lymphe. Damit war zugleich sicher erwiesen, dass der für die Versuchsthier stark virulente Staphylokokkus in dem Lymphgemisch diese Eigenschaften gegenüber dem menschlichen Organismus nicht entfaltet hatte.

Mit diesem Ergebniss ist die Reihe der aufgefundenen thierpathogenen Bakterien für die sämtlichen Lymphproben erschöpft. Es ist nicht gelungen, andere Krankheitserreger zu finden. Insbesondere gilt dies von Streptokokken. Ausser diesen 18 Proben sind im Laufe der Kommissionsarbeiten zu anderen Zwecken noch 64 Lymphproben von den Anstalten in Berlin, Köln und Stettin eingeschickt worden, zumeist kurz nach der Abnahme vom Kalbe. Bei diesen sämtlichen Lymphproben ist nebenbei auf das Sorgfältigste nach Streptokokken gesucht worden, ebenfalls vergeblich. Doch ist es vielleicht nicht überflüssig, zu erwähnen, dass sich sehr häufig in der Kälberlymphe ein feines Kurzstäbchen findet, dessen oberflächliche Kolonien denen der Streptokokken sehr ähnlich sehen und von diesen vielleicht nur an der mehr glatten Beschaffenheit ihrer Peripherie unterschieden werden können.

Bei der Feststellung der pathogenen Arten ist drittens besondere Aufmerksamkeit noch einer Gruppe von Bakterien zugewendet worden, deren Vertreter in der Kälberlymphe ziemlich häufig sind und vielleicht in den Händen Ungeübter zur Verwechslung Anlass geben können. Es sind dies die sog. Xerosebacillen, die morphologisch und kulturell eine gewisse, mitunter recht weitgehende Aehnlichkeit mit den Erregern der Diphtherie zeigen. Von diesen unterscheiden sie sich aber auch für den weniger mit den morphologischen Verhältnissen vertrauten Untersucher durch den Mangel jeglicher Pathogenität für Meerschweinchen, sowie durch Rothfärbung von Lakmusbouillon in den ersten Tagen der Züchtung. Echte Diphtheriebacillen sind unter diesen Xerosearten niemals gefunden worden; auch machen die später erwähnten Ergebnisse mit der Verimpfung künstlich mit Diphtheriebacillen infizirter Lymphe (vgl. S. 28 ff.) auf Kälber, ihr Vorkommen in der Lymphe durchaus unwahrscheinlich.

Die Prüfung der Lymphproben hatte somit die bekannte Erfahrung wiederum bestätigt, dass die Bakterien der thierischen Lymphe meist harmlose Saprophyten sind, denen man schädliche Folgen für den Impfling nicht zuschreiben kann. Vereinzelt waren darin Staphylokokken von mässiger, nur ausnahmsweise von stärkerer Thier-Pathogenität in geringer Zahl vorgefunden.

Bei der Würdigung dieser Befunde kommt in Betracht, dass aus der Virulenz der in der Lymphe gefundenen Bakterien, welche durch subkutane oder intraperitoneale Einverleibung relativ grosser Mengen von Reinkultur bei den Versuchsthieren nachgewiesen sind<sup>1)</sup>, nicht ohne Weiteres auf ein gleiches Verhalten bei den Menschen geschlossen werden kann (vgl. S. 10). Das blosse Vorhandensein thierpathogener Mikroorganismen in der Lymphe berechtigt somit keineswegs, Reizerscheinungen und Impfschädigungen denselben zur Last zu legen oder gar in den verschiedenen Graden der Entzündung und dem früheren oder späteren Auftreten der phlegmonösen und erysipelatösen Prozesse den Ausdruck für die verschiedene Virulenz derselben neben der ungleichen Disposition der Impflinge zu finden, wie dies von anderer Seite behauptet ist<sup>2)</sup>. Auch hinsichtlich des Grades der Virulenz erweisen sich die aufgefundenen Staphylokokken nicht identisch mit den in Furunkeln, Phlegmonen und Abscessen bei Menschen vorhandenen Staphylokokken, welche erfahrungsgemäss eine erheblich höhere Virulenz besitzen. Um festzustellen, in wie weit hierbei die abschwächende Wirkung des Glycerins mitspielt, wurden der Lymphe reichliche Mengen Streptokokken und Diphtheriebacillen beigemischt; die ersteren waren frisch aus einer eitrigen Pleuritis gezüchtet, die letzteren entstammten einer hoch virulenten Kultur, deren akut tödtliche Dosis bei 0,01 der zweitägigen Bouillonkultur lag. Es ergab sich, dass bei Aufbewahrung in Zimmertemperatur die Streptokokken nach 11 Tagen, die Diphtheriebacillen nach 20 Tagen sämtlich abgestorben waren. Im Eisschrank konservirt, behielten die Streptokokken eine Lebensfähigkeit von 18 Tagen, die Diphtheriebacillen dagegen mindestens bis zu 3 Monaten<sup>3)</sup>. Die in einer Lymphe von höherem Alter als 18 Tagen etwa vorhandenen Streptokokken können hiernach nur als harmlose Hautepiphyten gedeutet werden. Derartige saprophytisch lebende Streptokokken sind in Bakteriengemischen der verschiedensten Herkunft durchaus nichts ungewöhnliches; auch auf der Haut von Kälbern und Kindern finden sich gewöhnlich, wie zahlreiche Untersuchungen im Institut ergaben, Streptokokken und Staphylokokken von schwacher Virulenz.

---

<sup>1)</sup> Ein derartiger Eingriff kommt bei der Impfung der Menschen überhaupt nicht in Betracht.

<sup>2)</sup> Landmann, l. c.

<sup>3)</sup> Ueber diese Zeit hinaus wurde Mangels praktischen Interesses die Beobachtung nicht fortgesetzt.

---

## II. Die Methoden zur Verbesserung der Lymphbeschaffenheit, insbesondere zur Verringerung und Beseitigung des Bakteriengehalts der Lymphe.

Unter den von dem Herrn Minister gestellten Aufgaben steht in erster Linie die Herstellung einer klaren Lymphe, deren äussere Beschaffenheit bereits ein Urtheil über Güte und Reinheit des Impfstoffes gestattet. Zu diesem Zwecke sind von der Kommission eine Reihe von bekannten und neuen Verfahren geprüft, welche dieser Anforderung entsprechen können. Indem einige derselben auch mit beträchtlicher Verringerung des Bakteriengehalts einhergingen, war gleichzeitig die Möglichkeit geboten, den Zusammenhang zwischen Reizerscheinung und Bakterien der thierischen Lymphe praktisch festzustellen.

Die trübe und unansehnliche Beschaffenheit der thierischen Lymphe ist wiederholt von ärztlicher Seite beklagt worden und hat auch den Impfgegnern, welche die Lymphe mit Vorliebe als Geschwürjauche bezeichnen, einen Angriffspunkt geboten.

Soweit sich die Ausstellungen auf die durch die Blutbeimischung bedingte röthliche Färbung beziehen, können dieselben durch das von einzelnen Anstalten geübte Verfahren, den Impfstoff erst nach Schächtung des Kalbes abzunehmen, beseitigt werden. Bei diesem Verfahren sinken zwar die Pusteln etwas ein und werden unansehnlicher, doch hat die Methode den Vorzug, dass die Ausbeute ergiebiger wird, da an den todten Thieren die Abnahme ruhiger und gründlicher vor sich gehen kann.

Dies Verfahren ist zuerst anscheinend in den Anstalten zu Strassburg und Dresden<sup>1)</sup> ausgeübt worden. In Köln, wo dasselbe seit 1890 im Gebrauch war, erfuhr es durch den Dirigenten der Anstalt, Dr. Vanselow, 1892 eine Abänderung dahin, dass die Thiere nicht mehr geschächtet, sondern vor dem Ausbluten durch Kopfschlag betäubt wurden, nachdem Versuche gezeigt hatten, dass auch hierbei eine genügende Ausblutung der Hautkapillaren erfolgt.

Eine andere, in der Berliner Anstalt geübte Methode gestattet die blutleere Entnahme des Impfstoffes bei dem noch lebenden Kalbe. Bei derselben wird durch starken Druck mit dem scharfen Löffel die

---

<sup>1)</sup> Bericht der betreffenden Anstalten für das Jahr 1888. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte VI.

beim Abstreichen getroffene Hautparthie anämisch, so dass ein Impfstoff am Löffel hängen bleibt, der makroskopisch blutfrei ist.

Letztere Methode vermeidet die Schwierigkeiten, die an manchen Orten für die Verwerthung der geschächteten Kälber bestehen sollen.

Die blutfreie Glycerinlymphe stellt eine grauweisse, dickflüssige Masse dar, in welcher auch bei feinsten Verreibung mittelst Lymphmühlen und sorgfältigster Bereitung die Gewebsbestandtheile der Pustel, der Epidermis, nebst Bakterien, Blutkörperchen u. a. m. zurückbleiben. Es war die Aufgabe, ein einfaches, sicheres und allgemein anwendbares Verfahren zur Entfernung dieser verunreinigenden Beimengungen zu finden, nachdem die Möglichkeit durch die erwähnten Vorversuche des Dr. Vanselow, sowie ausserdem durch die Untersuchungen des Dr. Schulz in den Jahren 1888 bis 1891 bewiesen war. Letzterer fand, dass wenige Tage genügten, um in der Glycerinlymphe bei Brutwärme die meisten Bakterien abzutöten, während die in ihr enthaltenen Vaccinekeime noch wirksam blieben. Einzelne Bakterienarten gingen schneller zu Grunde als andere; daneben hing die Schnelligkeit des Absterbens vom Glyceringehalte ab, dasselbe erfolgte unter sonst gleichen Umständen schneller bei einem Gehalt von 60 % als von 50 %, besonders lange Zeit beanspruchte ein Gehalt der Lymphe von nur 40 % Glycerin. Mit der Länge des Aufenthalts im Brütschrank und zwar ebenfalls entsprechend dem Glyceringehalt nahm auch die Wirksamkeit der Lymphe ab. Immerhin sind Mikrokokkenformen, welche diesem Verfahren gegenüber eine gleiche oder grössere Widerstandsfähigkeit zeigen wie die Vaccinekeime, in der Thier- und Menschenlymphe sehr selten, so dass eine 60 % Glycerinlymphe nach 5 Tagen noch wirksam und nahezu keimfrei war. Zur Darstellung von Versandtlymphe eignete sich das angegebene Verfahren zwar nicht, wohl aber zur Gewinnung von bakterienfreiem Aussaatstoff.

Ein anderes Verfahren gründete sich auf die Thatsache, dass der Vaccineerreger auf unseren gebräuchlichen Nährböden nicht wächst. Schulz säete deshalb Menschenlymphe in grösseren Mengen in relativ kleine Quantitäten Gelatine und liess die vorhandenen Bakterien auskeimen. Die mit Kolonien besetzten Stellen der Gelatine wurden täglich mit ausgeglühten Instrumenten entfernt, so dass schliesslich — etwa nach acht Tagen — nur sterile Gelatine übrig blieb. Nach sorgfältiger mikroskopischer Durchmusterung auf kleinste Kolonien wurde der sterile Rest zu Impfungen verwendet. Dasselbe Verfahren liess sich auch auf Agar übertragen, doch hatten die

wenigen allerdings positiven Erfolge nur theoretischen Werth. Bei der animalen Lymphe kommt dieses Verfahren um so weniger in Frage, als hier die Zahl der entstehenden Kolonien stets eine zu grosse ist.

Die Kommission prüfte nachstehende Methoden auf ihre praktische Verwerthbarkeit:

### **1. Filtration der thierischen Lymphe.**

Versuche, die Lymphe durch Thonzellen zu filtriren, konnten nicht in Betracht kommen, da früher bereits gezeigt war<sup>1)</sup>, dass der wirksame Impfstoff nicht in das Filtrat übergeht, das Verfahren ausserdem für die Praxis zu zeitraubend wäre.

Dagegen liefert Filtration der Lymphe durch Papier oder Watte eine wirksame Lymphe. Auch dies Verfahren ist sehr langwierig, führt keine nennenswerthe Verringerung des Bakteriengehaltes herbei und ergibt wegen des geringeren Schnitterfolges keine allgemein verwendbare Lymphe (Schulz, Freyer).

### **2. Dialysirung der thierischen Lymphe.**

Auf Grund früherer Erfahrungen (Schulz) wurde der Versuch so angestellt, dass der mit Wasser verriebene Lymphstoff fünf Tage im Eisschrank gegen reines Glycerin dialysirte. Das Endprodukt war ziemlich stark bakterienhaltig und ergab auf neun Schnitte bei Erstimpfungen nur sechs Blattern. Es wurden deshalb Versuche in dieser Richtung aufgegeben.

### **3. Sedimentirung der thierischen Lymphe.**

Die Lymphbereitung nach diesem Verfahren wurde zuerst im Mai 1895 von Dr. Vanselow in Angriff genommen. Zunächst um der Lymphe ein gefälligeres Aussehen zu verschaffen, sodann in der Erwartung, die Reaktionserscheinungen nach der Impfung, in Folge der bei dieser Methode erzielten Verminderung der unreinen Beimengung und Bakterien abzuschwächen.

Die Technik dieses Verfahrens besteht lediglich darin, dass grössere Mengen der glycerinhaltigen, animalen Lymphe einen Monat und länger im Eisschrank sich selbst überlassen werden, wobei die festen Bestandtheile sich absetzen, und durch den Einfluss des

---

<sup>1)</sup> Schulz und Weyl, Zeitschrift f. Hyg. X.

Glycerins sehr viele Bakterien absterben. Die überstehende Flüssigkeit wird abgehoben und ergibt eine klare, durchsichtige Lymphe, die bei der Verimpfung noch vollen Schnitterfolg besitzt. Eingehendere Versuche haben gezeigt, dass die Wirksamkeit dieser sedimentirten Lymphe durch alle Schichten der klaren Flüssigkeit quantitativ und qualitativ gleich gut ist.

Die Vortheile dieser Methode sind demnach:

Es resultirt eine Lymphe, die in Bezug auf Aussehen und Wirksamkeit dem angestrebten Ziel entspricht. Der Gehalt an Bakterien wird erheblich verringert (Tab. 4), der Impfstoff ist dünnflüssig, lässt sich daher für den Versand leichter in Haarröhrchen einfüllen und bei der Verwendung besser ausnutzen.

Tabelle 4.  
Sedimentirte Lymphe.

No.	Anstalt	Alter	Mischungsverhältniss	Aussehen	Keimzahl
1	Köln	3 Monat	wie üblich	milchig opalisir., sonst klar	175
2	"	2 "	"	leicht trübe	30 000
3	"	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> "	"	"	75 000
4	"	5—6 "	"	ziemlich klar	800

Als Nachtheile stehen dem gegenüber:

Es vergeht längere Zeit bis zur Abgabe und Verwendung, da mindestens ein Monat verstreicht, ehe die Klärung ad maximum eingetreten ist. Ferner geht in dem Bodensatz ein beträchtlicher Theil, und zwar bei den üblichen Mischungsverhältnissen, mindestens die Hälfte des ursprünglich gewonnenen Impfstoffes für die Benutzung verloren. Der Bodensatz besitzt noch volle Wirkung und kann gegebenen Falls nochmals mit Zusatzflüssigkeit verrieben und sedimentirt werden, wodurch die Einbusse zum Theil ausgeglichen werden kann.

#### 4. Centrifugirung der thierischen Lymphe.

Dieses nahezu ideale Verfahren der Lymphklärung ist von Dr. Schulz während der Zeit der von der Centralinstanz angeregten Vorversuche zuerst mit einer Handcentrifuge ausgeführt worden und alsdann unter Benutzung einer elektrisch betriebenen grossen Centrifuge, welche eine Umdrehungsgeschwindigkeit von 4000 in der Minute stundenlang gestattete, im Institut für Infektionskrankheiten fort-

geführt und weiter ausgebildet worden. Das Verfahren gestaltete sich endgültig als bestes so, dass der sechsmal auf der Lymphmühle auf das feinste verriebene Impfstoff mit Wasser im Verhältniss von 1 zu 4 aufgefüllt und eine Stunde bei 4000 Umdrehungen in der Minute ausgeschleudert wurde. Die überstehende Flüssigkeit, der „erste Aufguss“, wurde dekantirt oder abgehebert und zeigte ein noch trübes, etwas opalisirendes Aussehen.

Durch erneutes Auffüllen des Centrifugenrückstandes mit Wasser im gleichen Verhältniss und Wiederholung der Prozedur resultirte der „zweite Aufguss“, der schon bedeutend klarer und durchsichtig war. Von dem verbleibenden Bodensatz wurde auf dieselbe Weise der „dritte Aufguss“ gewonnen, der nun nahezu wasserklar erschien. Die vereinigten drei Aufgüsse zusammen abermals  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde bei derselben Umdrehung centrifugirt, ergaben als Endprodukt eine **wasserklare**, leicht gelblich spielende Flüssigkeit, die frei von Gewebsbestandtheilen und nahezu frei von Bakterien war. Für den Gebrauch erhielt sie den üblichen Glycerinzusatz zum Schutz vor Zersetzung und zur Erhöhung ihrer Haftbarkeit. Hiermit war der Impfstoff noch nicht voll ausgenutzt, da der Bodensatz vom „dritten Aufguss“, mit Glycerin und Wasser versetzt, eine Lymphe von guter Wirksamkeit lieferte.

Für die Technik dieses Verfahrens waren folgende Einzelheiten von Belang:

Setzt man der Ausgangslymphe vor dem Centrifugiren Glycerin zu, so geht die Ausschleuderung der festen Bestandtheile und der Bakterien viel langsamer und unvollkommener vor sich; es ist daher geboten, mit diesem Zusatz bis zur Beendigung des Verfahrens zu warten (vergl. Tab. 5. No. 3).

Versuche über den Einfluss der Verreibung des Impfstoffes haben gezeigt, dass eine sechsmal durch die Lymphmühle geschickte Masse bedeutend bessere Erfolge ergab als eine nur einmal verriebene.

Vor der Herstellung jedes weiteren Aufgusses ist der fest zusammengepresste Bodensatz sorgfältigst mit dem neu zugesetzten Wasser zu verrühren.

Zuweilen schwimmt auf der Oberfläche der Flüssigkeit im Centrifugirgläschen eine leichte Decke von festen Bestandtheilen, die nicht zu Boden sinkt. In diesem Fall muss der Heber bei der Entnahme so geführt werden, dass diese Bestandtheile stets oberhalb der ansaugenden Oeffnung verbleiben.

Schliesslich sei bemerkt, dass mittelst der Handcentrifuge ganz analoge Resultate gewonnen wurden. Natürlich ist dies Verfahren mühsamer, zeitraubender und ergibt keine so hochgradige Bakterienverminderung.

Tabelle 5.  
Centrifugirte Lymphe.

No.	Herkunft	Alter	Behandlung	Rohlymphe		Centrifugirt		Bemerkungen
				Aussehen	Keimzahl	Aussehen	Keimzahl	
1	Berlin	wenige Stunden	einmal durch Reibmaschine ohne Glycerin	weisslich-graue Masse	1 600 000	wasserklar, leicht opalisirend	200	1 Stunde centrifugirt, dekantirt.
2	Berlin	wenige Stunden	sechsmal durch Reibmaschine ohne Glycerin	weisslich-graue Masse	1 700 000	wasserklar	20	1 Stunde centrifugirt, dekantirt.
3	Berlin	wenige Stunden	gew. Versandtlymphe, 1 : 2 Wasser : 2 Glycerin	hellgrauc, trübe Flüssigkeit	200 000	klar, stärker opalisirend wie 1 u. 2	30 000	1 Stunde centrifugirt, dekantirt.
4	Berlin	5 Stunden	sechsmal durch Reibmaschine 9 : 30 Wasser ohne Glycerin	dick, sehr trübe	∞	wasserklar	50	2 Aufgüsse gemischt, von denen jeder 1 Stunde centrifugirt.
5	Berlin	5 Stunden	sechsmal durch Reibmaschine 9 : 30 Wasser ohne Glycerin	dick, sehr trübe	∞	trübe	90	Bodensatz von No. 4, zweimal, 40 und 20 Min. centrifugirt.
6	Berlin	12 Stunden	sechsmal durch Reibmaschine ohne Glycerin	weissgrau, undurchsichtig	∞	klar	610	zweimal je 1 Stunde centrifugirt.
7	Berlin	1 Monat	Versandtlymphe mit Glycerin	—	—	fast klar	20	mit der Handcentrifuge.

Die Ergebnisse dieser Methode der Lymphklärung sind recht bestechende. Klare Beschaffenheit, Freiheit von Gewebsbestandtheilen und Bakterien, Ausgiebigkeit und Ausnutzung<sup>1)</sup> des Impfstoffes bilden unverkennbare Vorzüge; die Verminderung der Bakterien (Tab. 5) könnte bei Versuchen im Grossen durch Vermehrung der Umdrehungs-

<sup>1)</sup> Bei den hier geschilderten Versuchen ist bereits die zwölffache Menge an Vaccine gewonnen. Zweifellos liesse sich der Ertrag noch weiter steigern. Zeitmangel war die Ursache, bei den Kommissionsarbeiten nicht über den dritten Aufguss hinauszugehen.

geschwindigkeit, längere Dauer oder mehrmalige Wiederholung der Ausschleuderung zu einer absoluten gemacht werden. Wenn trotzdem die Kommission bei diesem Verfahren nicht stehen blieb, so lag dies einmal daran, dass die Wirksamkeit dieser centrifugirten Lymphe bei Wiederimpfungen hinter derjenigen der Rohlymphe zurückblieb<sup>1)</sup>, andererseits aber auch das angestrebte Ziel, die Reizerscheinungen bei der thierischen Lymphe zu beseitigen, damit nicht erreicht war, wie weiterhin dargelegt werden wird.

Ueber die Wirksamkeit der centrifugirten Lymphe giebt folgende Zusammenstellung nach den praktischen Ergebnissen von Dr. Schulz Auskunft (Tab. 6). Dieselbe deckt sich mit den im Institut für Infektionskrankheiten an einer grösseren Anzahl von Erst- und Wiederimpfungen erzielten Resultaten.

Tabelle 6.

**Impfwirkung der centrifugirten Lymphe.**

A. Elektrisch centrifugirt.

Kalb No.	Alter der Lymphe Tage	I. Erstimpfungen			II. Wiederimpfungen					
		Schnittzahl	Pusteln	%	Zahl der Personen	mit Erfolg	%	Schnittzahl	Pusteln	%
75	6	36	36	100	1	1	100	3	1	33 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>
81	5	54	51	—	—	—	—	—	—	—
	12	438	431	—	26	22	—	156	77	—
	19	120	118	—	—	—	—	—	—	—
	33	9	9	—	12	10	—	72	35	—
	54	6	6	—	—	—	—	—	—	—
	61	30	30	—	—	—	—	—	—	—
		Sa. 657	645	98	38	32	84	228	112	49
82	5	60	59	—	—	—	—	—	—	—
	12	384	362	—	4	2	—	24	6	—
	19	—	—	—	21	10	—	126	37	—
		Sa. 444	421	94	25	12	48	150	43	28,6
85	1	18	18	100	10	10	—	60	39	—
	8	—	—	—	26	23	—	156	77	—
		Sa. 18	18	100	36	33	91	216	116	53
87	5	135	135	—	35	30	—	210	136	—
	26	18	17	—	1	1	—	6	6	—
		Sa. 153	152	99	36	31	86	216	142	65

<sup>1)</sup> Vergl. S. 21, B. ff.

B. Mit der Handcentrifuge gewonnen.

Kalb No.	Alter der Lymphe Tage	I. Erstimpflinge			II. Wiederimpflinge					
		Schnittzahl	Pusteln	%	Zahl der Personen	mit Erfolg	%	Schnittzahl	Pusteln	%
76	5	72	72	—	3	3	—	18	8	—
	12	9	9	—	—	—	—	—	—	—
	19	9	9	—	—	—	—	—	—	—
	26	—	—	—	1	1	—	6	6	—
	40	30	30	—	2	2	—	12	6	—
	47	36	36	—	—	—	—	—	—	—
	61	—	—	—	18	18	—	108	98	—
	96	9	8	—	—	—	—	—	—	—
	Sa.	165	164	99	24	24	100	144	118	82
77	5	123	123	—	—	—	—	—	—	—
	19	15	15	—	2	2	—	12	12	—
	26	264	262	—	2	2	—	12	9	—
	33	351	351	—	—	—	—	—	—	—
	40	354	354	—	1	1	—	6	6	—
	47	—	—	—	9	9	—	54	37	—
	61	96	72*)	—	47	30	—	282	105	—
	68	78	74*)	—	—	—	—	—	—	—
89	9	9	—	—	—	—	—	—	—	
	Sa.	1 290	1 260	97	61	44	72	366	169	46
78	5	381	362	—	—	—	—	—	—	—
	12	93	93	—	1	1	100	6	6	100
		Sa.	474	455	96	—	—	—	—	—
80	5	18	18	100	—	—	—	—	—	—

\*) Impfung durch ungeübte Personen.

Die Wirksamkeit der centrifugirten Lymphe stellt sich wie folgt:

A. Bei Erstimpflingen.

	Schnitte	Pusteln	Schnitterfolg	personeller Erfolg
Mit der Handcentrifuge gewonnene Lymphe . . .	1947	1897	97 %	100 %
Mit der elektr. Centrifuge gewonnene Lymphe . . .	1308	1272	97 %	100 %
Summa	3255	3169	97 %	100 %

Diese Erfahrungen berechtigten zu der Annahme, dass bei Impfärzten, welche die Technik beherrschen, der personelle Erfolg bei den allgemeinen Impfungen gegen früher nicht bedeutend vermindert sein wird.

B. Bei Wiederimpfungen.

	Zahl d. Ge- impften	mit Erfolg	Schnitte	Pusteln	personeller Erfolg	Schnitt- erfolg
Mit der Handcentrifuge gewonnen	86	69	516	293	80 %	56 %
„ „ elektr. Centrifuge „	136	109	813	414	80 %	51 %
Summa	222	178	1329	707	80 %	53 %

Hier zeigt sich die verminderte Wirksamkeit beim Vergleich mit dem Jahresdurchschnitt, der sich für 1895 bei Wiederimpfungen und Benutzung gewöhnlicher Lymphe auf:

personeller Erfolg	Schnitt-erfolg
96,3 %	83 %

stellte.

Ueber die Haltbarkeit bemerkt Dr. Schulz, dass sich dieselbe soweit bewährte, wie es bei Erstimpfungen den Anforderungen des öffentlichen Impfgeschäfts entspricht. Die Wirksamkeit der centrifugirten Lymphe war bei 48 stündigem Aufbewahren bei  $+ 37^{\circ} \text{C}$  nicht vernichtet, und das achttägige Liegen in einem geheizten Wohnzimmer hatte sie nicht abgeschwächt. Für Wiederimpfungen liegen noch keine genügenden Erfahrungen vor, doch ist hier bereits bei der frischen Lymphe der Schnittausfall zu bedeutend.

Auf Kälber verimpft zeigte sich diese Lymphe wirksam, doch war die Ausbeute an Impfstoff sehr wechselnd und einmal sogar schlecht.

Allgemein sei noch bemerkt, dass ein Unterschied in der Wirksamkeit weder bei der Benutzung verschiedener Aufgüsse einer und derselben Lymphe, noch beim Gebrauch verschiedener Schichten desselben Aufgusses hervorgetreten ist. Auch war es nicht möglich, Unterschiede der centrifugirten Lymphe nach Herkunft von verschiedenen Kälbern zu bemerken.

Versuche, die starke Verdünnung der centrifugirten Lymphe, welcher wohl der Ausfall an Impfwirkung zur Last gelegt werden muss, durch Einengung im Vakuum auszugleichen, sind noch im Gange.

**5. Einwirkung chemischer Mittel auf die thierische Lymphe.**

Das Bestreben, die Bakterien der thierischen Lymphe abzutöden, hat schon frühzeitig den Gedanken an Zusatz von Desinfizientien nahe gelegt. Die Schwierigkeit solcher Verfahren lag nur darin, dass meist auch die Lymphe gleichzeitig unwirksam gemacht wurde. Doch sind derartige Versuche immer von Neuem wieder aufgenommen worden, indess bis jetzt ohne Erfolg. Immerhin giebt es Beob-

aehtungen, die ein solches Unternehmen nicht ganz aussichtslos erscheinen lassen. Besitzen wir doch in dem Glycerin selbst ein derartiges Mittel, welches bei entsprechendem Prozentgehalt der Lymphe die Bakterien absterben lässt. Auch Schulz hat bei seinen früheren Versuchen eine grössere Anzahl derartiger Mittel versucht, ohne aber zu praktisch verwerthbaren Ergebnissen zu kommen.

Von der Kommission waren ebenfalls Versuche nach dieser Richtung ursprünglich in Aussicht genommen, doch sind sie in grösserer Zahl nicht zur Ausführung gelangt, weil die Untersuchungen schon vorher zu Ergebnissen führten, die dies überflüssig machten. Es ist nur eine Versuchsreihe mit Ozonisirung der thierischen Lymphe unternommen worden, die negativ ausfiel. Die Versuche fanden in der Fabrik von Siemens & Halske, Berlin, statt, von welcher die bezüglichen, einen frisch bereiteten, starken Ozonstrom liefernden Apparate in entgegenkommenster Weise überlassen wurden. Ohne auf die Einzelheiten einzugehen, sei bemerkt, dass, wenn die Dauer der Einwirkung des Ozons so bemessen wurde, dass die Lymphe vollständig klar und bakterienfrei wurde, dann auch die Impfwirkung gleich Null war.

#### **6. Versuche zur Darstellung genuiner bakterienfreier Lymphe.**

Die bisher beschriebenen Verfahren haben gemeinsam den Ausgang von der bereits fertigen Rohlymphe. Dem gegenüber kam in Frage, ob es nicht möglich sei, die Thierlymphe von vornherein bakterienfrei zu gewinnen. Es setzte dies voraus, dass die Impfung der Kälber und Abnahme des Impfstoffes unter antiseptischen Kautelen vor sich ging, das zur Aussaat gelangende Impfmateriel selbst möglichst bakterienarm oder -frei war und die Impffläche in der Zwischenzeit vor dem Eindringen der Bakterien von Aussen durchaus geschützt blieb. Keine dieser drei Forderungen war für sich praktisch unerfüllbar, obwohl auf Grund früherer Erfahrungen angenommen werden musste, dass besonders die erste und dritte Bedingung grosse Schwierigkeiten darbieten würden.

Zunächst wurde festgestellt, dass die zur Zeit üblichen Verfahren der Desinfektion der Impffläche der Kälber vor Impfung und Lymphabnahme mit antiseptischen Mitteln, bezüglich der Verringerung der Bakterien keinen Vortheil vor der einfachen Säuberung mit sterilem Wasser und sterilen Tüchern aufweisen.

Die betreffenden Versuche waren so eingetheilt, dass in der Anstalt zu Berlin 1 % Lysol, in Köln 3 % Karbol und in Stettin

1 ‰ Sublimat in ihrer Wirkung mit der einfachen Säuberung verglichen wurden.

Nachtheilige Folgen des Desinfiziens für die Entwicklung der Pusteln sind nur beim Sublimat gesehen worden, wie dies vereinzelt auch von anderer Seite beschrieben ist<sup>1)</sup>. Auf der mit der Sublimatlösung vorbehandelten Impffläche blieb nicht nur die Entwicklung der Pocken erheblich zurück, sondern es ergab sich auch ein ziemlicher Ausfall an Pusteln. Zu bemerken ist dabei, dass trotz dieser nachweislichen Wirkung des Sublimats doch die Keimzahl der Lymphe keine nennenswerthe Verringerung zeigte. In Tabelle 7 sind einige Beispiele aus diesen Versuchen zusammengestellt. Hiernach ist ohne Weiteres ersichtlich, dass mit der Desinfizierung der Impffläche in der jetzt üblichen Weise eine nennenswerthe oder gleichmässige Verringerung der Bakterien nicht erzielt wird.

Tabelle 7.

**Keimgehalt der Lymphe nach Desinfektion der Bauch-Pustelfläche vor Impfung und Abnahme.**

Kalb No.	Lymphe		Behandlung	Zusatz- flüssigkeit	Keimzahl
	No.	Alter			
357	29	} 2 Tage	Desinfektion mit 1 ‰ Sublimat	ohne Glycerin	220 000
	30				200 000
358	31	} 2 Tage	Reinigung mit sterilem Wasser	desgl.	unzählig
	32				
120	33	} 2 Tage	Reinigung mit sterilem Wasser	wie üblich	1 600 000
	34		Desinfektion mit 3 ‰ Karbol	„	575 000
121	35	} 2 Tage	Reinigung mit sterilem Wasser	„	2 000 000
	36		Desinfektion mit 3 ‰ Karbol	„	1 975 000
122	39	} 2 Tage	Desinfektion mit 3 ‰ Karbol	„	unzählig
	40		Reinigung mit sterilem Wasser	„	„
	50		Reinigung mit sterilem Wasser	„	10 900
	51	} 2 Tage	Desinfektion mit 3 ‰ Karbol	„	233 000
70	23	} wenige Stunden	Desinfiziert mit 1 ‰ Lynol	ohne Glycerin	1 600 000
82	41				unzählig

Versuche, die Pusteln während ihrer Entwicklung vor der Einwanderung von Bakterien zu schützen, sind auch bereits von Schulz

<sup>1)</sup> Schulz. Einige Versuche in Bezug auf Kälberimpfung. D. Vierteljahresschrift f. öffentl. Gesundheitspflege. 1886. Bordoni-Uffreduzzi. Rivista d'igiene. 1891. No. 9.

beschrieben (l. c.). Schulz glaubte dieses Ziel, strengste Antiseptik bei der Impfung vorausgesetzt, durch die Anlegung von Deckverbänden erreichen zu können. Doch verliefen seine Bemühungen insofern ergebnisslos, als sich zwar das Anlegen und Haften seiner Deckverbände während der kälteren Jahreszeit durchführbar erwies, die Bakterienzahl der Lymphe jedoch keine Verringerung erfuhr. Geradezu entmuthigend gestalteten sich die Versuche in der wärmeren Jahreszeit, wo gleichgültig, ob ein durchlässiger oder undurchlässiger Verband gewählt wurde, die ganze Impffläche bis in die Lederhaut unter dem Verbande sich in eine flüssige, zu Zersetzung neigende Masse verwandelte, der eine Impfwirkung nicht mehr zukam. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte im Verfolg der Kommissionsarbeiten auch Dr. Freyer trotz aseptischer Behandlung der Impffläche.

Bei einer anderen Versuchsreihe hatte Schulz gefunden, dass die sichere Desinfektion der Impffläche mit starker Sublimatlösung ausserordentlich schwierig und von vielen Einzelheiten und Vorsichtsmassregeln abhängig ist, die zum Theil nicht einmal in der Macht des Operateurs liegen. Zugleich ergaben die Versuche, dass man Desinfektionsmittel unter Umständen sehr energisch anwenden und sogar auf die geimpfte Fläche einwirken lassen kann (l. e.), ohne die Pustelbildung zu beeinträchtigen. Diese Beobachtung führte zu erneuten Versuchen und schliesslich zu der Kombination von energischer, bisher ungebräuchlicher Antiseptik mit Schutzverbänden, welche in Bezug auf die Bakterienverminderung recht bemerkenswerthe Resultate zeitigte. Die Versuche sind zwar noch nicht in so grosser Zahl gemacht, dass ein endgültiges Urtheil schon jetzt darüber gefällt werden könnte, doch ist eine ausführliche Darstellung immerhin gerechtfertigt. Dr. Schulz berichtet im Juni d. J. über die von ihm ausgebildete Technik wie folgt:

„Auf die Umgebung der zu impfenden Stellen werden breite Gazestreifen mit reichlichem Kollodium aufgeklebt, die rasirte Impfstelle wird mit Wasser und Seife gewaschen, auch mit Sublimat desinfiziert und dann abgetrocknet. Während der Impfung wird sie mit Alkohol feucht erhalten; jede geimpfte Stelle nach der Impfung unmittelbar mit Alkohol durchfeuchtem Mull bedeckt. Der feuchte Mull wird nach beendeter Impfung durch sterilen trocknen ersetzt und hierüber sterilisirte Watte gelegt. Der Verband wird durch Annähen an die am Rande befindlichen Gazestreifen befestigt und mit einem grösseren Fenster aus Celluloid versehen, welches die Beobachtung der sich entwickelnden Blattern gestattet. Der Diener sieht

tächlich den Versand nach und klebt Stellen, welche sich zu lockern beginnen, mit Kollodium zu.

Von den vorerwähnten Massnahmen scheint die Alkohol-Desinfektion während des Impfaktes von grossem Einfluss zu sein.

Die Wirksamkeit der unter Verband erzeugten Lymphe war gut. Ein im April gewonnener derartiger Stoff dient jetzt zur Fortpflanzung; andere Stoffe sind zum Versand gelangt, und die seit einigen Tagen eingehenden Berichtskarten zeugen von ihrer guten Wirksamkeit. Inwieweit der Bakteriengehalt der Aussaatlymphe auf den Reichtum des geernteten Stoffes an Keimen einwirkt, hat durch die bisherigen Versuche noch nicht entschieden werden können.“

Beifolgende Tabelle 8 giebt eine Uebersicht über den Bakteriengehalt der so gewonnenen Lymphe.

Tabelle 8.

Datum	Kalb No.	Impfstelle	Keimgehalt der Lymphe		Bemerkungen
			frisch	nach	
Mitte Febr.	3	Rückenhaut	2 800	—	
Ende März	7	Bauchhaut	2 900	{ 11 Tagen: 525	
Anf. April	12	{ Bauchhaut, vor dem Nabel	606	{ 37 " 355	
		{ " hinter d. "	820	{ 16 " 90	
9. April	17	Bauchhaut und rechte Seite	2 775	14 " 400	
16. "	19	Bauch und Seite	3 800	18 " 203	
17. "	23	desgl.	2 624	17 " 302	
30. "	25	Bauchfläche	1 292	3 " 572	Bei diesem Versuch wurde zur Kontrolle eine andere Stelle ohne Alkoholdesinfektion geimpft. Keimzahl 54 080.
?	?	desgl.	103 272!	—	Ursache dieses vereinzelt Misserfolges nicht ermittelt.

Hiernach ist es in der That gelungen, durch kombinirtes Verfahren von Desinfektion mit Schutzverband die Bakterienzahl der Lymphe recht erheblich zu verringern. Die Versuche beweisen andererseits, dass eine völlige Sterilität der Lymphe, selbst wenn eine der Beschmutzung von Aussen weniger ausgesetzte Stelle, wie die Rückenhaut<sup>1)</sup> (vergl. Tab. 8, Kalb 3), zur Impfung gewählt wird,

<sup>1)</sup> Versuche dieser Art sind schon wiederholt gemacht, doch immer als sehr unbequem und auch erfolglos aufgegeben worden. In neuerer Zeit sind dieselben von Dr. Landmann wieder als Methode aufgenommen. Vergl. Seite 50.

schwierig und sehr umständlich zu erreichen ist. Dass auch Zufälligkeiten oder bisher unbekannte Einflüsse dabei mitspielen, geht aus dem letzten Versuche des Dr. Schulz hervor, bei welchem die Keimzahl erheblich viel höher ist, ohne dass sich die Ursache ermitteln liess.

Die geringe hier erhaltene Keimzahl wird, wie Dr. Schulz weiter ausführt, natürlich durch die Zeit noch weiter verringert, da durch das Alter die Zahl der lebensfähigen Bakterienkeime bei einem schon im frischen Zustande bakterienarmen Impfstoff rascher abnimmt als bei gewöhnlicher Lymphe. Auch das Centrifugiren brauchte bei solchem Stoffe, um ihn von Bakterien zu befreien, nicht lange ausgedehnt zu werden, darum würde die centrifugirte Lymphe in wirksamere, d. h. weniger stark verdünnter Form, aus ihr gewonnen werden können, als bisher der Fall war. Endlich geben die Deckverbände die Aussicht, die Impffläche während des Wachstums der Blattern vor der Verunreinigung mit fremden Keimen, u. A. der Impetigo contagiosa, zu schützen, derjenigen Krankheit, die vielleicht durch die Lymphe selbst verschleppt wird. —

Nach diesen Versuchen erschien es weiterhin wichtig, zu entscheiden, ob die Keimzahl einer Lymphe von der Aussaatlymphe abhängt, und ob, beziehentlich in welchem Grade eine Verringerung durch Benutzung bakterienfreien Ausgangsmaterials sich erzielen lässt. Bei der Wahl eines geeigneten Ausgangsmaterials hätten die verschiedenen, bereits besprochenen Methoden zur Gewinnung bakterienarmer Lymphe benutzt werden können. Von diesen Verfahren konnte jedoch abgesehen werden, weil ein absolut bakterienfreier Impfstoff anderweitig vorhanden war. In Betracht kamen hierbei die sehr interessanten Beobachtungen, wonach mit dem Blut geimpfter Kälber bei anderen richtige Blattern erzeugt werden können. Diese Uebertragung ist von Dr. Freyer in grösserem Umfang gemacht, und gelang es ihm und Dr. Vanselow weiterhin auch mit dem Saft der Milz, Leber, der Leistendrüsensubstanz, der Mesenterialdrüsensubstanz und dem Knochenmark erfolgreiche Verimpfungen vorzunehmen. Die diesbezüglichen Resultate finden sich beifolgend:

**Versuche mit Verimpfung von Organsubstanz.**

Stettin.

Kalb 359, geimpft mit Drüsensaft,	5 Pocken	} Diese Versuche sind ausserhalb der Impf- Anstalt ausgeführt.
„ 360, „ „ Milz-Lebersaft,	27 „	
„ 365, „ „ Milzsaft,	80 „	
„ 366, „ „ Drüsensaft,	13 „	

Kalb 368,	}	geimpft mit 8 Tage altem centrifugirtem Milzsaft, 6 kleine Pocken.		
"		"	"	"
"	}	"	"	14 Tage altem, durch Cambric gequetsch-
370,		"	"	14 Tage altem, durch Cambric gequetsch-
"	}	"	"	14 Tage altem, durch Cambric gequetsch-
365		"	"	14 Tage altem, durch Cambric gequetsch-
"	}	an der Brustspitze mit Knochenmark		8 Pocken.
366				1 Pocke.

Berlin.

Zerquetschte Theile einer Leistendrüse eines geimpften Thieres werden vor dem Nabel eines gleichzeitig an anderer Stelle mit wirksamer Vaccine geimpften Kalbes verimpft. Den Erfolg veranschaulicht nachstehende Fig. 1.

Köln.

1. Von einem mit Kinderlymphe mit reichlicher Ausbeute geimpften Kalbe werden Milz und Inguinaldrüsen mit Wasser emulsionirt, dann örtlich

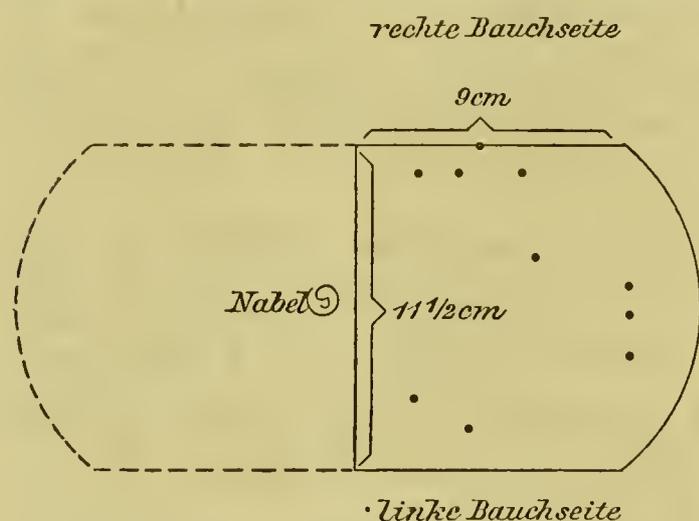


Fig. 1.

Anzahl und Stellung der Pusteln nach Impfung mit Drüsensubstanz.

von einander getrennt auf dasselbe Kalb verimpft. Es entstehen im Ganzen etwa 40 Pusteln, die bis zum vierten Tage klein bleiben, im Gegensatz zu den sonstigen Vaccine-Pusteln kaum gedellt sind, sondern fast Urticaria-Quaddeln gleichen. Bis zum achten Tage vergrössern sie sich, ohne eitrig zu werden. Abgenommen und auf Kinder und Kälber verimpft, ergeben sie guten Erfolg.

2. Inguinal- und Mesenterialdrüsen, emulsionirt und zwei Tage auf Eis aufbewahrt, geben bei Ver-

impfung auf Kälber gutes Resultat. Der nach sieben Tagen abgeerntete Impfstoff beträgt 2 g Rohmaterial.

3. Eine Inguinaldrüse, emulsionirt und 11 Tage auf Eis aufbewahrt, ergibt bei der Verimpfung auf ein Kalb 23 gute Pusteln.

Anhangsweise sei noch mitgetheilt, dass wiederholt Kälber intraperitoneal mit Thierlymphe, einigemale in grösserer Menge, geimpft wurden. Es blieb zweifelhaft, ob die auf dem Peritoneum entstehenden Gebilde als wirkliche Pusteln anzusehen waren. Der Entscheid darüber kann erst auf Grund weiterer Versuche getroffen werden. Doch ergab sich, dass die Versuchsthiere diesen Eingriff gut vertrugen, jedenfalls ohne Peritonitis zu acquiriren, ein Moment, das ebenfalls auf die Abwesenheit von Entzündungserregern in der benutzten Lymphe schliessen lässt.

Es ergibt sich daraus, dass der Vaccinekeim innerhalb einer bestimmten Zeit im Organismus kreist und zwar immerhin in solcher Menge, dass beinahe mit jedem Organ Impfpusteln erzeugt werden können. Die Dauer dieses Kreisens ist nach den Ergebnissen der hierauf gerichteten Forschungen auf drei bis vier Wochen nach

erfolgter Impfung anzunehmen. Die geeignetsten Organe zur Erzielung einer grösseren Anzahl von Pusteln sind anscheinend Inguinal- und Milzdrüsen. Sorgfältige kulturelle Untersuchung dieser Substanzen auf Bakterien ergab wiederholt ihre dauernde Sterilität.

Indem nun mit diesem Material Kälber geimpft wurden, war die Vorbedingung eines absolut bakterienfreien wirksamen Impfstoffes erfüllt.

Die Keimzahl der hiermit erzielten Pusteln ist in folgenden Beispielen erläutert (Tab. 9). Sie genügen zum Beweis, dass keine nennenswerthe Verminderung der Bakterien eingetreten ist. Was die in dieser Lymphe gefundenen Arten betrifft, so handelte es sich um ganz dieselben Keime, die in gewöhnlicher Lymphe gefunden werden. Ausdrücklich erwähnt sei, dass auch Gelatine verflüssigende weisse und gelbe Staphylokokken darunter vorhanden waren. Diese Ergebnisse fanden eine ergänzende Bestätigung in den Erfahrungen, die von den zur Kommission gehörenden Herren Impfärzten früher wiederholt mit keimfreier humanisirter Lymphe gemacht waren. Auch hierbei waren in der neu gewonnenen Lymphe Bakterien reichlich vorhanden gewesen.

Tabelle 9.

**Keimgehalt der Lymphe aus den mit Lymphdrüsensubstanz erzeugten Pusteln.**

No.	Anstalt	Kalb No.	Alter der Lymphe	Ausgangs- Impfmaterial	Mischungs- verhältniss			Keimzahl
					L.	W.	G.	
46	Köln	127	3 Tage	Inguinaldrüsen	1	1½	4½	1 200 000
57	„	1301	7 „	desgl.	1	2	8	164 000
58	„	131	4 „	Inguinal- Mesenterialdrüsen	1	10	10	260 000

Diese Befunde berechtigen zu wichtigen Folgerungen: Wenn es bei Anwendung eines sicher bakterienfreien Impfstoffes nicht gelingt, die Zahl der Bakterien in der Lymphe zu verringern und ihre Art zu beeinflussen, so stammt ihr Bakterienreichthum unabhängig von dem benutzten Impfstoff aus anderen Quellen. Unsere Massnahmen zur Verringerung des Bakteriengehaltes der Lymphe sowie zur Ausschaltung der sog. pathogenen Arten und Beseitigung der mit ihr in Beziehung gebrachten Reizerscheinungen beziehentlich der sog. Impfhädigungen, haben weniger die zu verimpfende Lymphe, als die anderweiten Umstände, wie Verunreinigung der Impffläche, Verletzung der Impfpustel u. dergl. zu berücksichtigen.

Es ist wenig wahrseheinlich, dass die Verhältnisse beim Menschen andere sind. Die Beobachtungen weisen im Gegentheil auf eine Uebereinstimmung in dieser Beziehung hin.

Der ursäehliche Zusammenhang der vermehrten Reiz- und Entzündungserscheinungen bei der Thierlymphe mit dem Bakteriengehalt war hierdureh jedenfalls äusserst zweifelhaft geworden. Der sichere Gegenbeweis wird durch die weiteren Untersuchungen erbracht.

---

### **III. Der Bakteriengehalt der Kälber- und Menschenpocken, ihre ursprüngliche Sterilität.**

---

Gegen die im vorigen Abschnitt angeführten Folgerungen könnte eingewendet werden, dass das Eindringen pathogener Keime mit dem Impfstoff und ihre Entwicklung in der reifenden Pustel doeh nicht positiv ausgeschlossen sei. So erschien es geboten, sich an Schnitten dureh die junge Vaccinepustel beim Kalb und Menschen über ihren Gehalt an Bakterien, sowie deren Sitz und Vertheilung in derselben zu unterrichten. Die in der Literatur hierüber vorhandenen Angaben betonen vorwiegend die Anwesenheit oder das Fehlen spezifiseher Bakterien. Abgesehen von vereinzelt, bisher unbestätigt gebliebenen, positiven Befunden lässt sich jedoeh schon aus diesen Mittheilungen erkennen, dass der Inhalt der Pustel so zahlreiche Bakterien auf Schnitten nicht enthält, wie nach ihrem reichlichen Vorkommen in der Lymphe gewöhnlich angenommen wird.

Der genaueren Ergründung dieser Frage unterzog sich im Institut für Infektionskrankheiten Prof. R. Pfeiffer in der Weise, dass in mehreren Versuchsreihen die Kalbspocken täglich vom ersten bis über den siebenten Tag nach der Impfung, an Schnitten aus frischem Material auf Bakterien gefärbt wurden. Es ergab sich stets, dass das Pustelgewebe bis zum siebenten Tag durehaus bakterienfrei ist. Zu dem gleichen Resultat kam aueh Dr. Freyer und Dr. Froseh. Eine fünftägige Vaccinepocke vom Kinde, die mit der gekrümmten Seheere flach abgetragen war, gab Dr. Buchholz und Dr. Frosch bei gemeinschaftlicher Untersuchung mit allen zur Zeit üblichen Färbemethoden das gleiche Resultat.

Hiernaeh verhält sich also die Vaccinepocke beim Mensch und Kalb genau so steril wie die Variolapocke in der ersten Fieberperiode dieser Krankheit; es ergibt sich daraus, dass von den zahlreichen

Bakterien der Aussaatlymphe keine Art in das Pustelgewebe eindringt. Dies wurde weiterhin auch experimentell mit pathogenen Arten festgestellt, indem künstlich mit pathogenen Bakterien reichlich versetzte Lymphhe auf Kälber verimpft wurde. Die entstehenden Pusteln wurden auf Schnitten, die gewonnene Gesamtlymphhe kulturell auf die zugesetzten Bakterien untersucht.

Verwendet wurden Streptokokken, die frisch von einem Erysipelas-Kranken gezüchtet und ebenso wie die benutzten Diphtheriebacillen von bestimmter hoher Virulenz waren. Die mit virulenten Staphylokokken in Angriff genommenen Versuche konnten Mangels geeigneter Kulturen bisher nicht abgeschlossen werden.

Von den Streptokokken wurde eine eintägige, reichlich gewachsene Bouillonkultur mit Glycerinlymphhe zu gleichen Theilen gemischt und die ganze so gewonnene Menge in der üblichen Weise auf Bauch und Schenkelfläche eines Kalbes verimpft. Gleichzeitig wurde ein Kontrollkalb in derselben Weise, jedoch nur mit Streptokokken geimpft.

Keines von beiden Kälbern zeigte irgend welche krankhafte Erscheinungen; bei dem Kontrollkalbe verheilten die Impfstriehe glatt, bei dem Impfkalbe verlief die Pustelbildung durchaus normal und ergiebig. Aus der von letzterem gewonnenen Lymphhe liessen sich die an ihrer Virulenz kenntlichen Streptokokken kulturell wieder gewinnen, vielleicht ein wenig an Zahl verringert, jedoch ohne Einbusse an Virulenz. Trotzdem war das Pustelgewebe auf Schnitten frei von ihnen. Da für den Nachweis der Streptokokken in der Methode nach Gram-Kühne eine sichere und ausgezeichnete Kontrastfärbung zu Gebote stand, so konnte man sich leicht davon überzeugen, dass auch nicht ein Exemplar im Pustelgewebe sass, obwohl ganze Schnittreihen der verschiedenartigsten Pusteln zur Untersuchung gelangten. Dagegen zeigte diese Färbung als den Sitz der in der Lymphhe doeh wiedergefundenen Bakterienart, den Impfschorf, der oberflächlich in und über dem Impfschnitt lag. Hier befanden sich auch reichlich andere Bakterien, theils vereinzelt, theils in grösseren oder kleineren Anhäufungen.

Durchaus abweichend verliefen zwei Versuehsreihen mit diphtheriebacillenhaltiger Lymphhe. In der Ausführung ähnlich den eben beschriebenen Versuehen, wurde hierbei nur die Modifikation getroffen, dass der Gehalt der verimpften Lymphhe an Diphtheriebacillen zwischen „sehr reichlich“, „mässig viel“ und „wenig“ wechselte (geprüft an Kulturplatten).

Als Resultat ergab sich, dass ein grosser Gehalt an Diphtherie-

baeillen die Pustelbildung beim Kalbe verhindert. An Stelle dieser entstand eine stark secernirende Fläche, die sich durch Eintrocknung des Sekretes bis zum fünften Tage mit starken, gelbbraunen Schorfen bedeckte, nach deren Entfernung leicht blutende Sehrunden und Risse sichtbar waren. Aus den Schorfen liessen sich kulturell die Diphtheriebaeillen am vierten Tage nicht mehr naehweisen.

Waren wenig Diphtheriebaeillen zur Aussaat gekommen, so zeigten sich gut entwickelte Pusteln von normaler Beschaffenheit ohne Schorf. In Schnitten dieser letzteren fanden sich keine Baeillen vor. Bei der Verimpfung von mässig vielen Baeillen kam es zur Bildung nur einzelner Pusteln, die am vierten Tage zeitlich etwas zurüeckgeblieben erschienen, sich aber bis zum zehnten Tage voll entwickelten. Der grössere Theil der Impffläche war ebenfalls mit einem Schorf, wie oben bedeckt. Weder in diesem, noch in den Pusteln liessen sich Diphtheriebacillen naehweisen.

Nach diesen Ermittlungen müssen wir uns die Rolle der Lymphbakterien folgendermassen vorstellen:

Die junge Kalbs- und Mensehenpocke ist an sich steril, erstere sicher zu einer Zeit, wo die Lymphabnahme zu gesehehen pflegt. Die mit der Aussaatlymphe verimpften Bakterien finden sich in der Pocke nicht vor und dringen bis zum siebenten Tage, sofern die Pocke intakt ist, nicht in dieselbe ein. Die Bildung und Entwicklung der Impfpustel verläuft also ganz unabhängig von naehweisbaren Bakterien. Die Bakterien der Lymphe verbleiben vielmehr oberflächlich auf der Oberhaut als Saprophyten, mit deren Bestandtheilen sie wieder in die Erntelymphe übergehen können. Erst die Verletzung der Pustel ermöglicht die Einwanderung der Bakterien, und nach dem siebenten Tage verhält sich die Pustel in dieser Beziehung natürlich nicht anders wie jede andere Hautblase und lässt die Einwanderung in das erweichte Gewebe zu.

Da nun die verschiedenen Entzündungsformen sich in denjenigen Schichten der Haut abspielen, in welche die mit verimpften Lymphbakterien nicht gelangen, so liegt hierin wiederum ein Moment, welches gegen die ursächliche Beziehung spricht.

Jedenfalls lehren diese Thatsaehen, dass die Bestrebungen zur Verhütung der dem Impfling von den Bakterien drohenden Schädigungen weniger auf die Benutzung einer keimfreien Lymphe, als auf die gewissenhafte Beachtung der Regeln der Wundbehandlung zu richten sind.

---

#### IV. Praktische Prüfung der verschiedenen bakterienarmen oder -freien Lymphsorten. Die Bedeutungslosigkeit der Lymphbakterien für die Reaktionserscheinungen.

Bereits auf Grund der vorbeschriebenen Befunde durfte ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Reizerscheinungen beim Impfling und dem Bakteriengehalt der Lymphe als unwahrscheinlich bezeichnet werden. Zum vollen Beweise war indessen noch praktisch zu erproben, wie der Impfling auf die verimpften bakterienarmen oder -freien Lympharten reagiren würde und ob, beziehentlich welche Bakterien in der entzündeten Hautstelle nachgewiesen werden können. Einzelne Erfahrungen über die Reaktion nach bakterienfreier und -reicher humanisirter und thierischer Lymphe lagen bereits vor. So war von Freyer 1894 veröffentlicht<sup>1)</sup>, dass ältere humanisirte Lymphe, die auf Agar und Gelatine ausgesät, völlig keimfrei blieb, gute Pocken mit ausgedehntem Pockenhof ergab, und dass ein gleiches Verhalten auch einmal bei thierischer Lymphe von ihm beobachtet sei. Andererseits konnte er feststellen, dass eine stark bakterienhaltige, humanisirte Lymphe, in der auch seine nicht züchtbaren Kettenkokken<sup>1)</sup> reichlich vorhanden waren, nur ganz geringe oder überhaupt keine Randröthe verursachte.

Untersuchungen über den Einfluss des Alters der thierischen Lymphe auf die Randröthe hat Freyer bereits 1891 gemacht und seine Erfahrungen in folgender Zusammenstellung niedergelegt (Tab. 10 S. 32). Es scheint daraus hervorzugehen, dass, je frischer die Lymphe, desto häufiger stärkere Reizerscheinungen aufgetreten sind. Doch erlaubt die geringe Anzahl der hier ausgeführten Impfungen kein abschliessendes Urtheil.

Die nachstehend geschilderten Beobachtungen sind sowohl von den zur Kommission gehörigen Anstalt-Dirigenten als auch im Institut für Infektionskrankheiten gemacht.

Von ausgedehnten Impfungen mit der filtrirten und dialysirten Lymphe wurde aus praktischen Erwägungen abgesehen.

Die Verimpfung derjenigen Lymphproben, welche nach vorausgeschickter Desinfektion der Impffläche mit Sublimat, Karbol oder Lysol gewonnen waren, hat eine Verminderung der Reizerscheinungen nicht ergeben. Das gleiche gilt von dem durch Ver-

---

<sup>1)</sup> Vergl. l. c. S. 6. Anm. 3.

Tabelle 10.

**Einfluss des Alters der Lymphe auf die Randröthe.**

Lymphesorte	Alter Tage	Gleichzeitig auf Kinder verimpft	
		Pocken	Reaktionsröthung
Kalb 1	417	keine	keine
„ 12	229	8 kleine Pocken auf 5 Schnitte	<b>starke!</b>
„ 18	205	4 auf 5	geringe
„ 25	197	4 „ 5	keine
„ 31	184	keine	„
„ 45	176	4 kleine Pocken auf 5 Schnitte	„
„ 50	179	keine	„
„ 69	143	3 kleine Pocken auf 9 Schnitte	„
„ 78	131	4 gute „ „ 5 „	ziemlich stark
„ 78	122	4 kleine „ „ 5 „	keine
wiederholt geöffnete Tube			
Kalb 81	51	10 gute „ „ 13 „	theils mässig, theils lebhaft, theils stark
„ 82	23	8 „ „ „ 9 „	theils stark, theils gering
„ 83 u. 84	1	35 Pocken auf 35 Schnitte	theils stark, theils mässig.

impfung von Milz- oder Drüsensaft bei Kälbern erzeugten Pockenstoff. Diese aus keimfreiem Ausgangsmaterial gewonnene Lymphe ist auf Kinder, überwiegend Erstimpflinge, übertragen worden und hat genau dieselben Erscheinungen hervorgerufen wie jede andere Lymphe. Der Schluss eines Berichtes (Stettin) sagt hierüber zutreffend: »Der aus Milz und anderem Organsaft wieder herausgezüchtete Pockenstoff lässt sich auf Kälber und Kinder ohne Unterschied gegen andere Pockenstoffarten fortzüchten. Auch auf die Randröthe der Pocken ist er von keinem sichtlichen Einfluss« <sup>1)</sup>.

Die Wirkung der bakterienarmen Lymphesorten, besonders der centrifugirten Lymphe lässt sich am besten an der Hand der im Institut für Infektionskrankheiten gemachten Erfahrungen schildern, weil hier vorzugsweise Wiederimpflinge in grösserer Anzahl zur Ver-

<sup>1)</sup> Zur Erläuterung diene folgende Versuchsreihe. Die Zahl der Erstimpflinge betrug 12. Die Reaktionserscheinungen waren

- 5 mal sehr stark,
- 1 mal stark,
- 3 mal mittelstark.

Bei den Uebrigen gering oder fehlend.

fügung standen, bei denen erfahrungsgemäss die Reizerscheinungen am häufigsten und stärksten auftreten.

Der zeitliche Eintritt<sup>1)</sup> der Reizerscheinungen schwankte zwischen dem siebenten und zehnten Tag nach der Impfung, die Dauer derselben zwischen zwei und sieben Tage. Die Reaktionserscheinungen traten in allen Abstufungen von 2—3 cm breitem Hofe bis zu ausgebreiteten Erythemen auf, welche sich bis zum Ellenbogengelenk, in besonders heftigen Fällen auch bis zum Handgelenk ausdehnten unter Schwellung des ganzen Ober- und auch Unterarms und gleichzeitiger Vergrösserung der Achseldrüsen der Impfsite. Schädliche Folgen sind darnach nicht zurückgeblieben, weder Drüsenver-eiterung noch echtes Erysipel sind beobachtet worden. Indessen ähneln gewisse Formen ausgedehnter Entzündungsröthe — offenbar die Pseudoerysipele der Litteratur — denselben und können bei oberflächlicher und unsachkundiger Beurtheilung damit verwechselt werden. Die Abheilung der Pusteln bei diesen Pseudoerysipeln vollzog sich meist in normaler Weise. Nur einige Male bildeten sich Ulcerationen, die jedoch ebenfalls leicht abheilten.

Tab. 11 auf S. 34 giebt den Beweis, dass auch mit bakterien-arter Lymphke keine besseren Resultate erzielt werden als mit der gewöhnlichen. Vielleicht liegt ein Unterschied darin, dass bei diesen ihrer Bereitung nach verdünnten Lymphen der Eintritt der entzündlichen Reaktion sich zeitlich verzögert, graduell ist er nicht vorhanden.

Wenn auch diese Lymphesorten nicht absolut keimfrei waren, so war doch die Verringerung der Bakterien z. B. bei der Centrifugirung soweit getrieben<sup>2)</sup>, dass sie einer keimfreien Lymphke gleichgeschätzt werden konnten, und sich eine Verminderung der Reizerscheinungen hätte bemerkbar machen müssen. Dies ist nicht eingetreten, vielmehr hat sich gerade bei der bakterienarmen, centri-

---

<sup>1)</sup> Es mag hier darauf hingewiesen werden, dass besonders der öffentliche Impf-arzt die Impflinge häufig nur einmal am Revisionstage (achter Tag) zur Besichtigung erhält. An diesem Tage kann eine Pustel noch als reizlos erscheinen, die schon am nächsten Tage die ersten Anzeichen einer heftiger werdenden Entzündungsröthe darbietet. Es lässt sich also an diesem Tage nicht in allen Fällen entscheiden, ob die benutzte Lymphe Reizerscheinungen macht oder nicht.

<sup>2)</sup> Rechnet man, wie üblich, den 1 ccm Lymphe zu 100 Impfportionen, so kommt durchschnittlich auf jeden Impfling eine Lymphmenge, z. B. bei Probe 22, 27, 42 u. A. mit nur dem Bruchtheil eines Keimes; ganz abgesehen davon, dass doch nicht die gesammte bei der Impfung verriebene Menge in den Impfschnitt gelangt, sondern nur Spuren hiervon.

Tabelle 11.

Keimzahl, Impfwirkung und excessive Randröthe bei verschiedenartigen Lymphesorten.

L y m p h e			Anzahl der		Davon mit Erfolg		Zahl der Fälle mit		Bemerkungen
No.	Behandlung und Alter	Keimzahl in cem	Erstimpflinge	Wiederimpflinge	Erstimpflinge	Wiederimpflinge	excessiven Randröthen	Achseldrüsen-schwellung.	
A. Gewöhnliche Lymphe.									
6	einige Mon. alte, unbehandelte L.	100	0	5	0	5	0	0	
19	gewöhnl., 2 1/2 Monat alte L.	510	1	0	1	0	0	0	
44	gewonnen aus reizloser Pustel, 3 Tage alt	132 500	0	3	0	3	0	0	
32	gewöhnliche, 2 Tage alte L.	unendlich	1	3	1	2	0!	0	Man beachte den Keimgehalt.
41	fünf Stunden alt, gewöhnliche L.	„	0	3	0	3	0!	0	Desgl.
45	fünf Stunden alt, aus reizlos., ausgesuchter Pustel	„	0	26*)	0	11	2	2	*) Unter diesen befanden sich 13 zum zweiten mal, 4 zum dritten u. 3 zvierten mal Wiedergeimpfte; daher der geringe pers. Erfolg.
36	2 Tage; nach Karboldesinfekt. gewonnene L.	1 975 000	0	2	0	2	0!	0	
34	2 Tage, ebenso	575 000	0	13*)	0	9	2	2	*) ähnlich wie bei No. 45.
B. Centrifugirte Lymphe.									
22	1 Mon. centrifug.	20	2	2	2	0	0	0	
26	fünf Std. „	200	0	20	0	14	1	0	
27	desgl.	20	1	17	1	13	1	0	
28	desgl. *)	30 000	0	13	0	7	5	2	*) Dieser Lymphe war vor dem Centrifugiren Glycerin zugesetzt, daher die hohe Keimzahl.
42	desgl.	50	0	16	0	12	4	1	
43	desgl.	90	0	10	0	4	2	2	
48	desgl.	2 350*)	1	8	1	6	2	0	*) Die betr. Lymphe war der erste Aufguss, daher die grössere Keimzahl.
C. Sedimentirte Lymphe.									
37	2 Mon. sediment.	30 000	0	17	0	16	4	4	
38	1 1/2 „ „	75 000	0	5	0	5	4	3	
Summe der einzelnen Gruppen.									
A. Gewöhnliche Lymphe			2	55	2	30	0	4	
B. Centrifugirte „			4	86	4	56	0	15	
C. Sedimentirte „			0	22	0	21	0	8	

fugirten Lymphe ein höherer Durchschnitt an stärkerer, entzündlicher Röthung und Schwellung ergeben, aus später zu besprechenden Ursachen (vergl. S. 47).

In der richtigen Erwägung, dass die verursachenden Bakterien doch in den entzündeten Gebieten vorhanden und nachweisbar sein müssten, sind auf Anordnung von Herrn Geh. Rath Koch, unter dessen Controle die sämtlichen Impfungen standen, alle intensiveren Entzündungen bakteriologisch-kulturell untersucht worden, ohne dass sich selbst bei den stärksten Pseudoerysipelen Streptokokken nachweisen liessen. Daneben wurden zum Vergleich völlig reizlose und reaktionslos verlaufende Pusteln kulturell geprüft<sup>1)</sup>.

Bei der Ausführung wurde nach Oberflächen-Desinfektion nicht nur das aus der Pustel hervorquellende Serum, sondern auch das Pustelgewebe selbst auf Glycerinagar verpflanzt. Verschiedene Fälle sind wiederholt untersucht worden, die Resultate finden sich übersichtlich in Tab. 12 S. 36.

Das Endergebniss ist, dass beinahe  $\frac{9}{10}$  aller Fälle von intensiveren Reizerscheinungen bakteriell steril oder nahezu steril sind, während in völlig reizlosen Pusteln die Gegenwart von Bakterien, darunter von Staphylokokkus aureus<sup>2)</sup> in Reinkultur fast auf jeden dritten Fall zutrifft.

Nach diesem für die Bedeutungslosigkeit der Staphylokokken der Lymphe fundamentalen Beweise, kann allgemein den Bakterien der Thierlymphe eine ursächliche Bedeutung für die Entstehung der Entzündungserscheinungen beim Impfling nicht beigelegt werden. Die Gründe, die gegen den behaupteten Zusammenhang sprechen, sind nach den bisherigen Feststellungen kurz zusammengefasst folgende:

1. Die Anzahl der mit vermehrten Reizerscheinungen behafteten Personen macht immer nur einen geringen Bruchtheil einer grösseren Anzahl mit der gleichen Lymphe Geimpfter aus.
2. Wirkliche Eitererreger in der Lymphe, deren Virulenz für den Menschen in Frage käme, sind nur ausnahmsweise und vereinzelt vorhanden.

---

<sup>1)</sup> Dadurch, dass mehrere Aerzte des Instituts sich an diesen Untersuchungen beteiligten, konnten diese sehr zahlreich gemacht und bezüglich der Resultate als gegenseitige Bestätigungen aufgefasst werden.

<sup>2)</sup> Die Virulenz gerade dieser Staphylokokken-Reinkultur ist an Kaninchen und Mäusen geprüft und dabei ganz analog den im ersten Kapitel mitgetheilten Resultaten gefunden worden.

Tabelle 12.

A. Anzahl der Fälle mit übermässiger Randröthe nach Tag des Eintritts, Dauer, örtlicher Ausdehnung und Bakterien-Gehalt.

Tag des Eintritts	Anzahl	Dauer	Oertliche Ausdehnung	Bakterien-Gehalt	Arten
7.	9	7.—12.Tag 2.—14. „ bez. 16. „	dreimal neb. Schwellung bis zum Handgelenk	diese <b>3 steril</b> 5 vereinzelt 1 reichlich	(zweimal am 7. u. 12. Tage untersucht). Kol. von Xerose, Aur. und Alb. Aur. und Alb.
8.	3	2—4 Tage	zweimal neb. Schwellung bis Unterarm bez. Handgelenk	<b>2 steril</b> 1 vereinzelt	(zweimal untersucht). Kol. von Xerose und saprophyt. Kokken.
9.	2	2 Tage	einmal neb. Schwellung bis zum Ellbogengelenk	1 steril 1 vereinzelt	(doppelt untersucht). Xerose u. saprophyt. Kokken.
10.	1	2 Tage	mit starker Schwellung bis Ellbogengelenk	mässig reichl. spärlich	Staph. alb. Xerose.

B. Anzahl der Fälle mit ausgesprochen reizlosem Verlauf, nach Pustelbildung.

22	verkümmerte, davon 7 nicht zu untersuchen, bleiben 15, davon	5 steril 3 vereinzelt 2 mässigreichl. 5 reichlich	Sarcine oder Xerose, Aur. und Alb. Dieselben. Xerose, Alb und Aur.
13	gut entwickelte Pusteln	4 steril 3 vereinzelt 1 mässigreichl. 5 reichlich	Xerose, Alb. und Aur. Dieselben. Davon 4 Aur. und Alb. in Reinkultur, 1 dieselbe mit Xerose.

S u m m e.

A. Fälle mit übermässiger Randröthe.	B. Untersuchte Fälle mit reizlosem Verlauf.	
Summe 15, davon steril . 6 } = 87 %	53 % = { 9 steril. Summe 28.	
fast steril . . 7 }	6 fast steril.	
Bakterien mässig reichl. 1	10 % = 3 mässig reichl. } Bakterien; dar-	
„ reichlich . . 1	35 „ = 10 reichlich } unter viermal	
		Aur. u Alb. u. Reinkultur.

3. Die meisten in der Lymphe für gewöhnlich vorhandenen Bakterien stellen sich als harmlose Saprophyten oder Hautepiphyten dar, welche in das Innere der intakten Pustel bis zum siebenten Tage nicht eindringen. Dieselben können nicht anders beurtheilt werden, als andere stets beim Menschen vorhandene Bakterien, z. B. der Mundhöhle oder des Darmes.
4. Eine beträchtliche Verringerung der Bakterien oder Keimfreiheit der Lymphe führt eine bemerkbare Abnahme der Reizerscheinungen nach Häufigkeit oder Intensität **nicht** herbei.
5. Pyogene Eiterkokken wurden in völlig reizlosen Impfpusteln nachgewiesen, und Impfpusteln mit starken Entzündungsformen erwiesen sich als steril. In den pseudoerysipelatösen und phlegmonösen Hautentzündungen sind spezifische Erreger (Staphylo- u. Streptokokken) nicht gefunden.

---

## V. Versuche zur Erzeugung reizloser Lymphestämme.

---

Nachdem die Bakterien als Ursache der unangenehmen Nebenwirkung der Thierlymphe fortgefallen waren, richtete sich die Aufmerksamkeit der Kommission auf die anderweite Beschaffenheit der Lymphe und den Einfluss der persönlichen Empfänglichkeit des Impflings. Unterschiede in der Impfwirkung waren bereits bei der humanisirten Lymphe bekannt und haben zu dem Begriff der »reizlosen« Lymphe geführt, die durch Auswahl geeigneter Stammimpflinge erreicht werden sollte. Gleichermassen wurde die Gewinnung eines reizlosen Stammes von animalen Impfstoffen angestrebt, welcher alsdann mit einer stark reizenden Lymphe verglichen werden sollte in der Absicht, das unterscheidende Merkmal zu finden. Zu diesen vergleichenden Untersuchungen kam es nicht, weil sich die Erzeugung reizloser Lymphstämme experimentell als unausführbar erwies. Der Anstoss zu diesen Versuchsreihen wurde gegeben durch die Ueberlegung, dass die ursprünglich reizlose Menschenlymphe durch die Thierpassage zu einem differenten Stoff für den Menschen umgestaltet sein könne; hierfür sprach die gelegentlich der Serumtherapie neuerdings bestätigte Erfahrung, dass Blut und Säfte einer Thierart sich giftig für eine andere verhalten können. Die Versuche fanden so statt, dass, ausgehend von einer guten Pustel ohne Reizerscheinung, in der

ersten Reihe fortlaufend zwischen Kälbern, in der zweiten ebenso zwischen Kindern, in der dritten vom Kind zu Kalb und so fort, unter jedesmaliger Auswahl nur reizloser Pusteln der Impfstoff fortgepflanzt wurde.

Das durchaus negative Resultat dieser Bemühung ergibt sich aus folgenden Ausführungen der mit den betreffenden Versuchsreihen betrauten drei Anstalts-Dirigenten:

### 1. Uebertragung von Kind auf Kind.

S.-R. Dr. Freyer schreibt: »Drei Kinder werden mit 10 Monate alter, humanisirter Lymphe geimpft, die von Pocken mit sehr geringem Hof herstammten. Dennoch zeigten zwei der Kinder sehr starke, eines mittelstarke Randröthe. (Die Ausgangslymphe erwies sich bei Aussaat auf Agar und bei Brutwärme steril.) Eine reizlose Lymphe liess sich somit nicht erzielen, selbst mit einer Lymphe nicht, die von reizlosen Pocken herstammte und von Bakterien frei war.«

Hier war also der Versuch bereits in der ersten Generation fehlgeschlagen.

### 2. Uebertragung von Kalb auf Kalb.

S.-R. Dr. Schulz:

»Auch die Verimpfung von Vaccine, welche ausgesuchten, besonders gut entwickelten Thierpocken entstammte, hat in dieser Beziehung ein Ergebniss nicht gehabt.«

### 3. Uebertragung wechselseitig zwischen Kalb und Kind.

S.-R. Dr. Vanselow:

»Es wurde fernerhin der Versuch gemacht, durch abwechselndes Verimpfen von Kälberlymphe auf Kinder und von der so gewonnenen Kinderlymphe auf Kälber bei Selektion nur gut entwickelter und geringe Randröthe zeigender Pusteln zu einer möglichst reizlosen Lymphe zu gelangen.

Am 21. Oktober 1895 wurden mit sedimentirter Lymphe zwei Kinder geimpft. Die Pusteln entwickelten sich bis zum sechsten Tage sehr gut, gänzlich ohne Reaktion der Umgebung. An diesem Tage, an welchem die Pusteln sich noch nicht geöffnet hatten und von relativ fester Konsistenz waren, wurden dieselben nach gehöriger Reinigung der Oberfläche mit einem Volkmann'schen Löffel in toto entfernt und das Pustelgewebe mit sterilisiertem Wasser und Glycerin

zur Emulsion verrieben. Die so gewonnene Lymphe wurde am 29. Oktober auf ein Kalb mit ausgezeichnetem Erfolg verimpft; es wurde am 2. November eine grosse Menge Lymphe aus Pusteln gewonnen, welche nur geringe Randröthe zeigten und strotzend entwickelt waren; die am 4. November vorgenommene Untersuchung wies 132 500 Keime nach. Diese Lymphe zeigte bei ihrer Anwendung auf Kinder eine sichere kräftige Wirkung, die Reaktion war aber von der gewöhnlichen in keiner Weise verschieden.

Von dem oben erwähnten Impfkalbe waren einige, getrennt vom Gesamtmaterial entnommene, besonders reaktionslose Pusteln, verrieben, auch ebenso für sich auf Kinder verimpft worden. Von den mit dieser ausgewählten Lymphe geimpften Kindern, wurden wiederum bereits am sechsten Tage, als noch keine Röthung in der Umgebung eingetreten war, die Pusteln mit dem Löffel ausgekratzt und verrieben. Und nun wurde mit dieser Lymphe genau der erste Versuch wiederholt, auch mit demselben Erfolge.

Daraus ergab sich für mich das Resultat, dass man durch Selektion derjenigen Pusteln, welche selbst keine Randröthe zeigen, doch nicht im Stande ist, eine Lymphe zu erzielen, welche einen möglichst reaktionslosen Impfverlauf bei den mit ihr geimpften Kindern gewährleisten kann, und dass es fernerhin ganz gleichgültig ist, ob man hierbei humanisirte oder animale Lymphe verwendet.«

---

## VI. Einfluss der Individualität des Impflings auf die Reaktionserscheinungen.

---

In den Versuchen des vorangehenden Kapitels war ein Fingerzeig gegeben, dass hinsichtlich der Reaktion die persönliche Empfänglichkeit des Impflings sehr in Betracht kommt. Dass diese unter sonst gleichen Verhältnissen (Impftechnik etc.) ausschlaggebend ist und nicht die Beschaffenheit der Lymphe von angenommener starker oder schwacher (reizloser) Wirkung, wurde in exakter Weise von Dr. Freyer durch eine zweckdienliche und glücklich gewählte Versuchsanordnung bewiesen.

Dr. Freyer ging so vor, dass er jedes Kind auf beiden Armen mit verschiedenen Impfstämmen impfte, und zwar wurden immer Stämme ausgesucht, von denen der eine bei vorher geimpften

Kindern starke Entzündung gemacht, der andere von völlig reizlosem Verlauf begleitet war. Gab es nun überhaupt eine »reizlose« oder »stark reizende« Lymphe, so musste dies in einem Unterschied der Reaktionserscheinungen auf beiden Armen zum Ausdruck gelangen. Die Versuche ergaben jedoch auf beiden Armen immer den gleichen Grad der Reaktion. »Dieselbe Lymphe,« sagt Dr. Freyer, »die bei dem einen Kinde starke Reizerscheinungen gemacht hatte, ergab bei dem anderen gar keine Randröthe, und wenn die eine Lymphsorte auf dem einen Arm eine starke Randröthe erzeugte, so that dies auf dem anderen Arm ebenfalls die andere Lymphsorte, die bei dem früheren Kinde gar keine Randröthe gemacht hatte. Die entzündliche Reaktion auf die Impfung ist also eine durchaus individuelle.«

---

## VII. Einfluss der Konzentration des Impfstoffs auf die Reaktionserscheinungen.

---

Nach diesen Beobachtungen war es nahe gelegt, die Ursache der unterschiedlichen Häufigkeit der Reizerscheinungen nach Thier- oder Menschenlymphe, statt in qualitativer in quantitativer Beschaffenheit zu suchen, welche auch bereits bei der sedimentirten und centrifugirten Lymphe insofern mitspielte, als diese ihrem Wesen nach verdünnte Lymphen darstellen. Auf Vorschlag des Geh.-R. Koch wurden nunmehr bestimmte Verdünnungen der Thierlymphe hergestellt und zum Gegenstand der Prüfung gemacht. Die thatsächliche Grundlage für seine Auffassung der thierischen Lymphe als eines verhältnissmässig zu konzentrirten Impfstoffes, entstammte dem Vergleich des Variola-Kranken mit dem Vaccinirten. Bei ersterem sind die einzelnen Pusteln verhältnissmässig klein und durchschnittlich von gleicher Grösse, meist ohne entzündlichen Hof. Die Gleichmässigkeit ihrer äusseren Beschaffenheit und Vertheilung über den Körper musste dem Bakteriologen den Gedanken nahe legen, dass jedes einzelne Bläschen vielleicht aus nur je einem Pockenkeim hervorgegangen sei. Dem gegenüber weist der Vaccinirte auf dem in der üblichen Weise angelegten Schnitte eine Reihe von mehreren, drei oder vier Einzelpusteln auf. So kommt es, dass das, was der Impfarzt bei seiner Statistik nur als eine Pustel rechnet, in Wirklichkeit ein Konglomerat von Pusteln ist, die,

in einander übergehend, einen schwereren örtlichen Entzündungsreiz darstellen als die spontane Variolapustel. So gelangte Koch zu der Vorstellung, dass die Thierlymphe einen verhältnissmässig zu konzentrirten, d. h. an Vaccinekeimen reicheren Impfstoff darstelle. Indem er nun durch Verdünnung der thierischen Lymphe diese Eigenschaft zu beseitigen strebte, stellte er als die ideale Lösung der Frage das Problem auf, diejenige Verdünnung zu finden, bei welcher jede Pustel auch nur einem Keim ihre Existenz verdankt. Die Praxis freilich musste diese Anforderung dahin ermässigen, die Verdünnung ausfindig zu machen, welche auch in den Händen ungebübter Impfärzte noch gute Durchschnittsresultate ergäbe.

Sehr förderlich war diesen Untersuchungen, dass Dr. Vanselow bereits über recht ermuthigende derartige Versuche verfügte, die er selbstständig vor Beginn der Kommissionsarbeiten rein empirisch begonnen hatte und bei denen er bis zu einer  $\frac{1}{100}$  fachen Verdünnung gelangt war, ohne Schnittausfall bei Erstimpfungen.

Dass auch dieser Methode der Verdünnung der Vorthheil einer bedeutend grösseren Ausnutzung des Impfstoffs inne wohnt, liegt auf der Hand.

Die nunmehr in grösserer Zahl vorgenommenen Impfungen mit verdünnter Lymphe wurden nach folgenden Gesichtspunkten ausgeführt:

1. Feststellung des für die Praxis zulässigen Grades der Verdünnung und zwar nach der Wirksamkeit bei Erst- und Wiederimpfungen.
2. Einfluss der Verdünnung auf die Reizerscheinungen.
3. Haltbarkeit der verdünnten Lymphsorten bezüglich ihrer Wirksamkeit.
4. Der nach der Verimpfung verdünnter Lymphe erzielte Grad des Impfschutzes.

Als Verdünnungsmittel kam nur ein Wasser- und Glyceringemisch zur Verwendung.

1. Bezüglich des zulässigen Verdünnungsgrades hat sich gezeigt, dass bei Erstimpfungen noch mit einer frischen 2000fachen Verdünnung Schnitterfolge erzielt werden können (Schulz), doch schwächen sich die stärksten Verdünnungen sehr bald ab. Ein gutes Gesamtbild von der Wirkung der verschiedenen Verdünnungsgrade giebt die Tab. 13 auf S. 42, welche nach den umfangreichen statistischen Angaben des Dr. Freyer zusammengestellt ist.

Tabelle 13.  
Impfungen mit verdünnter Lymph. Stettin.

Zahl der verschiedenen Lymphesorten	Alter der Lymph. in Tagen	Grad der Verdünnung	Art der Impfung	Zahl der Erstimpfinge	Persö- neller Erfolg	Schnitte	Pocken	Pockenform	Entzündliche Reaktion
5	6—39	1 : 10	übliche Schnitte von 1 cm	15	15	75	72	einmal abortiv, dreimal kleine, sonst gut oder vorzüglich	meist mässig oder gering, einmal ausgedehnt.
	32—35	1 : 10	kleine Schnitte	8	8	40	37	gut	fünfmal starke oder intensive Röthung.
	32	1 : 10	flache Stiche	3	3	15	14	einmal abortiv, sonst klein aber gut	einmal starker Hof.
14	11—46	1 : 20	übliche Schnitte von 1 cm	8	8	40	36	meist vorzüglich, aber klein	einmal starker Hof, sonst der Grösse der Einzelpocken entsprechend.
	11—39	1 : 20	kleine Schnitte	5	5	25	25	gut bis vorzüglich	einmal sehr stark.
	11	1 : 20	flache Stiche	3	3	15	15	vorzüglich	einmal stark, sonst entsprechend der Grösse der Einzelpocken.
3	24	1 : 30	übliche Schnitte	3	3	15	15	gut	mässig.
14	11—46	1 : 40	übliche Schnitte	8	8	40	37	theils klein, theils mäss. grossod. vorzügl.	dreimal stark. Einzelhof, sonst mässig oder fehlend.
	32—39	1 : 40	kleine Schnitte	4	4	20	19	meist vorzüglich	dreimal ziemlich oder mässig stark.
	11—32	1 : 40	flache Stiche	2	2	11	11	einmal abortiv	einmal stark um jede Einzelpocke.
4	39	1 : 50	übliche Schnitte	4	4	20	8	klein	nur gering.
	32—53	1 : 50	kleine Schnitte	5	4	25	19	"	zweimal stark oder intensiv roth.

10	24—46 4	1:60	übliche Schnitte	4	4	20	klein bis vorzüglich sehr gut	einmal stark. einmal ziemlich stark, ent- sprechend der Grösse der Einzelpocken. Desgl.	
		1:60	kurze Schnitte	3	3	14			
		1:60	flache Stiche	3	3	15	sehr gut		
11	6—24	1:80	übliche Schnitte	8	8	33	einmal abortiv, 3 un- regelmässig, zweimal vorzüglich sehr gut	einmal sehr intensive Röthung.	
		1:80	kleine Schnitte	3	3	15	sehr gut	mässig stark und stark ent- sprechend der Ausbildung der Pocken.	
5	39—60 32 60	1:100	übliche Schnitte	3	2	5	klein	angedeutet.	
		1:100	kleine Schnitte	1	1	5	vorzüglich	gering.	
		1:100	flache Stiche	1	1	1	unvollständig	wie vom vierten Tage.	
2	25	1:120	übliche Schnitte	2	2	10	klein, unregelmässig	mässig.	
Wiederimpflinge.									
9	11—39	1:10	übliche Schnitte	7	6	27	dreimal gut, dreimal unvollständig	viermal ausgedehnte Röthung bis zum Ellenbogen resp. Handgelenk, selbst bei we- niger entwickelten Pocken.	
		1:10	kleine Schnitte	1	1	2	länglich	Röthung 6 1/2 bis 5 cm.	
		1:10	flache Stiche	1	1(?)	1	klein, rund	6 1/2 bis 8 cm.	
1	39	1:20	übliche Schnitte	1	1(?)	1	—	—	
1	11	1:40	übliche Schnitte	1	1	5	gut	Röthung bis zum unteren Drittel des Oberarmes.	
1	39	1:50	übliche Schnitte	1	0	0	—	—	
1	17	1:60	übliche Schnitte	1	1	4	Halbpocken	Röthung bis 5 cm oberhalb des Ellenbogens herabreichend.	
1	11	1:80	übliche Schnitte	1	1	5	nach 14 Tagen	gut abgetrocknet.	
2	39	1:100	übliche Schnitte	2	0	0	—	—	

Dr. Freyer kommt auf Grund seiner Beobachtung zu dem Schlusse, dass bei der zehnfachen Verdünnung nicht minder wie bei den übrigen, und bei der Schnittmethode, gleichviel ob grosse oder kleine Schnitte, wie bei der Stichmethode<sup>1)</sup> die Ausbildung der einzelnen Pocken vielfach nicht die entsprechende Grösse erreicht hat, sondern kleiner ausgefallen ist, oft zackig-länglich, oft klein und rund geblieben ist. Bei vergleichender Impfung eines Armes mit gewöhnlicher, des anderen mit verdünnter Lymphe gewinnt es den Anschein, als ob letztere schwächer und langsamer wirkt. Ganz sicher ist dies der Fall, wie im Institut für Infektionskrankheiten vielfach gesehen wurde, bei Wiederimpfungen; hier waren Abortivformen und erheblicher Schnittaussfall bei allen Verdünnungen über 1 : 10 hinaus sehr auffällig, während die gleichzeitig verimpfte gewöhnliche Lymphe durchschnittlich gute Resultate ergab. Auch Dr. Schulz sah bei Wiederimpfungen nach Verwendung mittlerer Grade mehrfach Misserfolge, wo die Kontrollimpfung noch Pusteln erzielte. Nach den Erfahrungen im Institut scheinen sich jedoch die von verschiedenen Kälbern stammenden Lymphsorten nicht gleich zu verhalten, da eine von den benutzten Lymphsorten stärkere Verdünnung vertrug als die übrigen. Die Beobachtungen sind noch nicht abgeschlossen.

Im Allgemeinen schien der für die Praxis brauchbare Grad zwischen 10 und 20facher Verdünnung zu liegen. Zu der endgültigen Beurtheilung werden im grossen Maassstab ausgeführte Impfungen erforderlich erachtet. Demgemäss sind bereits in diesem Jahre Lymphen von bestimmten Verdünnungen von einigen staatlichen Lymphgewinnungs-Anstalten ausgegeben worden. Die so gewonnenen Erfahrungen werden voraussichtlich eine ausreichende Unterlage für die Entscheidung bieten.

2. Wie weit die Reizerscheinungen durch die Verwendung der verdünnten Lymphe im Ganzen gemildert werden, lässt sich endgültig noch nicht beurtheilen; für eine Milderung derselben spricht sich Dr. Vanselow auf Grund eigener Erfahrung und von anderen Impfähzten eingesandter Berichte aus. Doch hat er stärkere Grade ebenfalls gesehen. Dr. Schulz glaubt einen durchgreifenden

---

<sup>1)</sup> Die Stichmethode ist bei den Versuchen mit den verdünnten und geklärten Lymphen wiederholt angewendet worden, als besonders geeignet, über die Haftbarkeit dieser Aufschluss zu geben. Die Resultate waren so befriedigende (vgl. auch Tab. 13 und 14), dass eine Wiederaufnahme dieses Verfahrens seitens der Impfähzten in grösserem Umfange, unter Umständen (vgl. d. f. Kap. üb. d. Einfluss d. Schnitttechnik) nicht ausgeschlossen erscheint.

Unterschied gegenüber der gewöhnlichen Lymphe nicht konstatiren zu können, während Dr. Freyer, wie auch seine Tabelle erkennen lässt, ebenfalls wiederholt und namentlich bei Wiederimpflingen die üblichen starken Formen der Röthung und Schwellung selbst bis zum Handgelenk nicht vermisste. Da mit der verdünnten Lymphe oft eine verlangsamte Pustelbildung und verminderte Grösse derselben verknüpft ist, so wird man sich bei der Beurtheilung der Reizerscheinung vor dem Fehler hüten müssen, dieselbe nur am siebenten oder achten Tage feststellen zu wollen. In Bezug auf beide Punkte ist noch bemerkenswerth, dass Dr. Freyer die Ausdehnung des entzündlichen Hofes von der Ausbildung der Pocke abhängig gefunden hat. Auch dies wird zu berücksichtigen sein.

3. Die Dauer der Wirksamkeit der verdünnten Lymphe ist verschieden bestimmt und von zwei Umständen hauptsächlich abhängig gemacht worden. Nach den Erfahrungen von Dr. Vanselow hat sich eine 50fach verdünnte Lymphe drei Monate lang unverändert gut gehalten. Dr. Schulz giebt an (vergl. Tab. 14), dass die Schnelligkeit der Abnahme dem Verdünnungsgrade entspricht, während Dr. Freyer weniger das Alter als das wiederholte Oeffnen der betreffenden Tube schädlich befunden hat.

Es würde dieses Moment gegebenen Falls von Einfluss für den Zeitpunkt der Bereitung der betreffenden Verdünnung sein können. Auch hierüber muss die Erfahrung entscheiden. Die Versuche sind derart eingeleitet, dass in dem Berliner Institut die Verdünnung erst unmittelbar vor der Abgabe, in den beiden anderen zu Stettin und Köln, schon bei der Gewinnung des Rohstoffes vorgenommen wird.

4. Bereits bei der centrifugirten und sedimentirten Lymphe, die ja auch als stärkere Verdünnung aufzufassen sind, wurde die Frage aufgeworfen, ob die mit verdünntem Impfstoff erzielten Pusteln dem Impfling ausreichenden Schutz gewähren. Auch für die verdünnte Lymphe mussten derartige Bedenken experimentell geprüft werden. Durch drei im Institut für Infektionskrankheiten vollzogene erfolglose Nachimpfungen mit gewöhnlicher Lymphe bei Kindern, die drei Wochen vorher mit centrifugirter Lymphe erfolgreich geimpft waren, ist das Vorhandensein eines genügenden Impfschutzes nach dieser Lymphsorte festgestellt worden. Ueber entsprechende Nachprüfung in Stettin wird von Dr. Freyer berichtet:

„Bei sechs Erstimpflingen, die alle mit Erfolg geimpft worden und bei denen auf 60 Schnitte 46 Pocken entstanden, war die Nachimpfung nach 13—49 Tagen ohne Erfolg.

Tabelle 14.

Wirksamkeit verschieden verdünnter Lymphe mit besonderer Berücksichtigung des Alters. Berlin.

Kalb No.	Verdünnung	Alter Tage	I. Erstimpflinge				II. Wiederimpflinge			
			Schnittzahl	Pusteln	Stichzahl	Pusteln	Kinder	Schnitte	Pusteln	Nachimpfung
88	1 : 400	2	15	15	15	15	—	—	—	—
		9	9	8	9	7	—	—	—	—
		16	—	—	6	5	—	—	—	—
		23	—	—	6	5	—	—	—	—
		51	3	0	—	—	—	—	—	—
88	1 : 200	2	18	18	6	6	—	—	—	—
		9	9	9	9	9	—	—	—	—
		16	6	6	3	3	—	—	—	—
		23	—	—	6	5	—	—	—	—
		30	—	—	6	6	—	—	—	—
		37	—	—	—	—	2	12	0	—
51	3	2	—	—	1	6	0	erfolgr.		
88	1 : 100	2	15	12	9	9	—	—	—	—
		9	9	9	9	9	—	—	—	—
		16	6	6	3	3	—	—	—	—
		23	—	—	6	6	—	—	—	—
		30	—	—	6	5	—	—	—	—
		51	3	3	—	—	1	6	0	erfolgr.
72	—	—	3	3	—	—	—	—		
88	1 : 50	2	15	15	9	9	—	—	—	—
		9	9	9	9	9	—	—	—	—
		16	9	9	3	3	—	—	—	—
		23	—	—	6	5	—	—	—	—
		30	—	—	6	6	—	—	—	—
72	—	—	3	3	—	—	—	—		
88	1 : 25	2	15	15	9	9	—	—	—	—
		9	6	6	12	10	—	—	—	—
		10	6	6	3	3	—	—	—	—
		23	—	—	6	6	—	—	—	—
		30	—	—	3	3	—	—	—	—
58	—	—	3	3	—	—	—	—		
88	1 : 12,5	2	15	15	9	9	—	—	—	—
		9	9	9	9	8	—	—	—	—
		23	—	—	6	5	—	—	—	—
		58	—	—	3	3	—	—	—	—
Kalb 1 Retrovaccine	1 : 2000	5	3	3	—	—	—	—	—	—
		17	3	0	—	—	—	—	—	—
Kalb 1 Retrovaccine	1 : 1000	5	3	3	—	—	—	—	—	—
	1 : 500	5	3	2	—	—	—	—	—	—
Kalb 2	1 : 100	8	6	6	3	3	2	12	0	—
		15	—	—	3	1	1	3	1	—
		22	—	—	6	6	1	3	2 rudim.	—
		29	—	—	6	6	—	—	—	—
		36	—	—	6	5	1	6	2	—
Kalb 2	1 : 50	8	—	—	3	3	—	6	2	—
		15	—	—	3	2	—	3	1 rudim.	—
		22	—	—	6	6	—	3	0	—
		29	—	—	6	6	—	—	—	—
		36	—	—	6	4	—	6	2	—

Bei einem Erstimpfling, bei dem die Impfung auf 10 Schnitten nur eine Pocke ergeben hatte, ergab die Nachimpfung nach sieben (!) Tagen auf zehn Schnitten zehn Pocken.

Bei zwei Wiederimpflingen mit zwei bzw. einer Pocke auf je zehn Schnitten ergab die Wiederimpfung nach 13—14 Tagen keinen Erfolg; bei einem Wiederimpfling, ohne Erfolg geimpft, ergab die Wiederholung der Wiederimpfung nach sieben Tagen auf sechs Schnitten noch drei Pusteln.“

Hiernach ist es wahrscheinlich, dass in der That die verdünnte Lymphe, wenn nur die genügende Anzahl von Pusteln hervorgebracht ist, den gleichen Impfschutz verleiht wie die unverdünnte, gewöhnliche Lymphe. Die am siebenten Tage ausgeführte, erfolgreiche Nachimpfung spricht nicht hiergegen, da allgemein zu dieser Zeit beim Impfling die immunisirende Wirkung der Lymphe noch nicht abgeschlossen ist. Dies scheint vielmehr erst etwa 14 Tage nach der Impfung erreicht zu sein<sup>1)</sup>. Diese Versuche über den Impfschutz nach Impfung mit den verschiedenen Lymphesorten sind nicht abgeschlossen, sondern bilden noch Gegenstand der Arbeiten der Kommission.

Soweit die bisherigen Befunde bei der Verwendung verdünnter Lymphe eine Folgerung gestatten, lassen dieselben folgende Beurtheilung zu:

In Rücksicht auf die Sicherung eines ausreichenden Erfolges bei dem öffentlichen Impfgeschäft, darf voraussichtlich ein Verdünnungsgrad von 1 : 20 nicht überschritten werden. Die Pustelbildung ist charakterisirt durch theils langsamere Entwicklung, theils durch Zurückbleiben oder Abweichung von der normalen Gestalt und Grösse. Auf den üblichen 1 cm-Schnitt entstehen nicht 4—6 gleich gute zusammengedrängte Pusteln, sondern abhängig vom Verdünnungsgrad weniger, und diese mehr oder weniger isolirt. Die entzündlichen Erscheinungen sind auch bei verdünnter Lymphe und namentlich bei Wiederimpflingen in gewohnter Stärke und Ausdehnung beobachtet; ob eine durchschnittliche Verminderung derselben erzielt werden kann, bleibt weiteren Ermittlungen vorbehalten.

Hinsichtlich des Impfschutzes besteht anscheinend kein Unterschied zwischen der verdünnten und unverdünnten Lymphe.

---

<sup>1)</sup> Vergl. S. 26, die Angaben über das Kreisen des Impfstoffes im Thierkörper.

## VIII. Einfluss der Schnitttechnik auf die Reaktionserscheinungen.

---

Das gesteckte Ziel, jede Vaecinepustel von nur einem Keim ausgehen zu lassen, ist im Institut für Infektionskrankheiten auf Anregung von Herrn Geh.-R. Koeh unter bestimmten Modifikationen in der Anlage und Ausdehnung der Impfsehnitte bei Verimpfung verdünnter Lymphe angestrebt worden. Die Veranlassung hierzu boten einige Beobachtungen bei der durch Aufnahme von Variolakranken nothwendig gewordenen allgemeinen Durehimpfung der Patienten und Angestellten des Instituts. Da als Impfstoff u. A. auch centrifugirte und sedimentirte Lymphe zur Verwendung kam, deren Wirkung zu der Zeit noch nicht völlig bekannt war, so sollten bei diesen Lymphsorten möglichst viele und ausgedehnte Impfschnitte angelegt werden, um auf jedem Falle die nöthige Pustelzahl zu erzwingen. Hierbei ergab sich, dass die stärksten Reaktionen überall da auftraten, wo die Impfsehnitte entweder besonders lang oder sehr nahe bei einander geführt und dem zu Folge die Anzahl und Anhäufung der Pusteln sehr gross war.

Unter Verwerthung dieser Beobachtung wurden verdünnte und gewöhnliche Versandlymphe zwecks Vergleich in der Weise gleichzeitig verimpft, dass bei der ersteren möglichst kleine Schnitte in thunlichst grossen Abständen von einander angelegt, bei letzterer die gewöhnlichen 1 em-Schnitte dicht bei einander gesetzt wurden. So sollte der Gegensatz zwischen der wahren Einzelpoeke und der zusammengesetzten Einzelpoeke so scharf wie möglich dargestellt werden.

Insgesamt wurden bei dieser und den folgenden Versuchsreihen 107 Personen, überwiegend Wiederimpflinge, geimpft.

Allgemein wurde hierbei die Erfahrung bestätigt, dass bei Wiederimpfungen die verdünnte Lymphe in den mittleren Graden über 1:15 hinaus bemerkenswerthen Schnittausfall ergibt. Auch kam es öfter zur Bildung abortiver oder unregelmässiger Formen.

Was die Reizerscheinungen anlangte, so ergab sich auch bei diesen Impfungen ihre Abhängigkeit von der Individualität des Impflings, da sie, einbegriffen die Schwellungen der Achseldrüsen, stets beiderseitig auftraten oder fehlten. Nur in einer Beziehung kam ein Unterschied deutlich zur Geltung. Wo eine Neigung zu entzündlicher Reaktion bestand, da waren die örtlichen Veränderungen und die subjek-

tiven Beschwerden viel intensiver auf der Seite der gedrängt stehenden Pusteln als auf derjenigen der isolirt verbliebenen. Es liess sich also durch Isolirung der Pusteln zwar nicht die entzündliche Reaktion als solche vermeiden, wohl aber die Zusammendrängung der Entzündungshöfe auf eine relativ kleine Fläche, wodurch Schmerzhaftigkeit der Impfstelle, verminderte Bewegungsfähigkeit des Armes, Schwellung und stärkere Röthung des Pustelbodens nebst Umgebung, sowie einige male relativ stärkere Schwellung der Achseldrüsen dieser Seite verursacht wurde. Es ist dies ohne Weiteres verständlich, sobald man berücksichtigt, dass die wahre Einzelpocke unter Umständen schon einen Hof von 5—6 cm Randröthe hat. Selbst bei der Vertheilung der fünf Pusteln über den ganzen Oberarm nach beifolgendem Schema (Fig. 2) wird dann ein Zusammenfliessen benachbarter Pockenhöfe eintreten.

Die weiteren Impfungen wurden so ausgeführt, dass in der einen Gruppe von Impfungen, unter Beibehaltung der verschiedenen Schnittführung und Stellung auf beiden Armen, verdünnte Lymphe allein, in einer zweiten Gruppe ganz ebenso unverdünnte Lymphe auf den Einfluss der Schnittanlage geprüft wurde.

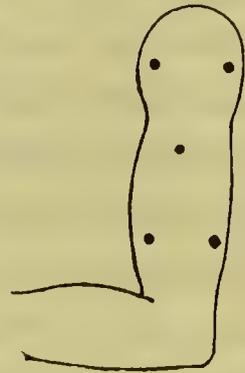


Fig. 2.

Die Resultate waren ganz die gleichen, obwohl der Unterschied nicht immer so ausgeprägt erschien, wie in der ersten, oben beschriebenen Versuchsreihe. Die Gründe dafür waren einmal, dass bei Anwendung verdünnter Lymphe in Gruppenschnitten nicht aus jedem Schnitt mehrere Pocken hervorgingen und andererseits, dass es bei unverdünnter Lymphe wiederum sehr schwierig ist, auch bei ganz kleinen Schnitten wahre Einzelpocken zu erzielen. Hierdurch schlägt bei der verdünnten Lymphe sehr oft die beabsichtigte Konfluenz, bei der unverdünnten die beabsichtigte Erzielung einer Einzelpocke fehl und trübt dadurch den Vergleich.

Im Uebrigen liessen aber auch diese Versuche, mitunter besonders deutlich, erkennen, dass die Reizerscheinungen durch Konfluenz der Pusteln wesentlich erhöht werden und weiter, dass der vorgeschriebene Abstand von 2 cm zwischen den Impfschnitten meist nicht ausreicht, diese Konfluenz und damit das Uebergreifen eines Entzündungsgebietes in das benachbarte zu verhindern.

Hierin wäre also, in Verbindung mit der Benutzung entsprechender Verdünnung der Lymphe, eine Möglichkeit gegeben, durch die oben beschriebene Aenderung der Schnittanlage eine sehr wesentliche Milderung der Reizerscheinungen zu bewirken.

Die Kommission fand schliesslich Gelegenheit, die Richtigkeit ihrer gewonnenen Erfahrungen neuerdings auch unter Benutzung einer von anderer Seite hergestellten, bakterienarmen und bakterienfreien Thierlymphe und zwar der sog. »reinen animalen Lymphe« von Dr. Landmann zu erproben.

Der Genannte behauptet im Verfolg seiner früher erwähnten Publikation (S. 4) in der diesbezüglichen Veröffentlichung<sup>1)</sup>, dass die Reizerscheinungen durch die Bakterien der Lymphe, speziell durch die Staphylokokken und Streptokokken bedingt sind und giebt weiter an, dass es ihm zwar nicht gelungen sei, durch Zusatz chemischer Mittel dauernd eine praktisch brauchbare Lymphe zu erzielen, wohl aber durch eine unter strengster Asepsis durchgeführte Rückenimpfung des Kalbes. Die so gewonnene Lymphe sei ganz bakterienfrei, zum mindesten aber frei von schädlichen Bakterien und werde im Grossen von der chemischen Fabrik von Merck in Darmstadt dargestellt und verkauft.

Bei Verwendung dieser »reinen« animalen Lymphe und Benutzung eines besonders sterilen Messers für jeden Impfling, dessen Haut an der beabsichtigten Impfstelle mit Aether und Watte gründlich abgerieben werden müsse, würden die Reizerscheinungen und Wundinfektionen ausbleiben.

Dr. Landmann knüpft also hiernach das Auftreten von Reizerscheinungen ausschliesslich an die Bakterien, welche sich in der Lymphe befinden, neben denjenigen, welche von Aussen in die Impfwunden gelangen können. Als alleiniges Mittel zur Gewinnung bakterienfreier Lymphe wird die unter strengster Asepsis durchgeführte Rückenimpfung bezeichnet.

Dr. Landmann hat in dankenswerther Weise zweimal Proben seiner Lymphe bereitwilligst zur Verfügung gestellt, welche der Untersuchung durch den Referenten mit folgendem Ergebnisse unterzogen worden sind.

Die erste Probe traf am 28. Mai 1896 ein. Sie war in fünf Glaskapillaren enthalten und hatte das Aussehen einer gleichmässig feinen, grauweissen Emulsion, in der gröbere Flocken nicht vorhanden schienen und deren Konsistenz vielleicht etwas dünnflüssiger war als die der gewöhnlichen Glycerinlymphe. Doch liess sich dieser Punkt bei dem engen Lumen der einzelnen Kapillaren nicht sicher genug beurtheilen.

---

<sup>1)</sup> Hyg. Rundschau. VI. 1896. No. 10.

Bei der unter peinlichen Vorsichtsmassregeln vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung auf frischem Glycerintraubenzuckeragar ergab sich ein durchschnittlicher Keimgehalt von 400 Keimen im ccm Lymphe, unter denen sich nach den weiteren Kulturversuchen *Staphylokokkus albus* und *aureus* überwiegend befanden. Die Lymphe erwies sich somit weder bakterienfrei, noch frei von Eitererregern.

Die Verimpfung geschah genau nach Vorschrift unter gründlichster Desinfektion der Impfstellen mit Aether und unter Verwendung eines sterilen Messers für je einen Arm, welches unmittelbar vor der Impfung dem Alkoholbehälter entnommen und in Handwärme über der Spiritusflamme getrocknet wurde.

Zur Kontrolle wurde jeder Impfling auf dem anderen Arm mit gewöhnlicher, stark bakterienhaltiger Lymphe aus der Berliner Anstalt geimpft. Doch war bei beiden Lympharten die Schnittanlage so gewählt, dass die Landmann'sche Lymphe in reichlicher Menge und nahe bei einander stehenden Gruppen von Kritzelschnitten, die Berliner Lymphe in möglichst weit von einander entfernten, kaum  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{4}$  cm langen Schnittchen verimpft wurde.

Die hier beschriebene Versuchsanordnung wurde auch bei den nachfolgend noch zu schildernden Impfungen beibehalten, um der bakterienfreien Lymphe die nach den Ergebnissen der Kommission günstigsten Bedingungen zur Erzeugung von Reizerscheinungen zu verschaffen.

Zu einem Studium der Reizerscheinungen kam es jedoch bei der ersten Versuchsreihe nicht, da diese erste Landmann'sche Lymphsendung sich bei sechs Erstimpflingen als absolut unwirksam erwies und keine einzige Pustel erzeugte. Die Berliner Lymphe dagegen war voll wirksam und bewies somit, dass nicht Unempfänglichkeit der Kinder vorlag.

Der nahe liegende Schluss war, dass es sich hier um eine, wahrscheinlich durch das Alter unwirksam gewordene Lymphe handeln könne.

Die zweite Probesendung des Dr. Landmann traf am 17. Juni d. J. mit dem Bemerken ein, dass »auch er eine bedeutende Abschwächung der erstgesandten Lymphe in letzter Zeit bemerkt habe und deshalb eine zweite Probe derselben, aber weniger stark verdünnten Lymphe übersende, welche am 10. Juni d. J. bei Erstimpflingen gute Resultate ergeben hätte, jedoch für Wiederimpflinge auch schon zu sehr abgeschwächt sei«.

Mit der Einschlebung dieses neuen Momentes der Abschwächung und Verdünnung der Lymphe wurde die bemerkte Unwirksamkeit der ersten Lymphprobe und die Beurtheilung der »reinen« animalen Lymphe überhaupt auf eine wesentlich andere Grundlage gestellt.

Dass durch Verdünnung eine dem Grad derselben entsprechende Bakterienverminderung der Lymphe herbeigeführt wird, und dass es möglich ist, auch mit einer hochgradig verdünnten Lymphe noch Impfwirkung zu erzielen, ist durch die Erfahrung der Kommission bereits zweifellos festgestellt. Die Mittheilung über diese Versuche der Kommission ist bereits gelegentlich der Interpellation über den Landmann'schen Vortrag (auf der Naturforscher-Versammlung zu Lübeck) in der Sitzung des Preussischen Abgeordnetenhauses, durch die Erklärung des damaligen Regierungsvertreters Geh. M.-R. Dr. Schmidtman am 11. März d. J.<sup>1)</sup> bekannt gegeben. Dass sich Dr. Landmann dieses Verfahren der Kommission zu eigen gemacht hat, war bisher aus den Veröffentlichungen<sup>2)</sup> und Angaben desselben nicht zu ersehen, noch auch zu erwarten.

Die bakteriologische Prüfung der zweiten Probe, deren Aeusseres dem der ersten nahezu gleich war, ergab etwa den doppelten Keimgehalt, darunter abermals Staphylokokkus albus, aureus, diesmal entsprechend reichlicher.

Die Verimpfung auf drei Erstimpflinge fand in derselben Weise unter Zuziehung der Berliner Kontroll-Lymphe statt. Bei zwei dieser Impflinge musste jedoch von Kritzelschnitten abgesehen werden. Die Resultate sind in der Tabelle 15 S. 54/55 enthalten. Es ergibt sich daraus, dass diese Lymphe zwar wirksam war, sich jedoch nach Entwicklung, Schnittaussfall und Gestalt der Pusteln als eine verdünnte Lymphe erwies, deren Verdünnungsgrad nach den diesseitigen Beobachtungen etwa auf 1 : 100 geschätzt wurde. Ein Unterschied der Reizerscheinung zu Gunsten der Landmann'schen Lymphe konnte von keinem der diese Impfungen kontrollirenden, zahlreichen Institutsärzten bemerkt werden. Im Gegentheil zeigte sich auch hierbei der Einfluss der Konfluenz der mit Landmann'scher Lymphe erzeugten Pustel in den stärker auftretenden Entzündungserscheinungen (vgl. No. 7).

---

<sup>1)</sup> Stenographische Verhandlung des Hauses der Abgeordneten vom 11. März 1896. 40. Sitzung. S. 1297—99. Also grade zwei Monate vor dem Erscheinen der Landmann'schen Veröffentlichung.

<sup>2)</sup> Hyg. Rundschau 1895, V. No. 21 und VI. 1896. No. 10.

Während dieser Zeit erschien die Ankündigung der Firma Merck betreffend die nach Landmann'schen Verfahren hergestellte reine animale Lymphe »Merck«.

Um eine Durchschnittsprobe zu erhalten, wie sie an Aerzte abgegeben wird, erlangte das Institut für Infektionskrankheiten durch Vermittlung eines Berliner Kollegen eine Probe dieser bakterienfreien Merck'schen Lymphe. Dieselbe war auf der Umhüllung als bakterienfrei bezeichnet und erwies sich auch bei der kulturellen Untersuchung thatsächlich als bakterienfrei. Hiermit war nun endlich Gelegenheit gegeben, die Richtigkeit der Landmann'schen Behauptungen mit seinem eigenen Material zu prüfen. Ueber die Impfungen und deren Ausfall im Einzelnen giebt die beigefügte Tabelle 16 S. 56/57 Aufschluss<sup>1)</sup>.

Der Gesamteindruck ging dahin, dass auch diese Lymphe in ihrer Wirkung abgeschwächt war<sup>2)</sup>, ob allein durch Verdünnung, entzieht sich der Beurtheilung. Daneben fiel ein zeitlich schnelles Nachlassen der Wirksamkeit auf. Wo Reizerscheinungen sich zeigten, traten sie ganz gleichartig beiderseits auf, ja der Zufall fügte es, dass gerade zwei von den mit Merck'scher bakterienfreier Lymphe erzeugten Pusteln eitrig wurden und eine Reinkultur von Staphyl. aur. enthielten, während die anderseitigen Pusteln normal abheilten und steril blieben.

Bezüglich der Einzelheiten wird auf die beigefügten Protokolle verwiesen. Als Gesamtergebnis ist hervorzuheben: auch die bakterienfreie Lymphe macht ganz dieselben Reaktionserscheinungen, wie die stark bakterienhaltige.

Somit haben auch diese letzten Versuche die in den vorstehenden Ausführungen begründete Auffassung der Kommission wiederum bestätigt und die gegentheiligen Anschauungen des Dr. Landmann widerlegt.

---

Die praktischen Folgerungen für das Impfgeschäft und die Erzeugung der Thierlymphe lassen sich in folgenden Schlusssätzen zusammenfassen:

---

<sup>1)</sup> Der Verlauf der Pustelbildung, Vergleich der Reizerscheinung, Achseldrüsen-schwellung u. s. w. stand auch hier unter Kontrolle von Geh.-R. Koch und zahlreichen Institutsärzten.

<sup>2)</sup> Aus den der Merck'schen Lymphe beigegebenen Druckanlagen geht hervor, dass die Firma für Erstimpflinge eine schwächere Lymphe vorsieht als für Wiederimpflinge, indess ohne Angabe, wie die Abschwächung bewirkt wird.

Tabelle 15.

Datum	No.	Kind	Alter	Lympe und Links-Schnitte	Pusteln	Lympe und Rechts-Schnitte	Pusteln	Bemerkungen
29. V.	1	A. Binder	7 Monat	Berliner Lympe 4	4 gute	Landmann'sche Lympe, Sendung vom 27. V. 5 Gruppen von Kritzelschnitten	0	
29. V.	2	O. Stephan	6 Monat	Berliner Lympe 4	4 gute, drei davon doppelt	do.	0	
29. V.	3	L. Feldheim	1 Jahr 4 Monat	Landmann'sche Lympe, Sendung vom 27. V. 4	0	do.	0	Bei diesem Kind ist auf beiden Armen die Landmann'sche Lympe geprüft worden. Am 13. VI. ist dieses Kind auf beiden Armen mit der Berliner Lympe mit vollem Schnitt- erfolg nachgeimpft.
3. VI.	4	G. Gebler	9 Wochen	Berliner Lympe 3	3	Landmann'sche Lympe, 4 lange Schnitte	0	
3. VI.	5	P. Neugebauer	6 Wochen	Berliner Lympe 2	2	Landmann'sche Lympe, 5 Kritzelschnitten	0	
13. VI.	6	F. Leder	3 Monat	Berliner Lympe 4	3	Landmann'sche Lympe, 4 lange Schnitte	0	

Rechts: Landmann'sche Lympho vom 16. VI. Links: Berliner Lympho vom 16. VI.

Datum	No.	Kind	Alter	Links-Schnitte	Pusteln	Rechts-Schnitte	Pusteln	Verlauf und Randröthe
18. VI.	7	E. Märker	5 Monat	3	3	2 Kritzelgruppen	2	26. VI. Pockengröße beiderseits fast gleich, links etwas grösser; schwache Röthung beiderseits. 29. VI. Pocken links von der Grösse eines 10 Pfennigstückes, rechts wenig kleiner und confluierend; Randröthe links fehlend, rechts 1 cm um beide Pocken, die auf infiltrirtem Grunde stehen. 10. VII. Pocken beiderseits verschorft, im Abheilen.
22. VI.	8	G. Michaelis, Erstpfling	5 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> Jahr	3, 1 cm	3 zusammengesetzt aus gleichgrossen Einzelpusteln	3 1 cm	3 zusammengesetzt aus kleineren (abort.) und normalen Pusteln, an Zahl geringer wie links	30. VI. Links gut entwickelte Pocken, rechts durchschnittlich kleiner; Randröthe beiderseits deutlich 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> cm, beiderseits Achseldrüsen geschwollen. 2. VII. Pocken rechts deutlich kleiner; Randröthe beiderseits gleich, 1 cm.
22. VI.	9	F. Michaelis, Erstpfling	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Jahr	3, 1 cm	3 zusammengesetzt wie oben	3 1 cm	2 wie oben	Entwicklung der Pocken, Grössenverhältnisse und Randröthe beiderseits wie oben bei No. 8, ebenso die Achseldrüsenanschwellung.

Tabelle 16.

## Rechts: „Reine animale Lympho Merk“. Links: Berliner Lympho vom 15. VI.

Datum	Kind	Alter	Links-Schmitte	Pusteln	Rechts-Schmitte	Pusteln	Verlauf der Pustelbildung und Randröthe.
1. VII.	H. Zlaesen	7 Monat	3	3 (Einzel-) Pusteln	5	3 confluierend	10. VII. Pusteln beiderseits gleich gross. Beiderseits geschwollene Achseldrüsen und 1 1/2 ccm Randröthe. 11. VII. Röthung beiderseits ablassend. Die Pusteln rechts eitrig getrübt. Im Eiter Staphyl. aur. reichlich und in Reinkultur. 13. VII. Pustel rechts noch eitrig, links eintrocknend ohne jede Röthung auf indurirtem Boden mit schmalem rothen Saum. 14. VII. Pusteln beiderseits verschorrend, links deutlicher; auf dem rechten Arm ein maserähnliches Exanthem. Verlauf links ohne Röthung bei normaler Grösse und Pustel-Eintrocknung.
1. VII.	W. Leichmann	4 Wochen	3	2	5	0	10. VII. Pusteln links gut; Röthung 1 1/2 ccm, rechts ungleich; 1 grosse normale, Röthung 1 ccm, 1 kleinere, Röthung 1/2 ccm. Beiderseits geschwollene Achseldrüsen.
1. VII.	E. Kullmann	1 Jahr Erstimpfling	3	3 (eine doppelt)	5	2	11. VII. Röthung links abnehmend, rechts eher stärker geworden; die kleinere Pustel hat sich vergrössert. Im Pustelinhalt wenige Kolonien von Staphyl. albus.



I. Für das Impfgeschäft:

1. Eine ursächliche Beziehung zwischen den Bakterien der Lymphe und den Reiz- und Entzündungsercheinungen beim Impfling besteht nicht. Die durch spezifische Bakterien bedingten erysipelatösen und phlegmonöse Entzündungen nach der Impfung sind als accidentelle Schädlichkeiten und sekundäre Wundinfektionen aufzufassen, die, soweit der Impfarzt und der Impfstoff dabei in Frage kommt, vermieden werden können.

Die Schädigungen, die im Anschluss an die Impfung erwachsen aus unzweckmässigem Verhalten des Impflings oder dessen Pflegern, in Bezug auf Lebensweise, Sauberkeit, Bedeckung und mechanische Insulte der Impfstelle, werden selbstverständlich durch gute Lymphe und vorschriftsmässige Ausführung der Impfung nicht berührt.

2. Die Reizerscheinungen hängen ab a) von der Individualität des Impflings, b) von der Konzentration der Lymphe, d. i. dem Gehalt an wirksamem, bisher unbekanntem Impfagens, c) von der Operationstechnik.

II. Für die Erzeugung der Thierlymphe:

1. Durch die gebräuchlichen Methoden der Impfstoffgewinnung ist auch unter Anwendung der Antiseptik, unabhängig von der Auswahl der Impffläche (Rückenimpfung, vgl. Tab. 8), eine nennenswerthe Verminderung, geschweige denn eine Beseitigung der Bakterien nicht zu erreichen. Als beste Methode dieser Art hat sich die beschriebene (vgl. S. 23 ff.) Kombination von Antiseptik mit Deckverband bewährt.

2. Eine bedeutende Verbesserung in der äusseren Beschaffenheit und Reinheit der Lymphe lässt sich durch die Methoden der blutfreien Gewinnung, Sedimentirung, Centrifugirung und Verdünnung bewirken. Durch die so erzeugte Lymphe kann voller Impfschutz erzielt werden.

3. Die Anzüchtung reizloser Lymphstämme erweist sich als unausführbar.

Mit den vorstehenden Berichtausführungen ist das Arbeitsprogramm der Kommission keineswegs als abgeschlossen zu betrachten.

Immerhin erschien es gerechtfertigt, mit den bisherigen Ergebnissen hervorzutreten, da dieselben insbesondere geeignet sind, die schweren Angriffe zu entkräften, welche in neuerer Zeit seitens der Impfgegner auf Grund der von ärztlicher Seite behaupteten Beziehung zwischen dem Bakteriengehalt der von den staatlichen Instituten zur Gewinnung des thierischen Impfstoffs abgegebenen Lymphe und den Impfschädigungen erhoben worden sind.

---



