

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenhygiene in Hamburg.
Vorstand: Med.-Rat Prof. Dr. Nocht.

Chlamydozoa.

I.

Zusammenfassende Übersicht.

Von

Dr. S. Prowazek.

(Hierzu 11 Textfiguren.)

In den nachfolgenden Zeilen soll über eine Reihe von pathogenen Mikroorganismen berichtet werden, deren systematische Stellung bis jetzt noch nicht vollkommen geklärt ist, die aber nach ihrem biologischen Verhalten, nach ihrer zum Teil intracellulären Entwicklung (Vermehrung, Ruhestadien bei der Vaccine) und ihrem Verhalten zu gewissen Stoffen wie Galle und taurocholsanerem Natrium (mit Ausnahme von Hühnerpest) zu den Protozoen eine größere Verwandtschaft zu besitzen scheinen als zu den Bacterien. Diese Mikroorganismen führen einen höchst eigenartigen, ungemein weit angepaßten Parasitismus; zum Unterschied von den Bacterien antwortet die Wirtszelle auf die Invasion des Virus mit der Produktion von sehr charakteristischen spezifischen Reaktionsprodukten, die morphologisch zumeist durch Farbstoffe der Gruppe der Kernfarbstoffe (Chromatine und Nucleine) deutlich nachweisbar sind. Durch Übertragung auf andere Wirtstiere gewinnen sie dauernd andere biologische Eigenschaften (mutieren, mitigieren) und prägen andererseits den Wirtstieren selbst andere Eigenschaften (Allergie, Überempfindlichkeit) auf.

Es sind dies die Erreger der Variola, Vaccine, des Scharlach, der Lyssa, Hühnerpest, des Trachom, Molluscum contagiosum, des Epithelioms der Vögel, der Karpfenpocke, die Lippenkrankheit des Barben (KEYSSELITZ), der Gelbsucht der Seidenraupen und vielleicht der Hundestaupe (LENTZ), sowie der Maul- und Klauenseuche (nach den Mikrophotogrammen von SIEGEL sind in den Zellkernen der Zellen stark vergrößerte Nucleolarkörper).

Zur näheren Orientierung sollen hier zunächst in Kürze die bisherigen Ergebnisse der eigenen und fremden Untersuchungen, die sich auf das Virus der genannten Krankheiten beziehen, in allgemeinen Zügen mitgeteilt werden.

Das fragliche Virus greift während einer mehr oder weniger langen Dauer seines Verweilens im Wirtsorganismus in erster Linie die Wirtszellen selbst an und wird zum Teil in ihnen lokalisiert — bei der Vaccine, dem Trachom, Epitheliom, Molluscum, der Karpfenpocke und dem Scharlach vermehrt es sich zunächst in den Zellen selbst. Mit Sicherheit sind bei den bakteriellen Erkrankungen intracellular nur die Leprabacillen nachgewiesen worden, obzwar auch hier noch die Möglichkeit der Phagocytose von SUDAKEWITSCH gegen BABES vertreten wird. Das Vorkommen der Gonocokken in Zellen wird wohl jetzt allgemein als ein Akt von Phagocytose gedeutet.

Die Wirtszellen antworten auf die Invasion des Virus der angeführten Krankheiten mit einer Hyperproduktion von besonderen, morphologisch differenzierten Substanzen der Zelle, die mit Kernsubstanzen ziemlich nahe verwandt sind. Bei Trachom, Vaccine, Epitheliom, zum Teil bei der Karpfenpocke sind die Reaktionssubstanzen mit den Nucleolarsubstanzen verwandt, sie färben sich mit GIEMSA'S Eosinazur bläulich oder blauviolett, mit HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin trotz weitgehender Differenzierung dunkel-schwarz und mit der Bayrischblau-Boraxkarmin-Methode von LÖWENTHAL blau (Karpfen-Vaccine und Taubenpockenkörperchen). Die Vaccinereaktionsprodukte färben sich mit Methylgrünessigsäure nach Art der Kernsubstanzen (diese Methode ist für eine Schnelldiagnose bei Kaninchencorneaimpfungen zu empfehlen, allerdings ist nach GALEOTTI und NERESHEIMER der angeführte Farbstoff kein abschließliches Kernreagenz.) Sie widerstehen längere Zeit der Trypsin und Pepsinverdauung, werden durch 20 proz. Kochsalzlösung stark

deformiert und schließlich größtenteils gelöst; dasselbe gilt von einer Behandlung mit 40proz. Pottaschelösung und verdünnter Kalilauge. Osmiumreaktion, die Berlinerblanmethode von LIST sowie die Chromatinmethode von SCHWARZ (1 Vol. 10proz. Blutlangensalzlösung, 2 Vol. Wasser, $\frac{1}{2}$ Vol. Eisessig) lieferten keine Resultate. Bei der Vaccine, zum Teil bei der Karpfenpocke und dem contagiösen Epitheliom der Vögel beteiligen sich an ihrem Aufbau zweifelsohne auch echte Chromatinsubstanzen, wie durch Färbungen mit reinen basischen Kernfarbstoffen bei simultanen, progressiven Färbungen jederzeit nachgewiesen werden kann. Bei der Tollwut und Hühnerpest (SCHIFFMANN) scheinen allerdings die fraglichen Reaktionskörper in einem noch lockereren Verwandtschaftsverhältnis zu den Nucleolar-substanzen der Kerne zu stehen.

KLEINE, der Entdecker der spez. Reaktionsprodukte bei der Hühnerpest im Gehirn der Gänse, vergleicht dieselben mit Zellkernen, die infolge einer pathologischen Veränderung ihre normale Färbbarkeit eingebüßt haben. Nach SCHIFFMANN sind dieselben dicht homogen, hyalin, färben sich mit Triacid leuchtend rot, mit Eosin rot. mit der MANN'schen Färbung rot bis violett, nach der PAPPENHEIM'schen Tinktionsmethode nehmen sie einen violetten Farbenton an. Die Körperchen der Hühnerpest im Hirn der Gänse entstehen zuerst in den Zellen, ältere Stadien trifft man entweder in Zellfortsätzen an (Fig. 1a) oder sie liegen ganz frei. In ihnen sind 1—3 dunkelrot färbbare, kernähnliche Einschlüsse nachweisbar, die wiederum dunklere Granulationen enthalten, daneben fallen mit Triacid grünlich verfärbte Körperchen, die vermutlichen Erreger auf. Im Gehirn der Hühner fand ich vom zweiten Tage ab in nach GIEMSA gefärbten Tmpfpräparaten 1—2 μ große, ovale, rosa gefärbte Gebilde, die intensiv gefärbte, manchmal hantelförmig sich teilende Körper enthielten. In stark verdünnten Blut- und Gallenstrichen, die nach LÖFFLER gefärbt wurden, finde ich ab und zu ähnliche, nur nackte Körper von mehr unbestimmtem Aussehen. Als echte Degenerations- und Reaktionsprodukte fasse ich demgegenüber die roten coccenartigen Einschlüsse in den Endothelzellen der Hirngefäße sowie in ähnlichen Zellen des peripheren Blutes und der Milz auf. In der Niere gehen viele Zellkerne unter piknotischen Erscheinungen zugrunde. Über die Befunde bei der Hühnerpest soll später berichtet werden. Beim Molluscum contagiosum beteiligt sich an ihrem Aufbau stark verändertes Protoplasma, das anfangs nach Art von Centrosphären in der Nähe des Zellkernes auftaucht; später kann man in der erkrankten Zelle mehrere ähnlich geartete Protoplasma-

inseln nachweisen, die zusammenfließen und das Gerüstplasma zu einem mit Methylenblau färbbaren (UNNA) Netzwerk zusammendrängen. Mit Jod werden diese Einschlüsse gebräunt und verblassen in Ätzkali. Peripher wird das Zellplasma gleichfalls verdichtet und bildet später um die Degenerationsherde eine Art von Kapselmembran. Der Zellkern wird plattgedrückt, zur Seite geschoben und degeneriert schließlich. Die Amyloid- und Fettreaktion fiel bei den fraglichen Körpern negativ aus. Bei der Gelbsucht der Seidenraupen sind sie, wie im folgenden noch näher ausgeführt werden soll, biokristallinischer Natur.



Fig. 1.

Schnitt mit zwei Hühnerpestkörpern (a u. b) und einem Zellkern (rechts). In den 1—2 kernähnlichen Einschlüssen der Hühnerpestkörper liegen neben dunklen Granulationen mehrere mit Triacidgrün gefärbte Körper (Erreger?). Hirn der Gans. (ZEISS Oc. 12, hom. Imm. 2 mm). Gez. von Herrn CLASSEN.

Diese Reaktionsprodukte sind, was ihre Anordnung, ihr Aussehen und ihr färberisches Verhalten anbetrifft, für die betreffenden Krankheiten, deren Ätiologie bis jetzt noch zum Teil ins Dunkel gehüllt ist, spezifisch (jede Art von Körperchen besitzt färberisch leicht feststellbare Differenzen).

Die erwähnten typischen Reaktionsprodukte, die in den erkrankten Zellen auftreten, werden zumeist nach ihren Entdeckern benannt; bei Vaccine und Variola heißen sie GRARNIER'SCHE Körperchen, bei Lyssa NEGRIS'SCHE Körperchen, beim Scharlach MALLORY'S Cyclosterium, bei der Gelbsucht der Seidenraupen BOLLE'S

polyedrische Körperchen; dagegen heißen sie beim Molluscum nur Molluscumkörperchen, beim Epitheliom, bei der Hühnerpest und der Karpfeupocke haben sie meines Wissens bis jetzt keinen besonderen Namen erhalten. Bei der nervösen Staupe hat LENTZ (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV p. 378 1907) „außerhalb der Ganglienzellen oder im Inneren von stark destruierten Zellen eigenartige Reaktionsprodukte“ nachgewiesen. Bezüglich der Maul- und Klauen-seuche möchte ich auf die Photogramme 1, 2, 3 in SEGEL'S „Untersuchungen über Ätiologie der Maul- und Klauen-seuche“ Anhang 3 z. d. Abhandl. d. königl. pr. Akad. der Wiss. 1905 hinweisen; vielleicht handelt es sich hier um ähnliche Dinge.

Was die Lokalisation dieser Reaktionsprodukte anbelangt, so kommen sie im allgemeinen in den Zellen des Ectoderms vor (Epithelien: Vaccine, Scharlach, Molluscum contagiosum, Trachom, Epitheliom der Vögel. Gehirn: Tollwut, Hühnerpest und Staupe). Die polyedrischen Körperchen kann man nach BOLLE sowohl im Fettgewebe, im peritrachealen Gewebe, in den Speicheldrüsen, in den Zengungsorganen der Raupe, in der Muskelschichte des Eierstocks und des Eileiters der kranken Raupen und Schmetterlinge nachweisen.

Bei der Karpfeupocke hat LÖWENTHAL die spezifischen Reaktionsprodukte im Kern der Wirtszelle beobachtet, über analoge Befunde bei der Gelbsucht der Seidenraupen soll später berichtet werden; bei der Vaccine, Epitheliom der Hühner, Trachom und Molluscum contagiosum treten sie neben dem Kern, diesen mitunter eindellend oder zur Seite drängend, auf. Extracellulär kommen sie nach SCHIFFMANN bei der Hühnerpest und nach eigenen Beobachtungen beim Scharlach im Bindegewebe vor.

Immerhin glaube ich trotz der Konstanz im Auftreten dieser Reaktionsprodukte sowie trotz ihrer bereits betonten Spezifität sie nicht als die eigentlichen Erreger der genannten Krankheiten aus folgenden Gründen auffassen zu dürfen:

I. Bei der Vaccine kann man sie mit 10—20proz. Kochsalzlösungen bis auf unbedeutende Reste zum Verschwinden bringen oder mit noch konzentrierteren Lösungen gänzlich auflösen und doch mit dem derart vorbehandelten Material mit Erfolg Impfungen vornehmen. Dieselben Resultate erzielt man nach einer 24stündigen Trypsin- und Pepsinverdauung.

II. Bei der Vaccine oder bei der Gelbsucht der Seidenraupen kann man mit einem stark verdünnten Material (1 : 1000), das vorher genau mikroskopisch durchgesehen worden ist und in dem man

keine GUARNIERI'schen beziehungsweise polyedrischen Körperchen nachzuweisen in der Lage war, mit positivem Erfolg impfen.

III. Bei der Tollwut fehlen die NEGRI'schen Körperchen in sicher virulentem Material, sie sind nach SCHIFFMANN bezüglich ihrer Größe und Struktur von der Tierart abhängig und fehlen bei Virus fixe. Ihre Verteilung steht noch D'AMATO und NITSCH nicht im Einklange mit der Virulenz der einzelnen Hirnteile.

IV. Man kann mit stark verdünnten Wutgiftemulsionen, die lange Zeit zentrifugiert worden sind, mit Erfolg Infektionen vornehmen, während in der zentrifugierten Flüssigkeit selbst keine NEGRI'schen Körperchen, die offenbar als schwerere Gebilde aus der Emulsion herausgeschlendert wurden, nachweisbar sind.

V. Schließlich spricht auch das Aussehen und die Struktur dieser Körperchen gegen die Annahme, daß sie Protozoen sind; sie besitzen keine Protoplasmastruktur, sind hyalin, ziemlich homogen und unterliegen Veränderungen, die man eher als mannigfache Degenerationsprozesse von Zelleinschlüssen als eventuelle Entwicklungsstadien eines Protozoons auffassen muß.

Die Forschung nach der Natur der Erreger der angeführten Krankheiten hat bis jetzt wegen der minutiösen Kleinheit derselben nur langsame Fortschritte gemacht; immerhin ist es in einigen Fällen gelungen, die fraglichen Erreger auf gewissen Stadien sichtbar zu machen. Bis jetzt kann man aber diese Erreger nicht recht morphologisch voneinander unterscheiden, doch sei daran erinnert, daß wir derzeit die Tuberkel- und Leprabacillen sowie die verschiedenen Trypanosomen (mit Ausnahme von *Tryp. Lewisi*, *dimorphon* eventuell auch *Dourine-Trypanosoma*) gleichfalls nicht in diesem Sinne voneinander zu sondern vermögen. —

Bei der Vaccineerkrankung der Kaninchencornea konnte ich in den Epithelzellen und zwar seltener in den GUARNIERI'schen Körperchen, die ich entschieden als Reaktionsprodukte der Zelle auf die Virusinvasion auffasse, dagegen häufiger im Zellprotoplasma der Epithelien in kleinen Alveolen ovale bis runde Körperchen — die sog. Initialkörper — nachweisen. In einzelnen Fällen vermehrten sie sich durch eine hantelförmige Durchschneidung. Auch eine Art von Sporenstadien wurde beobachtet. Dieselben Körper beobachtete PASCHEN, HARTMANN und MÜHLENS, die letzteren Autoren nehmen von ihnen an, daß sie „vielleicht den Träger des Virus darstellen“.

PASCHEN, der sich durch viele Jahre hindurch eingehend mit dem Vaccineproblem beschäftigt und sich um die Erforschung der Pocken-Ätiologie besondere Verdienste erworben hatte, konnte in der klaren Lymphe aus den Pusteln der Kindervaccine zahllose kleine Körperchen feststellen; daneben fand er „Körperchen, die sich scheinbar in der Mitte spalten, jede Hälfte mit einem fädigen, äußerst feinen Fortsatz, durch den sie am Ende noch verbunden sind; diese Hälften schlagen auseinander, indem die Fäden noch in einem Punkte verbunden sind“, schließlich „kleine Körperchen mit eben sichtbarem fädigen Fortsatz“.

Ähnliche Körper findet V. BABES bei der Tollwut: „Auf Grund dieser Befunde kann man mit einem gewissen Grade von Wahrscheinlichkeit annehmen, daß bestimmte, bei Wut auftretende feinste Körperchen, welche sich nach CAYAL-GIEMSA schwarz oder blau färben und ausschließlich im Inneren des Cytoplasmas der entarteten Nervenzellen in den am meisten ergriffenen Stellen des Nervensystems gefunden werden, die Parasiten der Wut im aktiven Zustande darstellen, während die NEGRI'schen Körperchen, welche bei Wut öfters fehlen, in auch sonst weniger ergriffenen Gegenden des Centralnervensystems sitzen und mit den hauptsächlichsten Symptomen der Wut nicht eng zusammenhängen, wohl nicht die aktiven Wuterreger sind.“

NEGRI und VOLFINO konnten außerdem in den NEGRI'schen Körperchen selbst und zwar in besonderen Alveolen derselben kleine Microorganismen tinktoriell sichtbar machen, in denen sie einen chromatinartigen, kernähnlichen und einen protoplasmatischen Bestandteil zu differenzieren vermochten. Ähnlich lauten die Mitteilungen von MARESCIL, D'AMATO, BANDINI, BOHNE, SCHIFFMANN, LOWDEN, LENTZ u. a. m. Diese Körperchen lagen in einigen Fällen in symmetrischer, charakteristischer Anordnung um einen centralen undifferenzierbaren Körper, aus dem sie anscheinend durch eine multiple Teilung entstanden sind. Diese intrakorpuskulären Körper gehören zweifelsohne in den Entwicklungskreis der freien Körperchen, die BABES im Zellprotoplasma zuerst beschrieben hatte. Bei der Vaccine und beim Scharlach habe ich ähnliche Bilder beobachtet. Nach den Untersuchungen von HALBERSTAEDTER und mir, die im Dezember 1906 an Trachomkranken (Malayen, Javanen) in Java und später von mir auf Sumatra sowie in Hamburg (das Material verdanke ich Herrn Dr. SCHULZ) angestellt worden sind, ist das Trachom eine Epithelerkrankung der Conjunctiva; die Zellen werden vergrößert, das Virus vermehrt sich in ihnen sehr stark und

bringt sie zum Platzen und überschwemmt dann das Sekret. Auf diese Weise kann die Infektion ohne Zwischenwirte durch Tücher, Handtücher, Schwämme und Kleider rein mechanisch vermittelt werden. Einzelne freie Körperchen können dann sekundär beim Ansstrich auch in die Follikeln, die (nach meiner Ansicht mit Unrecht) als ein Hauptcharakteristikum des Trachoms angesehen werden, gelangen. Die Bildung der Follikel ist wohl nur als eine sekundäre Nachkrankheit der lebhaften Epithelwucherung und der damit verbundene Blntstase anzusehen. In Follikelansstrichen findet man natürlich auch Epithelzellen, in denen dann die typischen Veränderungen (Fig. 2) nachweisbar sind. Ich glaube, daß gerade in den Epithelzellen die Infektion einen chronischen Verlauf nimmt. In Conjunctivansstrichen alter Trachomfälle fand ich nur freie Chlamydozoen. In frischen Trachomfällen sowie in Fällen von experimenteller Trachomconjunctivitis der Orang-Utans konnten die einzelnen Entwicklungsstadien des Trachomvirus in folgender Weise festgestellt werden. Zunächst sieht man in den Epithelzellen, zumeist in der Nähe des Zellkernes, mit GIEMSA's Eosinazur im Farbenton der Nucleolen färbbare Körper, die zuweilen zu einzelnen Gruppen

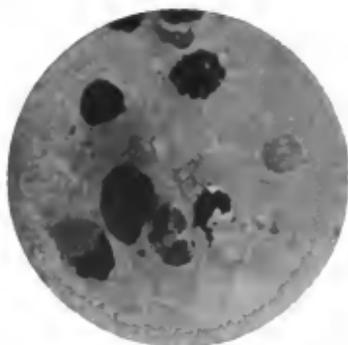


Fig. 2.

Epithelzelle mit Trachomkörperchen aus dem Follikelinhalt einer Javanin.

zerfallen. Bei genauer Differenzierung kann man in ihnen bei künstlicher Beleuchtung (Oc. 12, hom. Immers.) rote oder zumeist rotviolett gefärbte runde, kokkenartige Körperchen nachweisen, die sich durch Teilung vermehren und dann die Form von Diplokokken annehmen. Anfangs sind sie größer, verkleinern sich aber durch die Teilung zusehends; sie sind aber viel kleiner als alle bisher bekannten Diplokokken. Das aus Platinmassen entstehende Reaktionsprodukt der Wirtszelle wird stark aufgebläht, während die Körperchen sich in ihm enorm vermehren. Die Platinmassen zerfallen zu einzelnen Inseln, die schließlich resorbiert werden; neben dem Kern liegen dann in einer Art von Alveole zahllose Körperchen, die später aus der Zelle heraustreten (Fig. 3—6). Da mit vorschreitender Vermehrung die blauen Platinmassen abnehmen, kann man sie

wohl nicht mit einer Art von Zooglea vergleichen. — Diese Gebilde sahen auch GREEFF, FROSCH und CLAUSEN, obzwar sie unzweifelhaft noch andere Mikroorganismen in den Entwicklungskreis dieses Erregers eingefügt haben, vor allem eigenartige, in Leucocyten eingeschlossene

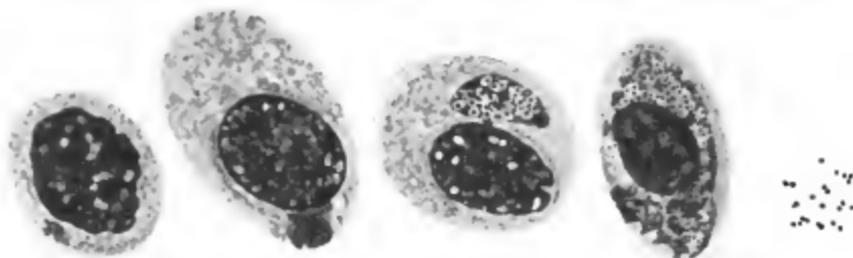


Fig. 3.

Experimentelles Trachom vom Orang-Utan. Alle Entwicklungsstadien der Trachomkörperchen, die die Chlamydozoen einschließen, ferner freie Erreger; einige in Teilung. (Oc. 8, hom. Imm. 2 mm.) Gez. von Herrn STENDER.

diplocokkenartige Lebewesen, die mit dem oben beschriebenen Organismus wohl nichts Gemeinsames besitzen. Beim Scharlach kommen gleichfalls besondere spezifische Reaktionsprodukte vor, die MALLORY

DUVAL und SIEGEL beobachtet hatten. Man findet in den Epithelzellen, und zwar sowohl intra- als extracellulär zumeist in der Nähe des Kernes, mit Eosinazur oder EHRlich's Hämatoxylin mit Azurblau-Nachfärbung darstellbare, ovale oder unregelmäßig gestaltete Körper, in denen dunklere Einschlüsse oder hantelförmige Gebilde gerade noch sichtbar sind. Auf späteren Stadien segmentieren sie gleichsam von der Peripherie an und nehmen etwa die Gestalt eines Chrysanthemes an. Diese Gebilde treten auch zwischen den Zellen und an der Basis der Epidermiszellen im Bindegewebe auf. Wie bei den NEGRI-Körperchen ist in ihrem Centrum ein dunklerer, undifferenzierbarer Körper nachweisbar, peripher liegen kleinere, dunkle



Fig. 4.

Eine Trachomzelle mit Trachomerregern; ältestes Stadium. Ausstrich von der Conjunctiva eines javanischen Knaben. Trachom seit 1 Jahr.

(Oc. 8, hom. Imm. 2 mm.)
Gez. von Herrn STENDER.

Körperchen, die zuweilen hantelförmig annehmen. Sie liegen manchmal auch frei in der Nähe dieser Körper. Es würde also hier ebenso wie bei der Lyssa eine multiple Teilung vorliegen. In Fig. 7 sieht man ein derartiges zerklüftetes MALLORY-Körperchen zwischen den

Epithelzellen, aus ihm treten die vermutlichen Erreger aus; in Fig. 9 und 10 wurden verschiedene Entwicklungsstadien der MALLORY'schen

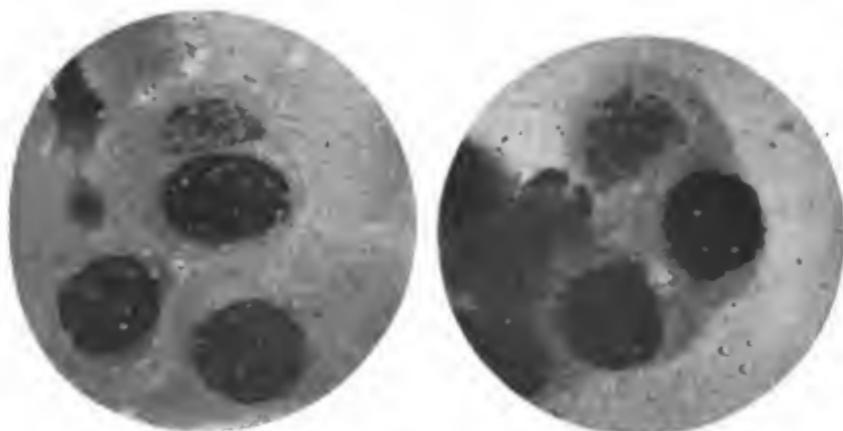


Fig. 5.

Trachomkörper in Epithelzellen (Plastineinschlüsse) mit Trachomparasiten.
(Zeiss hom. Imm. 2 mm, Apochr. Oc. 8; ca. 2000fach vergr.)

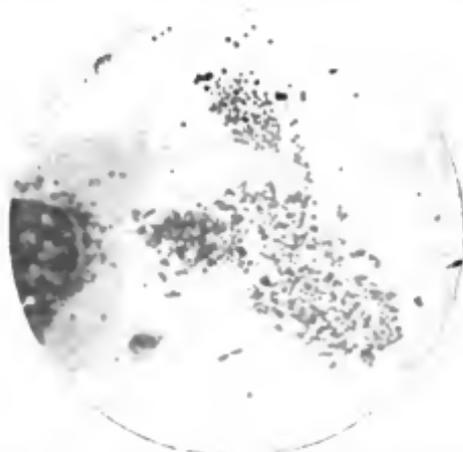


Fig. 6. Freie Trachomchlamydozoen aus einem Conjunctivaansstrich.
(Dazwischen Plastintrümmer.)

Körperchen, die an der Basis des Epithels frei im Bindegewebe liegen, gezeichnet; Fig. 11 stellt ein seltenes, vielleicht sehr weit vorgeschrittenes Stadium dar.

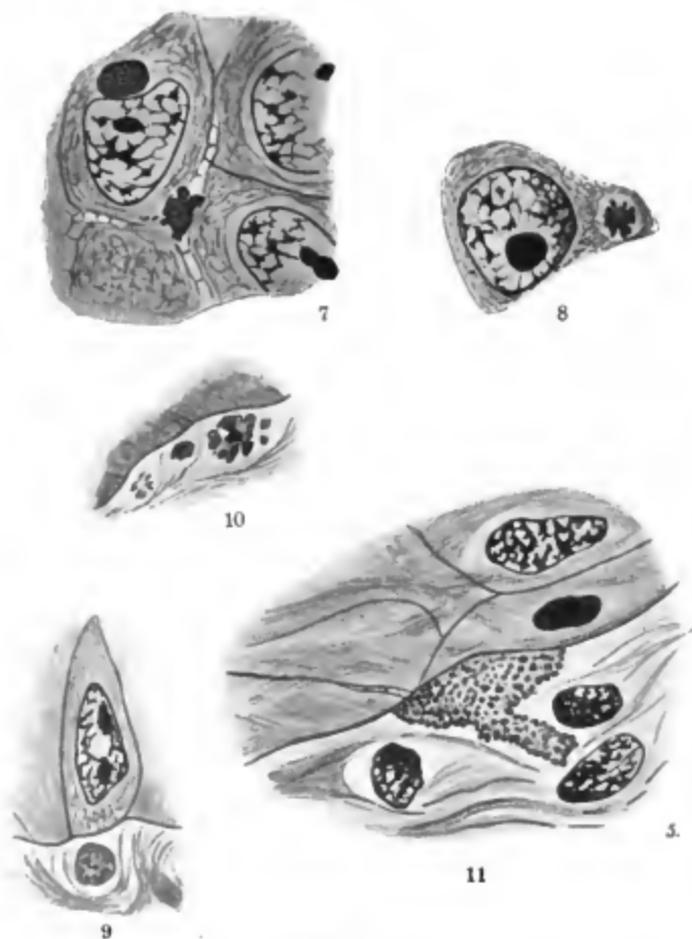


Fig. 7—11.

Schnitte durch die Haut mit MALLORY's Scharlachkörperchen.
(ZEISS Oc. 12, hom. Imm. 2 mm.)

Fig. 7. Ein intra- und ein extracelluläres MALLORY'sches Körperchen, zum Teil mit Chlamydozoen.

Fig. 8. Intracelluläres Stadium von MALLORY's Körperchen; älteres Stadium (Chrysanthemenform).

Fig. 9, 10 u. 11. Freie Körperchen im Bindegewebe an der Basis des Epithels. 9 u. 10 mit Chlamydozoen, die in Fig. 10 um einen centralen dunklen Kern liegen (Chrysanthemenform). In Fig. 11 wurde ein seltenes, etwas zweifelhaftes Stadium abgebildet (Hämatoxylin + Eosin mit GIESSA's Eosinazur nachgefärbt).

Beim *Molluscum contagiosum* konnten analoge Erreger von BORREL, ferner von LIPSCHÜTZ und dann von mir festgestellt werden. LIPSCHÜTZ konnte sowohl ihre Teilung verfolgen als auch gewisse „Anhangsgebilde“ an ihnen feststellen, „die sich im Gegensatz zum rot oder blauviolett gefärbten Körperchen — im LÖFFLER- oder PITSFIELD-Präparat — nur ungemein schwach rosarot oder hellviolett färben“.

Beim Epitheliom der Vögel sah sie zuerst BURNET und beschrieb sie in einer sorgfältigen Arbeit in den *Annales Inst. Pasteur* 1906.

In den Reaktionskörperchen der Karpfenpocke scheint zuerst LÖWENTHAL die eigentlichen Erreger bereits gesehen zu haben; analoge Gebilde konnte ich in nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen aus der Karpfenpocke konstatieren. Bei der Hühnerpest findet man im Gehirn der Hühner längliche, sich teilende, von einer Hülle (1–2 μ) umgebene Körperchen.

Da das Virus teilweise in den Zellen selbst vorkommt und hier die Bildung von besonderen spezifischen Reaktionsprodukten, die es zum Teil sogar einschließen (Vaccine, Molluscum, Trachom, Scharlach, Tollwut, Karpfenpocke), auslöst, nannte ich diese Mikroorganismen provisorisch *Chlamydozoa* ($\chi\lambda\alpha\mu\upsilon\varsigma$, Mantel) und stellte sie zwischen Bakterien und Protozoen, ohne vorläufig etwas Genaueres über ihre systematische Stellung auszusagen. Mit Bakterien sind sie nicht identisch, denn sie kommen auch intracellulär vor und regen die Wirtszellen zur Produktion von besonderen plastinartigen oder chromatiden Reaktionssubstanzen, die selbst beim Parasitismus der Bakterien in Zellen der Wirbellosen (*Blatta*, *Periplaneta* (MERCIER) oder in den Zellen der Malpighischen Gefäße der Wanzen, in Myxomyceten, in Zellkernen der Paramaecien, in *Entamoeba buccalis* etc.) nicht nachweisbar sind. Andererseits sind sie viel kleiner als die bisher bekannten Cokken und Diplocokken und können wie bei Vaccine eine rein cellnläre, streng histogen vorgeschriebene Immunität erzeugen, die in ihrer Eigenart bei Bakterien nicht vorkommt. Durch Galle oder Lösungen von Gallensalzen werden die *Chlamydozoa* (Ausnahme Hühnerpest) im Gegensatz zu den Bakterien (Ausnahme Pneumocokken) ihrer Virulenz beraubt. Immerhin sind dieses nur Indizienbeweise und für diejenigen, die den Satz von KRONECKER „Gott hat die Zahlen geschaffen, alles andere ist Schein“ in „Gott hat Worte und Systeme geschaffen, alles andere ist Trug!“ umdrehen, durchaus nicht ausreichend. —

Vielleicht sind diese Microorganismen irgendwie mit den Para-

siten, die zuerst der allzufrüh der Wissenschaft entrissene PRANTL unter dem Namen *Allogromia* bei *Amoeba proteus* (Archiv f. Protistenkunde Bd. 9) beschrieben hatte, verwandt; auch sei an dieser Stelle auf die Untersuchungen von Riesenkernbildung der *Amoeba vespertilio* von DOFLEIN (Archiv f. Protistenkunde, Supplement I 1907) Taf. 17 Fig. 9—13 verwiesen. Ferner sind vermutungsweise die von RHODE beschriebenen eigenartigen Centrosphären auf eine Invasion irgend eines Virus zurückzuführen.

Die Chlamydozoen sind in erster Linie Zellparasiten, erst später und zwar zum Teil nach Zerstörung der Zellen (Variola-Kollikation der Zellen, Trachom, Scharlach) werden sie frei und überschwemmen die Sekrete, die Lymphe usw. Bei der Vaccine werden sie durch Kollikation und ballonierende Degeneration der an der Pustelbildung befallenen Zellen frei, kreisen aber trotz gegenteiliger Angaben anscheinend nie im Körper der Wirtsorganismen.

Mir ist es nie gelungen mit dem Blut oder den Milz- und Nierenpreßsäften corneal, cutan, selbst subcutan geimpfter Affen (*Macacus*) sowie Kaninchen, die cutan (Ohr) oder intraperitoneal geimpft waren, mit positivem Erfolg Impfungen vorzunehmen.

Bei der Tollwut tritt dagegen das Virus sowohl beim Menschen (VOLPINO, BERTARELLI) als auch bei den Tieren (nach REMLINGER, PACE, KOPPITZ, NICOLAS n. a. m.) im Speichel auf, in der Lymphe wurde es von GALTIER und ROUX, in der Milch von NOCARD, im Hodensekret von BOUCHARD und in einigen seltenen Fällen auch im Blute von KONRADI und MARIE nachgewiesen. Das Scharlachvirus kreist offenbar irgendwie im Körper, wofür auch die morphologischen Befunde sprechen würden. Zum großen Teil intracellulär ist das Virus beim Molluscum und bei der Karpfenpocke. Damit im letzteren Falle das Virus frei wird, müssen die pockenkranken Karpfen in kleinen Winterteichen und Häldern die erkrankten Zellen abstoßen, worauf diese leicht maceriert werden und das Virus freilassen. Künstlich kann man nicht in allen Fällen die Fische mit Karpfenpocke infizieren, das Virus scheint nebstdem eine Entwicklung durchzumachen. Das Taubenpockenvirus kreist nach LÖWENTHAL im Blute und er konnte mit dem Leberbrei erkrankter Tauben intracutan vielfach typische Vogelpocken erzeugen. Das Hühnerpestvirus kreist gleichfalls und ich konnte bereits am zweiten Tage der Infektion sogar mit dem Eiinhalt positiv infizieren.

Der Parasitismus der Chlamydozoen ist besonders fein abgestuft und sie nehmen anscheinend die Nahrungsstoffe der Wirtszelle, die der Kern irgendwie vorarbeitet, direkt in ihre Substanz ohne weitere Präparationen auf — fast verhalten sie sich wie die Chromidien der Wirtszelle. SIEDLECKI (Bulletin de l'Academie des sciences de Cracovie Mai 1907) beschrieb bei der Coccidie *Caryotropha Mesnili* gleichfalls eine unmittelbare Verbindung zwischen dem Kerne des Parasiten und dem der hypertrophierten Wirtszelle (Spermatogonie) in der Leibeshöhle von *Polymnia nebulosa* (MONT). Bei diesem Parasiten wird auch „die Arbeit des Wirtskernes direkt vom Parasitenkerne ausgenützt“, „zwischen dem Coccidiumkerne und jener Stelle der Oberfläche des Parasiten, an die sich der Wirtskern anschmiegt, ist ein Strang von dichtem Protoplasma nachweisbar, in dem zuerst die als Reservestoffe dienenden Fettkörnchen entstehen“. Die vom Wirtskern gelieferten Stoffe werden sehr rasch und leicht assimiliert — die *Caryotropha* wächst rasch heran, die *Chlamydozoa* vermehren sich gleichfalls rapide — und der Stoffwechsel der Wirtszellen scheidet sehr ähnlich wie der der Parasiten zu verlaufen. Auch ist der Stoffwechsel der *Caryotropha* nur an besondere Zellen und zwar die männlichen Samenmutterzellen des Wirtstieres angepaßt, ebenso wie der Stoffwechsel der Chlamydozoa, die zunächst nur in den Derivaten des Ectoderms (Epithelien und Gehirn, ausnahmsweise kommen die GUARNIERI'schen Körper auch in Bindegewebszellen vor) parasitisch leben. Wir sehen hier also ziemlich weitgehende Analogien zwischen dem Parasitismus eines hoch differenzierten Protozoons und der niedrig organisierten Chlamydozoa. — Die Plastinsubstanzen des Wirtskernes, die hypertrophisch werden, können außerdem mit der Produktion von Immunkörpern in Zusammenhang gebracht werden.

Für eine besonders innige Art des Parasitismus sprechen vor allem zwei auch biologisch höchst interessante Tatsachen, und zwar einerseits die Mutationsfähigkeit des Parasiten, andererseits die Erscheinung der Allergie oder Überempfindlichkeit des Wirtstieres selbst.

Was die Mutation des Virus anbetrifft, so ist seit langem bekannt, daß die Variola durch Übertragung an Boviden neue biologische Eigenschaften gewinnt und sie dauernd festhält — aus der Variola wird Vaccine, eine Erscheinung, die ja das Wesen der Pockenschutzimpfung ausmacht. PASTERE hat ferner das ursprüngliche Straßenvirus der Tollwut durch Kaninchenpassagen so weit verändert, daß ca. nach der 50. Passage die Inkubation nur 6 Tage, die HÖGYES und BABES noch herabsetzen konnten, betragen hatte.

PASTEUR nannte dieses neue Virus im Gegensatz zu dem Straßenvirus *Virus de passage* oder *Virns fixe*. Die Virulenzsteigerung dieses Virus ist eine allgemeine; das *Virus fixe* besitzt eine größere Vermehrungsfähigkeit und ist bei subcutaner Injektion für die Menschen unschädlich. Das Virus mutierte hier also in vielen biologischen Eigenschaften. Außerdem fehlen nach SCHIFFMANN und BONGIOVANNI (Centralblatt f. Bakteriologie XLI Bd. 1906) bei den durch *Virus fixe* verursachten Infektionen auch die intracellulären spezifischen Reaktionsprodukte, während sie bei der Straßenvirus leicht und konstant nachzuweisen sind. FURCENKO (Centralbl. f. Bakt. XLIII) beschreibt sie allerdings auch beim *Virns fixe*. Eine nicht so weitgehende Mitigation haben MARX und STRICKER für das Epithelioma contag. der Vögel festgestellt, indem das Taubenvirus durch Hnhupassagen in seiner Virulenz eine Abschwächung für Tauben erlitten hatte. In zwei Versuchen war die Virulenzabschwächung sogar absolut. Auch beim Trachom scheint das Virus durch Übertragungen auf Orang-Utans seine biologischen Eigenschaften (Inkubation, Vermehrungsfähigkeit) zu ändern und man könnte daran denken, diese noch genauer festzustellenden Eigenschaften vielleicht im Sinne einer ätiologischen Therapie zu verwenden. Es sei hier noch erwähnt, daß bei den Orang-Utans-Infektionsversuchen mehrmals Recidive nachgewiesen werden konnten.

Wenden wir unsere Aufmerksamkeit den Erscheinungen der Allergie oder Überempfindlichkeit des Wirtsorganismus zu, so ist zu erwähnen, daß dieselbe zuerst von BEHRING und KRETZ bei gegen Tetanus hoch immunisierten Tieren, die bei neuen Gaben des Infektionsstoffes plötzlich eingingen, beobachtet worden ist. Man nannte dieses widerspruchsvolle Phänomen „paradoxe Reaktion“. Analoge Erscheinungen sind dann in der Folgezeit von COURMONT, STRAUSS, GAMALEIA, BABES, PROCA, MÜLLER und LÖWENSTEIN bei der Tuberkulose, von RICHET bei der Actiniengiftimmunität der Versuchstiere festgestellt worden (Biolog. Centralblatt XXVII Bd. 1907). Die Überempfindlichkeit ist von der Immunität unabhängig; sie tritt bei hoch immunisierten Tieren ein, indem diese auf eine neue Einbringung des Virus rascher in veränderter Weise reagieren. Die sichtbare Reaktion ist offenbar der morphologisch-pathologische Ausdruck für die Verankerung und Vernichtung der Toxine des Virus durch die Immunkörper des Gewebes und Zellen des Versuchstieres. Sie ist der Ausdruck einer neuen Eigenschaft, die das Tier durch die Immunisierung gewonnen hatte. Bei der Vaccine hat zuerst PIRQUET auf die Überempfindlichkeit die Auf-

merksamkeit gelenkt. Durch einmalige Impfung gewinnt der Organismus im allgemeinen eine Immunität, antwortet aber gleichwohl bei einer Zweitimpfung — Revaccination — durch die sog. vaccinale Frühreaktion, die früher als bei der Erstimpfung eintritt. Die geimpfte Stelle ist im Gegensatz zu Kontrollimpfungen mit Glycerin, Galle, zerriebenen Zellen und körperfremdem Serum frühzeitig ödematös, stark gerötet, und die Impfränder sind gewallt; es kommt aber keine Pustelbildung zustande, vielmehr gehen die Erscheinungen zurück und die Stelle schnuppt ab, dagegen bleibt ziemlich lange Zeit eine Art von Narbe oder zumindesten eine dunklere Stelle am Orte der Revaccination zurück. Die Frühreaktion kann auch durch mit Galle (4 Stunden) abgetötetes Virus nach ca. 12 Stunden erzeugt werden. Diese Tatsache ist für eventuell diagnostisch verwertbare Allergieveruche (z. B. bei Syphilis) von Bedeutung (PROWAZEK).

In den Zellen wird auf diese Weise das Antigen des Virus durch die Antikörper des Organismus zerstört. Nach KNÖPFELMACHER reagiert der nicht Vaccinierte auf eine subcutane Injektion verdünnter Vaccine durch eine lokale Reaktion erst nach 12 Tagen, der bereits vaccinierte Organismus schon nach 24 Stunden und zwar selbst dann, wenn die Lymphe durch Erhitzen abgetötet worden ist. Auch die Kaninchencornea gewinnt durch eine einmalige Impfung eine lokale, streng histogene Immunität, so daß an der einmal geimpften Stelle bei einer zweiten Impfung in den Zellen keine GUARNIERI'schen Körperchen mehr gebildet werden. Die Zellen sind im letzteren Fall bloß gequollen und die Kerne zeigen gegen die zweite Impfstelle zu eine Hyperchromasie und treiben stellenweise allerhand chromatische Fortsätze und Lappen. Daß das Gift hier tatsächlich abgebinden wird, beweist folgender Versuch: nach sorgfältiger Waschung der Cornea des wiedergeimpften Kaninchens mit NaCl-Lösung wurde nach $1\frac{1}{2}$ Stunden die etwas trübe Stelle herausgeschnitten und auf die Cornea eines gesunden Kaninchens verimpft. Es erfolgte keine Impfreaktion, mithin ein Beweis, daß das Virus unwirksam geworden ist. Durch wiederholte (Zeitraum von 2 Jahren) Vaccinationen konnte ich die Überempfindlichkeit des Organismus derart steigern, daß er auf Verdünnungen der Vaccinlymphe von 1 : 10000 noch deutlich in der oben beschriebenen Weise im Gegensatz zu den anderen ebenso Vaccinierten reagierte.

Der Organismus hatte also eine neue Eigenschaft, frühzeitig auf neue Virusinvasionen zu reagieren, gewonnen. Vielleicht kann man in der Phylogenie das plötzliche gleichzeitige Auftreten von minutiösen Anpassungen, wie dieses etwa bei den insekten-

fressenden Pflanzen der Fall ist, auf das Erwerben von allergetischen Eigenschaften zurückführen, indem der Organismus zunächst der Schädlichkeit (Faulen der Insekten auf den Blattspreiten) durch eine Art von Immunität Herr geworden ist und nun die Drüsenzellen, Epidermiszellen etc., bei analogen, sich wiederholenden Fällen allergetisch reagierten. Bei einer cellularen (Kaninchencornea) oder histogenen Immunität ist die Eigenschaft der Allergie an das Cytoplasma selbst gebunden und kann so leichter vererbt werden (Kontinuität des Protoplasmas von HATSCHEK).

Es ist hier der Ort noch einige interessante Phänomene der Immunität der Chlamydozoa zu besprechen.

Bei der Vaccine kann man durch Corneaimpfungen eine streng lokale histogene Immunität erzielen (JÜRGENS, PASCHEN, PROWAZEK, KRAUS). Diese örtliche Immunität ist von dem Leucocytengehalt der infizierten Stelle unabhängig, denn durch Opiumbepinselungen kann man die Leucocytenwanderungen zurückhalten, ohne den Ausfall der örtlichen Immunität zu stören. Man kann auch in einem Thermostaten bei Körpertemperatur im herausgeschnittenen Bulbus des Kaninchens in der Cornea die ersten Stadien der GUARNIER'schen Körperchen heranzüchten. Die Produktion der Antikörper möchte ich mit dem Auftreten der GUARNIER'schen Körperchen, die vorwiegend aus platinähnlicher Substanz bestehen, in Zusammenhang bringen. Diese Antikörper sitzen offenbar in den Zellen der Cornea selbst und beeinträchtigen eine eben geimpfte, abgeschabte Cornea erst dann, wenn man die ersteren Zellen mechanisch oder durch Trypsinverdauung aufschließt und mit dem virulenten Material in Kontakt bringt.

Nach dem Vorgang von KRAUS, NOBL und KNÖPFELMACHERS kann man auch mit einer verdünnten Vaccinelympe subcutan immunisieren; nach eigenen an Macacem angestellten Versuchen treten die ersten Antikörper im Serum nach 13 Tagen auf; ihre Anreicherung kann graphisch durch eine Kurve dargestellt werden. Nach 26 Tagen waren im Serum so viel virusstörende Substanzen vorhanden, das die Vaccine durch ihren Einfluß im Experiment vollständig unwirksam geworden war. Trotzdem kreist aber das Virus nicht im Affenkörper, denn mit dem Blut und den Organextrakten der subcutan geimpften Affen konnten in der Kaninchencornea keine Vaccinekörper mehr erzeugt werden. An der Injektionsstelle des Affenarmes traten dagegen nach einigen Tagen breitharte Infiltrate

auf und es ist anzunehmen, daß also im subcutanen Bindegewebe ein vaccinaler Reaktionsprozeß sich abspielte, von wo aus dann die entsprechenden Antikörper in den Kreislauf gleichsam abgestoßen, ausgelaugt worden sind. Diese Annahme stimmt mit den Beobachtungen von HÜCKEL und TYZZER überein, die in Bindegewebezellen GUARNIERI'sche Körperchen nachweisen konnten. Auch mit abgetöteter Vaccinelymphe kann mit Erfolg immunisiert werden. Mir gelang es zwei Affen auf subcutanem Wege mit durch Kaninchen-galle avirulent gemachter Vaccine, die in der Kaninchencornea keine GUARNIERI'schen Körperchen mehr erzeugte, zu immunisieren, zu ähnlichen Resultaten gelangten KRAUS und VOLK mit einer auf 58° durch eine halbe Stunde erwärmten Lymphe. Über Immunisierungsversuche mit durch 1proz. Saponin abgetötetem Virus der Hühnerpest (Blut), worauf durch Gehirnbrei- oder Normalserumzusatz die hämolytische Kraft des Saponins paralytisch wurde, soll später berichtet werden.

Trotz zahlreicher Untersuchungen ist das Wesen der Tollwutimmunität noch immer nicht aufgeklärt, ja es fehlt nicht an Stimmen, die die Vorteile der bisherigen Immunisierungsmethoden in Frage stellen. Allgemein bekannt ist das Immunisierungsverfahren von PASTEUR. Nach zahlreichen Voruntersuchungen wies PASTEUR in Gemeinschaft mit ROUX und CHAMBERLAND nach, daß man das Virus fixe (siehe oben) durch systematische Austrocknung abschwächen kann und daß man, mit dem unvirulenten Mark beginnend, später in entsprechenden Zeiträumen mit dem verschieden abgeschwächten Virus Schritt für Schritt den erkrankten Organismus zu immunisieren in der Lage ist. Dieses Immunisierungsverfahren wurde in der Folgezeit von HÖGYES, BABES, PUSCARIU, TIZZONI und CENTENI, FERRAN u. a. m. manigfach abgeändert.

Frühzeitig wurde aber auch der Versuch gemacht mit vollvirulentem Material unter Darreichung größerer Dosen zu immunisieren. Auf diese Weise konnte 1889 GALTIER, auf intravenösem Wege Herbivoren immun machen. Diese Immunisierung gelingt aber nicht mehr bei Hunden und man mußte daher wiederum zu intravenösen Injektionen mit abgeschwächtem Virus zurückkehren. KRAUS, KELLER und CLAIRMONT konnten ferner den Nachweis liefern, daß das Serum immunisierter Tiere rabid ist und daß das Virus, das einem immunen Tier intracerebral oder intravenös eingeführt worden ist, seiner rabischen Eigenschaften beraubt wird. KRAUS und KREISSL stellten fest, daß nach ca. 3 Wochen rabizide Stoffe im Serum nachweisbar sind. Endlich sei hier der von BABES zuerst ermittelten

Tatsache gedacht, derzufolge Hunde sogar mit normaler Nervensubstanz gegen Tollwut nach und nach immunisiert werden können. FERMI (Centralblatt f. Bakteriologie XLIV Bd. Heft 5 1907) wies später in der Tat nach, „daß die immunisierende Kraft einer Emulsion frischer normaler Gehirnschubstanz jener der nervösen Wertsubstanz gleich war“, diese Beobachtung — ihre Richtigkeit vorausgesetzt — mahnt dringend zu einer Revision der Lyssaimmunität. Auch das Serum von Hunden, die mit Emulsion von normaler und wutkranker Nervensubstanz immunisiert waren, zeigte dieselbe immunisierende Kraft und neutralisierte in gleicher Weise *in vitro* das Virus fixe. Es scheinen hier Analogien zum Sarcosporidiengift, das für Kaniichen ein reines Nervengift ist, vorzuliegen, doch will ich hier der Mitteilung von Herru Dr. SIEBER, der im Institut für Schiffs- und Tropenhygiene (Hamburg) mit der Untersuchung dieses Protozoengiftes beschäftigt ist, nicht vorgreifen.

Die Immunität bei der Hühnerpest scheint sich ähnlich wie bei der Tollwut zu verhalten. KRAUS U. SCHIFFMANN konnten mit dem getrockneten Rückenmark intramuskulär infizierter Gänse andere Gänse, die mit virulentem Mark infiziert waren, schützen. Ferner wiesen sie nach, „daß man die subcutan gegen Hühnervirus unempfindlichen, wohl aber subdural empfindlichen Gänse sicher gegen virulentes, subdural eingebrachtes Mark mit Hühnermark von der Subcutis aus schützen kann“.

Nach LÖWENTHAL besitzen manche Tauben eine natürliche Immunität gegen das infektiöse Epitheliom, auch tritt durch einmaliges Übersteheu der Krankheit eine Immunität, die allerdings bald abnimmt, ein. —

Die Chlamydozoen sind gegen äußere Einflüsse ziemlich resistent. Das Vaccinevirus wird zwar durch Erwärmen auf 60° unwirksam, ist dagegen gegen Austrocknen und niedere Kältegrade unempfindlich (— 15° C). Eine vaccinierte Kaninchencornea wurde einem Druck von 3000 Erg. ausgesetzt, büßte aber dabei ihre Infektiosität nicht ein. — Kältegrade von — 16 bis 35° beeinträchtigen nicht die Virulenz des Tollwutvirus, setzen sie höchstens etwas herab. Nach FROTHINGHAM war eine bei — 4° gehaltene Suspension von Rückenmark eines kranken Hundes noch nach 1 Jahr und 10 Monaten infektiös. dagegen wird das Virus bei + 60° bei Luftabschluß und im Dunkeln nach Roux rasch inaktiv. Scharlach- und Trachomvirus sind gegen Austrocknen ziemlich unempfindlich

und mit 2 Jahre in Zimmertemperatur trocken aufbewahrten Taubenpockenmaterial kann man nach LÖWENTHAL noch mit Erfolg impfen. Bezüglich der Austrocknungsversuche mit Hühnerpestmaterial sei auf die oben erwähnten Untersuchungen von KRAUS und SCHIFFMANN verwiesen.

Nach KEMPNER nimmt die Infektiosität des Tollwutvirus im Lichte wesentlich ab, dagegen wird es nach FRANTZIUS durch Röntgenstrahlen insofern geschwächt, als eine Verlängerung der Inkubationszeit nachweisbar ist.

Glycerinlymphe mit 1% Eosin vermischt und dem hellen Tageslicht (Rovigno) durch 12—24 (12 + 12) Stunden ausgesetzt, wobei der Einfluß der Wärmestrahlen durch Alaullösungen ausgeschaltet wurde, wurde ihrer Virulenz beraubt. Durch die Versuche von TAPPEINER wurde der Beweis erbracht, daß auf diese Weise auch verschiedene Protozoen vernichtet werden. Nach LÖWENTHAL ist das Taubenpockenvirus gegen Radiumstrahlen (5 1/2 stündige Bestrahlung des in Kochsalzlösung verriebenen Materials) resistent. —

SACCO (1890) wies nach, daß die Virulenz der Vaccine durch „gasförmige Säure“ Essig, Ammoniak, Alkohol („rein“) vernichtet wird, während Speichel, Gummiarabicum, Glycerin und verdünnte Ammoniaklösung ihr nicht schaden. Nach meinen Versuchen wird Glycerinlymphe, mit gesättigter Kochsalzlösung auf 48 Stunden versetzt, nicht unwirksam, dasselbe gilt bezüglich des Einflusses von Trypsin, Pepsin und Leucocytenextrakten. Einmal intraperitoneal von Leucocyten aufgenommene Lymphe ist noch nach 21 Stunden virulent, sobald man durch wiederholtes Frieren und Auftauen die sie einhüllenden Leucocyten zerstört.

Lyssavirus wird avirulent durch 1% Sublimat nach 2—3 Stunden, 1% Karbolsäure nach 2—3 Stunden (BABES), 5% Karbolsäure, 1% Kreolin 10% Kupfersulfat, 5% Salzsäure in 5 Minuten (DE BLASI und TRAVALI) 70% Alkohol nach 24 Stunden (CELLI) Formalindämpfe in 15—45 Minuten (CATTERINA) Magensaft nach 24 Stunden (CENTANNI).

KRAUS und SCHIFFMANN haben beobachtet, daß über Kali causticum bei 22° getrocknetes Rückenmark pestkranker Hühner weder „nach 5 noch 8, 10, 15 oder 20 Tagen in seiner Infektiosität für Hühner abgenommen hat“. —

Protozoen wie Trypanosomen und zwar vor allem Naganatrypanosomen verschwinden in Cadavern ziemlich rasch und werden bis auf größere Kernreste, Blepharoplast- und Randfadenteile aufgelöst,

dagegen hält sich das Lyssavirus besonders in eingescharrten Cadavern eine ziemlich lange Zeit (nach GALTIER 15—45 Tage, nach Dr. MALTEI 8 Monate).

NEUFELD und ich (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte XXV. Heft 2 1907) haben festgestellt, daß Protozoen, wie Spirochäten und Trypanosomen, durch Saponin, Galle und taurocholsaures Natrium abgetötet bzw. aufgelöst werden. Das Saponin tötet den Zelleib ab, die anderen zwei Substanzen lösen die Protozoenleiber im Gegensatz zu den Bakterien (Ausnahme Pneumocokken) auf. Von dem Trypanosomaperiplast bleibt eine Zeitlang noch eine Art von Schatten erhalten, von den Spirochäten leisten einzelne noch einige Zeit Widerstand, ihr Chromatin wird deutlich körnig und einzelne Fibrillen kommen gleichfalls zum Vorschein, schließlich werden auch diese, sofern die Galle frisch ist und das taurocholsaure Natrium in entsprechenden Konzentrationen angewendet wird (sein wirksamer Teil wird durch Serum und Körperzellen oft in größeren Mengen abgebunden), in Lösung übergeführt. Mit den derart aufgelösten Zelleibern von Hühnerspirochäten kann man Hühner immunisieren, es werden demnach die immunisierenden Stoffe durch diese Substanzen nicht vernichtet. Von Interesse ist es, daß im allgemeinen (vielleicht mit Ausnahme von Trachom und Hühnerpest) die Chlamydozoa ebenso wie die übrigen Protozoen aufgelöst beziehungsweise avirulent werden.

Das Vaccinevirus wird durch Zusatz von verdünnter Kaninchengalle etwa nach $\frac{1}{2}$ Stunde zerstört. Mit einer Vaccine, die 6 Stunden lang der Einwirkung von Kaninchengalle ausgesetzt war, konnten auf subcutanem Wege zwei Affen immunisiert werden. Die Vaccine war demgegenüber vollkommen avirulent, wie Kontrollimpfungen an Kaninchencornea zur Genüge bewiesen haben. FRANTZIUS, VALLÉE und vor allem KRAUS machten auf die viruliticide Wirkung der Galle bei der Tollwut aufmerksam. KRAUS brachte die Galle auf 15 Minuten mit dem Virus in Verbindung, zentrifugierte das Virus von der Galle ab, wusch es nochmals ab und war dann in der Lage, bei den darauffolgenden Impfungen eine Entgiftung festzustellen. Vaccinevirus wird nach 4 Stunden durch 1proz. Lecithin (gelöst in 1proz. Methylalkohol) inaktiviert, dagegen nicht durch 0,1proz. Lecithin.

Nach LANDSTEINER wirkt Saponin, nicht aber Galle, auf das Hühnerpestvirus ein. Schließlich sei erwähnt, das nach ROGERS das Virus der Rinderpest durch Galle vernichtet wird.

Die Chlamydozoen sind die kleinsten bis jetzt bekannten Er-

reger und sind nach neuen Untersuchungen filtrierbar, man darf also die Möglichkeit der Filtration nicht mehr als ein Kriterium der Ultravisibilität ansehen.

Literaturverzeichnis.

Vaccine.

Die diesbezüglichen Literaturangaben sind bereits in meinen 3 Mitteilungen zusammengestellt worden:

Untersuchungen über den Erreger der Vaccine. I, II, III. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 22 H. 3 1905, Bd. 23 H. 2 1906, Bd. 26 H. 1 1907.

MÜHLENS u. HARTMANN: Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. 41 1906 p. 41.

PASCHEN: Münch. med. Wochenschr. Nr. 49 4. Dez. 1906.

KRAUS u. VOLK: Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien Bd. 116 Abt. III Mai 1907.

Tollwut.

Eine Literaturliste findet sich in den übersichtlichen Zusammenstellungen über dieses Thema von MARX und ferner FROSCH (Supplement) in dem Handbuch für pathogene Mikroorganismen von KOLLE und WASSERMANN (Jena, G. Fischer).

Trachom.

L. HALBERSTÄDTER u. PROWAZEK: Über Zelleinschlüsse parasitischer Natur beim Trachom. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 26 H. 1 1907, herausgegeben April 1907.

GREEFF: Über eigentümliche Doppelkörnerchen (Parasiten) in Trachomzellen. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 23.

— Notiz. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 27.

HALBERSTÄDTER u. PROWAZEK: Zur Ätiologie des Trachoms. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 32.

GREEFF, FROSCH u. CLAUSEN: Untersuchungen über die Entstehung und die Entwicklung des Trachoms. Arch. f. Augenheilk. Bd. 58 H. 1 1907.

Hühnerpest.

KLINCK: Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 51.

ROSENTHAL: Über Beziehungen zwischen Hühnerpest und Lyssa. Centralbl. f. Bakt. Bd. 40 H. 2 1905.

LANDSTEINER: Beobachtungen über das Virus der Hühnerpest. Centralbl. f. Bakt. Referate Bd. 38 1906.

SCHIFFMANN: Zur Histologie der Hühnerpest. Wien. klin. Wochenschr. 19. Jahrg. Nr. 45.

KRAUS u. SCHIFFMANN: Studien über Immunisierung gegen den Virus der Hühnerpest. Centralbl. f. Bakt. Bd. 43 H. 8 1907. Hier findet man die übrigen Literaturangaben.

Epitheliom der Vögel.

- MARK U. STICKER: Untersuchung über Mitigation des Epithelioma etc. Deutsche med. Wochenschr. 1903 Nr. 5.
 BURNET: Ann. de l'Inst. Pasteur Sept. 1906.
 LÖWENTHAL: Untersuchungen über die sog. Taubenpocken. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 17.

Molluscum contagiosum.

- BORREL: Soc. de Biol., décembre 1904.
 LIPSCHÜTZ: Wien. klin. Wochenschr. Nr. 9 1907.
 — Untersuchungen über Molluscum contagiosum. Dermatol. Zeitschr. Bd. 14 H. 8 1907.
 BORREL: Le problème du cancer. Bull. de l'Inst. Pasteur Tome 5 Nr. 12 1907.

Karpfenpocken.

- LÖWENTHAL: Zeitschr. f. Krebsforschung Bd. 5 H. 1 u. 2 1907.
 HALBERSTÄDTER U. PROWAZEK: Zur Ätiologie des Trachoms. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 32.

Scharlach.

- L. PYRFFER: Zeitschr. f. Hyg. 1887.
 MALLEY: Journ. of med. research. 1904.
 DUVAL: The protozoen of scarlet fever. Univ. of Penna med. Bull. 1904 Nr. 9.
 SIEGEL: Untersuchungen über die Ätiologie des Scharlachs. Anhang z. d. Abh. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. 1905.

Chlamydozoa.

II.

Gelbsucht der Seidenraupen.

(Hierzu 2 Textfiguren.)

Während meines Aufenthaltes in Rovigno 1903/4 beschäftigte ich mich mit der eigentümlichen Erkrankung der Seidenraupen, die von den Züchtern Gelbsucht genannt wird. Das Material verdanke ich Herrn J. BOLLE, Direktor der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Görz, der sich um die Erforschung der genannten Krankheit besondere Verdienste erworben hatte. Die Untersuchungen mußten jedoch aus äußeren Gründen angegebeben werden und ich konnte sie erst jetzt in Hamburg zum Teil zu Ende führen.

Die Gelbsucht hefällt in den Züchtereien die Seidenraupen besonders in der Zeit, da sie spinnreif werden. Die erkrankten Raupen fallen zunächst durch eine Unlust zum Fressen auf, kriechen unset in den Hürden herum, die Haut besitzt anfänglich ein opakes Aussehen, wird infolge einer inneren Spannung auffallend glänzend, weshalb derartige Seidenraupen auch Glanzraupen (luisettes) genannt werden. Später ist der Raupenleib aufgedunsen, die Haut ist äußerst leicht verletzlich und es treten auf ihr gelbe Flecken auf, die miteinander konfluieren und eben der Krankheit den Namen Gelbsucht verschafft haben. Da der Leib auffallend angeschwollen ist, bezeichnet man die Krankheit auch als Fettsucht (grasserie). Aus den bei jeder Gelegenheit entstehenden Hautrissen des Raupenleibes sickert eine milchige, gelbliche Flüssigkeit — das Blut der Raupe. Die italienischen Züchter nennen diese Raupen vacca (Milchkuh). Schließlich werden die Raupen schlaff, sterben ab und zerfließen in eine braune, breiige Masse. Mit der Gelbsucht der Seidenraupen beschäftigte sich bereits eine Reihe von Forschern, von denen hier nur E. CORNALIA, MAESTRI, A. CECCONI, E. VERNON, F. HABERLANDT, FORBES, PANEBIANCO und BOLLE genannt werden mögen. Eine zusammenfassende Darstellung der Forschungsergebnisse rührt von E. VERNON und E. QUAJAT, „Il filigello e l'arte serica“ Padua 1896 her.

Bei gelbsüchtigen Spinnern fand MAESTRI (Frammenti anatom. fisiolog. e patol. del haco da seta Pavia 1856) im Blut zahlreiche Granula, die er mit dem Fettgewebe in Zusammenhang brachte, später wies E. VERNON ihre Kristallnatur nach. 1893 stellte BOLLE (Jahrbuch der k. k. Seidenbau-Versuchsstation 1893 pag. 112) fest, daß die sogenannten polyedrischen Körperchen aus einer Eiweißsubstanz bestehen.

Sie sind für die Gelbsucht der Seidenraupen spezifisch.

Die polyedrischen Körperchen sind etwa 5μ groß, doch wechselt ihre Größe nicht selten innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Bei entsprechenden Vergrößerungen kann man feststellen, daß sie seckige Umrisse besitzen und Rhombendodekaeder bilden, daneben kommen auch und zu Oktaeder mit abgestumpften Ecken vor. Sie sind ziemlich lichtbrechend und besitzen einen Fettglanz. Durch Druck bekommen sie charakteristische Risse und können zu unregelmäßigen stern- oder krenzförmigen Rosetten zerstückelt werden. Die peripheren Sektoren hängen centralwärts vielfach zusammen. Sie sind schwerer als Wasser und sinken bald in Reagenzröhrchen zu Boden. Nach BOLLE, der sie sehr genau untersucht hatte, sind sie unlöslich

in siedendem Wasser, in Schwefelkohlenstoff, Alkohol, Äther, Chloroform, Glycerin und Benzin, in warmem und kaltem Zustande. Nicht gelöst werden sie ferner von Wasserstoffsperoxyd, Benzol, Saponin und Sapotoxin. In Ammoniaklösungen werden sie zunächst gebläht, peripher sondern sich von einer kristallinischen bald körnig werdenden Substanz gleichfalls kristallinische Platten ab, die nach und nach verschwinden, zum Schlusse bleibt ein hyaliner Kristallschatten übrig, der später gleichfalls schwindet. Durch Eisessig wird das polyedrische Körperchen zunächst gebläht. Die kristallinische Substanz wird von radiären Strahlen nach Art von einem Sphärokristall durchsetzt. Diese zarten Kristallpyramiden — denn nichts anders sind die Kristallstrahlen — rufen, von der Oberfläche aus gesehen, eine zarte wabige Struktur des polyedrischen Körperchens (Verg. 2250) hervor, indem je drei Pyramidenbasen zusammenstoßen. Bereits aus diesen Beobachtungen geht zur Genüge hervor, daß die polyedrischen Körperchen eine ungemein komplizierte Struktur besitzen und daß sie anscheinend aus zwei Substanzmodifikationen bestehen — einer weniger lichtbrechenden, vermutlich organischen Grundsubstanz und einer stark lichtbrechenden kristallinischen Masse, die jene nach Art eines Sphärokristalls „durchsetzt“. Durch Schwefelsäure wurden die polyedrischen Körperchen gebläht und man kann zunächst eine membranartige „Umhüllung“ des Kristalls feststellen — die einzelnen Flächen können durch Deckglasdruck oder Verschiebungen des Deckgläschens in Falten gelegt oder zentripetal eingedellt werden. Schließlich verschwinden diese letzten Reste und das Körperchen wird durch Schwefelsäure, Salpetersäure, Essigsäure ebenso aufgelöst wie durch Alkalien. Im allgemeinen verhalten sich die Körperchen je nach dem Zustande ihrer „Reife“ den genannten Reagenzien gegenüber etwas verschieden, manche werden rasch aufgelöst, während andere noch eine, konzentrische Schichtung erkennen lassen und ziemlich spät schwinden.

Mit 1proz. Natronlauge werden sie bis auf das Vierfache ihrer ursprünglichen Größe gebläht, schmelzen aber dann nach Art der Gasvacuolen der *Arcella* zusammen. Ihrer Grundsubstanz nach scheinen sie den Eiweißkörpern zuzugehören und ich vermute, daß sie Kristalloide von Nucleoproteiden sind. Für ihre Eiweißnatur spricht folgendes: durch Jodkali wurden sie gelb, die Färbung schlägt beim Erwärmen in einen braunen Farbenton um. Im frischen Zustande geben sie die MILLOX'sche Reaktion (von BOLLE gleichfalls beobachtet), die besonders an den jungen Körperchen, die noch kugelig sind, leicht gelingt. Durch Pikrinsäure werden sie nach

Art der Eiweißsubstanzen gelb gefärbt. Bei Pepsinsalzsäurezusatz (32%) werden sie zunächst lichtbrechend, dann zerfallen sie zu einzelnen krümeligen Körperchen und verschwinden schließlich. Mit GIESSA's Eosinazur färben sich besonders die jüngeren Formen der polyedrischen Körperchen blau, die größeren Kristalloide tingieren sich zumeist nur an der Peripherie; BOLLE färbte sie mit Anilinfarben wie Fuchsin, Eosin, Erythrosin, Methylgrün, Meteorblau, Gentianablan und Methylviolett. Mit Brillantkresylblau nehmen sie einen bläulichen Farbenton an.

Mit der Leibeshöhlenflüssigkeit einer Raupe, die polyedrische Körperchen in sich birgt, kann man jederzeit infizieren; sei es daß man mit diesem Material mittels eines Pinsels frische Maulbeerblätter bestreicht, dann trocken werden läßt und die Raupen damit füttert, sei es daß man eine ausgeglühte Nadel in die oben erwähnte Substanz eintaucht und dann den sog. falschen Fuß einer Raupe ansteicht. Nach 5—7 Tagen nach der Infektion sterben die Raupen an Gelbsucht. Wie BOLLE nachgewiesen hatte, besitzt das Virus eine ziemlich große Tenazität; er konnte Raupen und Puppen durch subcutane Einspritzung „mittels auf Glasplatten vertrocknetem und ein Jahr altem Blute“ stets mit positivem Erfolg infizieren. Die polyedrischen Körperchen sind aber nicht die Träger des Virus, denn man kann sie durch wiederholte Filtrationen durch mehrfach zusammengelegte Filterpapiere entfernen, überdies zur Kontrolle das Filtrat längere Zeit zentrifugieren und sedimentieren lassen und dann noch mit der oberen klaren, körperchenfreien Flüssigkeit, die dazu noch mikroskopisch genau auf die fraglichen Körperchen durchsucht worden ist, mit positivem Erfolg Infektionen vornehmen.

Raupen, die auf diese Weise am 20. Juni 1904 mittags infiziert wurden, starben am 24. und 25. Juni an Gelbsucht und in ihrer Leibeshöhle waren zahllose typische polyedrische Körperchen nachweisbar.

Die polyedrischen Körperchen fasse ich als spezifische Reaktionsprodukte der Wirtszellen auf das Virus auf. Ihre Genese studierte ich an Ausstrichpräparaten aus dem Blut der Leibeshöhlenflüssigkeit und vor allem aus dem Fettkörper der kranken Seidenraupen, die in der Weise hergestellt worden sind, daß die noch nassen Ausstriche in eine heiße Sublimatalkohollösung wagrecht eingetaucht wurden:

Fixierung: $\frac{2}{3}$ Sublimat (konzentrierte heiß gesättigte wässrige Lösung) + $\frac{1}{3}$ 90% Alkohol, 10 Minuten.

Auswaschen im destillierten Wasser.

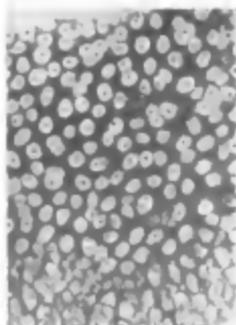
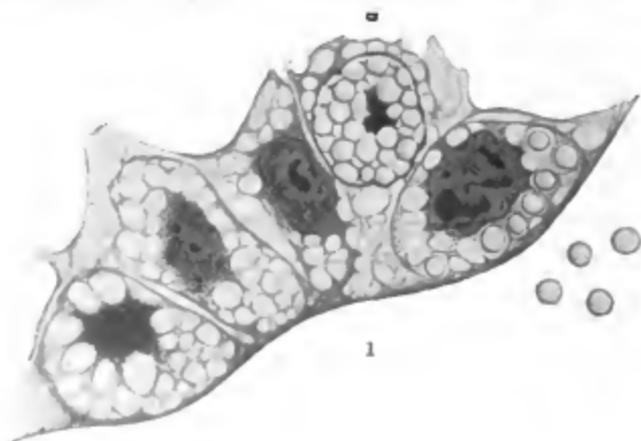
60% Jodalkohol, Auswaschen im 60% Alkohol, dann destilliertes Wasser.

Färbung: verdünntes GRENACHER's Hämatoxylin (käuflich)
 $\frac{1}{4}$ Stunde

Auswaschen im Brunnenwasser.

Alkoholreihe, Xylol, Canadabalsam.

In den erkrankten Zellen sieht man zunächst, daß der Kern hypertrophisch wird, der Nucleolus vergrößert sich sehr stark und ist in den Blutzellen sehr dunkel gefärbt, in den Fettkörperzellen wird er oft gelappt, unregelmäßig gestaltet und besitzt eine minntiöse Wabenstruktur. Das Chromatin des Kernes sammelt sich zu einzelnen Brocken, die besonders der inneren Konturlinie der Kernmembran anliegen (Fig. 1a). In den Waben des achromatischen



2.

Fig. 1 u. 2.

Gelbsucht der Seidenraupen.

Fig. 1. Fettkörperzellen in verschiedenen Stadien der Degeneration. Bei a ist der Kern gebläht, chromatinarm und ganz erfüllt mit BOLLE's polyedrischen Körperchen, von denen einige unten frei gezeichnet worden sind.

Fig. 2. Erreger der Gelbsucht (Oc. 8, hom. Inim. 2 mm), gez. von Herrn STENDER.

Gerüstes tanzen die ersten polyedrischen Körperchen an, deren Zahl rapide zunimmt. Später treten sie auch ins Protoplasma über (Fig. 1). Manchmal findet man im Ansstrich auch nackte, sehr stark hypertrophische, ovale Kerne der Fettkörperzellen, die gauz erfüllt sind mit polyedrischen Körperchen, während das Chromatin nur der Kernmembran anliegt und so eine Art von Cystenmembran vortäuscht. Zuweilen liegt das Chromatin des Kernes den freien polyedrischen Körperchen noch kappenartig an. Die polyedrischen Körperchen entstehen auf diese Weise zunächst intranuclear in den Kernen aller Gewebe der erkrankten Raupen, später sind sie auch im Protoplasma nachweisbar; indem die Zellen zerfallen, überschwemmen die freien Körperchen die Leibeshöhleflüssigkeit und das Blut der erkrankten Raupen.

Am Rande dieser Ausstrichpräparate aus der Leibeshöhleflüssigkeit und dem Blut gelbsüchtiger Seidenraupen, wo das Serum in einer etwas dünneren Schichte fixiert worden ist, konnten, sobald die Präparate noch mit GIEMSA'S Eosinazur mehrmals hintereinander intensiv gefärbt und wie trockene Deckglasausstriche weiter behandelt worden sind (also mit Fließpapier getrocknet und in Cedernöl eingeschlossen) in dem Serumgerinnsel helle Gebilde in sehr großer Zahl nachgewiesen werden (Fig. 2). In den hellen, ovalen bis runden, kleinen Gebilden konnte meist ein rotvioletter oder dunkelblauer punktartiger Körper von der Gestalt eines Coccus festgestellt werden (Auerlicht homog. Immersiou Vergr. 2250). Diese Körper teilen sich zuweilen hantelförmig und ich sehe diese Gebilde als die eigentlichen Erreger der Gelbsucht der Seidenraupen an.

Sie sind rundlich, vermehren sich durch eine hantelförmige Querteilung und scheinen eine gallertige Hülle (heller Saum) zu besitzen. Ich nenne sie vorläufig *Chlamydozoon bombycis*. Man wird sie noch besser darstellen können, sobald man das Material mit destilliertem Wasser stark verdünnt, intensiv abzentrifugiert, mehrmals wäscht und dann den Satz mit LÖFFLER'S Geißelbeize färbt. Für diese Versuche fehlt mir leider das Material und ich gedenke diese Untersuchungen bei einer günstigen Gelegenheit wieder anzunehmen. In einzelnen Fällen sah ich sie auch im Protoplasma der Blutzellen — es wären dieses die intracellulären Stadien des Chlamydozoons, die mit analogen Stadien in den Epithelzellen der mit Vaccine geimpften Kanichencornea zu vergleichen sind.

Als prophylaktische Maßnahme gegen die Gelbsucht der Seidenraupen empfiehlt BOLLE sofortiges Entfernen und Verbrennen der

ersten gelbsüchtigen Raupen, ein öfteres Umbetten derselben und Verbrennen der verseuchten Betten.

BOLLE konnte mit dem Virus der Gelbsucht auch andere Insecten wie Eichenspinner (*Antherea Jama Mai* und *A. Pernyi*) Ailanthusspinner (*Attacus Cynthria*), Ricinusspinner (*Antherea mylitta*), Larven und Käfer des *Dermestes lardarius* mit positivem Erfolg infizieren, nur haben interessanterweise die polyedrischen Körperchen je nach ihrem Wirtstier die Form geändert. Da nach BOLLE (1889), die Gelbsucht gleichfalls bei der gefürchteten Nonnenranpe (*Psilura monacha L.*) vorkommt, wären Infektionsversuche im großen Maßstabe auch vom volkswirtschaftlichen Standpunkt von besonderer Wichtigkeit, zumal sich das Virus auf Glasplatten eingetrocknet über ein Jahr im infektionstüchtigen Zustande hält und auf diese Weise leicht verschickt werden kann.

Herrn Direktor J. BOLLE in Görz spreche ich für die mannigfachen Ratschläge sowie für das gelieferte Material meinen besten Dank aus.

Literaturverzeichnis.

- BOLLE, J.: Vorläufige Mitteilungen über die Gelbsucht der Seidenraupe. Atti e Memoire dell' i. r. Società agraria. Görz 1894.
 VERSON u. GUAJAT: Il filugello e l'arte serica. Padua 1896.
 PANEBIANCO, R.: Osservazione s. granuli de giallume. Bollettino mensile di bachi-coltura. II. Ser. Jahrg. 10 p. 145. (Mir nicht zugänglich.)
 BOLLE, J.: Der Seidenbau in Japan. A. Hartleben's Verlag 1898.
-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [10 1907](#)

Autor(en)/Author(s): Prowazek Stanislaus von

Artikel/Article: [Chlamydozoa. 336-364](#)