

Über neue Tuberkulinpräparate.¹⁾

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Von

Prof. Dr. R. Koch,

Geh. Med.-Rat.

Seit meinen Veröffentlichungen über das Tuberkulin habe ich die Untersuchungen über die Verwendung von Kulturen der Tuberkelbazillen zur Behandlung der Tuberkulose ununterbrochen fortgesetzt und glaube damit soweit zu einem Abschluß gelangt zu sein, daß ich die Resultate dieser Untersuchungen veröffentlichen kann.

Das fertige Produkt dieser Jahre hindurch fortgeführten Arbeiten wird einfach und in mancher Beziehung geradezu selbstverständlich erscheinen. Aber jeder, der über Tuberkulose gearbeitet hat, weiß, wie außerordentlich mühsam und zeitraubend derartige Untersuchungen sind und wie sie Ausdauer und Geduld oft auf die härteste Probe stellen. Um so mehr möchte ich es deswegen auch an dieser Stelle dankbar anerkennen, daß Herr Dr. M. B e c k mir bei meinen Arbeiten unermüdlich und getreulich assistiert hat.

Die Anwendung der Bakterien und ihrer Produkte zu Heil- und Schutzzwecken kommt immer auf eine Art Immunisierung hinaus, und ich halte es daher für zweckmäßig, meine Stellung zu den dabei in Betracht kommenden Fragen kurz zu präzisieren, um später nicht mißverstanden zu werden.

Ursprünglich dachte man sich die Immunität gegen Infektionskrankheiten als etwas Einfaches, Unteilbares. Allmählich ist man aber mehr und mehr zu der Einsicht gelangt, daß die Immunität zwar einfach sein kann, aber es nicht sein muß, daß sie auch aus zwei Komponenten, vielleicht sogar aus mehreren zusammengesetzt sein kann. Es wird sich dies am besten an einigen Beispielen auseinandersetzen lassen.

Wie B e h r i n g und K i t a s a t o gezeigt haben, können Tiere gegen Tetanus immunisiert werden. Man benutzt dazu die filtrierte Kulturflüssigkeiten, d. h. die in Wasser löslichen Produkte der Tetanusbazillen, unter welchen sich das spezifische Tetanusgift befindet. Gegen dieses Gift, und zwar gegen sehr große Dosen desselben sind die immunisierten Tiere geschützt, aber doch nur auf eine gewisse Zeit. Auf die Tetanusbakterien selbst hat die Immunisierung keinen Einfluß, dieselben vegetieren in dem immunisierten Körper, soweit ihnen bei ihrem streng anaërobiotischen Wachstum die Gelegenheit dazu geboten ist, unbehindert weiter. Wir haben es hier also mit einer einfachen und reinen Gift-Immunität zu tun, und es kann schließlich, wenn diese künstliche Immunität nach einigen Wochen wieder geschwunden ist, dahin kommen, daß in dem immunisierten Tierkörper das von den Tetanusbazillen immer weiter produzierte Tetanusgift nicht mehr unschädlich gemacht wird und daß das Tier alsdann noch an

¹⁾ Aus Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1897, Nr. 14.

Tetanus zugrunde geht, ohne daß es von neuem mit Tetanusbazillen infiziert zu werden braucht.

Das entgegengesetzte Verhalten finden wir bei Cholera und Typhus. Für diese Krankheiten haben die Untersuchungen Pfeiffers den Nachweis geliefert, daß die mit frischen Agarkulturen immunisierten Tiere zwar gegen die lebenden Bakterien, aber nicht gegen das von letzteren produzierte Gift geschützt sind. Denn die lebenden Cholera- und Typhusbakterien gehen in dem immunisierten Tierkörper in überraschend kurzer Zeit zugrunde, während es noch nicht gelungen ist, Tiere über eine gewisse Giftdosis hinaus zu immunisieren; in diesem Falle ist die Immunität eine rein bakterielle, d. h. eine ausschließlich gegen die Bakterienkörper gerichtete.

Das Ideal einer Immunisierung wird immer sein, den tierischen, resp. menschlichen Körper nicht nur gegen eine einzige der Schädlichkeiten, welche die pathogenen Mikroorganismen mit sich bringen, zu schützen, sondern gegen alle. Diese Verhältnisse spielen auch bei der Tuberkulose eine große Rolle.

Zunächst könnte es allerdings so scheinen, als ob für Tuberkulose überhaupt keine Immunität besteht, da sie beim Menschen Jahre hindurch dauern kann, ohne daß die Empfänglichkeit dafür abnimmt. Selbst in den Fällen, wo eine Heilung eintritt, ist der Mensch dadurch nicht immun gegen eine neue Invasion der Tuberkelbazillen geworden; er ist dann im Gegenteil, wie die Erfahrung lehrt, eher noch empfänglicher für eine frische tuberkulöse Infektion. Und doch existieren Andeutungen, welche dafür sprechen, daß auch die Tuberkulose unter bestimmten Bedingungen eine Art Immunisierung erkennen läßt. Ich finde dieselben in den Beobachtungen, welche man bei der Miliartuberkulose des Menschen und bei der experimentellen Tuberkulose des Meerschweinchens machen kann. Es tritt hierbei in der Regel ein Stadium ein, in welchem die Tuberkelbazillen, welche anfangs in großer Menge vorhanden waren, wieder verschwinden, so daß man sehr sorgfältig suchen muß, um überhaupt noch einige Reste derselben zu finden. Es ist dies sehr auffallend, da wir noch später sehen werden, daß die Tuberkelbazillen, wenn sie experimentell dem Körper einverleibt werden, außerordentlich langsam resorbiert werden. Es scheint sich in jenen Fällen also in der Tat um einen Immunisierungsvorgang, und zwar um einen rein bakteriellen zu handeln. Leider kommt er für den betreffenden Organismus zu spät, als daß er für denselben noch von Nutzen sein könnte. Aber diese Beobachtungen sind für mich von Anfang an die Veranlassung gewesen, unablässig nach einem Verfahren zu suchen, welches gestattet, auch in einem frühen Stadium der Tuberkulose, wo es noch etwas nützen kann, diesen Zustand von Immunität herbeizuführen. Die beiden erwähnten Vorgänge haben eins gemeinschaftlich, nämlich daß der Körper in kurzer Zeit mit Tuberkelbazillen überschwemmt wird. Gerade dieser Umstand scheint mir auch die Erklärung dafür abzugeben, daß es bei der Tuberkulose unter gewöhnlichen Verhältnissen zu einer ausgesprochenen Immunität nicht kommt. Für gewöhnlich verhält es sich so, daß die Tuberkelbazillen in den Geweben des menschlichen Körpers nur in geringer Zahl und sehr langsam wachsen; sie befinden sich meistens von nekrotischem Gewebe umgeben und erst lange Zeit, nachdem sie selbst abgestorben sind und wahrscheinlich tiefere chemische Veränderungen erfahren haben, kommen sie zur Resorption. Wo die Tuberkelbazillen in größeren Mengen wuchern, z. B. in Kavernen und an der Oberfläche von Schleimhäuten, da werden sie unverändert abgestoßen und überhaupt nicht resorbiert. So kann denn auch unter solchen Bedingungen eine Immunisierung nicht zustande kommen. Dieselbe tritt nur dann ein, wenn zahlreiche Tuberkelbazillen, wie bei Miliartuberkulose und Meerschweinchentuberkulose, sich schnell im ganzen Körper verbreiten und mit den lebenden Geweben in Wechselwirkung treten.

Um eine künstliche Immunität zu erhalten, mußten Verhältnisse angestrebt werden, welche den eben geschilderten möglichst ähnlich sind. Dem stellen sich aber geradezu unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen. Alle Versuche, die unveränderten lebenden oder selbst abgetöteten Tuberkelbazillen in einigermaßen größerer Menge vom subkutanen Gewebe, von der Bauchhöhle oder von der Blutbahn aus zur Resorption zu bringen, sind mir mißglückt, und ebenso ist es vielen anderen Forschern gegangen. Subkutan injiziert machen die toten Tuberkelbazillen regelmäßig Eiterungen und sie können in den entstandenen Abszessen noch monatelang in großer Zahl und gut färbbar nachgewiesen werden. Werden sie in die Bauchhöhle von Versuchstieren gebracht, dann werden sie schon besser resorbiert, und es ist mir gelungen, auf diese Weise deutliche Immunität zu erzielen, aber daneben kommt es regelmäßig zu umschriebenen Entzündungen mit ihren Folgen, als Verwachsungen der Bauchorgane unter einander, Knickung und Verschuß des Darms usw., welchen ein großer Prozentsatz der Tiere zum Opfer fällt. Die in die Blutbahn der Versuchstiere, z. B. Kaninchen, injizierten abgetöteten Tuberkelbazillen rufen in den Lungen ganz dieselben Tuberkelknötchen hervor, wie es die lebenden tun, und in den Knötchen kann man noch nach sehr langer Zeit die unveränderten Tuberkelbazillen finden; die Resorption geht also auch hier nicht in der erwünschten Weise vor sich.

Als es sich somit herausstellte, daß die Tuberkelbazillen in unverändertem Zustande für Immunisierungszwecke nicht zu gebrauchen sind, versuchte ich, dieselben durch chemische Eingriffe resorbierbar zu machen. Die einzigen Verfahren, welche in dieser Beziehung etwas leisteten, bestanden in der Behandlung der Tuberkelbazillen mit verdünnten Mineralsäuren oder mit starken Alkalien bei Siedehitze. Damit gelingt es in der Tat, die Tuberkelbazillen so zu verändern, daß sie in toto vom subkutanen Gewebe aus in größeren Mengen, wenn auch langsam, aber doch vollständig resorbiert werden. Irgendwelche Anzeichen von Immunität wurden hierbei indessen nicht erzielt, und es ist anzunehmen, daß dieser chemische Eingriff eine zu tiefe Veränderung der Bazillensubstanz bewirkt und ihre immunisierenden Eigenschaften zerstört.

Da also auch auf diesem Wege nichts zu erreichen war, so ging ich dazu über, unter Verzicht auf die Gesamtmasse der Tuberkelbazillen resorbierbare Bestandteile aus denselben zu extrahieren und dieselben zu Immunisierungszwecken zu benutzen.

Zuerst versuchte ich es mit Glyzerinextraktion, welche zur Auffindung des Tuberkulins führte. Das Tuberkulin hat die höchst wertvolle Eigenschaft, daß es, in sehr geringer Menge subkutan beigebracht, bei tuberkulös erkrankten Menschen und Tieren eine charakteristische Reaktion auslöst. Diese Eigenschaft läßt sich zunächst verwerten, um die Tuberkulose in den frühesten Stadien zu erkennen, also zu einer Zeit, wo die physikalische Diagnose vollkommen im Stich läßt und wo doch gerade die meiste Aussicht auf therapeutische Erfolge vorhanden ist. Die Anwendung des Tuberkulins als diagnostisches Hilfsmittel, worauf ich in meiner ersten Veröffentlichung über das Tuberkulin den größten Nachdruck gelegt habe, hat sich denn auch im Laufe der Zeit mehr und mehr bewährt. Es wird heutzutage in den meisten Kulturstaaten zur frühzeitigen Diagnose der Rindertuberkulose (Perlsucht) verwendet. Die planmäßige Bekämpfung dieser weit verbreiteten Krankheit ist darauf begründet und hat bereits zu sehr guten Erfolgen geführt. Bei den vielen Tausenden von Tuberkulininjektionen, welche zu diesem Zwecke an Rindern gemacht sind, hat sich die Befürchtung, daß infolge der Reaktion die Tuberkelbazillen mobil gemacht und nach gesunden Teilen des Körpers verschleppt werden könnten, als irrig erwiesen. Es stimmt das vollkommen überein mit meinen eigenen Erfahrungen an mehr als 1000 Fällen von Anwendung des Tuberkulins zur Frühdiagnose der Tuberkulose beim Menschen, über welche demnächst Herr Stabs-

arzt Dr. N i e t n e r ausführlich berichten wird. Auch in diesen Fällen hat sich niemals der geringste Anhalt für die Mobilmachung und Verschleppung von Tuberkelbazillen erkennen lassen. Auf Grund solcher Erfahrungen sollte man doch endlich das törichte Vorurteil vom mobilgemachten Tuberkelbazillus fallen lassen und sollte die diagnostische Verwendung des Tuberkulins auch zur Bekämpfung der menschlichen Tuberkulose nach Analogie der Perlsuchtbekämpfung verwerten. Ich kann hier nur das wiederholen, was ich bei früherer Gelegenheit gesagt habe, daß auch bei der Tuberkulose die Prophylaxis unendlich wichtiger und vorteilhafter ist als alle Therapie.

Die weitere Ausnutzung des Tuberkulins besteht in der Anwendung desselben zur Behandlung der Tuberkulose. Da nach jeder Tuberkulinreaktion eine unverkennbare Besserung des tuberkulösen Prozesses eintritt, so lag es sehr nahe, die Reaktionen solange, als noch eine Besserung damit zu erzielen war, fortzusetzen. Bis ins Unbegrenzte läßt sich dies nun aber nicht durchführen; allmählich erlischt die Reaktionsfähigkeit und damit natürlich auch die Wirkung des Tuberkulins. Es kommt schließlich zu einer vollkommenen Immunisierung gegen das Tuberkulin, welche einige Monate anhalten kann. Auf die Tuberkelbazillen selbst hat die Immunisierung keinen Einfluß, es handelt sich also um eine reine Toxinimmunität, aber nicht um eine bakterielle. Leider ist sehr oft die Reaktionsfähigkeit gegen das Tuberkulin bereits erloschen, ehe eine vollkommene Heilung erfolgt ist. Es treten dann Rezidive ein, welche, sobald die Reaktionsfähigkeit sich wieder eingestellt hat, von neuem mit Tuberkulinreaktionen zu behandeln sind. Auf diese Weise kann man mit der nötigen Geschicklichkeit und Ausdauer, wenn auch nicht in allen, so doch in sehr vielen Fällen von unkomplizierter Tuberkulose Heilung oder doch mindestens erhebliche Besserung erreichen. Ich würde deshalb, wenn es mir nicht inzwischen gelungen wäre, wirklich bakteriell-immunisierende Präparate aus den Kulturen der Tuberkelbazillen darzustellen, auch jetzt noch das Tuberkulin für das beste unter den jetzt zu Gebote stehenden Mitteln gegen Tuberkulose halten.

Aber selbstverständlich blieb auch nach Auffindung des Tuberkulins mein Wunsch immer auf die Gewinnung solcher bakteriell-immunisierender Substanzen gerichtet. Unter den vielen später wieder fallen gelassenen dahinzielenden Versuchen möchte ich hier einen erwähnen, der mich länger als ein Jahr beschäftigt hat, da er in mehrfacher Beziehung sehr lehrreich ist. Es handelt sich um ein Präparat, welches durch Extraktion der Tuberkelbazillen mit $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge gewonnen wurde. Die Tuberkelbazillen wurden in der Lauge gut verteilt, drei Tage lang bei Zimmertemperatur unter öfterem Umrühren stehen gelassen, die über den Kulturmassen stehende Flüssigkeit durch Fließpapier filtriert und schließlich neutralisiert. Die so erhaltene klare, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit war nicht ganz frei von Tuberkelbazillen. Sie enthielt soviel davon, daß in einem gewöhnlichen Deckglaspräparat 5—10 Bazillen im Gesichtsfeld zu sehen waren. Dieselben lagen aber stets einzeln, nie in Haufen. Selbstverständlich waren dies ganz sicher abgetötete Tuberkelbazillen, da ich durch Vorversuche festgestellt hatte, daß sie in $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge schon nach 12—15 Stunden abgestorben sind. Das Präparat wurde, weil es ein alkalisches Extrakt war, der Kürze wegen als TA bezeichnet. Mit diesem TA angestellte Versuche ergaben nun, daß dasselbe in sehr kleinen Dosen ganz ähnliche Reaktionen bewirkte, wie das Tuberkulin, nur waren die Reaktionen von etwas längerer Dauer; auch blieb die Reaktionsfähigkeit länger erhalten. Die Hauptsache aber war, daß die damit erzielten Erfolge sich als beständiger erwiesen, als die mit Tuberkulin erhaltenen. Es kam weniger oft und später zu Rezidiven. Es stellte sich jedoch bei diesem Präparat ein Übelstand ein, der mich schließlich dazu zwang, es wieder aufzugeben. Bei einer gewissen, allerdings ziemlich hohen Dosis bildeten sich an den Injektionsstellen Abszesse, die vollkommen steril waren

und nur durch den Gehalt des Präparats an toten Tuberkelbazillen bedingt sein konnten. Die Flüssigkeit wurde deswegen in der Folge durch Tonzellen filtriert und so die Tuberkelbazillen vollständig daraus entfernt. Auf der Oberfläche der Tonzelle blieben aber bei der Filtration nicht nur die Bazillen, sondern auch eine gewisse Menge kolloider Substanz zurück, und es stellte sich sehr bald heraus, daß das filtrierte Präparat nun keine Abszesse mehr machte, aber in seiner Wirkung dem gewöhnlichen Tuberkulin auch nicht mehr überlegen war. Da das Präparat außerdem sich nicht lange hielt und immer frisch hergestellt werden mußte, so habe ich das außerordentlich haltbare Glycerin-extrakttuberkulin ihm schließlich vorgezogen.

Daß bei einer gewissen Dosis des TA regelmäßig Abszesse eintraten, halte ich für ein sehr wichtiges Faktum. Dasselbe lehrt uns nämlich, daß eine Angewöhnung, eine Immunisierung gegen die in ihrer Form erhaltenen Tuberkelbazillen bei subkutaner Applikation nicht zu erwarten ist. Von dem Präparat wurden anfangs die kleinsten Dosen, welche nur vereinzelte Tuberkelbazillen enthalten konnten und noch ganz gut resorbiert wurden, injiziert. Dann wurde ganz allmählich gestiegen, bis man nach 20 bis 30 Injektionen an die abszeßmachenden größeren Dosen kam. Wenn eine Angewöhnung an größere Mengen von Tuberkelbazillen möglich wäre, dann hätte sie hier eintreten müssen: aber dies geschah nicht; offenbar weil das subkutane Gewebe instande ist, eine geringe Zahl von toten Tuberkelbazillen noch ganz gut zu bewältigen, aber über eine gewisse Menge derselben hinaus dazu absolut unfähig ist. Wollte man auf diesem Wege dem Körper eine größere Menge von Tuberkelbazillen einverleiben, dann müßte man eine Menge von Injektionen auf entsprechend viele Hautstellen verteilen, was sich aus praktischen Gründen von selbst verbietet.

Diese mit dem TA gemachten Erfahrungen brachten mich auf die Idee, die Tuberkelbazillen, wenn sie in unzerstörtem Zustande unter keinen Umständen resorbiert werden, womöglich mechanisch soweit zu zertrümmern, daß sie für die resorbierenden Elemente des Körpers besser angreifbar gemacht wurden. In dieser Idee wurde ich überdies noch besonders bestärkt durch Beobachtungen, welche ich in bezug auf das chemische Verhalten der Tuberkelbazillen gemacht hatte¹⁾. Bei den früher erwähnten Versuchen, die Tuberkelbazillen durch Mineralsäuren und starke Alkalien in einen gelösten Zustand überzuführen, hatte ich nämlich gefunden, daß die Tuberkelbazillen zwei eigentümliche chemische Körper enthalten, welche beide zu den ungesättigten Fettsäuren gehören. Die eine Fettsäure ist in verdünntem Alkohol löslich und wird durch Natronlauge leicht verseift; die andere löst sich nur in siedendem absoluten Alkohol oder Äther und ist sehr schwer verseifbar. Beide nehmen die sogenannte Tuberkelbazillenfärbung an, d. h. sie werden durch Karbolfuchsin intensiv rot gefärbt und behalten diese Färbung auch nach der Behandlung mit verdünnter Salpetersäure und mit Alkohol. Da bei dieser Behandlung die erste der beiden Fettsäuren sich in Alkohol löst und aus den mikroskopischen Untersuchungsobjekten ausgezogen wird, so bleibt bei dem Färbungsverfahren, wenn es auf die Tuberkelbazillen angewendet wird, nur die zweite, in kaltem Alkohol unlösliche Fettsäure in demselben zurück; diese fixiert den Farbstoff und ist somit der Träger der eigentlichen Tuberkelbazillenfärbung. Durch heiße Natronlauge kann man die Fettsäure langsam aus den Tuberkelbazillen austreiben und mit Hilfe des Mikroskops den Vorgang der Abscheidung leicht verfolgen, wie die Fettsäure in Form von färbaren Tröpfchen aus dem Bazillus austritt und zu größeren Tropfen zusammenfließt, während die Bazillen anfangs noch ihre Form bewahren, aber nicht mehr die spezifische Färbung der Tuberkelbazillen, sondern nur noch die der übrigen Bakterien

¹⁾ Diese und andere chemische Untersuchungen, welche ich in Gemeinschaft mit Herren Prof. P r o s k a u e r angestellt habe, sollen demnächst veröffentlicht werden.

annehmen. Diese Fettsäuren bilden, wie das mikroskopische Bild des gefärbten Bazillus lehrt, eine zusammenhängende Schicht in dem Körper desselben, sie schützen ihn gegen Eingriffe von außen und bewirken, daß eine Resorption so schwer vor sich geht. Es kam somit darauf an, diese Schutzhülle zu zerstören, wenn die Tuberkelbazillen resorbierbar gemacht werden sollten.

Die ersten darauf hinzielenden Versuche scheiterten sämtlich. Alles Zerreiben und Zerquetschen mit und ohne Zusätze von harten, pulverförmigen Massen ließ die Tuberkelbazillen unverändert. Erst als ich gut getrocknete Kulturen nahm und sie ohne irgendwelchen Zusatz im Achatmörser mit einem Achatpistill lange Zeit hindurch verarbeitete, ließ sich erkennen, daß die färbbaren Tuberkelbazillen an Zahl abnahmen und daß schließlich nur noch wenige Tuberkelbazillen übrig geblieben waren. Um auch diese sicher zu entfernen, verteilte ich die so gewonnene Substanz in destilliertem Wasser und zentrifugierte sie. Mit Hilfe einer sehr kräftigen Zentrifuge (4000 Umdrehungen in der Minute, eine halbe bis dreiviertel Stunden lang) ließ sich die Flüssigkeit in eine obere weißlich opaleszierende, aber vollkommen klar durchsichtige Schicht, welche keine Tuberkelbazillen mehr enthielt, und einen fest anhaftenden schlammigen Bodensatz trennen. Letzterer wurde wieder getrocknet, dann im Mörser verarbeitet und zentrifugiert wie vorher; er gab dann gleichfalls eine klare obere Schicht und einen festen Bodensatz. Diese Manipulation konnte fortgesetzt werden, bis schließlich fast nichts übrig blieb, als die schon ursprünglich in der Kultur befindlichen und später zufällig hineingeratenen Verunreinigungen von Baumwollfasern, Staub usw. Es ließ sich also auf diese Weise mit Leichtigkeit die gesamte Masse der Tuberkelbazillenkultur in eine Reihe von vollständig klaren Flüssigkeiten verwandeln.

Dieser Versuch, den jeder ohne Schwierigkeit wiederholen kann, war der Ausgangspunkt für meine weiteren Arbeiten.

Zunächst überzeugte ich mich durch Versuche an Tieren und später an Menschen, daß die so gewonnenen Präparate sämtlich vollkommen resorbierbar waren und niemals Abszesse machten, vorausgesetzt, daß sie gut zentrifugiert waren und keine färbbaren Tuberkelbazillen mehr enthielten. Es stellte sich dann ferner alsbald heraus, daß nur die erste Flüssigkeit sich von den folgenden wesentlich unterscheidet, die zweite und die darauf folgenden unter sich aber nicht unterschieden sind. Ich habe deswegen als Tuberkulin O (abgekürzt T O) die oberste Schicht nach dem ersten Zentrifugieren und als T R den nach dem ersten Zentrifugieren gebliebenen und weiter verarbeiteten Rest bezeichnet.

Schon bei der mikroskopischen Untersuchung des verarbeiteten Ausgangsmaterials zeigt es sich, daß die Körper der Tuberkelbazillen nicht in eine gleichmäßige Substanz verwandelt sind. Man sieht, wenn mit Karbolfuchsin vor- und mit Methylenblau nachgefärbt ist, überhaupt keine rot gefärbten Massen mehr, auch die Tröpfchen der Fettsäure fehlen, dagegen befinden sich im Gesichtsfelde blaß gefärbte wolkige Gebilde, die von dunkelblauen Tröpfchen umsäumt sind; letztere häufen sich namentlich nach dem Rande zu. Nach der Trennung in die Flüssigkeiten TO und TR findet man die violetten wolkenartigen Gebilde in TR, die blaugefärbten Massen in TO. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß ein Zusatz von 50% Glycerin TO nicht verändert, in TR dagegen einen flockigen weißen Niederschlag hervorruft, über welchem eine ganz wasserklare Flüssigkeit zurückbleibt. Über noch weitere interessante chemische Unterschiede werde ich bei anderer Gelegenheit berichten.

Das Verhalten gegenüber dem Glycerin ließ schon erkennen, daß TR hauptsächlich diejenigen Bestandteile der Tuberkelbazillen enthält, welche in Glycerin unlöslich sind, also bei der Glycerinextraktion zurückbleiben, während das TO die im Glycerin löslichen

Teile umfaßt. Mit dieser Annahme stimmt denn auch die Prüfung der beiden Präparate an Tieren und am Menschen überein. TO steht in seinen Eigenschaften dem gewöhnlichen Tuberkulin sehr nahe, es entspricht fast ganz der Wirkung des früher geschilderten TA (alkalisches Extrakt), nur daß bei dem TO keine Abszeßbildungen zu befürchten sind. Aber es hat auch nur sehr geringe immunisierende Eigenschaften.

Das TR dagegen wirkt ganz entschieden immunisierend. Es macht zwar auch bei Tuberkulösen Reaktionen, wenn zu große Dosen angewendet werden, aber seine Wirkung ist ganz unabhängig von diesen Reaktionen. Während beim Gebrauch von gewöhnlichem Tuberkulin, ebenso wie von TA und TO Reaktionen hervorgerufen werden müssen, um Heileffekte zu erzielen, suche ich bei der Anwendung des TR die Reaktionen möglichst zu vermeiden und bemühe mich nur, den Kranken durch allmähliche Steigerung der Dosis, zwar so schnell als möglich, aber auch mit möglichster Schonung für größere Dosen des Mittels unempfindlich zu machen, d. h. ihn gegen das TR und damit, wie ich annehmen zu können glaube, auch gegen die Tuberkelbazillen selbst zu immunisieren. Daß das TR alles umfaßt, was an immunisierenden Faktoren in den Kulturen der Tuberkelbazillen enthalten ist, geht auch schon daraus hervor, daß ein Mensch, welcher gegen TR immunisiert ist, auch wenn bei der Immunisierung Reaktionen fast ganz vermieden sind, nicht mehr auf große Dosen des gewöhnlichen Tuberkulins und des TO reagiert; er ist also gegen alle Bestandteile der Tuberkelbazillen immunisiert. Ich habe gerade dieses Verhalten des TR, weil es mir sehr wichtig zu sein schien, in einer so großen Anzahl von Fällen konstatiert, daß über die Richtigkeit der Beobachtung kein Zweifel obwalten kann.

Wenn das TR seine volle Wirkung entfalten soll, dann sind allerdings bei seiner Herstellung noch einige unerläßliche Bedingungen zu erfüllen. Zunächst eignet sich nicht jede Tuberkelkultur zur Präparation eines wirksamen TR. Ich habe mich in neuerer Zeit durch Versuche, die ich gemeinschaftlich mit Herrn Dr. V a g e d e s angestellt habe und welche später veröffentlicht werden sollen, davon überzeugt, daß die Tuberkelbazillen gar nicht so gleichmäßig virulent sind, wie man bisher allgemein angenommen hat. Es kommen ziemlich bedeutende Abstufungen in der Virulenz selbst bei frisch gezüchteten Kulturen vor.

Die in den Laboratorien lange Zeit hindurch fortgezüchteten Kulturen haben in der Regel an Virulenz sehr verloren. Zur Präparation von TR soll man nur hoch virulente Kulturen verwenden. Die wenig virulenten liefern auch wenig wirksame oder selbst ganz unwirksame Präparate.

Die Kulturen dürfen nicht zu alt sein, sie müssen so jung wie möglich verarbeitet werden. Das Trocknen darf nur im Vakuumexsikkator vorgenommen werden. Andere Manipulationen bringen leicht derartige Veränderungen hervor, daß die Substanz weniger löslich und damit auch weniger wirksam wird. Überhaupt sind alle chemischen Eingriffe, und wenn sie noch so gering sind, zu vermeiden, da das TR sehr empfindlich dagegen zu sein scheint. Aus demselben Grunde sind auch sowohl die zu verarbeitenden Kulturen als das fertige Präparat vor Licht zu schützen.

Die Kulturen müssen ferner möglichst frisch, also gleich nachdem sie vollkommen trocken geworden sind, verarbeitet werden; denn ein längeres Aufbewahren schädigt sie ebenfalls. Größere Mengen als etwa 100 mg lassen sich mit der Hand nicht verarbeiten, und es gehört schon große Übung dazu, um dieses Quantum zu bewältigen. Eine ausreichende Trennung von TO und TR ist nur dann erreicht, wenn das vollkommen klare TO mindestens 50% der festen Substanz aufgenommen hat. Anderenfalls bleibt in TR eine mehr oder weniger große Menge vom TO, und man erhält bei der Injektion desselben unerwünschte Reaktionen.

Wer sich mit der Herstellung des TR befassen will, muß sich dessen bewußt sein, daß hoch virulente lebende Tuberkelbazillen in trockenem Zustande so zu verarbeiten sind, daß eine Staubbildung gar nicht zu vermeiden ist. Die damit verbundene Gefahr halte ich für keine geringe, und ich muß gestehen, daß ich bei diesen Versuchen das Gefühl hatte, als ob ich mit explosiblen Stoffen zu tun hätte. Einen Respirator habe ich nicht benutzt, weil mir derselbe keinen ausreichenden Schutz zu bieten schien. Er kann nicht verhüten, daß sich der Bazillenstaub auf die Kleider legt und im Zimmer verbreitet. Ich halte es deswegen auch für ausgeschlossen, daß das TR etwa in größeren Mengen mit Handbetrieb hergestellt werden könnte. Ein gleichmäßig gutes, allen Anforderungen genügendes Präparat in größeren Mengen kann unter Vermeidung der bei der Verarbeitung drohenden Gefahren nur der Großbetrieb mit Zuhilfenahme von geeigneten maschinellen Einrichtungen produzieren. Derartige Einrichtungen für den Großbetrieb zu treffen, haben sich auf meine Veranlassung die Farbwerke von Meister, Lucius & Brüning in Höchst a. M. entschlossen, und sie können das Präparat TR sowohl als TO genau nach meinen Angaben hergestellt abgeben.

Die Flüssigkeiten sind behufs Konservierung mit einem Zusatz von 20% Glycerin versehen, der dieselben nach meinen bisherigen Erfahrungen gegen Zersetzung genügend schützt, ohne das TR in den unlöslichen Zustand überzuführen.

Die Anwendung und Dosierung des Präparates ist eine sehr einfache. Die Injektionen werden ebenso wie beim Tuberkulin auf dem Rücken mit Hilfe einer gut sterilisierbaren Spritze gemacht. Die Flüssigkeit enthält im Kubikzentimeter 10 mg fester Substanz und ist für den Gebrauch durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung (nicht mit Phenollösung) auf die erforderliche Dosis zu bringen. Man beginnt mit $\frac{1}{500}$ mg. Es ist dies eine so niedrige Dosis, daß darauf nur ausnahmsweise eine Reaktion eintritt; sollte dies aber der Fall sein, dann verdünnt man noch mehr. Die Einspritzungen werden ungefähr jeden zweiten Tag unter so langsamer Steigerung der Dosis vorgenommen, daß höhere Temperatursteigerungen als um einen halben Grad möglichst vermieden werden. Etwaige Temperatursteigerungen, welche durch die Injektion bedingt sind, müssen vollkommen geschwunden sein, ehe von neuem injiziert wird. Ich bin in der Regel bis 20 mg gestiegen und habe dann, wenn auf diese Dosis keine Reaktion erfolgt, aufgehört oder nur noch in größeren Pausen injiziert.

Will man Tiere immunisieren, dann gibt man von vornherein soviel, als sie gut resorbieren können, den Meerschweinchen z. B. 2—3 mg, größeren Tieren entsprechend mehr. Bei tuberkulösen Tieren muß man natürlich mit viel kleineren Dosen anfangen, da eine Dosis von 2 mg unter Umständen schon tödlich sein kann.

Was nun die mit dem TR zu erzielenden Wirkungen anbetrifft, so will ich mich hier nur auf einige kurze Bemerkungen beschränken und behalte mir vor, später hierüber und namentlich über die Behandlung von Kranken ausführlicher zu berichten.

Bei der Immunisierung gesunder und der Behandlung kranker Tiere kommt alles darauf an, möglichst große Dosen beizubringen. Natürlich müssen dieselben so bemessen sein, daß sie noch gut resorbiert werden, was sich leicht an dem Verhalten der Infiltration an den Injektionsstellen bemessen läßt. Unter Einhaltung dieser Bedingungen ist es mir gelungen, eine größere Anzahl von Meerschweinchen vollkommen zu immunisieren, so daß sie wiederholte Impfungen mit virulenten Kulturen ertragen haben, ohne infiziert zu werden. Die Impfstellen verschwanden spurlos, und die der Impfstelle benachbarten Inguinaldrüsen waren noch Monate nach der Impfung in einigen Fällen ganz unverändert, in anderen nur wenig vergrößert, aber ohne sichtbare tuberkulöse Veränderungen; Tuberkelbazillen konnten in ihnen nicht aufgefunden werden.

Bei einer Anzahl von Tieren war zur Zeit der ersten Impfung die Immunisierung noch nicht beendet. In diesen Fällen fand sich die Impfstelle zwar verheilt, aber die Inguinaldrüsen waren verkäst. Die inneren Organe dagegen waren frei von Tuberkulose, während die Kontrolltiere weit vorgeschrittene allgemeine Tuberkulose der Lungen, Milz und Leber zeigten.

Einen noch geringeren Grad von Immunisierung zur Zeit der Impfung glaube ich da annehmen zu müssen, wo bei den Versuchstieren sich nur die Lungen tuberkulös erkrankt zeigten, während Leber und Milz nur Spuren von Tuberkulose erkennen ließen oder ganz frei davon waren. Diesen Zustand habe ich außer in diesen Fällen nur noch bei tuberkulösen Meerschweinchen gesehen, welche mit dem gewöhnlichen Tuberkulin behandelt wurden, aber in einem zu weit vorgeschrittenen Stadium der Erkrankung.

Bei Meerschweinchen, welche nach geschehener tuberkulöser Infektion Injektionen mit TR erhalten hatten, wurden ausnahmslos mehr oder weniger weit vorgeschrittene regressive Veränderungen an den beim Beginn der Behandlung bereits tuberkulös gewordenen Organen gefunden. Namentlich zeigte sich das an Leber und Milz. In der Leber fehlten die nekrotischen, gelblich gefärbten Herde, dafür sah man Furchen und Einsenkungen an der Oberfläche, welche dem Organ ein eigentümlich höckeriges Aussehen verleihen. Die Milz ließ ebenfalls Schrumpfung erkennen, die in einigen Fällen soweit gegangen waren, daß von dem Organ nur noch ganz geringe Reste übrig geblieben waren, die erst nach sorgfältigem Suchen aufgefunden werden konnten.

Im allgemeinen habe ich bei diesen Versuchen den Eindruck gewonnen, daß die volle Immunisierung etwa 2 bis 3 Wochen nach der Applikation größerer Dosen eintritt. Eine Heilung tuberkulöser Meerschweinchen, bei denen die Krankheit bekanntlich sehr rasch verläuft, gelingt deswegen nur, wenn die Behandlung frühzeitig, schon 1 bis 2 Wochen nach der Impfung eingeleitet wird.

Letztere Regel gilt auch für den tuberkulösen Menschen, dessen Behandlung man nicht zu spät beginnen soll. Im Anfang werden so kleine Dosen gegeben, daß von ihnen noch keine nennenswerte Immunisierung zu erwarten ist; erst wenn man zu größeren Dosen gelangt ist, 0,5—1 mg, treten unverkennbare Wirkungen der Immunisierung ein. Damit ist auch von vornherein eine Grenze für die Anwendbarkeit des Präparats gegeben. Ein Kranker, dessen Zustand nur noch wenige Monate Lebensfrist gestattet, hat keinen Nutzen davon zu erwarten. Ebensowenig hat es einen Zweck, Kranke damit behandeln zu wollen, welche an sekundären Infektionen, namentlich durch Streptokokken bedingten, leiden und bei denen septische Prozesse die Tuberkulose ganz in den Hintergrund gedrängt haben. Es ist doch selbstverständlich, daß eine Immunisierung gegen Tuberkulose auf Streptokokken und andere pathogene Mikroorganismen, welche bei vorgeschrittener Tuberkulose oft eine so verhängnisvolle Rolle spielen, keinen Einfluß, wenigstens keinen unmittelbaren ausüben kann. Derartige Zustände sind in der Regel schon an dem Verhalten der Temperatur zu erkennen, und in dieser Beziehung hat die Erfahrung gelehrt, daß Kranke, deren Temperatur über 38° hinausgeht, für die spezifische Behandlung der Tuberkulose nur noch ausnahmsweise zugänglich sind.

Das Präparat ist von mir bei einer ziemlich großen Zahl geeigneter Kranken, und namentlich auch bei Lupuskranken angewendet, und ich habe bei denselben ausnahmslos eine bedeutende Besserung erreicht, welche viel weiter geht, als die mit dem gewöhnlichen Tuberkulin und mit TA erzielten Erfolge. Ich rede absichtlich nur von „Besserung“, obwohl nach gewöhnlichen Begriffen nicht wenige Fälle als geheilt bezeichnet werden konnten. Aber ich halte es für verfrüht, den Ausdruck Heilung zu gebrauchen, bevor nicht ein hinreichend langer Zeitraum ohne Rezidiv verstrichen ist.

Bei Lupuskranken war es besonders bemerkenswert, daß die örtlichen Reaktionen sehr gering blieben und trotzdem eine beständig fortlaufende Besserung sich vollzog. Ebenso fehlten bei Phthisikern die vom Tuberkulin her bekannten stürmischen Reaktionen, die vorübergehende Infiltration in den erkrankten Lungenpartien zur Folge hatten. Beim TR war eine geringe Zunahme der Rasselgeräusche in der Regel das einzige örtliche Symptom, welches bald wieder verschwand. Schon nach wenigen Injektionen nahm die Menge des Sputums ab, und oft versiegte es schließlich ganz, womit natürlich auch der Befund von Tuberkelbazillen aufhörte. Dementsprechend schwanden die Rasselgeräusche über den erkrankten Lungenpartien, und das Dämpfungsgebiet verkleinerte sich.

Irgendwelche beängstigenden Nebensymptome oder eine sonstige Beeinträchtigung der Gesundheit, welche dem Präparat zugeschrieben werden könnte, habe ich in keinem Falle gesehen. Fast alle Kranken nahmen von Anfang an im Gewicht zu und erreichten bis zum Schluß der Behandlung ganz erhebliche Gewichtszunahmen. Besonders in die Augen fallend war auch die Veränderung der Temperaturkurve bei solchen Kranken, welche die bekannten täglichen Temperaturschwankungen um einen Grad und darüber hatten. Die zackige Linie glich sich mehr und mehr aus und ging allmählich zur normalen, fast gestreckten und dicht unterhalb von 37° verlaufenden Linie über.

Ob die von mir bisher geübte Methode in der Anwendung des TR, nämlich langsames Ansteigen von subkutan beigebrachten kleinsten Dosen bis etwa auf 20 mg, die beste ist, wage ich nicht zu behaupten. Es ist möglich, daß andere Methoden, vielleicht auch Kombinationen mit dem TO oder mit Serumpräparaten, die vermittelt TO oder TR¹⁾ gewonnen sind, besser und schneller zum Ziele führen, das müssen eben weitere Versuche lehren. Aber das glaube ich mit Bestimmtheit behaupten zu können, daß weitere Verbesserungen der Präparate selbst nicht mehr zu erwarten sind. Dieselben bestehen aus hochvirulenten, frischen Kulturen, welche unmittelbar vorher noch lebend waren und ohne chemische Eingriffe in den löslichen Zustand übergeführt sind.

Etwas Besseres läßt sich in dieser Art nicht darstellen, und was überhaupt mit Tuberkelkulturen zu erreichen ist, das muß mit diesen Präparaten zu erreichen sein.

Berlin, den 14. November 1896.

¹⁾ Versuche zur Serumgewinnung mit den Präparaten TO und TR sind bereits im Gange.