

PESTER MEDICINISCH-CHIRURGISCHE PRESSE

Verantwortlicher Redakteur: Dr. JOSEF HERBST.

Sonderabdruck aus Nr. 15—18. — 47. Jahrgang. — 1911.

Bericht über den heutigen Stand der Wright- schen Vakzine-Therapie und der Opsonintechnik auf Grund von im St. Marys-Hospital in London gemachten Erfahrungen.

VON

Dr. EDUARD NEUBER.



Dr. Jendrássik

BUDAPEST, 1911

E. PÁPAI ART. ANSTALT, VII., KERTÉSZ-UTCZA 16.

In jüngster Zeit wurde die Immunitätsforschung mit einem sehr wertvollen Zweig bereichert, welcher in ärztlichen Kreisen großes Aufsehen und Interesse erregte.

Wright gelangte vor beiläufig einem Jahrzehnt an der Hand der grundlegenden Arbeiten *Leishman's* zu der Entdeckung, daß außer den bakteriolytischen Sera, in dem Serum sowohl des normalen, wie des immunen Organismus solche Stoffe gefunden werden können, welche ohne direkt bakterizid zu sein, eine ausgesprochene Schutzwirkung haben.

Diese Stoffe üben ihre Wirkung ohne Ambozeptor aus und bereiten nach der Auffassung *Wright's* die Bakterien gleichsam für die Phagozytose vor.

Wright gründete seine Theorie auf folgende Versuche:

Wenn von ihrem Serum befreite Blutkörperchen zu einer Bakterienemulsion gegeben werden und wenn von dieser Mischung, nachdem sie einige Zeit im Thermostat war, einige Tropfen auf den Objektträger gebracht werden, so fressen die Leukozyten nur wenige Bakterien, gab er indessen zu dieser Mischung einige Tropfen frischen Serums, so änderte sich das Bild sofort, indem die überwiegende Mehrzahl der Leukozyten schon in kurzer Zeit zahlreiche Bakterien in sich aufnahm. Wurde das Serum vorher auf 60° C. erhitzt, so blieb die intensivere Phagozytose aus, durch die Erhitzung wurde also das Serum inaktiviert.

Durch diese Versuche wurde zweifellos festgestellt, daß das frische Blut die Phagozytose der in den Organismus eingedrungenen Bakterien, wenigstens zum größten Teil, befördere und daß die opsoninische Wirkung (*Wright*) durch das Serum bedingt ist.

Die Uebereinstimmung der grundlegenden Experimente, sowie die Einfachheit der Durchführung sicherte binnen kürzester Zeit in den betreffenden Fachkreisen den Erfolg der Opsonintheorie.

Ich beabsichtige nicht, mich an dieser Stelle mit der Opsonintheorie zu befassen, nur möchte ich ihre heutige Stellung in der Immunitätslehre mit einigen Worten bezeichnen.

Vor der Publikation der *Wright'schen* Opsonintheorie herrschten hauptsächlich zwei Auffassungen in der Immunitätslehre: *Ehrlich's* Humoral- und *Metschnikoff's* Cellulartheorie standen sich schroff gegenüber. Zwischen diesen beiden von einander ganz abweichenden Auffassungen schlug *Wright's* Lehre gleichsam eine Verbindungsbrücke.

Im Sinne der *Wright'schen* Auffassung bereiten nämlich die im Serum und Plasma kreisenden Opsonine, wenn sie unter gewissen Bedingungen mit den Bakterien in Berührung kommen, diese für die Phagozytose, hauptsächlich für die polynuklearen Leukozyten vor. Die Opsonine sind spezifisch; jedem durch Opsonine beeinflussbarem Bakterium entspricht ein spezifisches Opsonin.

Schon das normale Serum besitzt eine sehr große opsoninische Kraft. Die Opsoninreaktion wird schon sinnfällig, wenn sich bakterizide oder agglutinierende Erscheinungen noch gar nicht zeigen.

Die Opsonine des normalen Blutserums sind gleich den Alexinen, dem Komplemente sehr thermolabil; werden sie durch 15 Minuten auf 60° C. erhitzt, so gehen sie rasch zugrunde; auch verlieren sie an Wirksamkeit bei längerem Stehen des Serums.

Nach *Wright* wirken die Opsonine auf die Bakterien und nicht auf die Leukozyten. Diese Behauptung stützte er durch ein sehr plausibles Experiment.

Wurden nämlich durch Erhitzung des Serums auf 60° C. die Opsonine vernichtet, so erfolgte nach Vermischung des Serums mit einer Bakterien-Leukozytenemulsion keine oder nur eine minimale Phagozytose.

Wurde aber welches normale Serum immer mit Bakterien versetzt stehen gelassen, sodann diese Mischung auf 60° C. erhitzt und eine entsprechende Menge von Leukozytenemulsion hinzugegeben, so erfolgte eine ausgesprochene Phagozytose.

Aus diesen Experimenten folgt, daß die Opsonine an die Bakterienleiber gebunden werden und durch nachträgliche Erhitzung nicht mehr vernichtet werden können, weiterhin, daß die Opsonine auf die Bakterien einwirken und nicht auf die Leukozyten.

Zwischen den normalen und Immunopsoninen besteht ein wertvoller und interessanter Unterschied, welchem übrigens unter gewöhnlichen Verhältnissen auch eine praktische Bedeutung zukommen kann. Die Opsonine des normalen Serums gehen nämlich bei 15 Minuten wähernder Erhitzung auf 60° zugrunde, während die Immunopsonine auf einen solchen Eingriff nur wenig an Wirksamkeit einbüßen.

Nach diesen einleitenden Zeilen übergehe ich auf mei-

nen eigentlichen Gegenstand, auf das in dem *Wright'schen* Institut beobachtete Vakzine-Verfahren und den Bericht über den heutigen Stand der Opsonintechnik.

Während meines beinahe zweijährigen Aufenthaltes im Auslande sah ich in zahlreichen deutschen, französischen und österreichischen Laboratorien die Anwendung der Vakzine-Therapie im Sinne der *Wright'schen* Lehre.

Die von einander abweichenden Ergebnisse der an zahlreichen Orten gemachten Experimente beeinflussten in ungünstiger Weise die Bewertung des *Wright'schen* Verfahrens.

Auch mich, den vollständig objektiven Beobachter, ließen die in den verschiedenen Laboratorien wahrgenommenen Ergebnisse, welche manchmal vollständig von einander abwichen, ja sogar entgegengesetzt waren, in betreff dieser Frage, ganz im dunklen.

Während meines Pariser Aufenthaltes begann auch ich mich in dem Pasteur-Institut mit Hilfe meines werten Chefs, Prof. *Metschnikoff* mit diesen Fragen zu beschäftigen; später ging ich, da es an entsprechendem Krankenmaterial fehlte, auf den Rat und die Empfehlungen *Metschnikoff's* nach London, um in dem Institut *Wright's* nähere Aufschlüsse über diese Fragen zu gewinnen; diese schon längst ersehnt, erhielt ich in sehr kurzer Zeit. Ich überzeugte mich bald davon, daß die von einander abweichenden und gegensätzlichen Ergebnisse beinahe insgesamt auf technische Fehler zurückzuführen sind.

Schon ein geringes Abweichen von der *Wright'schen* Technik beeinflußt in sehr ungünstiger Weise den Wert des Verfahrens. *Wright's* Verfahren ist ungemein kompliziert und der technische Teil der Methode setzt sich aus vielen kleinen Laboratoriums-Handgriffen zusammen, welche man sich durch den Augenschein wohl leicht aneignet, nach bloßer Beschreibung aber schwer anwenden kann.

Die Orientierung in betreff dieser Dinge ist sehr schwer, denn *Wright* hat in zahlreichen Publikationen seine Theorie und einzelne Teile seiner Technik erläutert; bisher gab er aber kein zusammenfassendes Werk heraus.

Einige deutsche Autoren berichteten wohl über die *Wright'sche* Methode, doch besprachen diese hauptsächlich das Prinzip des Verfahrens und behandelten das Verfahren selbst bloß in seinen Hauptzügen, erwähnten aber kaum die Technik der *Wright'schen* Vakzine-Therapie.

Ich kann mich an dieser Stelle nicht mit der Schilderung des Heilungsprozesses der mit verschiedenen Vakzinen behandelten Kranken und des Krankheitsverlaufes befassen, und will nur kurz bemerken, daß in dem überwie-

genden Teil der Fälle schon eine Injektion oder zwei von frapperter Wirkung waren.

Der größte Teil der Kranken wird gegen Akne, Furunkulose und Scrophuloderma behandelt, doch auch durch Gonococcus, Streptococcus, Koli- und Tuberkulosebacillus verursachte Krankheiten können Gegenstand der Vakzinebehandlung bilden.

Obwohl wir auch in diesen Krankheitsfällen schöne Erfolge erzielen können, so werden wir eine rasche und vollständige Heilung doch zumeist bei den leicht zugänglichen Staphylococcus-Erkrankungen erreichen.

Das ganze Gesicht und den Rücken einnehmende Aknebildungen, generalisierte Furunkulose, bösartig gewordene Karbunkel verschwanden nach einige Injektionen.

Noch sei der Umstand hervorgehoben, daß das *Wright*-sche Institut gewöhnlich von solchen Kranken aufgesucht wird, welche an anderen Abteilungen mit den verschiedensten Methoden erfolglos behandelt wurden und in die Ordinationanstalt des Londoner St. Marys-Hospitals als ultimum refugium flüchten. In der Ordination werden nicht nur Einheimische, sondern auch Leute aus der Provinz in großer Anzahl angetroffen.

In dem *Wright*'schen Institut wundert man sich gar nicht darüber, wenn ein englischer Arbeiter aus der Provinz sich nach seinem Opsonin-Index erkundigt, es ist zumindest ein eben so häufiges Vorkommnis, wie wenn bei uns jemand aus der Provinz aus Furcht vor Syphilis eine Blutprobe verlangt.

Es interessierte mich sehr, wie die Meinung über die in den sonstigen Anstalten erzielten Erfolge laute, von welchen zumindest ein Drittel den Wert des *Wright*'schen Verfahrens bestimmt in einem ungünstigen Licht erscheinen läßt.

Auf meine Fragen wurde mir mit englischer Bündigkeit geantwortet, daß die betreffenden Aerzte entweder oberflächlich arbeiten, oder in der Bereitung und Dosierung, sowie in der das Verfahren kontrollierenden Opsonintechnik nicht genügend bewandert sind. Die Richtigkeit dieser mehr-minder kühnen Erklärungen wurde durch die erfolgreiche Heilung der vor meinen Augen behandelten Kranken in einer jeden Zweifel ausschließenden Weise bestätigt. Besonders die Dosierung des Bakterienstoffes erfordert viel Umsicht und Uebung. Durch eine unrichtige Dosierung schaden wir dem Kranken mehr, als wir ihm nützen.

Ohne vielfache Kontrolle des Opsonin-Index kann sich selbst der erfahrenste Fachmann nicht mit Vakzine-Therapie befassen.

Aus dem Folgenden wird es leicht verständlich sein,

wie verhängnisvoll eine Inokulation zu unrichtiger Zeit werden kann.

Die Vakzine wird von dem Arzt selbst bereitet, oder von einer Londoner Firma, welche sich ausschließlich hiemit beschäftigt, beschafft. Da die Bereitung der Vakzine sehr einfach ist, nur Genauigkeit und eine bescheidene bakteriologische Einrichtung erfordert, ist es zu empfehlen, daß der Arzt selbst sie bereite.

Es kann nämlich der Fall vorkommen, daß die gefundenen Bakterien ohne komplizierteres Laboratorium-Verfahren nicht diagnostiziert werden können, oder es handelt sich um Mischinfektion; in solchen Fällen wird die Vakzine aus dem betreffenden Bakterium oder den *Bakterien-Arten* bereitet.

In dem *Wright'schen* Institut ist es Regel, daß wenn auf 2—3 Inokulationen sich der Zustand des Kranken nicht bessert, die stabilen Vakzine verlassen werden und die Behandlung mit der von dem Kranken gewonnenen Vakzine fortgesetzt wird.

Nach *Wright* ist die Vakzine ein chemischer Stoff, welcher in den Organismus gebracht, die Bildung von Schutzstoffen nach sich zieht; d. h. die Vakzine löst die Produktion bakteriotroper Stoffe aus. So entstehen z. B. auf Applikation von Tuberkulose-Vakzine tuberkulotrope Stoffe.

Die Vakzinen können nach *Wright* auch aus abgetöteten Kulturen (60° C.) bereitet werden, dies bezieht sich auch auf die Tuberkulose-Bazillen.

Die Tuberkulose-Vakzine wird in *Wright's* Anstalt folgendermaßen bereitet:

Einige dreiwöchige auf Glycerin-Bouillon-Nährböden wachsende Tuberkulosekulturen werden mittelst Filtrierpapier von den Nährböden abgelöst, die Bakterien werden getrocknet und bei 60° C. abgetötet. Sie werden sodann nach Hinzugabe von 0.10% Kochsalzlösung im Glasmörser durch 8—10 Minuten gründlich zerrieben, mit der entsprechenden Menge 1% Kochsalzlösung verdünnt, damit die Emulsion gleichmäßiger verteilt sei, mittels Pipette mehrmals aspiriert, nachher durch 2 Minuten zentrifugiert, um die Emulsion von den größeren Klümpchen zu befreien. Es wird nochmals bei 60° C. sterilisiert und endlich nach unten zu beschreibender Methode der Bakteriengehalt eines Kubikcentimeters der Mischung bestimmt.

Steht uns T. R.-Tuberkulin zur Verfügung, so ist das Verfahren noch einfacher. Das Tuberkulin wird bei 60° C. durch eine Stunde sterilisiert, mit 1% Kochsalzlösung verdünnt und nach Hinzugabe von 0.25% Lysol der Bakteriengehalt eines Kubikcentimeters bestimmt.

Die Bereitung der *Staphylococcus-Vakzine* geschieht folgendermaßen: es werden in die eine von vier Röhren mit

ganz jungen (jünger als 24 Stunden) auf Agar-Agar gewachsenen Staphylococcus-Kulturen 10 Cm^3 1% Kochsalzlösung getan, die Bakterien auf dieser Weise von dem Nährboden geschieden, mit der Kochsalzlösung zu einer Emulsion' vermischt und das Ganze in ein zweites Röhrchen gegeben, das Verfahren fortgesetzt, das Ganze hierauf in ein drittes und endlich in ein viertes Röhrchen getan.

Es ist daher zuletzt in 10 Cm^3 1% Kochsalzlösung der Staphylococcus-Stoff von vier Röhrchen enthalten. Diese Emulsion wird in eine sterile Epruvette gegeben, diese oben zugeschmolzen, wobei das Ende etwas ausgezogen wird, hierauf in den Schüttelapparat getan und sodann der Bakteriumgehalt der Emulsion bestimmt.

Ein Teil Blut wird mit einem Teil Emulsion gemischt, das Ganze mit sechs Teilen $1\cdot0\%$ Acid. nitricum verdünnt und hievon 1—2 Tropfen mittelst Deckgläschens auf das Objektgläschen aufgestrichen.

Es werden sodann in 25—30 Gesichtsfeldern die roten Blutkörperchen und die Bakterien gezählt. Zur genaueren Zählung empfiehlt es sich hinter das Okular ein Diaphragma zu geben und so bloß die zentralen Teile in Augenschein zu nehmen. Werden z. B. in 30 Gesichtsfeldern 290 rote Blutkörperchen und 555 Bakterien gefunden, so entfallen auf 5000 rote Blutkörperchen 9569 Bakterien.

Entfallen auf 5000 rote Blutkörperchen 9569 Bakterien, so sind in einem Mm^3 der Emulsion 9,569.000 und in einem Cm^3 der Emulsion 9569 Millionen Bakterien enthalten.

Wright benützt in jüngster Zeit Bakterien-Emulsionen, welche in einem Cm^3 500 Millionen Bakterien enthalten.

Die Bakterien-Emulsionen werden in Gläschen von beiläufig 30 Cm^3 aufbewahrt, welche mit einem Gummikäppchen verschlossen sind. In jedem Gläschen sind 25 Cm^3 1% Kochsalzlösung mit $\frac{1}{2}\%$ Karbollösung versetzt enthalten.

Nach *Wright's* Vorschrift müssen sich in jedem Cm^3 500 Millionen Bakterien befinden.

Mit der vorherigen Emulsion müssen wir z. B. folgendermaßen verfahren:

Wenn in einem Cm^3 der 25 Cm^3 Kochsalzlösung 500 M (Millionen) Bakterien enthalten sein sollen, so sind in 25 Cm^3 Kochsalzlösung $500 \times 25 \text{ M} = 12.500 \text{ M}$.

Die folgende Gleichung ist aufzustellen:

$$\begin{array}{r} \text{In } 1 \text{ Cm}^3 \text{ (Emulsion)} \quad 9569 \text{ M Bakterien} \\ \text{„ x „ „ „ „ „ } \quad 12500 \text{ „ „} \\ x = \frac{12500 \text{ M}}{9569 \text{ M}} = 1\cdot03 \end{array}$$

Es sind daher in 1.03 Cm^3 12.500 M Bakterien vorhanden. Das weitere Verfahren ist höchst einfach; wir entnehmen dem Gläschen 1.03 Cm^3 Kochsalzlösung und ersetzen diese durch 1.03 Cm^3 Bakterien-Emulsion.

Nun enthält die Kochsalzlösung in jedem Kubikcentimeter 500 M Bakterien.

Die Aspiration der Kochsalzlösung und die Hinzufügung der Bakterien-Emulsion hat mit steriler Spritze zu geschehen, auf die Einstichöffnung geben wir 1—2 Tropfen auf 150° C . erhitztes Olivenöl. Auf diesen Grad erhitztes Olivenöl sterilisiert nämlich vorzüglich und schließt die Einstichöffnung sehr gut.

Der schwierigste Teil des Verfahrens ist die Dosierung der Vakzine. Selbst der erfahrenste Fachmann kann nach keinem bestimmten Schema arbeiten und kann sich diesbezüglich nicht auf jahrelange Erfahrungen stützen, sondern bei jedem neuen Kranken muß die Wirkung der ersten Inokulation, bei Beachtung der Widerstandsfähigkeit des Organismus beobachtet werden.

Die Messung der antibakteriellen Kraft des Blutes kann eine vollständige oder teilweise sein.

Nach der Ansicht *Wright's* bietet die vollständige, jedenfalls genauere Aufklärung über die antibakterielle Kraft des Blutes, doch würde dies das Verfahren zu kompliziert gestalten; haben wir weiterhin eine Gewähr dafür, alle Antikörperarten zu kennen?

Wright hob in seinen Arbeiten mehrmals hervor, daß die Vakzine-Therapie auf der partiellen Messung der antibakteriellen Kraft des Blutes aufgebaut wurde und daß die Therapie nicht an den opsonischen Index gebunden sei.

Auch die agglutinierende, bakterizide u. s. w. Wirkung des Serums kann benützt werden.

Doch betont *Wright* auf Grund seiner Experimente, daß zur Messung der antibakteriellen Kraft des Blutes die Bestimmung des opsonischen Index am geeignetesten sei, da 1. der opsonischen Index in allen Immunitätsprozessen eine Aenderung zeigt, 2. diese Aenderung eine sehr empfindliche Messung der Immunitätsreaktion gibt, 3. diese Aenderung sehr gut in Zahlen ausgedrückt werden kann, 4. an vielen Kranken angestellte Versuche erwiesen haben, daß zwischen dem Steigen und Fallen des opsonischen Index einerseits, der Besserung und Verschlimmerung des klinischen Bildes andererseits ein gewisses Verhältnis besteht.

Nach *Wright* kann daher das Verhalten der Opsonin-Kurve sehr wohl als Maßstab der Vakzine-Therapie benützt werden.

Wie muß sich daher die Opsoninkurve bei richtiger Dosierung verhalten?

Nehmen wir den Fall, daß wir bei einem neuen Kranken die richtige Dosis sofort trafen, so wird die Opsoninkurve folgendermaßen verlaufen.

Die Kurve fällt nach einer gewissen Zeit unter das Normale (negative Phase), es kann indessen geschehen — besonders, wenn wir kurze Zeit nach der Inokulation die Opsoninuntersuchung vornehmen — daß dieser negativen Phase eine sehr kurze, positive Phase vorangeht (false rise, initial rise). Die negative Phase erscheint schon am 2. Tage; am 3. Tage beginnt die Opsoninkurve zu steigen und erreicht nach einer gewissen Zeit ihren Höhepunkt weit über dem normalen Niveau, fällt sodann nach und nach, bleibt aber gewöhnlich eine geraume Zeit über dem Normalen.

Eine wichtige Regel ist es bei jeder folgenden Inokulation das Fallen der Opsoninkurve abzuwarten.

Wohl wäre es vorteilhafter, wenn wir die folgende Inokulation zur Zeit der Kulmination der Opsoninkurve geben könnten und so zwei positive Phasen miteinander verbinden würden. Dies gelingt aber nur in den seltensten Fällen und kommt daher vom praktischen Standpunkt nicht in Betracht.

Verabreichen wir dem Kranken eine solche Vakzinedosis, welche sein Blut nur in geringem Maße beeinflußt, so kann die negative Phase entfallen und es tritt nur die positive Phase in Erscheinung.

In solchen Fällen steigt aber die Opsoninkurve nicht so hoch an, als in dem vorigen Fall und bleibt auch nicht so lange über dem normalen Niveau.

In diesem Falle haben wir dem Kranken nicht geschadet und können bei der folgenden Inokulation die Dosis korrigieren.

Haben wir aber eine große Menge Vakzine verabreicht, so ist die negative Phase sehr ausgesprochen und hält lange an; der falsche Anstieg (false rise) entfällt dabei immer und das Sinken der Opsoninkurve ist immer von klinischen Symptomen begleitet, welche sich gewöhnlich in Müdigkeit und Verfall äußern.

Wenn wir eine übergroße Vakzinemenge in den Organismus eingeführt haben, dann erstreckt sich der bakteriotrope Druck des Blutes auf mehrere Wochen und wir erwarten vergebens das Erscheinen der positiven Phase.

Während der negativen Phase darf in keinem Falle inokuliert werden, da in solchem Falle eine Addition der negativen Phasen erfolgt.

Wright geht folgendermaßen vor, um die richtige Dosis zu bestimmen.

War der opsoninische Index des Kranken vor der Inokulation einem bestimmten Krankheitserreger gegenüber subnormal und sinkt 24 Stunden nach der Injektion noch mehr, so war die verabreichte Vakzinemenge zu groß.

Zeigt indessen die zweite, 24 Stunden nach der Inokulation vorgenommene Blutuntersuchung einen Anstieg des Index, welcher aber nach 8—10 Tagen auf das Niveau vor der Injektion sinkt, so war die angewandte Vakzinedosis zu klein.

Wenn aber die Opsoninkurve nach der Injektion ein wenig sinkt, um noch nach 8—10 Tagen weit höher zu stehen als vor der Injektion, so war die Vakzinedosis richtig.

Es ist daher sehr wichtig mit kleinen Dosen zu beginnen und sich empirisch dem Organismus des Kranken anzupassen.

Wright macht noch auf die irrtümliche Auffassung aufmerksam, welche die Ursache schon vieler Mißerfolge war, daß nämlich die Immunitätsreaktion nicht in geradem Verhältnis zur Steigerung der Bakteriemenge der folgenden Inokulationen stehe. Seine zahlreichen Experimente gestatten den Schluß, daß eine solche Progression der Vakzinedosen sehr unangenehme Folgen für den Kranken haben kann. Wir können nämlich mit der stufenweisen Steigerung der Dosen an einen Punkt gelangen, wo die Immunitätsreaktion den Dienst versagt.

Sehr wichtig ist weiterhin die Wahl der Stelle, an welcher wir die Bakterienleiber einführen wollen.

Die Inokulation applizieren wir womöglich in der Nähe des Krankheitsherdes. Wenn der Weg, auf welchem die lokal gebildeten Schutzstoffe in den Blutstrom gelangen, nicht durch das erkrankte Gebiet führt, so kommen die antibakteriellen Stoffe mit dem Krankheitsherde erst in Berührung, nachdem sie mit dem gesamten Blut sich vermengt haben und so in ihrer Wirkung stark abgeschwächt sind.

Die Inokulationsstelle ist daher derart zu wählen, daß der Weg der lokal gebildeten antibakteriellen Stoffe unmittelbar durch den Krankheitsherd führe.

Wright appliziert auf die Oeffnungen von Abszessen und Furunkeln in sterile Zucker- und Natriumacetatlösung getauchte Verbände; hiedurch wird die Gerinnung des Wundsekrets verhindert, sodann durch den gesteigerten Seitendruck das Einströmen der Lymphe in die Wundhöhle gefördert und so das Eindringen der noch nicht gebundenen Opsonine günstig beeinflußt.

Endlich sei noch erwähnt, daß für *Wright* die Indikationen seiner Vakzinetherapie hauptsächlich chronische, lokale Erkrankungen (Akne, Furunkel, Sycosis, Scrophuloderma und sonstige tuberkulöse Typen etc.) bilden.

Lokale chronische Prozesse lösen nämlich keine Blutreaktion aus, in dem Serum befinden sich keine, oder kaum Immunopsonine.

In solchen Fällen kann durch Inokulation abgetöteter Bakterienleiber die Bildung von Immunopsoninen gefördert und zugleich der Krankheitsprozeß günstig beeinflußt werden.

Wright empfiehlt im Rahmen seiner Vakzinetherapie noch andere kleinere Eingriffe, z. B. die Eröffnung von Aknen, Furunkeln u. s. w. und die Ausräumung krankhafter Stoffe.

Es werden hiedurch nämlich die durch Bakterien schon gebundenen Oponine entfernt und das Zuströmen frischen Serums ermöglicht. Auch die *Bier'sche* Methode leistet gute Dienste. Die Zirkulation in den Krankheitsherden wird gefördert und diese mit frischem Blut, resp. frischen Oponinen versehen.

Wright hält in akuten Erkrankungen das Vakzinationsverfahren für kontraindiziert, welche Auffassung er sehr oft in seinen Arbeiten vertritt.

Bei akuten Erkrankungen zerfallen nämlich zahllose Mikroben und binden Oponine; es ist daher leicht verständlich, daß in diesen Fällen mittelst der Vakzination nur die im Organismus kreisenden Endotoxine vermehrt und die freien normalen und immunen Oponine gebunden werden.

* * *

Wie schon oben erwähnt, bestimmt *Wright* zur Messung der antibakteriellen Kraft des Blutes nicht die Menge der gesamten Antikörper, sondern benützt zur Orientierung ausschließlich den opsoninischen Index.

Wright's Oponintechnik ist sehr kompliziert, auch gibt es Faktoren, welche nicht genau gemessen, in Zahlen ausgedrückt werden können. Zur Vermeidung von Versuchsfehlern ist es rätlich, mit demselben Versuchsstoff mehrere Bestimmungen zu treffen und deren mittleren Wert als Endergebnis zu betrachten.

In dem *Wright'schen* Institut wird die Genauigkeit der einzelnen Bestimmungen in der Weise kontrolliert, daß zumindest zwei Mitglieder des Instituts vollständig unabhängig von einander aus demselben Versuchsstoff den Index bestimmen und nur bei übereinstimmenden oder nur sehr wenig abweichenden Ergebnissen werden die gefundenen Werte zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken als gebrauchsfähig betrachtet.

Die Bestimmung des opsoninischen Index ist daher der Schlüssel des ganzen Verfahrens. Der technische Teil selbst ist zwar aus den Arbeiten *Wright's* und seiner Schule im An-

schluß an einzelne Neuerungen bekannt, aber in geschlossenem Zusammenhang nirgends anzutreffen.

Ich beabsichtige in folgendem die Oponintechnik darzulegen und zwar beschränke ich mich, indem ich von jeder fremden Neuerung absehe, bloß auf den Bericht des in dem *Wright'schen* Institut beobachteten Verfahrens.

Zur Bestimmung des Oponinindex haben wir nötig: 1. serumfreie, d. h. ausgewaschene Blutkörperchen, 2. eine Bakterienemulsion, 3. krankes (zu untersuchendes) und gesundes Blutserum.

Die Präparierung der Blutkörperchen erfordert große Sorgfalt. In dem *Wright'schen* Institut benützt gewöhnlich der betreffende Arzt seine eigenen weißen Blutkörperchen bei seinen Versuchen. Vergleichende Experimente gestatten nämlich den Schluß, daß die Leukozyten verschiedener Individuen bei Gebrauch desselben Serums und derselben Bakterienemulsion eine sehr verschiedene Freßfähigkeit entwickeln können. Zur Vermeidung der Schwankungen innerhalb 24 Stunden ist es empfehlenswert, zu einer bestimmten Tagesstunde Blut zu entnehmen. Die Blutzellen können auf einige Stunden im Eisschrank aufbewahrt werden, sie verlieren selbst nach 4—5 Stunden nicht so viel von ihrer Freßfähigkeit, daß es bei dem Verfahren merkbar wird.

Ein Glasröhrchen von 3—4 Cm³ wird zu zwei Drittel mit einer 1⁰/₁₀ Kochsalzlösung, welche 1¹/₂⁰/₁₀ Natr. citricum enthält, angefüllt.

Die Natr. citricum-Lösung wird entweder täglich frisch bereitet oder vollständig steril aufbewahrt.

Eine Londoner Firma (Davis and Co.) brachte vor einigen Jahren nach den Anweisungen *Wright's* Natr. citricum-Pastillen von 1¹/₂ Gr. in Verkehr. Das Arbeiten mit diesen ist sehr bequem, da eine solche Pastille einige Minuten vor jedem Versuch in 100 Cm³ 1⁰/₁₀ Kochsalzlösung aufgelöst wird.

Die Natr. citricum-Lösung verdirbt nämlich sehr rasch und beeinflußt dann die Freßfähigkeit der Leukozyten in sehr ungünstiger Weise.

Seit 1—2 Jahren wird in dem *Wright'schen* Institut statt der 1⁰/₁₀, 0·85⁰/₁₀ Kochsalzlösung benützt. Nach *Wright* entwickeln die Leukozyten in dieser Lösung eine stärkere Wirkung. In das zu zwei Drittel mit der Natr. citricum-Lösung gefüllte Röhrchen werden beiläufig 8—10 Tropfen Blut gegeben; nach je 2—3 Tropfen wird das Röhrchen mehrmals umgewendet, damit sich das Blut gut mit der Flüssigkeit vermische. Geschüttelt darf nicht werden. Nun gelangt das mit der Blutemulsion gefüllte Röhrchen auf eine gewisse Zeit in die Zentrifuge. Die Dauer der Zentrifugierung hängt von

der Umdrehungsgeschwindigkeit der Zentrifuge und der Konzentration der Emulsion ab.

Die Regel ist, sofort nach der Sedimentierung der weißen Blutkörperchen die Zentrifugierung sofort einzustellen. Bei längerem Zentrifugieren agglutinieren nämlich die weißen Blutkörperchen, wodurch die Genauigkeit der späteren Berechnung beeinträchtigt wird.

Bei jeder Zentrifuge ist daher (bei derselben Konzentration der Emulsion) festzustellen, in welcher Zeit die Sedimentierung der weißen Blutkörperchen erfolgt.

Eine Zentrifuge mit mehr als 3000 Umdrehungen ist nicht zu gebrauchen; hier erfolgt nämlich ebenfalls eine Agglutination der weißen Blutkörperchen.

In dem *Wright'schen* Institut wird eine Wasserzentrifuge benützt, mit 2000 Umdrehungen in der Minute, welche gleichmäßig funktioniert (*Crouch-Zentrifuge*).

Beim Gebrauch dieser Zentrifuge erfolgt die Sedimentierung der weißen Blutkörperchen binnen 3 Minuten.

Die Flüssigkeit über den Blutkörperchen wird aspiriert und durch 1% Kochsalzlösung ersetzt, das Glasröhrchen 2—3-mal umgewendet, damit die Emulsion sich je inniger vermengt und die Emulsion so lange zentrifugiert, bis die Blutkörperchen sich *eben* abgesetzt haben. In dem Falle natürlich, wo das Serum durch 1% Kochsalzlösung ersetzt ist, muß kürzere Zeit zentrifugiert werden.

Früher benützten *Wright* und seine Schüler die über den roten Blutkörperchen lagernde Membran, die Masse der Leukozyten bei ihren Versuchen. Mit Rücksicht darauf, daß die Bildung dieser Membran nicht immer ausgesprochen ist, wird neustens das sedimentierte Blut selbst angewendet. Bei der letzteren Modifikation konnte ich selbst sehr leicht 150—200 polynukleare Zellen in einem Präparate zählen.

Die Bereitung der *Bakterienemulsion* ist ebenfalls ein Kardinalpunkt des Verfahrens. Der „phagocytic count“ d. h. die Zahl der durch die Phagozyten aufgenommenen Mikroben soll nicht mehr als drei (bei Einwirkung normalen Serums) für je eine Zelle betragen, ja bei Tuberkulosebazillen soll diese Zahl womöglich auf 1·5—2·0 reduziert werden.

Noch vor einigen Jahren wurden letztere Zahlen bei dem Tuberkulosebacillus auf 2—4, bei anderen Mikroben auf 5—8 erstreckt.

Zahlreiche Versuche in dieser Richtung sprachen dafür, daß beim Zählen einer geringeren Zahl von phagozytierten Bakterien beständigere Ergebnisse erhalten wurden. Im Falle einer sehr konzentrierten Emulsion kann es nämlich geschehen, daß in je einer Leukozyte die Bakterien so dicht nebeneinander liegen, daß eine genaue Zählung unmöglich wird.

Zur Tuberkulosebazillen-Emulsion wurden früher die in der Höchster Farbenfabrik bei Bereitung des Tuberkulin verbliebenen trockenen Bazillenleiber benützt, diese wurden mittelst einiger Tropfen $1\frac{1}{2}\%$ Kochsalzlösung zu einer dichten Emulsion verrieben, sodann verdünnt und zentrifugiert. Die obere Schichte der über den im unteren Teile der Röhren abgesetzten Klümpchen befindlichen opaleszierenden Flüssigkeit wurde aspiriert, durch 30 Minuten bei 60° C. sterilisiert und bis zum Gebrauche in sterilen Glasröhren aufbewahrt.

In jüngster Zeit wurde dieses Verfahren dadurch vereinfacht, daß vollständig unabhängig von Fabriksprodukten zur Bereitung der Emulsion bloß die Kulturen menschlicher Tuberkelbazillen benützt werden.

Das Verfahren ist folgendes: Auf Glycerin-Bouillon gezüchtete dreiwöchige Tuberkulosebazillen-Kulturen werden filtriert, die auf dem Filterpapier verbliebene Bazillenmenge bei 37° C. getrocknet und in einem Porzellan-Mörser ein wenig verrieben. Sie wird sodann in einem entsprechenden Glasbehälter im Autoklav sterilisiert und aufbewahrt.

Wollen wir nun eine Tuberkulosebazillen-Emulsion bereiten, so nehmen wir von diesem Vorrat eine sehr kleine Menge und zerreiben sie, nachdem wir 1—2 Tropfen einer $1\frac{1}{2}\%$ Kochsalzlösung hinzugegeben haben, in einem diesem Zwecke dienenden Glasmörser und zwar so lange, bis die Mischung ein wenig durchscheinender wird, worauf wir noch $1-2\text{ Cm}^3$ einer $1\frac{1}{2}\%$ Kochsalzlösung hinzufügen.

Die ganze Mischung wird mittelst einer Pipette von größerem Kaliber mehrmals aspiriert, sodann in eine kleine Eprovette geschüttet und durch zwei Minuten zentrifugiert (Crouch'sche Zentrifuge, 2000 Umdrehungen in der Minute), bis die gröberen Klümpchen sich abgesetzt haben. Nach der Sedimentierung wird die noch immer sehr konzentrierte Emulsion mittelst Pipette aspiriert und durch 7--10 Minuten zentrifugiert. Für die Zentrifugierung kann natürlich auch hier kein bestimmtes Zeitmaß angegeben werden. Es muß so lange zentrifugiert werden, bis der Phagozytenindex $1.5-2.0$ ist. (Die Phagozytose erfolgt in jedem Versuch bei 37° C. bis zu 15 Minuten; siehe weiter unten.)

Es sind immer bloß die oberen $\frac{2}{3}$ der Emulsion zu benützen; es ist sehr empfehlenswert, auch die oberste Schichte der Emulsion mittelst Pipette zu entfernen, denn manchmal treffen wir auch hier auf Bakterienklümpchen. Eine solche Bakterienemulsion, steril aufbewahrt, bleibt sehr lange gebrauchsfähig, muß aber vor der Benützung mehrmals aspiriert oder für einige Minuten in den Schüttelapparat gegeben werden.

Die Präparierung anderer Bakterien ist einfacher.

Von einer jungen Agar-Kultur (das Alter der zur Coli-gruppe gehörigen Bakterien und der Gram-negativen Kokken sei 4—10, die der Gram-positiven 24 Stunden) wird eine Platinöse voll mit 2—3 Tropfen einer 1% Kochsalzlösung in einem Uhrglase mittelst eines diesem Zwecke dienenden, an seinen Enden abgerundeten Glasstäbchens durch 2 Minuten stark verrieben; nach und nach wird unter fortwährendem Umrühren der Emulsion so viel 1% Kochsalzlösung hinzugefügt, bis die eine Oese voll (2 Milligramm) in beiläufig $1\frac{1}{2}$ Cm³ Kochsalzlösung suspendiert ist. Die ganze Mischung wird sodann mittelst einer Pipette von größerem Kaliber mehrmals aspiriert.

Es ist sehr empfehlenswert, die Emulsion auf beiläufig eine halbe Stunde in den Schüttelapparat zu geben, um ein Zusammenballen der Bakterien womöglich zu verhüten.

Die Emulsion wird sodann in eine kleine Eprouvette gegeben und durch 4 Minuten zentrifugiert (Crouch-Zentrifuge), die oberste Schichte der Emulsion mittelst Pipette entfernt (auch hier treffen wir, wie bei der Tuberkelbazillen-Emulsion, auf Bakterienklümpchen, welche bei der Bestimmung des Index sehr störend wirken), das oberste Drittel der Emulsion wird sodann mittels Pipette aspiriert, in eine kleine sterile Eprouvette geschüttet und bis zum Beginn des Versuches aufbewahrt. Beim Hinzufügen von $\frac{1}{2}$ 0 Phenol ist solch eine Bakterienemulsion längere Zeit haltbar.

Bei der Bereitung einer jeden Emulsion müssen wir uns überzeugen, ob sie den oben angeführten Erfordernissen entspricht. Ist die Phagozytierungszahl größer als drei, muß so lange zentrifugiert werden, bis wir dieser Zahl nahe kommen.

Schon bei der makroskopischen Betrachtung der Emulsion dürfen wir nicht außer acht lassen, daß die Bazillenemulsionen viel konzentrierter erscheinen, als Coccusemulsionen; die letzteren opalisieren schwach.

Endlich ist es wichtig, daß wir mit gleichalterigen und womöglich auf gleichmäßigen Nährböden gezüchteten Mikroben arbeiten; der letztere Umstand ist von großem Einfluß auf die Phagozytose und die Färbbarkeit der Bakterien.

Das zur Gewinnung des zu untersuchenden Serums notwendige Blut wird in einem gebogenen Glasröhrchen aufgefangen; das Glasröhrchen läuft an beiden Enden in 5—6 Cm. lange Kapillare aus.

Der Kranke wird aufgefordert, die Hand einige Minuten zu schütteln, worauf der eine Finger mittelst Kautschukbinde distalwärts vom Phalango-Metaphalangealgelenk abgeschnürt wird; mit dem über einer Flamme ausgezogenen Ende des ge-

raden Schenkels des *Wright'schen* gebogenen Röhrchens wird in der Nähe des Nagels ein Einstich in den Finger gemacht; das Ende zurückgezogen und abgebrochen und sodann das gebogene Ende des Röhrchens auf die blutende Stelle gesetzt. Nun fließt das Blut in die weiteren Teile des Glasröhrchens. Hat man eine genügende Menge Blut erhalten, wird der gerade Schenkel des Röhrchens einigemale durch die Flamme gezogen und zugeschmolzen. Nach der Abkühlung zieht sich die Luft im Röhrchen zusammen und das Blut gelangt demzufolge aus dem gekrümmten in die weiteren Abschnitte des Röhrchens.

Es muß sehr darauf geachtet werden, beim Erwärmen des geraden Schenkels, dessen zentrales Ende nicht zu sehr zu erhitzen, da das später hineinfließende Blut versengt und das Serum unbrauchbar wird.

Die Gerinnung des Blutes wird beschleunigt, wenn man das Glasröhrchen mit dem Blut in den „Opsonizer“ gibt. (Beständig auf 37° C. eingestelltes Wasserbad mit 20—30 seitlichen Oeffnungen für die Röhrchen. Sein Vorteil vor dem Thermostat ist, daß die Röhrchen rascher auf 37° C. erwärmt werden und daß er nur wenig Raum einnimmt; er kann in einer Ecke des Arbeitstisches leicht untergebracht werden und ist verhältnismäßig billig.) Auch darauf muß sehr geachtet werden, daß das Blut auch wirklich gerinne; es kann besonders bei größerer Kälte geschehen, daß sich die Blutkörperchen absetzen, ohne daß das Blut wirklich geronnen wäre. Nimmt man sodann statt des Serums Plasma, so kann die Gerinnung während des Versuches erfolgen.

In dem *Wright'schen* Institut erfolgt die Bestimmung des opsoninischen Index in der Weise, daß das Serum von zwei oder mehreren Anstaltsärzten vermengt und der Opsoninwert dieses Serums mit dem Opsoninwert des fraglichen Serums verglichen wird.

Es ist nicht sehr ratsam, das Serum bloß eines Individuums zur Kontrolle zu benützen, denn *Wright* und andere haben zweifellos nachgewiesen, daß die Opsoninaktivität ein und desselben Individuums zu verschiedenen Stunden des Tages sehr verschieden sein kann. Je mehr Sera wir vermengen, umso größer ist die Hoffnung, daß wir dem idealen Normal (Kontroll-) Serum nahe kommen.

Haben wir die drei Faktoren: die gewaschenen Blutkörperchen, die Bakterienemulsion und die Sera zum Gebrauche vorbereitet, so aspirieren wir sie in der angegebenen Reihenfolge mittelst Gummischläuchchen in die oben beschriebenen Pipetten; zwischen den einzelnen Teilen ist eine dünnere Luftschicht zu belassen.

Man soll womöglich gleiche Pipetten bereiten.

In der in der Pipette aspirierten Emulsion sind die Blutkörperchen und die Bakterien suspendiert. Sehr natürlich setzen sich Letztere nach einigen Minuten im Thermostat an der Wand der Pipette ab. Dies ist, bei welcher Lagerung der Pipette immer, nicht zu vermeiden.

Je größer das Kaliber der Pipette ist, eine umso größere Schicht bilden die suspendierten Stoffe an der Wand der Pipette und umso weniger sind die in den tieferen Teilen der Schichte befindlichen Phagozyten und Bakterien imstande mit dem Serum oberhalb der Schichte in Berührung zu kommen. Aus den grundlegenden Experimenten *Wright's* wissen wir aber, von welchem großem Einfluß die Gegenwart des Serums auf den Phagozytoseindex ist.

In dem *Wright'schen* Institut werden 5 Mm. weite Glasröhrchen zur Bereitung solcher Pipetten benützt. Man muß sehr darauf achten, daß die Pipette nicht zu schwach und nicht zu weit sei; am besten ist es, wenn der ausgezogene Teil 16 Cm. lang und sein Ende $1\frac{1}{2}$ —2 Mm. weit ist.

Auf das Ende der Pipetten ist eine Gummikappe zu geben; an der Kappe ist es ratsam eine kleine Öffnung anzubringen, damit beim Aufsetzen und Abnehmen derselben nichts von dem Inhalt der Pipette in sie gelange.

Sehr wichtig ist die genaue Abmessung des Serums; diesbezügliche Versuche haben erwiesen, daß ein Fehler im Abmessen der Bakterien- oder Zellenemulsion bei weitem keine so großen Abweichungen in den Endergebnissen ergibt, als ein kleiner Fehler in der Abmessung des Serums.

Das Ganze wird zuletzt in einem konkaven Uhrgläschen mehrmals entleert und wieder aspiriert (nach der Anweisung *Wright's* zumindest zehnmal) und nach der letzten Aspiration das Ende der Pipette zugeschmolzen (das Blut wird natürlich in die oberen Teile der Pipette aspiriert) und in den Oponizer gegeben. Die Pipette muß sofort, nachdem sie zugeschmolzen ist, in den Oponizer gegeben werden (zur Vermeidung der spontanen Phagozytose) und damit das Zeitmaß bis auf die Sekunde festgestellt werde. *Wright* betont bei jeder Gelegenheit, daß die meisten Fehler in dieser Richtung gemacht werden. Wenn wir mehrere Proben desselben Stoffes in diesem Sinne untersuchen, wird es offenbar, daß ein längeres Verweilen um nur einige Sekunden in dem Oponizer schon durch dieses Verfahren merkbare Unterschiede ergibt.

Die gesamten Pipetten sind daher durch das gleiche Zeitmaß in dem Oponizer zu halten und ihr Inhalt nach der Herausnahme sofort nach der unten zu beschreibenden Methode auf den Objektträger aufzustreichen.

Wie lange der Versuchsstoff in dem Oponizer zu halten ist, ist je nach den Bakterien verschieden. Die zur Coli-

Gruppe gehörigen Bakterien und die Gram-negativen Kokken sind 8—10 (länger in keinem Fall), die Tuberkulosebazillen und sonstigen Mikroben 15 Minuten lang in dem Oponizer zu belassen.

Nach Verlauf der bestimmten Zeit werden die Pipetten dem Oponizer entnommen, ihr Inhalt in ein konkaves Objektgläschen entleert (auch hier benützen wir mit kleinen Oeffnungen versehene Gummikäppchen, damit nach dem Abbrechen des zugeschmolzenen Endes der Pipetten infolge des entstandenen negativen Druckes der Versuchsstoff nicht in die Kappe gelange; beim Entleeren der Pipette wird die kleine Oeffnung mit dem Daumen geschlossen gehalten), mehrmals aspiriert und wieder entleert und nach der letzten Aspiration 1—2 Tropfen auf ein hiezu präpariertes Objektglas gegeben.

Die Präparierung der Objektgläschen erfolgt folgendermaßen: sie werden in Aether-Alkohol (\overline{aa}) gereinigt, hierauf einigemale durch eine Bunsen-Flamme gezogen und mit sehr feinkörnigem Sandpapier tüchtig abgerieben.

Es ist wichtig, nur die konvexe Seite zu benützen; auf der konkaven Seite erhalten wir niemals ein gutes Präparat. Unmittelbar vor dem Aufstreichen wird das so präparierte Objektgläschen mit einem weichen, keine Fäden lassenden Tuche abgewischt, um es von Staub und den anhaltenden Körnchen des Sandpapiers zu befreien, welche das zweckmäßige Aufstreichen vollständig verhindern können.

Das Aufstreichen des Stoffes geschieht mittelst eines entzweigebrochenen Objektgläschens, „*Spraeder*“ genannt. Die Bereitung eines solchen *Spraeders* erfordert größere Übung.

Es werden einige sehr dünne Objektgläschen ausgewählt, in der Mitte mittels einer Glasfeile geritzt und entzweigebrochen. Ist dieser Akt geglückt, so ist die Bruchlinie der einen Hälfte ein wenig konkav und in ihrer ganzen Länge glatt. Die beiden Enden der Bruchlinie werden abgeraspelt.

Es kann geschehen, daß scheinbar ganz einwandfreie *Spraeder* nach einigen Trial-Trips (Probestreichen) sich als ganz unbrauchbar erweisen.

Dem Anfänger ist zu empfehlen, sich gute *Spraeder* zu besorgen, denn im Falle eines Mißlingens weiß er nicht, wo der Fehler geschah, ob beim Aufstreichen des Stoffes, oder bei der Bereitung des *Spraeders*. *Wright* hängt deswegen so sehr an dem Gebrauche des *Spraeders*, weil, wenn die Kante eines gewöhnlichen Objektgläschens benützt wird, die Leukozyten durch den ganzen Bereich des Präparates zerstreut werden, während es mittelst des *Spraeders* der geübten Hand beinahe immer gelingt, die runden und größeren Leukozyten

auf die eine Seite des Objektgläschens zu bringen und derart von den kleineren roten Blutkörperchen abzusondern. Ist das Präparat gut gelungen, so endet der Aufstrich in einer mit der Längsachse des Objektgläschens queren Linie; längs dieser Querlinie werden die Leukozyten gefunden.

Es ist daraus verständlich, daß das gut verfertigte Präparat eine große Zeitersparnis bedeutet

Der Aufstrich geschieht folgendermaßen: Auf das gut gereinigte Objektgläschen werden 1—2 Tropfen des Untersuchungstoffes gegeben (der Aufstrich muß in dem letzten Drittel des Objektgläschens enden, es darf daher nicht zu viel von dem Stoffe genommen werden, da sonst für seinen wertvollsten Teil, die Leukozyten kein Raum bleibt) und bewegen die konkave Kante des Spraeders in der Weise, daß die Kante des Spraeders in ihrer ganzen Länge von dem Stoff bedeckt sei, sodann wird der gesamte Stoff unter einem Winkel von 40—50 Grad unter leichtem Druck gleichmäßig auf das Objektgläschen aufgestrichen.

Außer dem Tuberkelbacillus ist die Färbung der Bakterien sehr einfach. Die Tuberkelbazillen werden folgendermaßen gefärbt: das Präparat wird durch 2 Minuten in Methylalkohol fixiert, durch 2 Minuten mit *wenig* gewärmtem Karbol-Fuchsin gefärbt, durch 2 Minuten in 2·5% Schwefelsäure entfärbt und durch 1—2 Minuten in Methylenblau gefärbt.

Mit Karbol-Fuchsin darf nicht zu lange und bei nicht zu großer Wärme gefärbt werden (die in der Literatur erwähnten mißlungenen Versuche sind zum Teil auf diesen Umstand zurückzuführen), denn es kann hiebei geschehen, daß der allzulange oder allzuwarm angewandte Farbstoff die Hülle der weißen Blutkörperchen sprengt und die Tuberkelbazillen aus ihnen gleichsam herausfallen.

Der letztere Umstand kann Ursache großer Störungen bei der Bestimmung der Phagozytierungszahl sein, denn in manchen Fällen können wir nicht wissen, ob der Bacillus phagozytiert wurde, oder dem weißen Blutkörperchen bloß anhaftet.

Man kann etwa die roten Blutkörperchen durch 4%-ige Essigsäure entfernen, damit sie beim Zählen nicht störend wirken; jedoch ist dieser letztere Eingriff nur dann zu empfehlen, wenn das Präparat einwandfrei gelungen ist.

Bei der Färbung anderer Bakterien wird das Präparat einige Minuten mit gesättigter Sublimatlösung fixiert, sodann 2—3 Minuten mit Karbolthioninlösung gefärbt.

Die Zählung der weißen Blutkörperchen und der in ihnen enthaltenen Bakterien ist wohl der schwierigste Teil der ganzen Technik. Die Objektivität muß in jeder Beziehung gewahrt werden.

In dem *Wright'schen* Institut werden in jüngster Zeit 100 polynukleare Zellen gezählt; vor einigen Jahren zählte man bloß 20. Es scheint aber, als ob selbst *Wright* bei der Zählung einer so kleinen Anzahl von Leukozyten keine befriedigenden Ergebnisse erzielte.

Bloß die polynuklearen Zellen sind in Betracht zu ziehen. Die Lymphozyten phagozytieren unter normalen Verhältnissen nicht. Bei der Zählung der Leukozyten ist auf folgendes zu achten: die agglutinierten Leukozyten sind außer acht zu lassen, ebenso solche Leukozyten, bei welchen die Produkte der Kernteilung die Zählung erschweren. Weiterhin bleiben außer acht Leukozyten, welche schlecht färbende Kokken einschließen, ja selbst solche, bei welchen wir nicht bestimmt wissen, ob die Bakterien außer- oder innerhalb der Zelle liegen.

Haben wir in 100 Leukozyten die Bakterien gezählt, so können wir die Phagozytierungszahl und später den opsoninischen Index sehr leicht bestimmen.

Wenn wir die Zahl der Bakterien mit der Zahl der phagozytierenden Leukozyten dividieren, erhalten wir die *Phagozytierungszahl* (phagocytic count). Wenn wir die Phagozytierungszahl des Kranken mit der des Gesunden dividieren, erhalten wir den *opsoninischen Index*.

DEBRECENI EGYETEMI KÖNYVTÁR

3709 /1959