

[Aus dem Laboratorium
für allgemeine Pathologie und Histologie der K. Universität Pavia.]
(Leitung: Prof. C. Golgi.)

Über Filtration des Vaccinevirus.

Von

Dr. A. Negri,
Assistenten und Privatdozenten.

Bereits im jüngstvergangenen Jahre habe ich — zuerst in einer Mitteilung¹ und später in der Versammlung der italienischen Gesellschaft für Pathologie² — darauf hingewiesen, daß die Tierlymphe, zweckmäßig durch manche poröse Kerzen filtriert, welche die Eigenschaft besitzen, die gewöhnlichen Bakterienformen zurückzuhalten, imstande ist, auf der Kornea des Kaninchens das Auftreten der eigentümlichen endozellulären Guarnierischen Formen und auf der Kuhhaut die typische Pockenbildung zu bedingen. Obwohl nun die Zahl meiner damaligen Versuche eine spärliche gewesen, so hielt ich mich doch schon damals für berechtigt, die Behauptung aufzustellen, daß das Vaccinevirus — wenigstens in manchen Stadien seiner Entwicklung — filtrierbar sei.

Daß dieser Krankheitserreger die Fähigkeit besitzt, durch Kerzen hindurchzuschlüpfen, welche sonst die gewöhnlichen Bakterienformen zurückhalten, ist wohl zwar vor Erscheinen meiner Mitteilung auch von anderen Forschern betont worden. Es sei mir aber die Bemerkung

¹ A. Negri, Esperienze sulla filtrazione del virus vaccinico. Nota prima. *Gazzetta Medica Italiana*. 30 marzo 1905. Anno LVI. No. 13.

² Derselbe, Sulla filtrazione del virus vaccinico. Resoconto del terzo Congresso della Società Italiana di Patologia. Seduta del giorno 29 aprile 1905. *Lo Sperimentale*. 1905. Anno LIX. Fasc. V. — *Centralblatt für Bakteriologie*. Abt. I. Referate. 1905. Bd. XXXVI. Nr. 24/25.

gestattet, daß keiner der Autoren, die mir vorangegangen, dazu gelangt war, mit filtrierter Tierlymphe das Auftreten der Cytorhyctes auf der Kaninchenkornea bzw. die typische Pustel auf der Haut empfänglicher Tiere hervorzurufen. Nur Siegel¹ hatte, einige Zeit bevor ich meine Untersuchungen veröffentlicht, die Mitteilung gemacht, er hätte bei einem von drei Kaninchen, deren Kornea er mit Organsaft und Blut (beides durch Chamberlands Kerze — was für eine ist nicht angegeben — unter einem Druck von mehreren Atmosphären filtriert) geimpft hatte, die Guarnierische Reaktion erzielt.

Diese Mitteilung Siegels ist allerdings recht interessant; zieht man aber die Untersuchungsergebnisse von v. Wasielewski², Prowazek³, Jürgens⁴, Haaland⁵, Riccioli⁶, Mühlens und Hartmann⁷ usw., in Betracht, — denen ich meinerseits noch eine zahlreiche Reihe davon hinzufügen könnte — welche sämtlich den Nachweis liefern, daß mit dem Organsaft bzw. dem Blut auf die Kornea geimpfter Kaninchen das Auftreten der Cytorhyctes auf der Kaninchenhornhaut in der Regel nicht erzielt wird, sowie den Umstand, daß nur ein einziges, an einem einzigen Tiere gewonnenes Resultat hier vorliegt, so bin ich der Ansicht, man sei wohl mehr als berechtigt, dem Versuche Siegels, als einem Beweis für die Filtrierbarkeit des Vaccinevirus, nicht sofort einen absoluten Wert zuzuerkennen.

Allein, will man auch von diesen Betrachtungen absehen, so hindert uns noch ein anderes Moment daran, das Siegelsche Experiment als vollkommen beweiskräftig gelten zu lassen.

Guarnieris Befund auf der Kaninchenhornhaut hat eine große Bedeutung, auch mit Rücksicht auf dessen Spezifizität, welche letztere durch die Untersuchungen über Filtration eine neue kräftige Stütze erhalten

¹ J. Siegel, Untersuchungen über die Ätiologie der Pocken und der Maul- und Klauenseuche. *Abhandl. d. königl. preuß. Akademie d. Wissenschaften*. 1. Jan. 1905.

² Th. v. Wasielewski, Über die Technik des Guarnierischen Impfexperimentes usw. *Münchener med. Wochenschrift*. 1905. Nr. 25.

³ Prowazek, Untersuchungen über das Wesen des Vaccineerregers. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1905. Nr. 19.

⁴ Jürgens, Die ätiologische Bedeutung der Pockendiagnose. *Ebenda*. 1904. Nr. 45.

⁵ Haaland, Über Lungenveränderungen nach intrapulmonaler Injektion von Vaccinelymphe usw. *Med. Klinik*. 1905. — Zitiert von Mühlens u. Hartmann.

⁶ Riccioli, Intorno ai reperti del Dr. John Siegel sul ciclo dei corpi di Guarnieri. *R. Accademia dei Lincei. Rendiconti. Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali*. 1905. Vol. XIV. Fasc. 12.

⁷ Mühlens und Hartmann, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. *Centralblatt für Bakteriologie. Originale*. 1906. Bd. XLI.

hat. Nichtsdestoweniger kann man bei dem jetzigen Stande der Frage alle jene Diskussionen doch nicht unberücksichtigt lassen, zu denen diese Entdeckung, die von einer — wenn auch spärlichen — Anzahl Autoren sogar als durchaus nicht charakteristisch für Vaccineinfektion angesehen worden, Anlaß gegeben hat.

Die Tatsache aber, daß man nur mit filtriertem Organsaft die Cytocyten auf dem Hornhautepithel zur Erscheinung gebracht hat, verleitet meinem Dafürhalten nach der Annahme der Filtrierbarkeit des Pockenerregers eine große Wahrscheinlichkeit, allein sie ist für sich nicht hinreichend, einen unumstößlichen Beweis dafür zu liefern.

Um einen solchen zu erbringen, war es nötig, mit dem Filtrat nicht nur die typische Hornhautreaktion, sondern auch die typische Hornhautläsion, d. i. die Pustel hervorzurufen; beides habe ich bereits voriges Jahr bei meinen Untersuchungen erzielt, die ich in diesen letzten Monaten noch vermehrt und erweitert habe.

Ich halte es nicht für unnütz, über alle diese Beobachtungen nun wieder Bericht zu erstatten und hierbei insbesondere die Art und Weise des von mir bei der Filtration angewandten Verfahrens darzulegen; meiner Ansicht nach spielt dieselbe eine hochwichtige Rolle, denn wohl möglich ist es, daß die zahlreichen Mißerfolge, die von den verschiedenen Autoren, die sich mit der Sache befaßt haben, berichtet werden, in irgend einer technischen Unvollkommenheit ihren Grund haben.

Ich verzichte darauf, die zahlreichen Versuche mitzuteilen, die, im September 1904 eingeleitet, mich stufenweise zu dem zuletzt angewandten Verfahren geführt haben. Die ersten — sehr zahlreichen — Versuche fielen negativ aus.

Trotz der sorgfältigsten, durch eine möglichst lange Zeit durchgeführten Verreibung war es mir niemals gelungen, mit durch Wasser bzw. physiologische Kochsalzlösung verdünnte Kuhlymphe¹ wirksame, d. h. solche Filtrate zu erhalten, die imstande gewesen wären, auf der Kaninchenhornhaut die typische Reaktion Guarnieris und auf der Haut empfindlicher Tiere die Pustel hervorzurufen und dies, so oft ich die Filtration unmittelbar oder doch wenigstens kurze Zeit nach Entnahme der Kuhlymphe vornahm. Jetzt aber, da die Technik eine schon ausgebildete und die Fähigkeit des Vaccinevirus, die Filtrierkerzen zu passieren, eine erwiesene Tatsache ist, kann ich die Möglichkeit nicht ohne weiteres von

¹ Zu meinen Untersuchungen habe ich mich der im „Istituto Vaccinogeno Provinciale“ zu Pavia gesammelten Lymphe bedient. Das Institut, dessen technische Leitung Prof. Golgi bereits seit Jahren mir anvertraut hat, ist mit jenem für allgemeine Pathologie der K. Universität Pavia verbunden.

der Hand weisen, daß auch kurz nach Gewinnung der Lymphe positive Resultate zu erzielen sind; allein wie es meine Untersuchungen dartun, muß eine solche Möglichkeit eine wohl sehr beschränkte sein.

Mit Rücksicht auf die genannten Mißerfolge und im Zweifel darüber, ob denn die Kuhlymphe auch den zur Befreiung des Infektionserregers von den Geweben erforderlichen Grad von Zerfall erreicht hätte, beschloß ich den Versuch an durch längere Zeit unter Wasser aufbewahrtm Material zu wiederholen, dies im Hinblick darauf, daß frühere zu einem ganz anderen Zwecke angestellte Untersuchungen mir gezeigt hatten, daß die unter Wasser bei Eisschranktemperatur gehaltene, gegen die Einwirkung von Licht und Luft geschützte Kuhlymphe ihre Wirksamkeit noch durch eine lange Reihe von Tagen beibehält.

Durch Verwertung dieser Fähigkeit ist es mir gelungen, die bereits mitgeteilten und nachstehend nun wieder besprochenen Resultate zu erzielen.

Das Verfahren, das ich — mit geringen Abweichungen bei dem einen oder bei dem anderen Fall — bei der Filtrierung angewandt und auch jedem, der Kontrollversuche anstellen möchte, anrate, ist nun folgendes:

Die dem betreffenden Tiere frisch entnommene Lymphe wird mit 10 bis 12 Gewichtsteilen sterilis. dest. Wasser versetzt, sodann in einer Porzellanschale grob verrieben, darauf in sterilisierte luftdicht verschlossene Gefäße gebracht und hierin einige Tage hindurch im Dunkeln im Eisschrank aufbewahrt.

Nach dieser ersten Zeitperiode wird sie abermals, und zwar sorgfältig verrieben. Durch Einwirkung des Wassers wird das Material zum Aufquellen gebracht und dessen Zerfall leicht und vollständig erzielt. Als am zweckmäßigsten hat sich hierzu die Ckokorsche Lymphmühle erwiesen, die ich eine bis mehrere Stunden lang in Betrieb gelassen habe.

Man bekommt dadurch eine Emulsion, die das bei Bereitung der Tierlymphe verwendete feine Metallnetz nahezu vollständig passiert; nur wenige kleine Gewebsetzen werden hierbei noch zurückgehalten.

Nachdem die Emulsion durch das Netz gebracht worden — eine Manipulation, die aber nicht gerade notwendig ist — wird dieselbe wieder in den Eisschrank gestellt.

Während dieser zweiten Zeitperiode bin ich stets darauf bedacht gewesen, tagtäglich die Gemenge 15 bis 20 Minuten hindurch kräftig aufzurühren.

Sind 2 bis 3 Wochen nach der Entnahme verstrichen, so wird durch Saugen die Flüssigkeit durch dicht gedrängte Schichten von sterilisierter Baumwolle filtriert. Zu diesem Behufe habe ich mich der Wasserstrahlpumpe unseres Institutes bedient, die eine nahezu eine Atmosphäre betragende Depression erzeugt. Beim Passieren durch die Baumwolle wird

die Emulsion von allen noch darin schwebenden festen Teilchen befreit, die sonst die Poren der Kerze rasch verstopfen und so den Durchgang des flüssigen Teiles fast gänzlich verhindern würden. Darum muß die Filtrierung durch die Baumwolle eine äußerst sorgfältige sein und mehrmals wiederholt werden.

Man erhält auf diese Weise eine milchartige, homogen aussehende Flüssigkeit, die nochmals durch Papier filtriert wird. Ist die Filtrierung durch die Baumwolle gehörig ausgeführt worden, so geht die Flüssigkeit vollständig und verhältnismäßig leicht durch das Papier hindurch.

Schließlich wird die Flüssigkeit durch die Kerze hindurch getrieben. Während ich nun bei den ersten Versuchen Drucke von 2 bis 3 Atmosphären angewendet hatte, habe ich später die Wahrnehmung gemacht, daß auch viel schwächere Drucke — selbst eine Atmosphäre — dazu ausreichen, das Filtrat in verhältnismäßig kurzer Zeit durch die Kerze hindurchzubringen.

Das unter den peinlichsten aseptischen Maßnahmen gesammelte Filtrat wird dann in sterilisierte Eprouvetten verteilt und ist dazu bestimmt, zu Kontrollversuchen bezüglich seiner Sterilität, sowie zu Tierinokulationen zu dienen.

Mit obigem Verfahren habe ich nun die sechs nachstehend angegebenen Versuche ausgeführt. Beim ersten derselben wurde die Prüfung auf die Wirksamkeit des Filtrates nur an der Kaninchenhornhaut, bei den übrigen fünf sowohl an dieser letzteren als auch an der Haut der Kuh angestellt; ferner habe ich mit dem Filtrat auch eine Anzahl Kinder geimpft und hierbei, wie dies aus der detaillierten Beschreibung der einzelnen Experimente hervorgeht, einen positiven Erfolg erzielt.

Was nun die hierzu verwendeten Kerzen anbelangt, so habe ich mich stets der Berkefeldschen *V* und einmal auch der Berkefeldschen *N* bedient, indem ich nämlich durch letztere ein bereits durch erstere gegangenes Material filtrierte; auch habe ich ein anderes Mal, und zwar ebenso verfahrend, von Chamberlands Kerze *B* Gebrauch gemacht.

Die Kerzen waren stets neue und mit größter Genauigkeit kontrollierte. Ich werde mich hier darauf beschränken, nur die mit den Berkefeldschen Kerzen erzielten Resultate mitzuteilen, da die geringe Anzahl der bezüglich der Wirksamkeit der Filtrate mit den Chamberlandschen angestellten Versuche es nicht gestattet, sichere Schlußfolgerungen in dieser Richtung zu ziehen.

Jedes einzelne Filtrat habe ich stets durch zahlreiche Versuche auf seine Sterilität geprüft, indem ich mit demselben — sowohl aerobisch als anaerobisch — die verschiedenen Nährboden reichlich besäte.

Mit jedem einzelnen Filtrat wurden in der Regel Agar- sowie auch Gelatineplatten hergestellt, und sowohl gewöhnliche als auch Traubenzucker- und glyzerinierte Bouillon damit besät.

Während sonst auch nur ganz kleine Mengen Kuhlymphe vor ihrem Durchgange durch die Kerze beständig eine üppige Entwicklung von Keimen hervorgerufen hatten, zeigten sich jetzt die Filtrate, selbst bei einer Dosis von etlichen Kubikzentimetern, für jede Platte bzw. Epruvette, in den verschiedensten Zuständen, und auf den mannigfaltigsten Nährböden stets frei von kulturfähigen Mikroorganismen.

Wird nun das durch obenerwähntes Verfahren gewonnene und nunmehr — nach der allgemein geltenden Auffassung — mikrobefreie Filtrat der Kuhlymphe in den Bindehautsack von Kaninchen, deren Hornhaut vorher skarifiziert worden, eingeführt, so bekommt man die von Guarnieri beschriebene charakteristische Reaktion.

Um aber diesen Befund mit einiger Beständigkeit zu erzielen, habe ich, wie ich seinerzeit angegeben, beim Impfen einen kleinen Kunstgriff zur Anwendung bringen müssen.

Wie es sich nämlich aus den Untersuchungen über die Filtrierbarkeit des Wutvirus ergeben hatte, sind zur Hervorrufung der Krankheit bei Tieren bedeutende Mengen von Material erforderlich, selbst dann, wenn man mit sehr wirksamen Virusarten, wie z. B. dem fixen Virus, experimentiert.

Da die Vermutung nahe lag, daß dies auch für die Lymphe eintreten könnte, habe ich es für zweckmäßig erachtet, so viel als nur möglich von dem Filtrat mit der Kornea in Berührung zu bringen; zu diesem Behufe wurde ein kleines, mit der infizierenden Flüssigkeit durchtränktes Bäuschchen sterilisierter Baumwolle in den Bindehautsack eingeführt und, nachdem durch ein paar Stiche die Lidspalte zugenäht worden, mindestens durch 10 Stunden darin belassen.

In der Regel habe ich bei den Kaninchen das eine Auge diesem Verfahren unterzogen, beim anderen hingegen ganz einfach nach vorherigen Skarifikationen die Impfung vorgenommen. Selten haben die so behandelten Hornhäute die Reaktion gegeben, die ich dagegen häufig — wenn auch beschränkt — bei jenen hatte beobachten können, die mit der durch die Kerze filtierten Lymphe durch mehrere Stunden in Berührung geblieben waren.

Die auf diese Weise auf der Kornea hervorgerufene Reaktion erstreckt sich keineswegs den ganzen Verlauf der Skarifikation entlang und bei allen Skarifikationen, wie dies bei Gebrauch der wirksamen Glyzerinlymphe der Fall ist, man bekommt vielmehr kleine, das Geschwürchen binnen 2 bis 3 Tage liefernde, von einem entzündlichen Infiltrationshof umgebene Herde; gewöhnlich werden ein bis zwei derselben auf je einem Auge, an

einer beliebigen Stelle der Skarifikationen angetroffen; mitunter sind auch Reaktionen von größerer Ausdehnung zu beobachten.

An jenen Stellen der Kornea, wo die Reaktion schon mit freiem Auge sichtbar ist, gestattet die 60—70—80 Stunden nach der Impfung angestellte mikroskopische Untersuchung das Vorhandensein der typischen von Guarnieri beschriebenen Körperchen im Innern der klassisch veränderten Epithelialzellen festzustellen. Eigenschaften, Größe und Sitz dieser Gebilde zeigen gar kein Merkmal, das geeignet wäre, diese letzteren von den mit dem klassischen Verfahren erhaltenen zu differenzieren; keinerlei Unterschied macht sich hierbei bezüglich der feineren Veränderungen der Epithelialzellen und des Hornhautgewebes bemerkbar.

An den übrigen Stellen der Kornea hingegen, d. i. an jenen, die keine Reaktion zeigen, ist auch bei sorgfältigster Prüfung nichts Auffälliges wahrzunehmen.

Diese Erscheinungen habe ich von der Zeit an, da ich das in Rede stehende Verfahren angewandt, bei mehreren Versuchen beobachten können. Von diesen will ich hier nur über einen einzigen (Versuch I) ausführlich berichten, da ich aus den bereits oben angeführten Gründen der Meinung bin, daß ein Erzielen der Guarnierischen Reaktion auf der Kaninchenhornhaut für sich allein wohl kaum dazu geeignet ist, einen unumstößlichen Beweis für die Filtrierbarkeit des Vaccinevirus zu liefern.

Durch das regelmäßige Wiederauftreten der nämlichen Erscheinungen angeregt, bin ich zur Inokulierung der filtrierten Lymphe auf die Haut der empfänglichen Tiere übergegangen, um bei denselben die Pustel hervorzurufen.

In der Regel habe ich dazu die Kuh benutzt. Mit dem üblichen Verfahren der Vaccineimpfung habe ich nun auf die Mammahaut der Kuh ganz keimfreie Filtrate geimpft, und zwar solche, bei denen es möglich gewesen (unter Zuhilfenahme des oben erwähnten Kunstgriffes), die typische Reaktion, mehr oder weniger umschrieben, auf der Kaninchenhornhaut hervorzurufen. Es gelang mir in der Tat — mit fünf verschiedenen Filtraten bei je fünf Tieren inokuliert — die Entwicklung der typischen Vaccinepustel zu veranlassen.

Auch bei diesen Versuchen ist die Reaktion im Vergleich zu der Zahl der Impfungen eine sehr spärliche gewesen. Bei den ersten Tieren erhielt ich nur eine geringe Anzahl Pusteln; erst durch Vermehrung der Skarifikationen ward es mir möglich, letztere in größerer Anzahl zu bekommen. (Siehe Versuch VI.)

Daß aber diese Pusteln tatsächlich Vaccinepusteln gewesen, ist — abgesehen von ihrem morphologischen Merkmale, die wohl schwerlich ein in der Bereitung der Tierlymphe seit Jahren geübtes Auge zu täuschen

vermöchten — durch den Umstand erwiesen, daß dieselben, nach ihrer vollkommenen Reifung gesammelt, die Guarnierische Reaktion auf der Kaninchenhornhaut und die typische Pustel auf der Haut des Rindes bzw. des Menschen erzeugten.

Es mögen hier nun die einzelnen Versuchen mitgeteilt werden.

Versuch I.

Lympe, am 13. II. 1905 der Kuh Nr. 362 entnommen.

- 12. II. 1905. 25 ^{grm} Lympe werden unmittelbar nach der Entnahme mit 200 ^{grm} sterilisiertem destilliertem Wassers versetzt und in einer Porzellanschale grob verrieben; das Gemenge in zwei luftdicht verschlossene Glasgefäße verteilt — Eisschrank.
- 15. II. „ Sorgfältigeres Verreiben in der Schale — Eisschrank.
- 22. II. „ Verreibung mittels der Csokorschen Lymphmühle über 1 Stunde. Durchlassung durch das Metallnetz — Eisschrank.
- 22.—26. II. Täglich, 15 bis 20 Minuten lang, starkes Schütteln der Gefäße.
- 27. II. vorm. Die erhaltene Emulsion wird mittels Wasserstrahlpumpe durch dichte Baumwollschichten filtriert — Filtrierung durch Papier, dieselbe geht in ungefähr 1 Stunde vollständig vor sich.
- 27. II. nachm. Filtrierung durch Berkefeld V, unter 3 Atmosphären: es läuft eine ziemlich große Menge farblose Flüssigkeit durch, welche in sterilisierte Eprouvetten verteilt wird.
- 27. II. „ Skarifikationen an beiden Hornhäuten eines Kaninchens, darauf Einführung einer kleinen Menge durch Baumwolle filtrierte Emulsion in den Konjunktivalsack. — Am 2. III. wird auf beiden Hornhäuten eine diffuse Reaktion makroskopisch sichtbar; die mikroskopische Untersuchung ergibt Vorhandensein von Cytorhyetes den ganzen Verlauf der Skarifikationen entlang.
- 27. II. „ $\frac{1}{20}$ ^{ccm} der durch Baumwolle filtrierte Emulsion wird auf eine Agarplatte gesät; nach 24 stündigem Verbleiben im Thermostaten bei 37°, Auftreten von unzähligen Kolonien.

Kontrolle der Sterilität des Filtrats.

- 28. II. 1905. Mit der durch die Kerze filtrierte Lympe werden vier Agarplatten (drei mit 1 ^{ccm} und eine mit 2 ^{ccm}) besät. Nach einem mehrtägigen Aufenthalt im Thermostaten, erweisen sich drei Platten noch als steril; eine zeigt an der Peripherie eine gelbe — wahrscheinlich aus der Luft herabgefallene — Sarcinakolonie.
- Mit verschiedenen — nicht weniger als 1 ^{ccm} — betragenden Mengen des Filtrats werden verschiedene gewöhnliche bzw. Traubenzuckerbouillon enthaltende Eprouvetten besät; bei manchen derselben wird das Vakuum erzeugt. Nach mehrtägigem Verbleiben im Thermostaten sind sämtliche Eprouvetten noch immer steril; ebenso steril zeigen sich zwei bei Zimmertemperatur aerobisch gehaltene Bouilloneprouvetten.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an dem Kaninchen.

- 28.II. 1905. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; zweimalige Einführung des Filtrats mit 4 Stunden Zwischenzeit.
4.III.: Zwei Reaktionsherde auf der rechten Kornea; keinerlei Reaktion auf der linken.
Mikroskopische Untersuchung: Typischer Befund von Cytorhyctes in den Reaktionsherden.
- 28.II. „ Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
4.III.: Kleines Geschwür auf der linken Kornea; keinerlei Befund auf der rechten.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an der Reaktionsstelle.
- 28.II. „ Kan. 3. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
4.III.: Keinerlei Reaktion auf beiden Korneae.
- 1.III. „ Kan. 4. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; ein kleines mit Filtrat durchtränktes Stückchen sterilisierter Gaze wird in den Konjunktivalsack eingeschoben, darauf Zunähen der Lidspalte; in das linke Auge wird das Filtrat nur einfach eingetröpfelt.
2.III.: Entfernung der Naht rechts.
4.III.: Auf der Kornea rechts ein Reaktionsherd; keinerlei Befund links.
Mikroskopische Untersuchung: Typischer Cytorhyctes Befund an der Reaktionsstelle rechts; keinerlei Befund längs der Korneaskarifikationen links.
- 1.III. 1905. Kan. 5. Die gleiche Behandlung wie Kaninchen 4.
2.III.: Entfernung der Naht.
4.III.: Beiderseits keinerlei Reaktion.
- 1.III. „ Kan. 6. Korneaskarifikationen beiderseits; auf jeder Seite Einführung eines kleinen mit Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens in den Konjunktivalsack; Zunähen; nach $\frac{1}{2}$ Stunde Entfernung der Naht links.
4.III.: Entfernung der Naht rechts.
6.III.: Sichtbarwerden eines typischen Geschwürchens rechts; ebenso links.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an beiden Reaktionsstellen.
- 1.III. „ Kan. 7. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 6.
6.III.: Ein Reaktionsherd rechts; keinerlei Reaktion links.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes nur auf der rechten Kornea.
- 9.III. „ Kan. 8. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; rechts Einschiebung von etwas mit Filtrat durchtränkter Baumwolle in den Konjunktivalsack und darauf Zunähen; links einfaches Eintröpfeln des Filtrats.
10.III.: Entfernung der Naht.

12. III.: Verschiedene Reaktionsherde rechts; kein Befund links.

Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes in Reaktionsherden.

9. III. „ Kan. 9. Die gleiche Behandlung wie Kaninchen 8.

10. III.: Entfernung der Naht.

12. III.: Reaktion auf der Kornea nur rechts.

Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes in den Reaktionsherden.

Versuch II.

Lympe, am 21. II. 1905 der Kuh Nr. 366 entnommen.

21. II. 1905. 20^{grm} Kuhlympe werden unmittelbar nach der Entnahme mit 200^{grm} sterilisiertem destilliertem Wasser versetzt, darauf in einer Porzellanschale grob verrieben, und das Gemenge in zwei luftdicht verschlossene Gefäße gebracht — Eisschrank.
25. II. „ Nochmalige Verreibung in der Porzellanschale — Eisschrank.
3. III. „ Verreibung durch 3 Stunden im Csokorschen Apparat — Eisschrank.
- 4.-10. III. 05. Eisschrank — alltäglich heftiges Schütteln der Gefäße durch 15 Minuten.
10. III. 1905. Hindurchbringung durch Metallnetz; spärlicher faseriger Rückstand; weiterer Zusatz von 50^{grm} steril. destill. Wasser.
11. III. „ Mehrmaliges Filtrieren — mittels Wasserstrahlpumpe — durch dichte Baumwollschichten.
12. III. „ Filtrierung durch Papier — dieselbe geht rasch und vollständig von statten.
13. III. „ Filtrierung durch Berkefeld V, drei Atmosphären Druck; man bekommt ungefähr 150^{ccm} Flüssigkeit; letztere wird steril in Eprouvetten verteilt.

Kontrolle der Sterilität des Filtrats.

13. III. 1905. Vier Agar- und zwei Gelatineplatten werden mit je 1^{ccm} Filtrat besät; ebenso aerobische und anaerobische Löfflers bzw. Traubenzuckerbouillon und Serum enthaltende Eprouvetten. Sämtliche Nährböden zeigen sich steril, selbst nach mehreren Tagen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

13. III. 1905. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; rechts Einführung eines kleinen mit Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens in den Konjunktivalsack — Zunähen — in das linke Auge wird das Filtrat nur einfach eingetröpfelt.
14. III.: Entfernung der Naht rechts.
16. III.: Sichtbarwerden der typischen Reaktion auf der rechten Kornea; keinerlei Befund links.
- Mikroskopische Untersuchung unterlassen.

14. III. 1905 Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
 15. III.: Entfernung der Naht.
 17. III.: Auf der Kornea rechts typische Reaktionsherde; keinerlei Reaktion links.
 Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes in den Reaktionsherden.
14. III. „ Kan. 3. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
 15. III.: Entfernung der Naht rechts.
 16. III.: Wird abends tot aufgefunden, zeigte am Morgen die makroskopische Reaktion auf der rechten Kornea.
14. III. „ Kan. 4. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
 15. III.: Entfernung der Naht rechts.
 17. III.: Diffuse Reaktion auf der rechten Kornea keinerlei Befund auf der linken.
 Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den Reaktionsstellen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.

16. III. 1905. Kuh. Mit dem in einer Eprouvette enthaltendem Filtrat werden mittels Lanzette auf der Haut einer Kuh, und zwar in der Mammagegend, ausgeführte Skarifikationen sorgfältig bestrichen (18 kleine Skarifikationsflächen, jede aus 6 bis 7, nahe nebeneinander parallel verlaufenden, 3 bis 4^{cm} langen Skarifikationen bestehend.)
 20. III.: Entwicklung von Pusteln wahrnehmbar.
 21. III.: Die Pusteln, 9 an der Zahl, typisch; eine derselben wird samt der umliegenden Haut ausgeschnitten, und in toto aufbewahrt; die übrigen werden ausgelöffelt; dieses Material wird mit Glycerin verrieben.
21. III. „ Kan. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea — Einführung des glyzerinierten Materials, der Kuh entnommen.
 26. III.: Typische Reaktion den ganzen Verlauf der Skarifikationen entlang.
 Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes den ganzen Verlauf der Skarifikationen entlang.
22. III. „ Kalb. Mit dem der Kuhentstammenden glyzerinierten Material auf die Innenfläche des linken Ohres geimpft.
 27. III.: Typischer Vaccineausschlag längs der Impflinien.

Versuch III.

- Lympe, am 1. III. 1905 den Kühen Nr. 367 bis 368 entnommen.
 1. III. 1905. 20^{cm} Kuhlymphe werden mit 200^{cm} steril. dest. Wasser versetzt, darauf in einer Porzellanschale grob verrieben, und das Gemenge in zwei luftdicht verschlossene Gefäße gebracht — Eisschrank.

- 14.III.1905. Verreibung durch $2\frac{1}{2}$ Stunden im Csokorschen Apparat.
 15.III. „ Hindurchbringung durch das Metallnetz; weiterer Zusatz von 50 ^{grm} steril. dest. Wasser.
 15.-20.III.05. Eisschrank — alltägliches Schütteln der Gefäße durch 15. bis 20 Minuten.
 20.III.1905. Filtrierung — mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe — durch dichte Baumwollschichten.
 21.III. „ Filtrierung durch Papier, dieselbe erfolgt fast vollständig.
 22.III. „ Mit $\frac{1}{5}$ ^{ccm} der durch Papier filtrierten Emulsion wird eine Agarplatte hergestellt; am 24.III. Auftreten von unzähligen Kolonien.
 22.III. „ Filtrierung durch Berkefeld V, drei Atmosphären; es läuft eine ziemlich große Menge Flüssigkeit durch, welche in sterilisierten Eprouvetten verteilt wird.

Kontrolle der Sterilität des Filtrats.

- 22.III.1905. Herstellung von vier Agar- und zwei Gelatineplatten; Besäung von verschiedenen aerobische und anaerobische Eprouvetten enthaltenen flüssigen Nährböden; zu jeder einzelnen Besäung wird 1 ^{ccm} Filtrat verwendet. Sämtliche Substrate bleiben selbst nach mehreren Tagen vollkommen keimfrei.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.

- 23.III.1905. Kuh. Impfung auf die Mammagegend — mit dem nämlichen für Versuch II an der Kuh angewandten Verfahren (20 kleine Skarifikationsflächen); reichliches Bestreichen mit der Flüssigkeit.
 27.III.: Auftreten von mehreren Pusteln.
 28.III.: Die Pusteln sind vollkommen reif, mit Nabel, typisch; 15 an der Zahl; eine wird samt der umliegenden Haut ausgeschnitten und in toto aufbewahrt; die übrigen werden mit dem Löffel weggekratzt und mit Glyzerin verrieben.
 29.III. „ Kan. Mit dem der Kuh entstammenden Material beiderseits Impfung auf die Kornea.
 1.IV.: Typische Reaktion den Verlauf der Skarifikationen entlang.
 Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes den ganzen Verlauf der Skarifikationen entlang.
 31.III. „ Kalb. Mit dem der Kuh entnommenen glyzerinierten Material auf die Innenfläche des linken Ohres geimpft.
 5.IV.: Typischer Vaccineausschlag längs der Impflinien.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

- 24.III.1905. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea — Einführung eines kleinen mit Filtrat durchtränkten Baum-

- wollbäuschchens in den Konjunktivalsack — Zunähen;
nach 10 Stunden Entfernung der Naht.
27. III.: Reaktionsherde auf der Kornea links.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes in den
Reaktionsherden.
26. III. 1905. Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
27. III.: Kleiner Reaktionsherd auf der Kornea rechts.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes im Reak-
tionsherde.
25. III. „ Kan. 3. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
29. III.: Reaktionsherde auf der Kornea rechts.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den
Reaktionsstellen.
25. III. „ Kan. 4. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
29. III.: Reaktionsherde auf der Kornea rechts.
Mikroskopische Untersuchung unterlassen.
25. III. „ Kan. 5. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
29. III.: Keinerlei Reaktion auf beiden Korneae.

Versuch IV.

- Lympe, am 15. XII. 1905 den Kühen Nr. 409 und 410 entnommen.
15. XII. 1905. 20 ^{cm} Kuhlympe werden mit 200 ^{cm} steril. destill. Wasser
versetzt, darauf in einer Porzellanschale grob verrieben —
Eisschränk.
20. XII. „ Nochmalige Verreibung in der Porzellanschale — Eisschränk.
24. XII. „ Verreibung durch 3 Stunden im Csokorschen Apparat.
24. XII.-4. I. 06. Eisschränk: alltägliches Schütteln des Gemenges durch 10 bis
15 Minuten.
4. I. 1906. Wiederholtes Filtrieren — mittels Wasserstrahlpumpe — durch
Baumwollschichten.
5. I. „ Filtrierung durch Papier und darauf durch Berkefeld V, zwei
Atmosphären Druck; man bekommt ungefähr 100 ^{cm} Flüssig-
keit, welche teilweise in Eproutetten verteilt wird; eine Agar-
platte mit $\frac{1}{5}$ ^{cm} der durch Baumwolle filtrierte Emulsion
besät, zeigt am 6. I. unzählige Kolonien.
- Kontrolle der Sterilität des Filtrats.
5. I. 1906. Vier Agar- und zwei Traubenzucker-Glyzerinagarplatten werden
mit je 1 ^{cm} Filtrat besät; ebenso Löfflerbouillon enthaltende
Eproutetten. Sämtliche Substrate bleiben selbst nach mehreren
Tagen vollkommen keimfrei.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

5. I. 1906. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; rechts
Einschiebung des kleinen mit Filtrat durchtränkten
Baumwollbäuschchens in den Konjunktivalsack, darauf
Zunähen; links einfaches Eintröpfeln des Filtrats.
6. I.: Entfernung der Naht; keinerlei Reaktion
auf beiden Korneae.

- 5.I. 1906. Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
6.I.: Entfernung der Naht; keinerlei Reaktion auf beiden Korneae.
- 5.I. „ Kan. 3. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; beiderseits Einführung des kleinen mit Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens in den Konjunktivalsack, darauf Zunähen.
6.I.: Entfernung der Naht.
9.I.: Beiderseits Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyetes an den Reaktionsstellen.
- 5.I. „ Kan. 4. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 3.
6.I.: Entfernung der Naht.
9.I.: Beiderseits Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung unterlassen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.

- 6.I. 1906. Kuh. Impfung auf die Mammagegend — mit dem nämlichen für Versuche II und III an der Kuh angewandten Verfahren — (18 kleine Skarifikationsflächen); reichliches Bestreichen mit dem Filtrat.
11.I.: Fünf typische, vollkommen reife Pusteln; dieselben werden mit dem Löffel weggekratzt; und mit Glyzerin in der Porzellanschale verrieben.
- 12.I. „ Kan. Beiderseits Impfung auf die Kornea, mit dem der Kuh entstammenden Material.
15.I.: Typische Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung: Typischer Befund von Cytorhyetes.
- 30.I. „ Kinder. Mit der der Kuh entstammenden Lymphe — in einem sterilen im Eisschrank gehaltenen Glasröhrchen aufbewahrt — werden zwei Kinder geimpft (je zwei Impfungen an beiden Armen).
7.II.: Typischer Ausschlag an den Impfstellen.

Filtrierung durch Berkefeld N.

- 8.I. 1906. Ein Teil des durch Berkefeld V gewonnenen Filtrats wird unter zwei Atmosphären durch Berkefeld N getrieben; die Flüssigkeit läuft rasch und fast gänzlich durch.
- 8.I. „ Mit der durch Berkefeld N filtrierte Lymphe werden zwei Agarplatten besät (je mit 1^{cem}). Keine Entwicklung von Keimen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

- 8.I. 1906. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea; Einführung des kleinen mit Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens in den Konjunktivalsack, Zunähen; nach 10 Stunden Entfernung der Naht.

- 11.I.: Ein Reaktionsherd auf der linken Kornea.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an der Reaktionsstelle.
- 8.I. 1906 Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
11.I.: Ein Reaktionsherd auf beiden Korneae.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den Reaktionsstellen.
- Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.
- 8.I. 1906. Kuh. Impfung auf die Mammagegend, mit dem nämlichen bei dem vorhergehenden Versuche angewandten Verfahren.
13.I.: Vier typische, vollkommen reife Pusteln, dieselben werden mit dem Löffel weggekratzt und mit Glyzerin in der Porzellanschale verrieben.
- 14.I. „ Kan. Beiderseits Impfung auf die Kornea mit diesem Material.
17.I.: Typische Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung: Typischer Cytorhyctesbefund.

Versuch V.

Lymphe, am 15.I. 1906 den Kühen Nr. 411, 412 und 413 entnommen.

- 15.I. 1906. 20 ^{grm} Kuhlymphe werden mit 200 ^{grm} steril. dest. Wasser versetzt, darauf in einer Porzellanschale grob verrieben; Eisschrank.
- 26.I. „ Verreibung durch 2½ Stunden im Csokorschen Apparat.
- 26.I.-6. II. 06. Eisschrank — alltägliches Schütteln des Gemenges 10 bis 15 Minuten hindurch.
6. II. 1906. Mehrmaliges Filtrieren — mittels Wasserstrahlpumpe — durch Baumwolle; darauf Filtrierung durch Papier und darauf durch Berkefeld V, 1½ Atmosphäre Druck; es läuft eine große Menge Flüssigkeit durch.

Kontrolle der Sterilität des Filtrats.

6. II. 1906. ¼ ^{cem} der durch Papier filtrierten Emulsion wird auf eine Agarplatte gesät.
7. II.: Unzählige Kolonien.
6. II. „ Drei Agarplatten und vier Bouilloneprouvetten werden mit je 1 bis 2 ^{cem} des durch die Kerze gewonnenen Filtrats gesät; kein Auftreten von Mikroorganismen, selbst nach mehreren Tagen.
7. II. „ Zahlreiche, Martinbouillon und Kuh- bzw. Kaninchenserum enthaltende Eprouvetten werden mit dem Filtrat besät; einige derselben in Zimmertemperatur, andere im Brutschrank gehalten; mit Ausnahme von zwei, welche sich durch gewöhnliche Keime verunreinigt zeigen, findet in allen übrigen keine Entwicklung von Keimen statt.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

- 7.II. 1906. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea — beiderseits Einführung des kleinen mit Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens, darauf Zunähen; nach 10 Std. Entfernung der Naht.
10.II.: Keinerlei Reaktion.
- 7.II. „ Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
10.II.: Reaktion auf beiden Korneae.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den Reaktionsstellen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.

- 7.II. 1906. Kuh. Impfung auf die Mammagegend — mit dem nämlichen für die vorhergehenden Versuchskühe angewandten Verfahren — (20 kleine Skarifikationsflächen); reichliches Bestreichen mit dem Filtrat.
12.II.: Auftreten von sieben typischen, vollkommen reifen Pusteln; dieselben werden mit dem Löffel weggekratzt und mit Glyzerin verrieben.
- 13.II. „ Kan. Beiderseits Skarifikationen auf der Kornea. Einführung des der Kuh entstammenden Materials.
16.II.: Beiderseits typische Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung: Typischer Cytorhyctesbefund.
- 18.II. „ Kuh. Dieselbe wird mit dem der mit dem Filtrat geimpften Kuh entstammenden glyzerinierten Material auf die Innenfläche des linken Ohres geimpft.
23.II.: Typischer Vaccineausschlag.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an den Kindern.

- 8.II. 1906. Kinder. Vier niemals vorher geimpfte Kinder, im Alter von 2 bis 4 Monaten, werden am linken Arm geimpft; sorgfältige Reinigung der Haut; oberflächliche recht zahlreiche Skarifikationen; dieselben werden mit flüssigem Filtrat, mit Hilfe eines sterilisierten Glaspatels reichlich und anhaltend bestrichen; sterilisiert, während der ganzen Dauer des Versuchs immer wieder erneuerter Verband.
13.II.: An einem Kinde beginnendes Auftreten einer Pustel, längs einer Skarifikation; keinerlei Befund an den anderen Kindern.
16.II.: Die Pustel ist typisch, mit Nabel; dieselbe wird mit dem Löffel weggekratzt und in Glyzerin aufbewahrt.
- 17.II. 1906. Kalb. Mit dem der Pustel des Kindes entstammenden glyzerinierten Material auf die Innenfläche des linken Ohres geimpft.
22.II.: Typischer Vaccineausschlag an den Impfstellen.

Versuch VI.

- Lympe, am 27. II. 1906 den Kühen Nr. 416 und 417 entnommen.
28. II. 1906. 20 ^{gmm} Kuhlymphe werden mit 200 ^{gmm} steril. dest. Wasser versetzt, darauf in einer Porzellanschale grob verrieben. Eisschrank.
7. III. „ Verreibung durch 3 Stunden im Csokorschen Apparat.
- 7.-17. III. 06. Eisschrank; alltägliches Schütteln des Gemenges 10 bis 15 Min. hindurch.
17. III. 1906. Sorgfältige Filtrierung — mittels Wasserstrahlpumpe — durch Baumwolle.
20. III. „ Filtrierung durch Papier.
21. III. „ Filtrierung durch Berkefeld V (1 Atmosphäre).

Kontrolle der Sterilität des Filtrats.

21. III. 1906. Vier Agarplatten, aerobische und anaerobische gewöhnliche bzw. mit Serum versetzte Martinbouillon enthaltende Eproutetten, mit je 1 ^{ccm} Filtrat besät; sämtliche Substrate bleiben selbst nach mehreren Tagen keimfrei.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats am Kaninchen.

21. III. 1906. Kan. 1. Beiderseits Skarifikationen an der Kornea — Einführung des kleinen mit dem Filtrat durchtränkten Baumwollbäuschchens, darauf Zunähen; nach 12 Std. Entfernung der Naht.
24. III.: Beiderseits Reaktion.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den Reaktionsstellen.
21. III. „ Kan. 2. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
24. III.: Reaktionsherde auf der rechten Kornea.
Mikroskopische Untersuchung: Cytorhyctes an den Reaktionsstellen.
21. III. „ Kan. 3. Gleiche Behandlung wie Kaninchen 1.
24. III.: Beiderseits Reaktionsherde.
Mikroskopische Untersuchung unterlassen.

Kontrolle der Wirksamkeit des Filtrats an der Kuh.

21. III. 1906. Kuh. Auf der Haut in der Mammagegend und in der umliegenden Bauchgegend werden mit dem üblichen technischen Verfahren sehr zahlreiche Skarifikationen dicht nebeneinander ausgeführt; reichliches Bestreichen derselben mit Filtrat.
26. III.: Auftreten auf der weiten Fläche der Skarifikationen von 31 typischen, vollkommen reifen Pusteln; dieselben werden mit dem Löffel weggekratzt und mit Glycerin verrieben.
27. III. „ Kan. Beiderseits Skarifikationen an der Kornea — Einführung des den Pusteln der Kuh (letztere mit dem Filtrat geimpft) entstammenden glyzerinierten Materials.

30. III.: Beiderseits typische Reaktion.

Mikroskopische Untersuchung: Typischer Cytorhyctesbefund.

30. III. 1906 Kuh.

Mit dem der Kuh (mit dem Filtrat geimpft) entstammenden glyzerinierten Material auf die Innenfläche des Ohres geimpft.

4. IV.: Typischer Vaccineauschlag an den Impfstellen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich mit aller Deutlichkeit, daß die nach 15 bis 22 tägiger Mazeration im Wasser durch die Berkefeldschen Kerzen *V* und *N* filtrierte Kuhlymphe eine Flüssigkeit liefert, die auf den verschiedenen Nährböden sich als völlig keimfrei erweist, und trotzdem einerseits auf der Hornhaut des Kaninchens (selbst mehrere Tage nach Filtration [10 Tage: siehe Versuch I]) das Auftreten der Guarnierischen endozellulären Formen, andererseits aber auf die Haut der Kuh bzw. des Menschen geimpft, den in Reihe auf rezep tive Tiere übertragbaren typischen Pockenaus schlag veranlaßt.

Die Kuhpockeninfektion — und vermutlich auch die Blatterninfektion — ist daher zu den durch einen der sogen. „ultramikroskopischen unsichtbaren Keime“ bedingten Krankheiten zu zählen, zu jener Kategorie von Keimen nämlich, die dank den in jüngster Zeit eifrig betriebenen Forschungen, eine ansehnliche Bereicherung erfahren hat.

Es sei mir gestattet, das in meiner ersten Mitteilung bereits Gesagte nochmals zu betonen, daß nämlich meine Resultate keineswegs als ein Beweis gegen die Annahme gelten können, es seien Guarnieris Cytorhyctes parasitärer Natur, denn auch für Vaccine und Pocken könnte sich wohl eben das Gleiche ereignen, wie bei anderen Infektionen, deren Entstehung manchen wohlbekannten Mikroorganismen zu verdanken ist, die in gewissen Stadien ihrer Entwicklung die Eigenschaft besitzen, filtrierbar zu sein.

Auf die Filtrierbarkeit des Vaccinevirus hatte zuerst Casagrandi¹ hingewiesen, der aber mit dem Filtrat weder die Pustel noch Guarnieris mikroskopischen Befund erhielt, während doch meinem Dafürhalten nach gerade diese beiden Anforderungen erfüllt werden müssen, soll der Beweis erbracht werden, daß das Vaccinevirus durch poröse Kerzen hindurchgeht.

¹ Casagrandi, Studi sul vaccino. *Riforma medica*. 1903. Nr. 31. — Siehe ferner die in der *Società dei cultori delle Scienze mediche di Cagliari* gemachten, im *Policlinico*, Sezione Pratica, 1904, Nr. 33; 1905, Nr. 15—33 zusammenfassend veröffentlichten Mitteilungen. — Studi sul Vaccino. *Annali d'Igiene Sperimentale*. 1905. Fasc. 1.

Viel an Wahrscheinlichkeit gewann später die Annahme durch Siegels¹ Versuch, bis sie schließlich — wie ich glaube — schon voriges Jahr durch meine Untersuchungen als nicht zu bezweifelnde Tatsache nachgewiesen wurde.

Meine Resultate, denen in der Versammlung der „italienischen Gesellschaft für Patologie“ die wertvolle Bestätigung Prof. Guarnieris² zuteil geworden, sind bei den meisten Forschern — vielleicht wegen der allzubündigen Kürze der Mitteilung — nahezu unbeachtet geblieben.

Allerdings stimmen einige nachträglich erschienene Arbeiten bezüglich der Schlußfolgerungen mit denen überein, die ich bereits im vergangenen Jahre formuliert hatte.

So haben Remlinger und Osman Nouri — die nur nebenbei meine Resultate erwähnen — die Filtrierbarkeit des Vaccinevirus deshalb angenommen, weil sie mit Berkefeldschen *V*-Filtraten die Pusteln auf der Haut³ von Meerschweinchen und Kaninchen erregt hätten, d. i. von Tieren, die zu derlei Untersuchungen mir nicht gerade als die geeignetsten erscheinen. In einer weiteren Mitteilung⁴ wird von diesen Autoren — wie seinerzeit auch Casagrandi bezüglich des Hundes — als Beweis für die Filtrierbarkeit des Vaccinevirus die durch subkutane Injektion der Filtrate erlangte Immunität des Meerschweinchens bzw. Kaninchens gegen die kutane Einimpfung von wirksamer Lymphe herangezogen.

Die gegen kutane Impfung von wirksamer Lymphe erzielte Immunität der mit Filtraten inokulierten Kühe wird auch von Rouget⁵ als Beweis dafür verwertet, daß das Virus mitunter auch die filtrierenden Kerzen passieren kann.

Allein, will man auch eine solche durch subkutane Injektion von Kuhlymphfiltraten erzielte Immunität als eine nicht anzuzweifelnde Tatsache annehmen, ist dann aber auch dieselbe für sich allein hinreichend, um die Filtrierbarkeit des spezifischen Agens zu beweisen? Obwohl die von den genannten ausgezeichneten Forschern hervorgehobene Erscheinung ganz sicher von anderen Gesichtspunkten aus einen großen Wert besitzt, so glaube ich doch, daß im vorliegenden Falle die Frage entschieden verneinend zu beantworten wäre, und zwar aus so naheliegenden Gründen,

¹ Siegel, a. a. O.

² Guarnieri, Resoconto della III Riunione della Società Italiana di Patologia. *Lo Sperimentale*. Anno LIX. Fasc. V. — Diskussion über Negris Mitteilung.

³ Remlinger und Osman Nouri, Le virus vaccinal traverse la bougie Berkefeld V. *Compt. rend. hebdomadaire de la Société de Biologie*. 1905. Nr. 19.

⁴ Dieselben, Sur le passage du virus vaccinal à travers la bougie Berkefeld V. *Ebenda*. 1905. Nr. 22.

⁵ Rouget, Contribution à l'étude du virus vaccinal. *Ebenda*. 1905. Nr. 21.

daß deren Aufzählung mir ganz überflüssig erscheint. Wollen wir uns einzig und allein auf diese Erfahrung stützen, wie viele Keime, die durch die Kerzen zurückgehalten werden, müßten wir doch als filtrierbar erachten!

Nachdem ich nun ausführlich ein Filtrierungsverfahren dargelegt habe, mit dessen Hilfe — wie es meine Versuche zeigen — man stets zu positiven Resultaten gelangt, spreche ich die Hoffnung aus, daß auch in anderen Laboratorien einschlägige Kontrollversuche angestellt werden mögen.

Ich bin sicher, daß die Ergebnisse ganz die nämlichen sein werden, wie die von mir mitgeteilten, und daß man recht bald die Frage nach der Filtrierbarkeit des Vaccinevirus allgemein als gelöst betrachten wird.
