

Zusammenfassung

Histologische Untersuchungen, die unter lebensnahen Bedingungen am Kaninchen durchgeführt wurden, zeigen, dass die Wand der kleinsten Lungenvenen aus elastischem Gewebe besteht. In der Wand der kleinen Lungenarterien bestehen unter normalen Verhältnissen Verdoppelungen und Vervielfachung der elastischen Lamellen, die an die als proliferative Elastose in der menschlichen Pathologie beschriebenen Veränderungen erinnern. Bilder von in Funktion befindlichen arteriovenösen Anastomosen deuten darauf hin, dass die sogenannten Sperrarterien der Lunge keine mit «Sondervorrichtungen» versehenen Gefäße sind, sondern dass es sich um Arterien handelt, deren Muskulatur im Kontraktionszustand fixiert ist.

Homologe Interferenz durch hitzeinaktiviertes, an Erythrozyten adsorbiertes Influenza-B-Virus

Die Beobachtung von FRANCIS¹, dass auch inaktiviertes Influenzavirus in der Chorioallantois des Hühnerembryos das Phänomen der sogenannten Interferenz auszulösen vermag, wurde oft bestätigt. Die meisten Autoren sind der Ansicht, dass die Interferenz darauf beruhe, dass das vorher in grosser Dosis applizierte inaktive, das heisst nicht vermehrungsfähige Virus, die empfänglichen Zellen gegen das nachher eingeführte lebende Virus schütze, sei es durch die Besetzung der an der Zelloberfläche gelegenen Rezeptoren, sei es durch die Belegung eines intrazellulären Faktors, der für die Vermehrung der aktiven Virus notwendig ist. PRICE *et al.*², die das Interferenzphänomen bei Rickettsien nachwiesen, kamen zum Schluss, dass es sich dabei nicht um den erfolgreichen Wettlauf der inaktivierten Rickettsien um die empfänglichen Zellen handle. Nach diesen Autoren spielt die Anzahl der empfänglichen Zellen für das Zustandekommen der Interferenz keine Rolle, sondern allein das Verhältnis zwischen der Anzahl der inaktivierten zu den lebenden Rickettsien, die den Versuchstieren appliziert werden. Sowohl lebendes als inaktiviertes Influenzavirus wird auch an die Oberfläche von Erythrozyten adsorbiert, wobei dieselben agglutiniert werden. Während ersteres nach der Zerstörung der Rezeptorsubstanz der Erythrozyten frei wird, um gegen frische Erythrozyten wieder volle Aktivität zu zeigen (HIRST³), löst sich inaktiviertes Virus nicht wieder ab (BURNET⁴; BRIODY⁵). Wenn die Hypothese richtig ist, dass die Interferenz von der Besetzung der Allantoisendothelien abhängt, dann sollte an Erythrozyten gebundenes inaktiviertes Virus nicht imstande sein, die Entwicklung des später applizierten lebenden Virus zu hemmen. Im folgenden wird gezeigt, dass sich diese Annahme nicht bestätigte, dass vielmehr das Einbringen von an Erythrozyten adsorbiertem inaktiviertem Virus in die Allantoishöhle die Entwicklung des später applizierten lebenden Virus zu hemmen vermag. Von den zahlreichen Experimenten, die ausgeführt wurden, sei eines ausführlich wiedergegeben.

Experimentelles. Die Versuche wurden mit einem Stämme von Influenza B ausgeführt, der im März 1955

während einer Epidemie in Zürich isoliert worden war. Die Inaktivierung des Virus geschah nach der Methode von ISAACS und EDNEY⁶: 6 Teile virushaltiger Allantoisflüssigkeit, 2 Teile zweiprozentiges Natriumzitrat in physiologischer NaCl-Lösung, 1 Teil Natriummetaboratpuffer pH 8,5; die Mischung während einer Stunde im Wasserbad bei 56°C inaktivieren. Der Agglutinations-titer gegenüber einer 0,5%igen Aufschwemmung von Hühnererythrozyten vor Inaktivierung war 2048, nach Inaktivieren 1000.

20 cm³ des inaktivierten Virus wurden mit 0,2 cm³ gründlich gewaschener Hühnererythrozyten versetzt und gut gemischt. Es trat sofort komplette Agglutination auf. Nach halbstündiger Einwirkung und mehrmaligem Aufschütteln wurden die Blutkörperchen ausgeschleudert. Titer der Allantoisflüssigkeit nach Absorption: 32. Die Blutkörperchen wurden zweimal mit 10 cm³ NaCl-Lösung gewaschen und darauf in 10 cm³-NaCl-Lösung aufgenommen. In die Allantoishöhle von 6 während 10 Tagen bebrüteten Eiern wurde je 0,5 cm³ der mit dem inaktivierten Virus beladenen Erythrozyten injiziert, 6 Eier erhielten die gleiche Dosis normaler Erythrozyten und 6 Eier 0,5 cm³ NaCl-Lösung. Nach 24 h im Brutschrank wurde in die Allantoishöhle aller Eier 0,1 cm³ aktives Virus 1:1000 verdünnt inkuliert. Nach weiteren 48 h bei 35°C wurden die Eier über Nacht bei etwa 4°C gehalten und dann die Allantoisflüssigkeit entnommen. Sie ergaben folgende Agglutinationstiter:

Mit beladenen Erythrozyten behandelte Eier	Mit normalen Erythrozyten behandelte Eier	Mit NaCl behandelte Eier
8	512	1024
0	1024	2048
4	1024	1024
8	512	512
0	2048	2048
16	1024	1024

In einigen der Experimente, die in der Anordnung obigem Beispiel entsprachen, zeigte gelegentlich eine der Allantoisflüssigkeiten der mit beladenen Erythrozyten vorbehandelten Eier einen Agglutinationstiter von 128 bis 1:256 bei 4-8fach höheren Titern der Kontrollen. Der Grad der Hemmung war abhängig von der Dauer des Brutschrankaufenthaltes zwischen der Einspritzung der mit inaktiviertem Virus beladenen Erythrozyten und der Inkulation des aktiven Virus. Wenn das aktive Virus nur zwei Stunden nach den beladenen Erythrozyten inkuliert wurde, zeigten die Allantoisflüssigkeiten meistens nur partielle Hemmung gegenüber den Kontrollen. Diese Latenzzeit bis zum vollen Wirksamwerden des an Erythrozyten adsorbierten inaktivierten Virus lässt darauf schliessen, dass in der Allantoishöhle etwas von den beladenen Erythrozyten abgegeben wird, das für die Interferenz verantwortlich ist. Bei aufrecht inkubierten Eiern fanden sich die Erythrozyten im Grunde des Allantoissackes angehäuft. Sie waren offenbar nur mit relativ wenigen Allantoiszellen in Berührung gekommen.

H. MOOSER und J. LINDENMANN

Hygiene-Institut der Universität Zürich, den 3. Januar 1957.

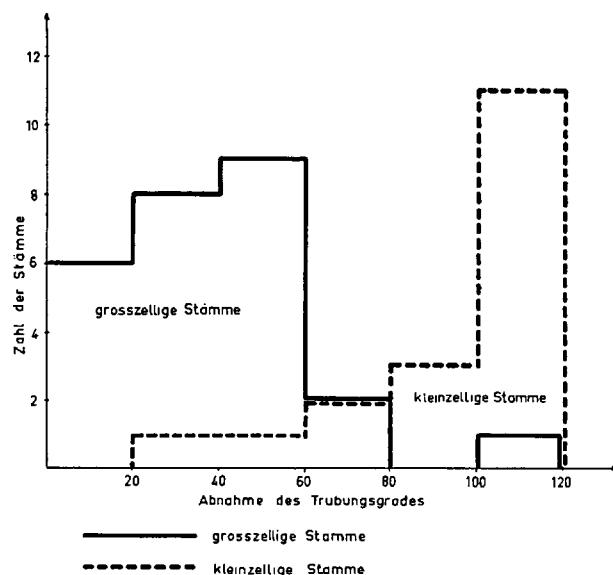
¹ T. FRANCIS, Jr., J. exp. Med. 85, 1 (1947).
² W. H. PRICE, J. W. JOHNSON, H. EMERSON und C. E. PRESTON, Science 120, 457 (1954).
³ G. K. HIRST, J. exp. Med. 76, 195 (1942).
⁴ F. M. BURNET, Austr. J. exp. biol. med. Sci. 30, 119 (1952).
⁵ B. A. BRIODY, J. Immunol. 59, 115 (1948).
⁶ A. ISAACS und M. EDNEY, Austr. J. exp. biol. med. Sci. 28, 219 (1950).

Summary

Influenza B Virus, inactivated according to the method of ISAACS and EDNEY and adsorbed onto chicken red cells, interfered with the growth of active virus in the chorioallantois of the chick embryo.

Lysozymempfindlichkeit der Spezies *B. megaterium*

Die elektive Auflösung der Zellwand und die Freisetzung der Protoplasten zufolge Lysozymeinwirkung wurde von TOMCSIK und GUEX-HOLZER¹ sowie von WEIBULL² an zwei Stämmen von *B. megaterium* (Bacillus M bzw. KM) nachgewiesen. Das Verhalten der Spezies *B. megaterium* gegenüber Lysozym ist hingegen noch unbekannt. In der vorliegenden Arbeit wird über die Lysozymempfindlichkeit von 54 *B.-megaterium*-Stämmen berichtet, wovon 46 von uns aus dem Boden isoliert wurden (TOMCSIK und BAUMANN-GRACE³).



Lysozymverdauung der gross- und kleinzelligen *B.-megaterium*-Stämme.

Zum Studium des lytischen Effektes des Lysozums wurden die bei 28°C während 16 h auf Agar gewachsenen Bakterien in physiologischer NaCl-Lösung derartig suspendiert, dass die Suspensionsdichte im Klett-Summerson photoelektrischen Kolorimeter, mit Blaupfilter Nr. 42 gemessen, 180 betrug. Zu 3 ml dieser Suspension wurde 1 ml 1:2000 kristallisiertes Lysozym (Armour) gegeben und das Gemisch bei 37°C 1 h bebrütet. Die Kontrollröhren ohne Lysozym zeigten bei 13 Stämmen eine Autolyse verschieden Grades; deshalb konnte die Lysozymempfindlichkeit dieser Stämme nicht ausgewertet werden. Die Resultate mit den anderen Stämmen wurden in der Abbildung graphisch zusammengefasst.

Wie aus der Abbildung klar ersichtlich, zerfallen die untersuchten *B.-megaterium*-Stämme, in ihrem Verhalten gegenüber Lysozym, in zwei mehr oder weniger scharf getrennte Untergruppen. Die phasenkontrast-mikroskopische Kontrolle ergab, dass die überwiegende Mehrzahl der schwache Lyse aufweisenden Stämme grosszellig war, mit einem Zellendurchmesser von 1,2 bis 1,5 μ . Die Zellen enthielten reichlich Fetttröpfchen in Form von Inklusionskörperchen, und ihre Zellwand wurde durch Lysozym nur teilweise verdaut. Demgegenüber war die überwiegende Mehrzahl der Stämme mit einem Zellendurchmesser von 0,9 bis 1,2 μ in hohem Grade lysozymempfindlich. Diese kleinzellige Untergruppe enthielt keine oder nur spärlich Fettinklusionskörperchen, und ihre Zellwand wurde vollkommen aufgelöst. Die früher eingehend studierten «Bacillus-M»- und KM-Stämme gehörten in die kleinzellige Untergruppe.

Das Verhalten gegenüber Lysozym wurde weiterhin bei 53 Stämmen auch in 10,2% Saccharoselösung nach WEIBULL² untersucht. Die Endkonzentration des Lysozys betrug bei kristallisiertem Lysozym 1:32000, bei Eiklar 1:800. Die bei Zimmertemperatur belassenen Gemische wurden während 1½ h alle 15 min im Phasenkontrast untersucht. In 20–30 min wurden bei 28 Stämmen nach vollkommener Auflösung der Zellwand zellwandfreie Protoplasten freigesetzt, die bei 4°C mindestens 24 h eine Stabilität aufwiesen. Alle diese Stämme gehörten zur kleinzelligen Untergruppe. Bei den anderen Stämmen konnte wohl das Anfangsstadium der Protoplastenabrandung mit Abhebung der Zellwand beobachtet werden, doch erfolgte die Auflösung der Zellwand nur in kleinem Masse. Die an und für sich häufig unsichtbaren Zellwände wurden mit Hilfe der spezifischen Zellwandreaktion (TOMCSIK und GUEX-HOLZER⁴) deutlich dargestellt. Die nur zum Teil freigesetzten Protoplasten waren zumeist von grosser Gestalt und zeigten geringe Stabilität. Durch Erhöhung der Lysozymkonzentration und nach Verlängerung der Inkubationszeit konnte die Gewinnung zellwandfreier Protoplasten in dieser meistens grosszelligen Untergruppe kaum gefördert werden.

Für diese Arbeit wurde ein Beitrag aus Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes zur Verfügung gestellt.

JOYCE B. BAUMANN-GRACE und
J. TOMCSIK

Hygienisches Institut der Universität Basel, den 28. Januar 1957.

Summary

The 54 strains of *B. megaterium* examined could be divided broadly into 2 groups on the basis of their lysozyme sensitivity. In most of the large-celled strains the cell walls were incompletely digested. Loss of turbidity on addition of lysozyme was comparatively slight and few free protoplasts were formed in the presence of saccharose. In contrast, the small-celled strains usually showed a marked drop in turbidity and complete protoplast formation could be obtained.

These results suggest that, in some strains of *B. megaterium*, particularly those possessing very large cells, certain substances are included in the cell walls which are not depolymerized by lysozyme.

¹ J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 15, 517 (1952).

² C. WEIBULL, J. Bact. 66, 688 (1953).

³ J. TOMCSIK und J. B. BAUMANN-GRACE, Verh. Naturf. Ges. Basel 67, 218 (1956).

⁴ J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER, J. gen. Microbiol. 10, 317 (1954).